

REVISTA CIENTÍFICA | FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA. ESPAÑA

# Ars Pharmaceutica

ISSN: 2340-9894

Vol 59 (suppl 1) | Abril 2018

## I Jornadas científicas CIBM

Granada 21 de junio 2017

 CIMB Centro de Investigación Biomédica



UNIVERSIDAD  
DE GRANADA



E-ISSN 2340-9894

Ars Pharmaceutica es una revista científica de carácter multidisciplinar, en el ámbito de las Ciencias Farmacéuticas en su sentido más amplio, con especial énfasis en la Tecnología y Química Farmacéutica, Farmacología, y Atención Farmacéutica. Ha sido pionera en España en estas disciplinas, editada por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada desde 1960 de manera ininterrumpida. Durante este tiempo se ha ido adaptando a la evolución de la mayoría de las revistas científicas, en la que se ha pasado de su publicación en papel a convertirla en una revista electrónica de libre acceso. Esto ha supuesto una mayor accesibilidad de investigadores de todos los países a la publicación, lo que se ha podido comprobar por el número de visitas recibidas en la web, y un interés por publicar sus trabajos en ella. El hecho de aceptar trabajos en español o inglés indistintamente, también ha contribuido a aumentar el número de originales recibidos en la última década.

Actualmente se encuentra indexada en las siguientes bases de datos/directorios/repositorios:

Dialnet, e- revistas, ERIH PLUS, Google Académico, ISOC (CSIC); International Pharmaceutical Abstract (IPA); Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud (IBECS), Latindex, SJR. SciELO, SCImago Journal & Country Rank, Scopus, ...y es nuestra intención aumentar su presencia en otras bases.

Se han establecido de forma clara las distintas categorías de trabajos que se pueden publicar. Para agilizar el envío de originales a través de la web se ha desarrollado un sistema electrónico de envío. Se han habilitado recursos humanos y económicos, que nos permiten ofrecer la revista en formato electrónico y de forma gratuita a todos los científicos y profesionales interesados.

Los informes dados por SCImago Journal & Country Rank en el año 2013, sitúan a nuestra revista dentro del campo de las ciencias farmacéuticas en la posición 90/211, con un índice H de 12 y un SJR de 0,119. En el ámbito de las revistas españolas es la cuarta.

En el año 2015, Ars Pharmaceutica ha entrado a formar parte de las Scientific Electronic Library online (SciELO) poniéndola a disposición de los organismos de investigación públicos y privados, sociedades científicas y profesionales. En el año 2016 ha obtenido el sello de calidad editorial otorgado por la FECYT, por un periodo de tres años. Por ello desde aquí; invitamos a todos los autores a enviar sus aportaciones a las distintas secciones de la revista.

#### Director

F. Martínez-Martínez. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.

#### Directora Ejecutiva

M. J. Faus. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.

#### Editora

M. D. Ruiz-López. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.

#### Consejo de Redacción

Artacho R (Nutrición y Bromatología, Univ. de Granada, España).  
Benrimoj C (Pharmacy Practice. Universidad Tecnología Sydney. Australia).  
Calleja MA. (Farmacia Hospitalaria. Hospital Virgen de las Nieves. Granada, España).  
Culebras J (Real Academia de Medicina y Cirugía Valladolid. Univ. de León, España).  
de Haro T (Análisis Clínico. Hosp. Clínico San Cecilio. Granada, España).  
Fernández-Llimós F. (Farmacia Social. Univ. de Lisboa, Portugal).  
Gastelurrutia MA. (Farmacia Comunitaria. San Sebastian, España).  
Mariño E. (Unidad Farmacia Clínica. Univ. de Barcelona, España).  
Moreno L. (Farmacología. Univ. CEU Cardenal Herrera. Valencia, España).  
Perez de la Cruz A (Nutrición Clínica. Hosp. Virgen de las Nieves. Granada, España).  
Quiñes J (Fisiología, Univ. de Granada. Granada, España).  
Quintero B (Fisicoquímica. Univ. de Granada. Granada, España).  
Rabasco A. (F y Tecnología Farmacéutica. Univ. de Sevilla, España).  
Ruiz Martínez A (F y Tecnología Farmacéutica. Univ. de Granada. Granada, España).  
Sabater D (Pharmacy Practice. Univ. Tecnología Sydney. Australia).  
Valero Sanz J (Salud Pública e Historia de la Ciencia. Univ. Miguel Hernández. Elche, España).  
Veiga de Cabo J (Escuela Nacional de Medicina del Trabajo. Inst. de Salud Carlos III. Madrid, España).

#### Toda la información sobre la revista en

More info about the journal available on

<http://revistaseug.ugr.es/index.php/ars>

#### Contacto de la Redacción

Editorial Office Contact Info

Ars Pharmaceutica.  
Facultad de Farmacia.  
Universidad de Granada.  
Campus de Cartuja s/n.  
18071 -Granada. España  
email: [ars@ugr.es](mailto:ars@ugr.es)

#### Edita

Scientific Editor

Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada.

#### Publica

Publisher

Editorial Universidad de Granada  
Antiguo Colegio Máximo.  
Campus Universitario de Cartuja.  
18071 - Granada  
España | Spain

#### Editada bajo licencia CC 4.0 BY-NC-SA.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

## CARTA DE LOS EDITORES

*Las primeras Jornadas del Centro de Investigación Biomédica han sido un éxito. Tenemos que felicitarnos todos, organizadores y participantes, por la gran calidad de las comunicaciones que se han presentado. Tuvimos un intenso día en que todos hemos participado con ilusión para mostrar a los demás nuestro trabajo. Todo buscamos alcanzar un nivel de excelencia en nuestras investigaciones. Espero que estas jornadas nos hayan permitido dar un paso más en este sentido.*

*La ciencia también es compartir. Compartir lo que hacemos, compartir nuestras técnicas, compartir lo que hemos aprendido aquí o en centros lejanos y punteros. Las fuerzas individuales son limitadas, pero los granos de arena que cada uno aportamos hacen posible la creación del gran edificio de la Ciencia. Ese ha sido el principal objetivo de las jornadas: conocer que estamos haciendo, compartir nuestros conocimientos y ver las posibilidades de colaboración que tenemos con los que están trabajando al lado. Cuando estamos en nuestro laboratorio es muy fácil aislarnos y dedicarnos a resolver los problemas del día a día. Pero muchas veces esos problemas se solucionan con más rapidez consultando y conociendo como otros lo han resuelto antes. Y también tenemos que saber hacia dónde va el conocimiento. Por eso es tan importante asistir a las reuniones científicas y relacionarse con los demás grupos.*

*Estamos preparando novedades interesantes en las próximas jornadas, pronto las conoceréis. Hasta entonces, trabajemos con ilusión y colaboremos entre todos para obtener los mejores resultados en nuestras investigaciones.*

*Francisco Vives Montero  
Director del Centro de Investigación Biomédica*

*Cristina Sánchez González  
Secretaria del Centro de Investigación Biomédica*

## Association of sedentary time and physical fitness with ideal cardiovascular health in perimenopausal women. The flamenco project.

Acosta Manzano P<sup>1\*</sup>, Segura Jiménez V<sup>2</sup>, Coll Risco I<sup>3</sup>, Ruiz Cabello P<sup>3</sup>, Borges Cosic M<sup>1</sup>, Peces Rama AR<sup>1</sup>, Jiménez Marín N<sup>1</sup>, Rodríguez Ayllón M<sup>4</sup>, Delgado Fernández M<sup>1</sup>, Aparicio VA<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Department of Physical Education and Sport, Faculty of Sport Sciences. University of Granada, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Physical Education, Faculty of Education Sciences, University of Cádiz, Cádiz, Spain.

<sup>3</sup> Biomedical Research Center. Institute of Nutrition and Food Technology. iMUDS. Department of Physiology, Faculty of Pharmacy. University of Granada, Granada, Spain.

<sup>4</sup> PROFITH “PROmoting FITness and Health through physical activity” Research Group, Department of Physical Education and Sports, Faculty of Sport Sciences, University of Granada, Granada, Spain.

Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Aim:** To examine the association of sedentary time and physical fitness with ideal cardiovascular health (CH) in perimenopausal women.

**Methods:** A total of 123 perimenopausal women participated (52.7±7.5 years old). Time spent in different physical activity intensity levels (min/day) and in sedentary behaviors was objectively assessed with accelerometry (7 consecutive valid days). Physical fitness was assessed with the Senior Fitness Test battery plus handgrip strength and sit-and-reach tests. According to the American Heart Association (1), an adapted “Ideal CH index” was created from the cut-off values of several behaviors (tobacco, BMI, physical activity and diet) and factors (total cholesterol, blood pressure and glucose) for adults. A value of 1 was assigned for each ideal metric (factor/behavior) status and a value of 0 for each non-ideal metric status. Women meeting ≥4 ideal components were categorized as having an ideal CH whereas women meeting <4 ideal components were categorized as having a non-ideal CH.

**Results:** After adjusting for age, menarche and monthly regular menstruation, perimenopausal women with an ideal CH spent less time in sedentary behaviors [mean difference (95% confidence interval) = 46 min/day (16, 77)] and showed higher scores in the 6 min walk test [24.6 meters (5.7, 43.5)], 30 second chair stand test [1 rep (0, 2)] and back scratch test [3.1 cm (0.4, 5.7)] compared to women with a non-ideal CH status (all,  $p < 0.03$ ). The effect size was overall medium (Cohen’s  $d \sim 0.5$ ).

**Conclusion:** The results suggest that reduced time in sedentary behaviors and greater values of cardiorespiratory fitness, lower-body muscular strength and flexibility are associated with a more favorable cardiovascular profile in perimenopausal women.

### References:

Lloyd-Jones DM, Hong YL, Labarthe D, Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L, et al. Defining and Setting National Goals for Cardiovascular Health Promotion and Disease Reduction The American Heart Association’s Strategic Impact Goal Through 2020 and Beyond. *Circulation*. 2010;121(4):586-613.

## Influencia del ejercicio físico y la ingesta de hidroxitirosol en el estado redox de ratas ejercitadas.

Al Fazazi S<sup>1\*</sup>, Casuso RA<sup>1</sup>, Hidalgo Gutiérrez A<sup>2</sup>, López LC<sup>2,3</sup>, Huertas JR<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix", Departamento de Fisiología, Universidad de Granada, Granada, España.

<sup>2</sup>Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación Biomédica, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, España.

<sup>3</sup>Centro de Investigación biomédica en Red de Fragilidad y envejecimiento saludable (CIBRFES), Universidad de Granada, España.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

\* Ambos autores contribuyeron igualmente en este trabajo.

**Introducción:** El Hidroxitirosol (HT) es el principal componente fenólico del aceite de oliva, responsable de sus efectos beneficiosos en la salud y uno de los componentes más biológicamente activos y metabolizados por los humanos. El objetivo de nuestro estudio es describir los efectos de diferentes dosis de HT sobre la capacidad REDOX en ratas sedentarias y ejercitadas.

**Método:** 40 ratas macho Wistar se distribuyeron en 6 grupos; Sedentarias (SED), SED con ingesta de 20mg/Kg/día de Hidroxitirosol (HT), SED con ingesta de 300 mg/Kg/día de HT, Ejercitadas (EXE), EXE con ingesta de 20 mg/Kg/día de HT, EXE con ingesta de 300 mg/Kg/día de HT. Durante 10 semanas de fase experimental se evaluó la velocidad máxima de carrera (3 test a lo largo del estudio) así como el trabajo realizado (diariamente). Se midieron Hemoglobina (HGB), y Hematocrito (HCT) en sangre, además, se evaluó el ensamblaje de Supercomplejos mitocondriales y la concentración de hidroperóxidos plasmáticos como marcador de peroxidación lipídica (estrés oxidativo).

**Resultados:** En las ratas Sedentarias el HT indujo un efecto antioxidante sin implicar mejoras en el rendimiento deportivo. Sin embargo, en combinación con el ejercicio la dosis de 300 mg/Kg/Día produjo un efecto pro-oxidante. En otro estudio paralelo donde evaluamos los Supercomplejos mitocondriales, se observó que la actividad física en ratas favoreció el ensamblaje del Complejo I en Supercomplejos. **Conclusiones:** La dosis baja de HT obstaculiza las adaptaciones al ejercicio, mientras que una ingesta mayor de HT puede prevenir este efecto induciendo un efecto pro-oxidante.

**Líneas futuras:** Pretendemos seguir evaluando los resultados relacionados con la biogénesis mitocondrial (Supercomplejos), y actualmente empezamos a analizar las manifestaciones genéticas que pueden verse implicadas en nuestro estudio.

### Referencias bibliográficas:

Casuso RA, Martínez-López EJ, Nordsborg NB, Hita-Contreras F, Martínez-Romero R, Cañuelo A, Martínez-Amat A. Oral quercetin supplementation hampers skeletal muscle adaptations in response to exercise training. *Scand J Med Sci Sports*. 2014; 24: 920–927.

Enriquez JA. Supramolecular Organization Of Respiratory Complexes. *Annu. Rev. Physiol*. 2016; 78, 533-61.

Hu T, He X-W, Jiang J-G, Xu X-L. Hydroxytyrosol and its potential therapeutic effects. *J Agric Food Chem*. 2014; 62:1449–1455.

Lei XG. et al. Paradoxical Roles of antioxidant Enzymes: Basic Mechanisms and health Implications. *Physiol. Re*. 2016; 96, 3007-64.

Yoshida Y, Umeno A, Shichiri M. Lipid peroxidation biomarkers for evaluating oxidative stress and assessing antioxidant capacity in vivo. *J Clin Biochem Nutr*. 2013; 52: 9–16.

## Tenomodulin genetic variants on the x chromosome are associated with childhood obesity

Anguita A<sup>1\*</sup>, Olza J<sup>1,5</sup>, Ruperez AI<sup>2</sup>, Gil Campos M<sup>4,5</sup>, Cañete R<sup>4,5</sup>, Moreno L<sup>2,5</sup>, Gil Á<sup>1,5</sup>, Bueno G<sup>2,5</sup>, Leis R<sup>3,5</sup>, Aguilera CM<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biology II, Institute of Nutrition and Food Technology “Jose Mataix”, Centre of Biomedical Research, University of Granada, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Health Sciences Institute in Aragon, Zaragoza, Spain; Pediatric Department, Lozano Blesa University Clinical Hospital, University of Zaragoza. Spain.

<sup>3</sup> Unit of Investigation in Nutrition, Growth and Human Development of Galicia, Paediatric Department, Clinic University Hospital of Santiago, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain.

<sup>4</sup> Unit of Pediatric Endocrinology, Reina Sofia University Hospital, Avda Menéndez Pidal s/n. 14004 Córdoba, Spain.

<sup>5</sup> CIBER Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición (CIBEROBN), Madrid, Spain; Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Keywords:** childhood obesity, glucose metabolism, genetics, tenomodulin, X chromosome

**Background and objectives:** Current genetic association studies are usually focused on autosomal variants only, and the sex chromosomes are often neglected. In recent years, a number of statistical techniques and strategies have been widely described making much easier overcoming X-chromosome technical hurdles and including this region within genetic studies. Tenomodulin (TNMD) is a Xq22 chromosome anti-angiogenic locus which has been recently linked to different obesity-related phenotypes. These results have not been replicated to date. Given these facts, we have conducted a genetic association analysis in Spanish children population including several TNMD SNPs as potential candidate markers for obesity and metabolic dysfunctions.

**Methods:** A total of 915 DNA samples from 258 normal weight, 177 overweight and 480 obese Spanish children (438 males, 477 females) were genotyped for seven TNMD SNPs and associations with anthropometric measurements and glucose metabolism were investigated.

**Results:** In our population, two previously reported linkage disequilibrium (LD) blocks were observed: haploblock-1 (rs2073162, rs2073163, rs4828038, and rs1155974) and haploblock-2 (rs11798018, rs5966709 and rs4828037). Several obesity-related phenotypes were gender-specific and separately associated. We identified rs4828038\_T as one of the tag SNPs within the haploblock-1 and the one with the strongest association signals. Particularly, this variant showed association with anthropometric measurements such as BMI ( $P=0.0099$ ,  $BETA=1.466$ ) and BMI z-score ( $P=0.0035$ ,  $BETA=0.636$ ) in males. Regarding to glucose metabolism phenotypes, genetic associations with insulin resistance were observed; HOMA index ( $P=0.0105$ ,  $BETA=0.226$ ) and insulin levels ( $P=0.0184$ ,  $BETA=0.919$ ) in the female-male mixed group; and glucose levels ( $P=0.0130$ ,  $BETA=2.137$ ) in males.

**Conclusions:** These data show that *TNMD* variants are associated with obesity and alterations in glucose metabolism in children population and, therefore, replicate some previous findings from adult human population.

**Conflict of Interest:** None Disclosed

## Impresión 3D de constructos bioactivos basados en ácido hialurónico para la formación de neocartílago in vitro.

Antich C<sup>1,2,3\*</sup>, Jiménez G<sup>1,2,3</sup>, Marchal JA<sup>1,2,3</sup>, Gálvez Martín P<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research, University of Granada, Granada E-18100, Spain.*

<sup>2</sup>*Biosanitary Research Institute of Granada (ibs.GRANADA), University Hospitals of Granada-University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>3</sup>*Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada E-18012, Spain.*

<sup>4</sup>*Advanced Therapies Area, Bioibérica S.A.U. Barcelona E-08029, Spain.*

*Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

\*E-mail: [cantich@ugr.es](mailto:cantich@ugr.es)

El cartílago articular es un tejido que tiene importantes funciones en la preservación y predisposición de la locomoción. Sin embargo, posee una limitada capacidad de reparación intrínseca tras ser dañado que requiere intervención médica. La ingeniería tisular se está considerando como una alternativa viable a los tratamientos actuales que no permiten reconstituir su estructura y función. En este contexto, la impresión en tres dimensiones (3D) está emergiendo como una tecnología innovadora capaz de crear construcciones 3D por deposición predeterminada de células y biomateriales, imitando el tejido nativo. Este estudio se enfocó en el uso de uno de los principales componentes del cartílago, el ácido hialurónico (HA), como hidrogel que contiene las células (biotinta) para la formación de constructos osteocondrales bioimpresos. Se evaluó la viabilidad, la proliferación y la diferenciación hacia cartílago articular en dicha construcción híbrida de ambas poblaciones celulares, condrocitos y células madre mesenquimales (MSCs), demostrando así que el HA es un material idóneo para la ingeniería del cartílago articular.

### Referencias bibliográficas:

Ha CW, Park YB, Chung JY, Park YG. (2015). *Cartilage Repair Using Composites of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronic Acid Hydrogel in a Minipig Model. Stem Cells Transl Med. Sep;4(9):1044-51*

Kim IL, Mauck RL, Burdick JA. (2011). *Hydrogel design for cartilage tissue engineering: a case study with hyaluronic acid. Biomaterials. 2011 Dec;32(34):8771-82.*

Liu, Y., Shu, X. Z., & Prestwich, G. D. (2006). *Osteochondral defect repair with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an injectable, in situ, cross-linked synthetic extracellular matrix. Tissue Engineering, 12(12), 3405–3416.*

Nakamura T, Sekiya I, Muneta T, Kobayashi E. (2015). *Articular cartilage regenerative therapy with synovial mesenchymal stem cells in a pig model. Clin Calcium. Dec;23(12):1741-9.*

Panita Maturavongsadit, Jittima Amie Luckanagul, Kamolrat Metavarayuth, Xia Zhao, Limin Chen, Yuan Lin, and Qian Wang. (2016). *Promotion of In Vitro Chondrogenesis of Mesenchymal Stem Cells Using In Situ Hyaluronic Hydrogel Functionalized with Rod-Like Viral Nanoparticles. Biomacromolecules, 2016, 17 (6), pp 1930–1938*

Toh WS, Lim TC, Kurisawa M, Spector M. (2012). *Modulation of mesenchymal stem cells chondrogenesis in a tunable hyaluronic acid hydrogel microenvironment. Biomaterials. May;33(15):3835-45.*

# Effects of a concurrent exercise program during pregnancy on colostrum and mature breast milk inflammatory markers. The GESTAFIT PROJECT

Aparicio VA<sup>1\*</sup>, Ocón O<sup>2</sup>, Diaz Castro J<sup>1</sup>, Acosta Manzano P<sup>3</sup>, Coll Risco I<sup>1</sup>, Borges Cósic M<sup>3</sup>, Jiménez Marín N<sup>1</sup>, Romero Gallardo L<sup>3</sup>, Moreno Fernández J<sup>1</sup>, Ochoa Herrera JJ<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Department of Physiology, Faculty of Pharmacy and Institute of Nutrition and Food Technology, University of Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department and UGC of Gynaecology and Obstetrics. University Hospital Virgen de las Nieves. Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department of Physical Education and Sports, Faculty of Sport Sciences, University of Granada, Granada, Spain. Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Aim:** To assess the effects of an exercise intervention during pregnancy on colostrum and mature breast milk inflammatory markers.

**Methods:** Sixty-six pregnant women were randomized to either an exercise (three 60-min sessions/week of concurrent aerobic and strength training), or control group from the 17<sup>th</sup> gestational week until delivery. For the present study specific aims, only those women able to produce enough milk were included for data analyses, resulting in 25 control and 21 exercise women. Some colostrum and mature breast milk pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines (fractalkine, interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, interferon (IFN)- $\gamma$ , and tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$ ) were measured by Luminex xMAP.

**Results:** After adjustment for maternal age, body mass index and physical activity levels, colostrum from mothers that followed the exercise program presented 24% lower IL-6 and 46% lower IL-8 concentrations than colostrum from control women (both,  $p \leq 0.05$ ). Colostrum from mothers that followed the exercise program showed a borderline significant ( $p = 0.07$ ) 20% lower TNF- $\alpha$ , and a no significant but with probable clinical meaningful 28% higher fractalkine, 19% lower IL-1 and 16% higher IL-10 concentrations. Mature milk from mothers in the exercise group showed the same trend, with a no significant but clinically meaningful 31% higher fractalkine, 26% lower IL-6, 24% lower IL-8, 18% lower IL-1, 21% lower TNF- $\alpha$  and 13% higher IL-10 concentrations. No clear effect of the exercise intervention was observed on INF- $\gamma$  concentrations.

**Conclusion:** The exercise training program designed and developed in the present study promoted a less pro-inflammatory



profile in colostrum and mature breast milk.

## Gene therapy corrects mitochondrial dysfunction in mefs and hscs from *coq9r239x* mice

**Barriocanal Casado E<sup>1,2\*</sup>, Cueto Ureña C<sup>1,2</sup>, Muñoz P<sup>3</sup>, Mascaraque C<sup>1,2</sup>, Cobo M<sup>3</sup>, Hidalgo A<sup>1,2</sup>, Martín F<sup>3</sup>, López LC<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación Biomédica, Parque Tecnológico Ciencias de la Salud, Armilla, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Centro Pfizer - Universidad de Granada - Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO), Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Granada, Spain.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Infusion of gene-corrected hematopoietic stem cells (HSCs) has been successful for the treatment of metachromatic leukodystrophy due to mutations in *ARSA* gene1-3. However, it remains unclear whether this strategy can be used in other neurological diseases. Here, we use a lentiviral vector to transfer a functional *Coq9* gene into mouse embryonic fibroblasts (MEFS) and HSCs from a mouse model (*Coq9R239X*) of mitochondrial encephalopathy due to mutation in *Coq9* gene4.

Our results show that the *CCoq9WP* vector allows the overexpression of *Coq9* mRNA and COQ9 protein in MEFs and HSCs from *Coq9R239X* mice. This effect results in the restoration of the hydroxylase COQ7 levels and normalization of Coenzyme Q9 and Demethoxyubiquine-9 levels. As a consequence, mitochondrial respiratory capacity was significantly increased in transduced *Coq9R239X* MEFs, demonstrating the functional efficiency of the *CCoq9WP* vector4.

These results confirm that COQ9 protein interacts and regulates COQ7, being in that way essential for Coenzyme Q biosynthesis. Furthermore, our data demonstrate that, *in vitro*, it is possible to correct a *Coq9* defect by overexpressing *Coq9* mRNA using lentiviral vectors. This may open the possibility of testing the transplantation of transduced HSCs *in vivo* in order to get an effective treatment for mitochondrial encephalopathies.

### Referencias bibliográficas:

*Biffi, A. et al. Correction of metachromatic leukodystrophy in the mouse model by transplantation of genetically modified hematopoietic stem cells. J Clin Invest 113, 1118-29 (2004).*

*Biffi, A. et al. Gene therapy of metachromatic leukodystrophy reverses neurological damage and deficits in mice. J Clin Invest 116, 3070-82 (2006).*

*Biffi, A. et al. Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy. Science 341, 1233158 (2013).*

*Barriocanal-Casado, E. et al. Gene Therapy Corrects Mitochondrial Dysfunction in Hematopoietic Progenitor Cells and Fibroblasts from *Coq9R239X* Mice. PLoS One 11, e0158344 (2016).*

# Estudio de ncRNA exosomales asociados a la telangiectasia hemorrágica hereditaria

**Blanco FJ<sup>1</sup>, Muñoz M<sup>1,2</sup>, Martínez González LJ<sup>3</sup>, Botella LM<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup> Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER, CIBM) y Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III e Inmunología, Universidad de Granada.

<sup>2</sup> University of Brown, Rhode Island, USA.

<sup>3</sup> Unidad de Genómica, Centro de Genómica e Investigación Oncológica (GENyO), Granada.

<sup>4</sup> Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

La Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT) o síndrome de Rendu-Osler-Weber es una displasia vascular en la que la vía de señalización de TGF-beta está seriamente alterada, afectando principalmente al proceso de angiogénesis y remodelado vascular [1,2]. La HHT es una enfermedad hereditaria rara (1:8000) con transmisión autosómica dominante y con una penetrancia incompleta, por lo que se sugiere que otros factores participan en la fisiopatología de la enfermedad [3], tal como ocurre en otras patologías como la hipertensión pulmonar arterial, estrechamente relacionada con la HHT [4].

En el presente proyecto [5] se está estudiando mediante técnicas NextSeq tanto la composición como los niveles de expresión de RNAs no codificantes (miRNA y lncRNA) transportados en exosomas a partir de muestras de sangre periférica. Se han establecido los grupos Control (donantes sanos, n=10) y HHT, subdividido a su vez en sus 2 variantes mayoritarias, HHT1 (n=15) y HHT2 (n=15), según si las muestras provienen de pacientes con mutaciones en el gen de endogлина (*ENG*) o ALK1 (*ACVRL1*), respectivamente.

Se espera obtener un patrón de expresión diferencial con valor diagnóstico que permita discriminar los pacientes de HHT, y eventualmente entre sus variantes.

Además, se estudiará la direccionalidad del transporte en exosomas de estos ncRNA biomarcadores identificados así como su función celular en el tejido diana y el papel que juegan en la fisiopatología de la HHT.

## Referencias bibliográficas:

Blanco FJ et al. (2005). *J Cell Physiol* 204:574-584

Blanco FJ et al. (2011). *Aging Cell* 10:896-907

Shovlin CL (2010). *Blood Rev* 24:203-219

Blanco et al. (2015). *Circ Res* 117:870-883

Proyecto "Jóvenes Investigadores" del Programa Estatal de I+D+i (SAF2015-74313JIN)

# Potencial de diferenciación de células madre estromales de origen intraoral

Capitán Sobrino D<sup>1</sup>, Padial Molina M<sup>2</sup>, Farias VA<sup>1</sup>, Carrasco Carmona A<sup>1</sup>, Liñan Velasquez J<sup>1</sup>, O'Valle F<sup>3</sup>, Galindo Moreno P<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Biomedicina Regenerativa (IBIMER).

<sup>2</sup> Departamento de Estomatología.

<sup>3</sup> Departamento de Anatomía Patológica e IBIMER.

Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** La Sociedad Internacional de Terapia Celular (ISCT) propuso tres criterios para clasificar una célula como estromal multipotente (MSC): 1) ser adherentes en cultivo; 2) expresar los antígenos CD73, CD90 y CD105 en ausencia de antígenos hematopoyéticos como CD34, CD45, marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos B; y 3) ser capaces de diferenciarse in vitro en osteoblastos, adipocitos y condrocitos.

**Objetivos:** Evaluar el potencial de diferenciación de células madre estromales de origen intraoral.

**Materiales y Métodos:** Se obtuvieron cultivos primarios mediante técnica de explante de diversos orígenes intraorales, incluyendo: hueso nativo, hueso injertado, pulpa dental, ligamento periodontal, papila dental y germen dentario. Tras confirmarse la expresión de marcadores de superficie característicos de las MSCs, se indujo su diferenciación a osteoblastos, adipocitos y condrocitos mediante la adición de los respectivos medios de cultivo. La diferenciación se estudió mediante tinción de alizarina roja, oil-red y alcian blue.

**Resultados:** Se confirmó la capacidad de diferenciación hacia líneas osteogénicas, adipogénicas y condrogénicas de todas las líneas analizadas.

**Conclusión:** Diversos orígenes intraorales son capaces de producir poblaciones estables de MSC con capacidad de diferenciación.

Se deben investigar nuevas diferenciaciones potenciales y analizar las vías de señalización e interacción específicas.

## Referencias bibliográficas:

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D. & Horwitz, E. (2006) Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. *The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy* 8: 315–317.

Liu, J., Yu, F., Sun, Y., Jiang, B., Zhang, W., Yang, J., Xu, G.T., Liang, A., Liu, S. (2015) Concise reviews: Characteristics and potential applications of human dental tissue-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 33: 627-638.

## Obtención de células madre estromales de origen intraoral

Carrasco Carmona A<sup>1\*</sup>, Padial Molina M<sup>2</sup>, Farias VA<sup>1</sup>, Capitán Sobrino D<sup>1</sup>, Barba Domínguez F<sup>1</sup>, O'Valle F<sup>3</sup>, Galindo Moreno P<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Biomedicina Regenerativa (IBIMER).

<sup>2</sup> Departamento de Estomatología.

<sup>3</sup> Departamento de Anatomía Patológica e IBIMER.

Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** Las células madre mesenquimales (MSCs) son un grupo de células madre adultas originadas a partir de la capa germinal mesodermal. Las MSC pueden aislarse de diferentes tejidos incluyendo, entre otros: periostio, médula ósea, grasa, líquido amniótico, folículo piloso, sangre de cordón umbilical y tejidos orales.

**Objetivos:** Obtención mediante explante de diversas poblaciones de MSC de distintos orígenes intraorales, incluyendo: hueso nativo, hueso injertado, pulpa dental, ligamento periodontal, papila dental y germen dentario.

**Materiales y Métodos:** Se realizó técnica de explante en todos los casos, consistente en la obtención del tejido en ambiente clínico controlado, traslado a laboratorio en medio de transporte, fragmentación del tejido por medios físicos y cultivo en medio DMEM bajo en glucosa, aminoácidos no esenciales, bFGF, FBS y antifúngicos y antibióticos. Se evaluó el potencial de multiplicación poblacional hasta senescencia y la expresión de marcadores de superficie representativos de poblaciones MSC.

**Resultados:** Se obtuvieron perfiles de marcadores superficiales correspondientes con MSC. Todas las líneas mostraron cinética adecuada con mantenimiento de capacidad de proliferación extensiva por encima de 30 duplicaciones de población, con tiempos alrededor de 90 días.

**Conclusión:** La obtención de MSCs de orígenes intraorales es una técnica sencilla que dar lugar a poblaciones celulares estables y con perfil fenotípico representativo de células madre estromales.

### Referencias bibliográficas:

Mason, S., Tarle, S.A., Osibin, W., Kinfu, Y. & Kaigler, D. (2014) Standardization and safety of alveolar bone-derived stem cell isolation. *Journal of Dental Research* **93**: 55–61.

Liu, J., Yu, F., Sun, Y., Jiang, B., Zhang, W., Yang, J., Xu, G.T., Liang, A., Liu, S. (2015) Concise reviews: Characteristics and potential applications of human dental tissue-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* **33**: 627-638.

## Pre-pregnancy mother's body mass index associates with offspring cognitive outcomes and gut microbiota

Cerdó T<sup>1,2</sup>, Ruíz A<sup>1,3</sup>, Torres Espínola FJ<sup>1,2</sup>, Jáuregui R<sup>4</sup>, Pérez García M<sup>5</sup>, Suárez A<sup>3</sup>, Campoy C<sup>1,2,6</sup>.

<sup>1</sup> EURISTIKOS Excellence Centre for Paediatric Research, University of Granada, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Paediatrics, University of Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biology. Centre for Biomedical Research. University of Granada. Granada, Spain.

<sup>4</sup> Microbial Interactions and Processes Research Group, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany.

<sup>5</sup> Mind, Brain and Behavior Research Centre (CIMCYC). University of Granada, Granada, Spain.

<sup>6</sup> CIBERESP: National Network of Research in Epidemiology and Public Health. Institute Carlos III (Granada's node). Spain.

Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Objectives and study:** The PREOBE project is an observational cohort study on mother's body mass index (BMI) and their children, among others. In a previous study performed by our group, we observed significant differences in the developmental functioning of infants at 6 and 18 months old.

**Methods:** We studied 122 children at 6 (n=46) and 18 months (n=76) of age, participating in the PREOBE project. Gut microbial phylogenetic composition was analyzed by sequencing 16S rRNA using MySeq (Illumina). Infants' neurodevelopment was performed using Bayley Scales for Infant Development III. Statistical analyses were performed using R, SPSS and Lefse Galaxy.

**Results:** We noted that phylum *Bacteroidetes* was significantly enriched in children with results above the 50th percentile in expressive language and composite language at 6 months in babies born to normal weight pregnant mother. At 6 months, children born to obese pregnant mother with a psychological result above the 50th percentile in expressive language and composite language showed increased abundance of genus *Clostridium XIVa* and *Flavonifractor*. At 18 months, children born to obese pregnant mother with psychological results below 50th percentile in motor test showed increased abundance of genus *Faecalibacterium* and *Unclass\_Prevotellaceae*; when psychological results of children born to obese pregnant mother were above 50th percentile, an increase in abundance of genus *Lactobacillus* and *Dialister* was observed. On the other hand, the children born to normal weight pregnant mother with psychological results above 50th percentile in Motor test showed increased abundance of genus *Clostridium XVIII*, *Clostridium sensu stricto* and *Erysipelotrichaceae incertae sedis*.

**Conclusion:** There are associations between gut microbiota and neurodevelopment, and these associations are different if the mother is lean or obese.

## Implementación de la caracterización de líneas celulares en el biobanco del SSPA: identificación de líneas celulares y detección de micoplasma

De la Puente R<sup>1,3\*</sup>, Aguilar Quesada R<sup>1,2,3,4</sup>, Catalina P<sup>1,2,3,4</sup>, Lucena Aguilar G<sup>1,3,4</sup>, Ligeró G<sup>1,3,4</sup>, Rodríguez Maresca M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Granada.

<sup>2</sup> Plataforma Red Nacional de Biobancos-ISCIII.

<sup>3</sup> Plataforma de Recursos Biomoleculares y Bioinformáticos-ISCIII.

<sup>4</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Ibs Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

El establecimiento de líneas celulares continuas de tejidos humanos normales y tumorales es una metodología útil para la caracterización molecular de fisiopatología y el desarrollo de medicamentos contra el cáncer. El intercambio de estas células entre los diferentes laboratorios de investigación es una práctica común que puede comprometer la fiabilidad de los ensayos debido a la posible contaminación con microorganismos tales como micoplasmas o células de diferentes viales que comprometen la reproducibilidad y fiabilidad de los experimentos. La comunidad científica ha subestimado este problema y miles de experimentos de investigación realizados con líneas celulares acarrearán una identificación incorrecta y muchas conclusiones científicas son erróneas. Son necesarias ciertas pruebas de identificación y contaminación de forma rutinaria con el fin de evitar las consecuencias negativas. Los bancos de células generan, almacenan y distribuyen líneas celulares para la investigación, siendo obligatorio un programa de calidad continuo y consistente. En el Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía se han desarrollado métodos de implementación para garantizar los principales problemas: la ausencia de micoplasma y la identificación correcta de las líneas celulares suministradas.

De forma específica, se han obtenido resultados basados en la utilización de la PCR en tiempo real para la detección de micoplasma y el análisis de 10 STRs mediante electroforesis capilar para la identificación de líneas celulares. En este trabajo se discuten las ventajas y desventajas de la utilización de estos procedimientos.

### Referencias bibliográficas:

Armstrong SE, Mariano JA et al (2010) The scope of mycoplasma contamination within the biopharmaceutical industry. *Biologicals* 38(2):211–213.

Buehring GC, Eby EA et al (2004) Cell line cross-contamination: How aware are Mammalian cell culturists of the problem and how to monitor it? *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 40(7):211–215.

Butler JM (2006) Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J Forensic Sci* 51(2):253–265.

Cardoso S, Valverde L et al (2010) Quality standards in biobanking: authentication by genetic profiling of blood spots from donor's original sample. *Eur J Hum Genet* 18(7):848–851

Christine Alston-Roberts RB, Bauer Steven R, Butler John, Capes-Davis Amanda, Dirks Wilhelm G, Elmore Eugene, Furtado Manohar, Kerrigan Liz, Kline Margaret C, Kohara Arihiro, Los Georgyi V, MacLeod Roderick A F, Masters John R W, Nardone Mark, Nardone Roland M, Nims Raymond W, Price Paul J, Reid Yvonne A, Shewale Jaiprakash, Steuer Anton F, Storts Douglas R, Sykes Gregory, Taraporewala Zenobia, Thomson Jim (2010) Cell line misidentification: the beginning of the end. *Nat Rev Cancer* 10(6):441–448.

Drexler HG, Dirks WG et al (2017) False and mycoplasma-contaminated leukemia-lymphoma cell lines: time for a reappraisal. *Int J Cancer* 140(5):1209–1214

Huang Y, Liu Y et al (2017) Investigation of cross-contamination and misidentification of 278 widely used tumor cell lines. *PLoS ONE* 1 (1):e0170384.

## Toxicity of radiotherapy is enhanced by high concentration of melatonin in head and neck cancer cells

Fernández Gil BL<sup>1\*</sup>, Guerra Librero A<sup>1</sup>, Shen YQ<sup>1</sup>, Florido J<sup>1</sup>, Sayed RK<sup>1</sup>, Mendivil Pérez MA<sup>2</sup>, Soto VM<sup>2</sup>, Martínez Ruiz L, Adan C, González Díez M<sup>1</sup>, Acuña Castroviejo D<sup>1</sup>, Escames G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación Biomédica, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada, Avda. del Conocimiento s/n, 18016 Granada (Spain).

<sup>2</sup> Grupo de Neurociencias de Antioquia, Sede de investigación Universitaria. Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia).

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Background:** By using a melatonin's gel that protects normal cells from oral mucositis induced by radiotherapy, we questioned about how melatonin affects tumoral cells. As reported, radiotherapy acts at different intracellular levels such as nucleus, membranes or mitochondria. The main target for melatonin is the mitochondrion and oncostatic effects of this hormone have been previously described. Therefore, we evaluated whether melatonin can synergize with radiotherapy to enhance the cytotoxic effects of this treatment.

**Materials and Methods:** Cal-27 and SCC-9 tongue cell lines were maintained in DMEM medium, supplemented with 10% fetal bovine serum at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> and 95% air. Cells were irradiated (8 Gy) and treated with melatonin (100, 500 and 1500 µM). The clonogenicity capacity of the cells, proliferative potential (MTT), apoptosis, cell cycle, mitochondrial mass, mitochondrial respiration, ROS production, nitrites and GSH/GSSG levels, as well as antioxidant enzymes activity were assessed. We also studied the potential synergistic effects of the melatonin with irradiation on the induced tumour by using Cal-27 cells in nude mice. Hematoxylin/Eosin staining, immunohistochemical analyses such as Ki-67 (proliferation) and TUNEL assay (apoptosis) were performed to evaluate the tumoral progress. The results were analysed with GraphPad Prism 6 software.

**Results:** The in vitro results showed a rise in the treatment toxicity in a melatonin dose dependent manner, potentiating the cytotoxic effects of the radiotherapy. Furthermore, melatonin acts inhibiting the tumor growth in vivo.

**Conclusion:** High melatonin concentrations enhance the cytotoxicity of radiotherapy in head and neck human cancer.

### Referencias bibliográficas:

Ortiz F, et al. *J. Pineal Res* 2015, 58:34-39

Escames G. et al. *Hum Genetics* 2012, 131:161-173

Supported in part by grant n<sup>o</sup> SAF 2013-49019-P

## Enhancement of chemotherapy by high melatonin concentrations in head and neck cancer

Florido J<sup>1</sup>\*, Fernández Gil BI<sup>1</sup>, Guerra Librero A<sup>1</sup>, Shen YQ<sup>1</sup>, Martínez Ruiz L<sup>1</sup>, García López S<sup>1</sup>, Mendivil Pérez MA<sup>2</sup>, Soto VM<sup>2</sup>, Acuña Castroviejo D<sup>1</sup>, Escames G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación Biomédica, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada, Avda. del Conocimiento s/n, 18016 Granada (Spain).

<sup>2</sup> Grupo de Neurociencias de Antioquia, Sede de investigación Universitaria. Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia).

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Background:** It is well known that chemotherapy, act at different intracellular levels such as nucleus, membranes or mitochondria, which is the main melatonin target. So here, how oncostatic effects of this hormone have been reported, we evaluated whether melatonin can synergize with cisplatin- therapy to enhance the cytotoxic effects of these treatments *in vitro* and *in vivo*. Furthermore, we evaluated the side effects of these treatments in other organs.

**Materials and Methods:** The dose-dependent effects of melatonin were analysed in cisplatin-treated Cal-27 and SCC-9 tongue cell lines. Cells were maintained in DMEM medium, supplemented with 10% FBS at 37 °C. Cells were treated with melatonin (100, 500 and 1000 µM) alone or in combination with 10 µM CDDP. The clonogenicity capacity, mitochondrial mass, ROS production, mitochondrial respiration, proliferative potential (MTT), apoptosis, nitrites levels, as well as antioxidant enzymes activity and western blot, were assessed. We also studied the effects of melatonin with CDDP *in vivo*. Xenografts mice with Cal-27 cells were treated with chemotherapy. Histochemical analyses were performed and immunohistochemical proliferation assays were performed. We evaluated LPO and nitrites levels in lung, liver, kidney and heart to analyse side effects of the treatment.

**Results:** Melatonin produces an increase in the cytotoxic effects of chemotherapy *in vitro*. Melatonin also acts inhibiting the tumour growth and protecting other tissues from chemotherapeutic agents *in vivo*.

**Conclusion:** High melatonin concentrations potentiate the cytotoxic effect of CDDP *in vitro* and *in vivo*.

### Referencias bibliográficas:

Fernández-Gil B, et al. *Plos One* 2017; 12: e0174474.61-173

Abdel Moneim AE, et al. *Int J Mol Sci* 2017; 18(5). doi: 10.3390/ijms18051003.

Ortiz F, et al. *J Pineal Res* 2015; 58: 34-49



## ***ADAMDEC1*, *EDNRB* AND *PTGS1/COX1*, inflammation genes upregulated in the intestinal mucosa of obese rats, are downregulated by three probiotic strains**

**Robles Sánchez C<sup>1,2,3\*</sup>, Plaza Díaz J<sup>1,2,3</sup>, Abadía Molina F<sup>4</sup>, Morón Calvente V<sup>4</sup>, Sáez Lara MJ<sup>2,5</sup>, Ruiz Bravo A<sup>6</sup>, Jiménez Valera M<sup>6</sup>, Gil Á<sup>1,2,3,7</sup>, Gómez Llorente C<sup>1,2,3,7</sup>, Fontana L<sup>1,2,3,#</sup>.**

<sup>1</sup> Dept. Biochemistry and Molecular Biology II, School of Pharmacy, Granada.

<sup>2</sup> Institute of Nutrition and Food Technology "José Mataix", Biomedical Research Center, Armilla, Granada.

<sup>3</sup> IBS.GRANADA.

<sup>4</sup> Dept. Cell Biology, School of Sciences, Granada.

<sup>5</sup> Dept. Biochemistry and Molecular Biology I, School of Sciences, Granada.

<sup>6</sup> Dept. Microbiology, School of Pharmacy, Granada.

<sup>7</sup> CIBEROBN, Madrid.

Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

We have previously reported that administration of *Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036 to obese Zucker-Lepr<sup>fa/fa</sup> rats attenuates liver steatosis and exerts anti-inflammatory effects. The goal of the present work was to investigate the modulation of gene expression in intestinal mucosa samples of obese Zucker-Lepr<sup>fa/fa</sup> rats fed the probiotic strains using a DNA microarray and postgenomic techniques. We also measured secretory IgA content in the gut and lipopolysaccharide (LPS)-binding protein (LBP) in serum. Expression of three genes (*Adamdec1*, *Ednrb* and *Ptgs1/Cox1*) was up-regulated in the intestinal mucosa of the obese rats compared with that in the rats when they were still lean. Probiotic administration down-regulated expression of *Adamdec1* and *Ednrb* at the mRNA and protein levels and that of *Ptgs1/Cox1* at the mRNA level, and this effect was in part mediated by a decrease in both macrophage and dendritic cell populations. Probiotic treatment also increased secretory IgA content and diminished the LBP concentration. Based on results reported in this work and elsewhere, we propose a possible mechanism of action for these bacterial strains.

## Immunomodulatory effect of minocycline in intestinal inflammation

**Garrido Mesa J\*, Vezza T, Hidalgo García L, Díaz Echave P, Rodríguez Nogales A, Algieri F, Camuesco D, Utrilla MP, Rodríguez Cabezas ME, Garrido Mesa N, Gálvez J.**

*CIBER-EHD & IBIS, CIBM, University of Granada, Granada, Spain.*

*Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

Minocycline exerts specific immunomodulatory effects on macrophages that could underlay its beneficial action in intestinal inflammation[1]–[4]. The aim of the study was to evaluate the impact of minocycline on the course of the inflammatory response in DSS-colitis model in mice.

Colitis was induced in male C57BL/6J mice by DSS administration in the drinking water (3%) for 5 days. Then, one group received minocycline (50 mg/kg/day) while colitic- and healthy-control groups were given water. Mice were sacrificed after 2 and 4 days of treatment. The effect was evaluated by a disease activity index, histology, gene expression and cytokine production, and the analysis of leukocyte populations, from colonic lamina propria and blood, by FACS.

Minocycline treatment improved the recovery of colitic mice, increasing mucosa barrier protection. However, some immune pathways were potentiated, especially after 2 days of treatment, which explains the immune changes observed at day 4: an increase in type-2 immune response, with increased eosinophils and Th2 populations; increased dendritic cells and macrophages, the latter showing a bias towards homeostatic phenotypes; and increased Tregs and Th17, while neutrophils were reduced. This effect was also characterized by increased production of IL-22 and GM-CSF, and up-regulation of Alox15 expression, involved in the synthesis of pro-resolving lipid mediators.

Minocycline accelerates mucosal healing and resolution[5]–[7] of acute intestinal inflammation, inducing regulatory and type-2 responses, which prevents the deleterious consequences of prolonged inflammation-associated tissue damage[8].

These immunomodulatory properties could be of great interest to face intestinal inflammatory disorders.

### Referencias bibliográficas:

[1] N. Garrido-Mesa, A. Zarzuelo, and J. Gálvez, "What is behind the non-antibiotic properties of minocycline?," *Pharmacol. Res.*, vol. 67, no. 1, pp. 18–30, Jan. 2013.

[2] N. Garrido-Mesa et al., "The intestinal anti-inflammatory effect of minocycline in experimental colitis involves both its immunomodulatory and antimicrobial properties," *Pharmacol. Res.*, vol. 63, no. 4, pp. 308–319, Apr. 2011.

[3] C. R. Dunston, H. R. Griffiths, P. A. Lambert, S. Staddon, and A. B. Vernallis, "Proteomic analysis of the anti-inflammatory action of minocycline," *Proteomics*, vol. 11, no. 1, pp. 42–51, Jan. 2011.

[4] L. Bonjoch, S. Gea-Sorlí, J. Jordan, and D. Closa, "Minocycline inhibits peritoneal macrophages but activates alveolar macrophages in acute pancreatitis," *J. Physiol. Biochem.*, vol. 71, no. 4, pp. 839–846, Dec. 2015.

[5] N. Gagliani et al., "Th17 cells transdifferentiate into regulatory T cells during resolution of inflammation," *Nature*, vol. 523, no. 7559, pp. 221–225, Jul. 2015.

[6] A. L. Alessandri, L. P. Sousa, C. D. Lucas, A. G. Rossi, V. Pinho, and M. M. Teixeira, "Resolution of inflammation: mechanisms and opportunity for drug development," *Pharmacol. Ther.*, vol. 139, no. 2, pp. 189–212, Aug. 2013.

[7] M. Cintolo, G. Costantino, S. Pallio, and W. Fries, "Mucosal healing in inflammatory bowel disease: Maintain or de-escalate therapy," *World J. Gastrointest. Pathophysiol.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–16, Feb. 2016.

[8] W. C. Gause, T. A. Wynn, and J. E. Allen, "Type 2 immunity and wound healing: evolutionary refinement of adaptive immunity by helminths," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 13, no. 8, pp. 607–614, 2013.

## Is the DNA methylation state associated to sequence variation?

Gómez Martín C<sup>1,2\*</sup>, Lebrón R<sup>1,2</sup>, Oliver JL<sup>1,2</sup>, Hackenberg M<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Dpto de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Campus de Fuentenueva s/n, 18071, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Lab. De Bioinformática, Centro de Investigación Biomédica, PTS, Instituto de Biotecnología, Avda. del Conocimiento s/n, Granada, Spain.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Gene expression in eukaryotes is a regulated process taking place both at the pre- and post-transcriptional level. Prior to transcription, the chromatin state changes mainly due to several epigenetic marks such as the addition of methyl-groups to either DNA or histones. Once the promoter and other regulatory regions are accessible, the transcription level is determined by a complex network of transcription factors (TFs).

Mammalian genomes are characterized by its global methylation, with the exception of CpG islands (CGIs). It is known that hyper-methylated CGIs silence the corresponding gene in a stable way<sup>1</sup>. Nevertheless, it is much less clear if the absence of methylation is a direct consequence of active transcription or if, on the contrary, it is a regulated process.

Moreover, there are many examples indicating that genetic variation (SNPs) can affect gene expression and the DNA methylation state<sup>2,3</sup>. While the influence on gene expression of SNPs that manipulate a transcription factor binding site (TFBS) is well established, the relationship between sequence variation and DNA methylation is less well understood.

In order to check if a particular genotype at a given locus can influence the DNA methylation of the corresponding region, we first generated the whole genome methylation maps and the corresponding genotype of 55 human samples. We found 193,676 SNPs that are statistically associated to the methylation state of one or more cytosines, sometimes located far away from the corresponding SNP. Future work will be directed to the characterization of these SNPs in a genome context.

### Referencias bibliográficas:

1. Jones, P. a. *Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond*. *Nat. Rev. Genet.* **13**, 484–92 (2012).

2. Bell, J. T. et al. *DNA methylation patterns associate with genetic and gene expression variation in HapMap cell lines*. *Genome Biol.* **12**, R10 (2011).

3. Jones, M. J., Fejes, A. P. & Kobor, M. S. *DNA methylation, genotype and gene expression: who is driving and who is along for the ride?* *Genome Biol.* **14**, 126 (2013).

## Musashi-1 en regeneración ósea tras elevación de seno maxilar

González de Buitrago JE<sup>1\*</sup>, Padial Molina M<sup>1</sup>, Farias VA<sup>2</sup>, Couso Queiruga E<sup>1</sup>, O'Valle F<sup>3</sup>, Galindo Moreno P<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Estomatología.

<sup>2</sup> Instituto de Biomedicina Regenerativa (IBIMER).

<sup>3</sup> Departamento de Anatomía Patológica e IBIMER.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Universidad de Granada.

**Introducción:** Musashi-1 (Msi1) es una proteína de unión a ARN que ha sido apenas analizada en tejido óseo. En otros campos se ha descrito su papel en el control de la proliferación y diferenciación de las células progenitoras.

**Objetivos:** Comparar la expresión de Msi1 en hueso maxilar posterior nativo con hueso regenerado en esa misma zona.

**Materiales y Métodos:** Se obtuvieron biopsias óseas del maxilar posterior (no injertado) durante la colocación de implantes en esa localización. También se obtuvieron biopsias de esa zona en pacientes a los que se les había sometido a regeneración ósea 6 meses antes mediante elevación del seno maxilar, utilizando hueso autógeno/xenoinjerto (1:1). Tras el procesamiento de las muestras, se realizó el estudio histológico e inmunohistoquímico. Otro grupo de biopsias fue utilizado para análisis de ARNm mediante PCR cuantitativa.

**Resultados:** Msi1 se detectó en el 97% de las biopsias de hueso injertado frente al 67% en hueso nativo. En zonas injertadas Msi1 se localizó principalmente en células madre mesenquimales y esta expresión fue significativamente mayor que en hueso nativo. Los niveles de ARNm fueron también mayores en las biopsias de tejido óseo injertado que en las de hueso nativo.

**Conclusión:** Msi1 parece intervenir en la regeneración ósea estimulando la proliferación de las células madre mesenquimales en ese tejido. Un mayor conocimiento del comportamiento de esta proteína en la cicatrización ósea podría permitir su uso como marcador de la maduración de un injerto o incluso como potenciador exógeno de la misma.

### Referencias bibliográficas:

Galindo-Moreno, P., Avila, G., Fernández-Barbero, J. E., Aguilar, M., Sánchez-Fernández, E., Cutando, A., & Wang, H. (2007). Evaluation of sinus floor elevation using a composite bone graft mixture. *Clinical Oral Implants Research*, 18(3), 376-382.

Hong, I., Lee, H., Choi, S., Kim, H., Yu, K., Seo, Y., . . . Kang, K. (2013). The effects of hedgehog on RNA binding protein Msi1 during the osteogenic differentiation of human cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Bone*, 56(2), 416-425. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2013.07.016>

Horisawa, K., Imai, T., Okano, H., & Yanagawa, H. (2010). The musashi family RNA-binding proteins in stem cells. *Biomolecular Concepts*, 1(1), 59-66. doi:<http://dx.doi.org/10.1515/bmc.2010.005>

Imai, T., Tokunaga, A., Yoshida, T., Hashimoto, M., Mikoshiba, K., Weinmaster, G., Okano, H. (2001). The neural RNA-binding protein Musashi1 translationally regulates mammalian numb gene expression by interacting with its mRNA. *Molecular and Cellular Biology*, 21(12), 3888-3900.

Nagata, T., Kanno, R., Kurihara, Y., Uesugi, S., Imai, T., Sakakibara, S. Katahira, M. (1999). Structure, backbone dynamics and interactions with RNA of the C-terminal RNA-binding domain of a mouse neural RNA-binding protein, Musashi1. *Journal of Molecular Biology*, 287(2), 315-330. doi:10.1006/jmbi.1999.2596

## Metabolic switch produced by melatonin at high concentration induces apoptosis in cancer

Guerra Librero A<sup>1</sup>, Fernandez Gil BL<sup>1</sup>, Florido J<sup>1</sup>, Shen YQ<sup>1</sup>, Martinez Ruiz L<sup>1</sup>, Garcia Lopez S<sup>1</sup>, Molina Navarro MM<sup>2</sup>, Garcia Verdugo JM<sup>2</sup>, Acuña Castroviejo D<sup>1</sup>, Escames G<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación Biomédica, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada, Avda. del Conocimiento s/n, 18016 Granada (Spain).

<sup>2</sup> Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biologia Evolutiva, Carrer Catedrático José Beltrán Martínez n<sup>o</sup>2, 46980 Paterna, València (Spain).

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Background:** Cancer cells have some special features that give them the ability to change and resist different types of treatments. These changes are produced by modifications in the mitochondrial bioenergetics, that is a switch in the metabolism. Melatonin has oncostatic effects, but its mechanism of action is not well known. Our objective was to analyse whether the mitochondria and the metabolism are involved in the oncostatic effects of melatonin.

**Materials and Methods:** The effects of high concentrations of melatonin (100  $\mu$ M, 500  $\mu$ M, and 1500  $\mu$ M) were evaluated in Cal-27 cell lines. Cells were cultured in DMEM supplemented with 10% FBS at 37°C. Cells were treated with melatonin for 1, 3 and 5 days. The following parameters were analysed: proliferation, apoptosis, mitochondrial mass, electron microscopy, mitochondrial respiratory capacity, ROS production, activity of antioxidant enzymes and metabolomics study. Moreover, the *in vivo* oncostatic effect of melatonin was assessed in mice with Cal-27 xenografts. Mice were treated with melatonin (300 mg/kg s.c.) for 21 days. Immunohistochemical and MRI studies were performed. Finally, toxicity study of melatonin was performed using C57BL/6J with melatonin at high concentration for 6 months.

**Results:** The results showed that melatonin induced a switch to aerobic mitochondrial metabolism that increased the ROS production, inducing cancer cell apoptosis. Melatonin also showed an oncostatic effect and histological changes. Melatonin did not show any side effects in healthy mice.

**Conclusion:** Mitochondrial changes induced by melatonin lead to a metabolic switch in cancer cells inducing cellular death but didn't affect normal tissues.

### Referencias bibliográficas:

Ortiz F, et al. *J Pineal Res* 2015; 58: 34-49

Escames G, et al. *Hum Genetics* 2012; 131:161-173

## Revealing the immunomodulatory effect second-generation tetracyclines exert on macrophages

Hidalgo García L, Garrido Mesa J, Camuesco D, Rodríguez Cabezas ME, Gálvez J.

*Department of Pharmacology, CIBER-EHD, IBS.GRANADA, CIBM, University of Granada, Granada (Spain).  
Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

**Introduction:** although tetracyclines have been traditionally used because of their bacteriostatic properties, some of them have shown immunomodulatory properties. This has boosted the interest to use them in the treatment of various diseases, being inflammatory bowel disease (IBD) of remarkable interest (1).

**Objective:** even though tetracyclines have already shown anti-inflammatory properties in murine models of IBD, their effects on macrophages, a cell type that plays a key role in the development of the inflammatory process, is not well established (2,3). Thus, the objective was to characterize the effects of tetracyclines in a primary cell culture of Bone Marrow-Derived Macrophages (BMDM) from mice.

**Materials and Methods:** cultured BMDM were seeded in 24-well and 6-well plates at a density of  $5 \cdot 10^5$  cells/well. When confluency was reached, they were pre-treated with second-generation tetracyclines during 24 h, then cells were stimulated with LPS (10 ng/mL). After that, biochemical tests were carried out to study the differences in mRNA expression, protein and nitrites production and cellular viability.

**Results:** the obtained results showed antagonistic properties of tetracyclines over this cell type. On one hand, they downregulate iNOS expression, reducing  $\text{NO} \cdot$  production after LPS stimulation. However, they enhanced the expression and production of pro-inflammatory mediators released during the immune response.

**Conclusion:** in order to clarify how tetracyclines impact the activity in this cell type, it is necessary to continue performing new studies. This line of research could reveal tetracyclines as a new class of macrophage modulators, raising their interest for the management of pathologies where these cells play an active role.

### *Referencias bibliográficas:*

- 1.- Sapadin, A. N. & Fleischmajer, R. *J. Am. Acad. Dermatol.* 54, 258–265 (2006).
- 2.- Kloppenburg, M. *et al. Antimicrob. Agents Chemother.* 40, 934–940 (1996).
- 3.- D'Agostino, P. *et al. Eur. J. Pharmacol.* 346, 283–290 (1998).

## **SOX9 Y SOX8 mantienen el fenotipo del testículo adulto y evitan la reprogramación genética de macho a hembra**

**Hurtado A\*, Barrionuevo F, Kim GJ<sup>1</sup>, Palomino R, Real FM, Carmona FD, Scherer GD<sup>1</sup>, Burgos M, Jiménez R.**

*Departamento de Genética, Universidad de Granada*

<sup>1</sup>*Institute of Human Genetics, University of Freiburg, Germany*

*Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

El mantenimiento del sexo en mamíferos implica que determinados genes clave deben permanecer activos en las gónadas diferenciadas de ambos sexos para evitar la reprogramación genética hacia el sexo opuesto, como se ha descrito en ovarios adultos tras la ablación de *Foxl2*. *Dmrt1* tiene un papel similar en testículos postnatales, pero no se conoce su implicación en el mantenimiento del testículo adulto. Del mismo modo, *Sox9* y *Sox8* son necesarios para la fertilidad masculina postnatal, sin embargo, su función en el testículo adulto no ha sido investigada. Nosotros hemos demostrado que tras la delección de *Sox9* en células de Sertoli adultas de ratones fértiles *Sox8*<sup>-/-</sup>, se produce la reprogramación genética de testículo a ovario y las células de Sertoli se transdiferencian en células de la granulosa, que expresan *Foxl2*. Los testículos regresionan progresivamente culminando con la degeneración completa de los túbulos seminíferos, que llegan a ser acelulares y aparecen espacios vacíos en una matriz de células de Leydig. La proteína DMRT1 sólo permanece en las células no mutantes, indicando que *Sox9* y *Sox8* mantienen la expresión de *Dmrt1* en el testículo adulto y, además, ambos genes aseguran la integridad del testículo controlando la expresión de proteínas estructurales y protegiendo a las células de Sertoli de la apoptosis temprana. Concluyendo, nuestro estudio ha aportado fuertes evidencias de que, además de su papel crucial durante el desarrollo testicular, *Sox9*, junto a *Sox8* y coordinadamente con *Dmrt1*, controla el mantenimiento del testículo adulto.

### *Referencias bibliográficas:*

*Matson CK, Murphy MW, Sarver AL, Griswold MD, Bardwell VJ, Zarkower D. DMRT1 prevents female reprogramming in the postnatal mammalian testis. Nature. 2011a;476:101–104. doi: 10.1038/nature10239.*

*Uhlenhaut NH, Jakob S, Anlag K, Eisenberger T, Sekido R, Kress J, Treier AC, Klugmann C, Klasen C, Holter NI, Riethmacher D, Schütz G, Cooney AJ, Lovell-Badge R, Treier M. Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. Cell. 2009;139:1130–1142. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.021.*

*Barrionuevo FJ, Hurtado A, Kim GJ, Real FM, Bakkali M, Kopp JL, Sander M, Scherer G, Burgos M, Jiménez R. Sox9 and Sox8 protect the adult testis from male-to-female genetic reprogramming and complete degeneration. eLife. 2016; 5: e15635. doi: 10.7554/eLife.15635*

## La experiencia previa de un alto reforzador produce un mayor consumo de alcohol en ratas

Jiménez García AM<sup>1,2\*</sup>, Ruiz Leyva L<sup>1,2</sup>, Morón I<sup>1,3</sup>, Cendán CM<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Psicobiología. Universidad de Granada (España).

<sup>2</sup> Departamento de Farmacología. Instituto de Neurociencias F. Olóriz. Universidad de Granada (España).

<sup>3</sup> Centro de Investigación Mente, Cerebro y Comportamiento (CIMCYC), Universidad de Granada (España).

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

El abuso de alcohol es una de las principales causas de importantes problemas sociales, económicos y de salud en todo el mundo. Algunas investigaciones indican que pueden deberse a que el alcohol actúa como un reforzamiento negativo de tal manera que reduce un estado emocional aversivo que se desea reducir (Manzo et al., 2014) o como un reforzamiento positivo asociado a experiencias positivas (Ortega et al., 2014). En el presente estudio se ha tratado de demostrar si el consumo de alcohol tras la experiencia de frustración (inducida mediante el paradigma denominado Contraste Sucesivo Negativo Instrumental o CSNi) produce alguna variación en el consumo de alcohol (Papini, 2009). Se utilizaron 36 ratas Wistar macho divididas en 4 grupos dependiendo de si iban a ser frustradas (grupos experimentales 72-12) o no (grupos control 12-12) durante el CSNi. Asimismo, se manipuló si recibían etanol (E) o agua (A) en las dos horas posteriores al procedimiento conductual. El experimento consistió en un total de 13 días de los cuales 10 formaban parte de la fase precambio (acceso a 12 ó 72 pellets) y 3 formaban parte de la fase postcambio (acceso a 2 pellets). Se ha encontrado frustración independiente de la sesión y un consumo significativamente superior en el grupo 72-12/E con respecto al 12-12/E a partir del quinto día precambio. No se encontraron diferencias en el consumo de agua. Los resultados sugieren que los *pellets* puedan estar actuando como un reforzador positivo que se ha condicionado al consumo de alcohol incrementando el mismo. Los mecanismos subyacentes a estos efectos siguen siendo identificados.

### Referencias bibliográficas:

Manzo, L., Gómez, M. J., Callejas-Aguilera, J. E., Fernández-Teruel, A., Papini, M. R., & Torres, C. (2014). Anti-anxiety self-medication induced by incentive loss in rats. *Physiology and Behavior*, 123, 86–92.

Papini, M. R. (2009). *Psicología comparada: Evolución y desarrollo del comportamiento*. Bogotá: Manual moderno. Aprendizaje y comportamiento infantil 449- 453

Ortega, L. A., Norris, J. N., Lopez-Seal, F., Ramos, T., & Papini, M. R. (2014). Correlates of recovery from incentive downshift: A 17 preliminary selective breeding study. *International Journal of Comparative Psychology*, 27(2).



## Enriquecimiento selectivo de subpoblaciones de células madre cancerígenas basado en el secretoma de células madre mesenquimales.

Jiménez G<sup>1,2,3\*</sup>, Hackenberg M<sup>4,5</sup>, Catalina P<sup>6</sup>, Boulaiz H<sup>1,2,3</sup>, García MA<sup>1,2,7</sup>, Perán M<sup>1,8</sup>, López Ruiz E<sup>1,8</sup>, Ramírez A<sup>2,9</sup>, Morata Tarifa C<sup>1,2,10</sup>, Carrasco E<sup>1</sup>, Aguilera M<sup>2,11</sup>, Marchal JA<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup> Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research (CIBM), University of Granada, Granada E-18100, Spain.

<sup>2</sup> Biosanitary Research Institute of Granada (ibs.GRANADA), University Hospitals of Granada-University of Granada, Granada, E-18071, Spain.

<sup>3</sup> Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, E- 18016, Spain.

<sup>4</sup> Department of Genetic, Faculty of Science, University of Granada, Granada E-18001, Spain.

<sup>5</sup> Laboratory of Bioinformatics, Centre for Biomedical Research (CIBM), University of Granada, Granada E-18100, Spain.

<sup>6</sup> Andalusian Public Health System Biobank, Centre for Biomedical Research (CIBM), Ministry of Health-University of Granada, Granada E-18100, Spain.

<sup>7</sup> Department of Oncology, University Hospital Virgen de las Nieves, Granada E-18014, Spain.

<sup>8</sup> Department of Health Sciences, University of Jaén, Jaén E-23071, Spain.

<sup>9</sup> Houston Methodist Cancer Center, Houston, TX 77030, USA.

<sup>10</sup> Braman Family Breast Cancer Institute, UM Sylvester Comprehensive Cancer Center, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Florida, FL 33136, USA.

<sup>11</sup> Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Granada E-18071, Spain. Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

Las células madre cancerígenas (CSCs) son responsables del inicio, metástasis y recurrencia del cáncer. Sin embargo, el papel desempeñado por las células tumorales diferenciadas y el microambiente es crucial durante la tumorigénesis. En este estudio, hemos analizado el medio condicionado (CM) obtenido a partir de células madre mesenquimales (MSCs) para establecer su papel en el enriquecimiento y mantenimiento de las CSCs. Nuestros resultados apoyan la capacidad del secretoma de las MSCs para facilitar la selección y el mantenimiento de las subpoblaciones de CSCs que se caracterizan por presentar: (i) alta expresión de marcadores superficiales característicos de CSCs y actividad de la enzima ALDH1, (ii) baja tasa de proliferación, con detección del ciclo celular en fase G1, (iii) un aumento de la expresión de genes de pluripotencia (NANOG, SOX2, OCT4 y KLF4), (iv) la capacidad de desarrollar un proceso tumoral y retener *in vivo* la expresión de marcadores y genes de pluripotencia asociados a las CSCs. El posterior análisis del secretoma de las MSCs mostró cuatro citoquinas relevantes (IL6, IL8, IL12 e IL23) y siete factores de crecimiento (EGF, FGF, GM-CSF, HGF, MCSF, VEGF y PlGF1) para el enriquecimiento de las CSCs, siendo la combinación de IL6 y HGF la que mejores resultados presentó. En este trabajo se describe un nuevo medio de cultivo basado en la combinación de IL6 y HGF que permite enriquecer y mantener en cultivo durante largos periodos de tiempo las CSCs.

### Referencias bibliográficas:

Patent: Culture medium and method for enriching and maintaining cancer stem cells (cscs) using said medium Ref: ES201400666- PCT/ES2015/070606 / WO2016/020572

Mimeault, M. & Batra, S. K. Molecular Biomarkers of Cancer Stem/Progenitor Cells Associated with Progression, Metastases, and Treatment Resistance of Aggressive Cancers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2014; 23, 234–254.

Vermeulen, L., de Sousa e Melo, F., Richel, D. J. & Medema, J. P. The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities. *Lancet. Oncol.* 2012; 13, e83–9

Bremnes, R. M. et al. The role of tumor stroma in cancer progression and prognosis: emphasis on carcinoma-associated fibroblasts and non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2011; 6, 209–17.

## **Gut microbiota is involved in the of blood pressure control in spontaneously hypertensive rats**

**Jiménez R<sup>1,2,3,5\*</sup>, Toral M<sup>1</sup>, Sánchez M<sup>1,2</sup>, Romero M<sup>1,2</sup>, Robles Vera I<sup>1</sup>, Gómez Guzmán M<sup>1</sup>, Rodriguez Nogales A<sup>1,2</sup>, Algieri F<sup>1,2</sup>, De la Visitación N<sup>1</sup>, Gálvez J<sup>1,2,4,5</sup>, Duarte J<sup>1,2,3</sup>.**

<sup>1</sup> *Department of Pharmacology, School of Pharmacy, University of Granada, 18071- Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, ibs.GRANADA, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *CIBERCV, Granada, Spain.*

<sup>4</sup> *CIBER-EHD, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>5</sup> *Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

The aim of this study was to investigate whether changes in gut microbiota induce changes in vascular tone and SBP by altering brain-gut-bone marrow (BM) interactions. Fecal contents were collected and pooled from twenty week old spontaneously hypertensive rats (SHR) and normotensive Wistar-Kyoto (WKY) rats. Recipient WKY and SHR (25 weeks old) were orally gavaged with donor fecal contents for 3 consecutive days, and weekly during 4 weeks. Four groups were involved in this study: WKY with WKY microbiota (W-W), WKY with SHR (W-S), SHR with SHR (S-S) and SHR with WKY (S-W). Fecal microbiota transplantation (FMT) from WKY rats to SHR rats reduced basal SBP. Similarly, FMT from SHR to WKY increased basal SBP. The higher reduction on SBP after ganglionic blockade and plasma noradrenaline levels found in S-S group as compared to W-W group were reduced in S-W group, whereas in W-S these variables were also higher than that in W-W group. In S-S group mRNA levels of gap junction proteins and pro-inflammatory cytokines in the proximal colon were reduced and increased, respectively, as compared to W-W group and these changes were inhibited in S-W group. Relaxation induced by acetylcholine was impaired in aortic rings from S-S as compared to W-W and improved in S-W. S-W restored imbalance between Th17/Treg found S-S in mesenteric lymph nodes (MLN) and BM.

Relaxation induced by acetylcholine was higher in aortic rings from Wistar rats after incubation with the condition media of lymphocytes from MLN of S-W group, as compared with the condition media from S-S. In conclusion, gut dysbiosis disrupts gut barrier function and increases sympathetic outflow. The central and endothelial effects, that increase vascular tone and SBP, seem to be associated with T cell infiltration, possibly as a result of a change in T cells polarization in MLN and BM.

## Efecto de microvesículas bacterianas sobre células madre estromales de origen intraoral

Liñan Velasquez J<sup>1\*</sup>, Padial Molina M<sup>2</sup>, Farias VA<sup>1</sup>, Barba Domínguez F<sup>1</sup>, Olaechea A<sup>1</sup>, O'Valle F<sup>3</sup>, Galindo Moreno P<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Biomedicina Regenerativa (IBIMER).

<sup>2</sup> Departamento de Estomatología.

<sup>3</sup> Departamento de Anatomía Patológica e IBIMER.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Unniversidad de Granada, Granada, España.

Universidad de Granada.

**Introducción:** *Fusobacterium nucleatum* es una bacteria anaerobia Gram-negativa asociada con la enfermedad periodontal. La interacción entre huésped y microorganismos es fundamental en el desarrollo de la enfermedad por la respuesta inflamatoria que se desencadena. Las bacterias, al igual que otros tipos celulares, son capaces de liberar microvesículas (OMVs) al espacio extracelular. Estas microvesículas pudieran modificar la capacidad inmunomoduladora de las células madre estromales presentes en el ligamento periodontal (PDLSC).

**Objetivos:** Aislar y caracterizar OMVs procedentes de *F. nucleatum* y evaluar su efecto sobre PDLSC.

**Materiales y Métodos:** Se cultivó *F. nucleatum* en ambiente anaeróbico a 37°C en medio TBS. Tras 7 días, el cultivo fue sometido a ultracentrifugaciones diferenciales con objeto de precipitar las OMVs. Tras la caracterización de su distribución de tamaños fueron añadidas en distintas concentraciones a cultivos de PDLSC y se evaluó la viabilidad de las mismas mediante MTT.

**Resultados:** Se obtuvo una concentración de OMVs elevada con tamaños similares a los previamente descritos para este tipo de vesículas. El co-cultivo junto con PDLSC indujo una disminución de su viabilidad.

**Conclusión:** Las OMVs procedente de bacterias periodontopatógenas son capaces de inducir modificaciones en cultivos establecidos de PDLSC. Se necesita profundizar en el entendimiento de los mecanismos de modificación de la respuesta celular a las microvesículas bacterianas como potencial mecanismo patogénico añadido a los ya descritos.

*Referencias bibliográficas:*

Schwechheimer, C., Kuehn, M.J. (2015) Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nature Reviews Microbiology* **13**: 605–619.

## Evaluación del daño ocasionado en lípidos, proteínas y ADN por la exposición a nanopartículas de oro. estudio in vitro e in vivo

López Chaves C<sup>1\*</sup>, Sánchez González C<sup>1</sup>, Soto Alvaredo J<sup>2</sup>, Montes Bayón M<sup>2</sup>, Bettmer J<sup>2</sup>, Llopis J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Fisiología. Centro investigación Biomédica. IMUDS. Universidad de Granada, 18071 Granada, España.

<sup>2</sup> Departamento de Química Física y Analítica, Universidad de Oviedo, c/ Julián Clavería 8, 33006 Oviedo, España. Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

El uso de nanopartículas se ha incrementado enormemente en los últimos años gracias a su implicación en aplicaciones como la electrónica<sup>1</sup> o la industria textil<sup>2</sup>, aunque fundamentalmente en el campo biomédico. En este sentido, las nanopartículas de oro (AuNPs) son especialmente útiles para bioimagen<sup>3</sup> o terapias antitumorales<sup>4</sup>. Sin embargo, poco se conoce sobre su toxicidad. Por ello, resulta de vital importancia evaluar los daños que la exposición a estos nanomateriales pudiera ocasionar. Células de carcinoma hepatocelular humano fueron tratadas con 10 ppm de AuNPs de 10, 30 o 60 nm durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se realizó un ensayo de cometa para evaluar el daño en el ADN.

16 ratas macho Wistar fueron divididas en cuatro grupos de estudio: 1 grupo control sin tratamiento y 3 grupos tratados con 0,4 mL/día de una solución de AuNPs de 50 ppm; con un diámetro de 10, 30 o 60 nm.

El tratamiento tuvo una duración de 9 días.

El daño en lípidos fue determinado mediante la medida de peroxidación lipídica, evaluado con una adaptación del protocolo de Ohkawa y colaboradores<sup>5</sup>. El daño proteico fue determinado midiendo grupos carbonilos presentes en las muestras, tras emplear el kit específico Caymal Chemical ©.

El tratamiento *in vitro* e *in vivo* con AuNPs ocasionó daño en los componentes celulares; establecido por los incrementos en la rotura de ADN, y en la producción de

grupos carbonilos y peroxidación lipídica, por lo que es necesaria una evaluación más profunda de estos materiales para su empleo en biomedicina.

### Referencias bibliográficas:

1. Bhowmik D, You L, Salahuddin S. *Nat Nano* **9** (2014) 59
2. Yetisen AK, Manbachi A, Butt H, Dokmeci MR, Hinstroza JP, Skorobogatiy M, Khademhosseini A, Yun SH. *ACS Nano* **10** (2016) 3042
3. Dorsey JF, Sun L, Joh DY, Witztum A, Kao GD, Alonso-Basanta M, Avery S, Hahn SM, Al Zaki A, Tsourkas A. *Transl Cancer Res* **2** (2013) 280
4. Cherukuri P, Curley SA. *Methods Mol Biol* **624** (2010) 359
5. Ohkawa H, Ohishi, Yagi K. *Anal Biochem* **95** (1979) 351

## Descelularización y re-endotelización de vasos sanguíneos para su uso en medicina regenerativa

López Ruiz E<sup>1,2,3</sup>, Perán M<sup>3,4</sup>, Jiménez G<sup>1,2,3</sup>, Venkateswaran S<sup>5</sup>, Pernagallo S<sup>5</sup>, Díaz Mochón JJ<sup>6</sup>, Tura Ceide O<sup>7,8</sup>, Arrebola F<sup>9</sup>, Melchor J<sup>10</sup>, Soto J<sup>10</sup>, Rus G<sup>10</sup>, Real PJ<sup>6</sup>, Chocarro Wrona C<sup>1,2,3</sup>, Diaz Ricart M<sup>11</sup>, Gonzalez AC<sup>5</sup>, Bradley M<sup>3</sup>, Marchal JA<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Anatomía y Embriología Humana. Universidad de Granada, Granada.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria (ibs.GRANADA), Granada.

<sup>3</sup> Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada, Granada.

<sup>4</sup> Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad de Jaén.

<sup>5</sup> School of Chemistry, EaStCHEM, University of Edinburgh, King's Buildings, Edinburgh, UK.

<sup>6</sup> Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía Centro de Genómica e Investigación Oncológica (GENyO).

<sup>7</sup> Departamento de Medicina Pulmonar; Hospital Clínic; Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universidad de Barcelona, Barcelona.

<sup>8</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Madrid, Spain.

<sup>9</sup> Departamento de Histología. Universidad de Granada.

<sup>10</sup> Departamento de Mecánica de Estructuras Campus Universitario de Fuentenueva (Edificio Politécnico), Universidad de Granada, Granada.

<sup>11</sup> Departamento de Hemoterapia y Hemostasia, Hospital Clinic, Centre de Diagnostic Biomedic (CDB), Instituto de Investigación Biomédica August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** Los andamios vasculares descelularizados son materiales prometedores para el reemplazo de vasos sanguíneos <sup>1</sup>. Sin embargo, a pesar del origen natural de los vasos descelularizados, todavía hay que abordar cuestiones como la incompatibilidad biomecánica, los riesgos de inmunogenicidad y los peligros de la formación de trombos <sup>2</sup>. Alternativas como los injertos sintéticos o implantes de vasos autólogos tienen limitada disponibilidad <sup>3</sup>.

**Objetivo:** El principal objetivo de nuestro estudio ha sido desarrollar un modelo de regeneración vascular para la obtención de injertos a partir de arterias descelularizadas con el propósito de mejorar la cobertura endotelial y minimizar la fijación plaquetaria mientras que se mejoran las propiedades mecánicas de los andamios vasculares descelularizados.

**Material y métodos:** Hemos utilizado arterias carótidas de cerdos, a las que se les sometió a un proceso de eliminación de las células (descelularización) mediante el uso de un detergente y una solución enzimática. Posteriormente, se les aplicó en la cara interna un polímero sintético (8g7), patentado recientemente, diseñado para favorecer el crecimiento de células endoteliales. A continuación, se llevó a cabo la re-celularización con células endoteliales humanas procedentes de cordón umbilical.

**Resultados:** Los análisis histológicos, de inmunofluorescencia y de microscopía electrónica (TEM y SEM) demostraron que las arterias mantuvieron su estructura tras el proceso de descelularización y que las células implantadas fueron capaces de crecer en la cara interna del vaso de forma homogénea.

**Conclusión:** En nuestro estudio demostramos por primera vez que el polímero 8g7 favorece la regeneración de la capa endotelial en arterias descelularizadas pudiendo tener futuras implicaciones terapéuticas en vasculopatías <sup>4</sup>.

*Referencias bibliográficas:*

1. Boccafoschi F, Botta M, Fusaro L, Copes F, Ramella M, Cannas M. Decellularized biological matrices: An interesting approach for cardiovascular tissue repair and regeneration. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2015.
2. Sun X, Altalhi W, Nunes SS. Vascularization strategies of engineered tissues and their application in cardiac regeneration. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;96:183-194. doi:10.1016/j.addr.2015.06.001.
3. Chlupác J, Filová E, Bačáková L. Blood vessel replacement: 50 years of development and tissue engineering paradigms in vascular surgery. *Physiol Res*. 2009;58(SUPPL.2):119-140. doi:931918 [pii].
4. López-Ruiz E, Venkateswaran S, Perán M, et al. Poly(ethylmethacrylate-co-diethylaminoethyl acrylate) coating improves endothelial re-population, bio-mechanical and anti-thrombogenic properties of decellularized carotid arteries for blood vessel replacement. *Sci Rep*. 2017;7(1):407. doi:10.1038/s41598-017-00294-6.

# Influencia del pH sobre la inducción de apoptosis en osteoclastos tratados con alendronato

Manzano Moreno FJ<sup>1,2\*</sup>, Ramos Torrecillas J<sup>1,3</sup>, Illescas Montes R<sup>1,4</sup>, García Martínez O<sup>1,3</sup>, Arnett T<sup>5</sup>, Ruiz C<sup>1,3,6</sup>.

<sup>1</sup> Grupo Biosanitario (Bio 277). Departamento de Enfermería. Facultad de Ciencias de la Salud. Instituto Biosanitario (ibs), Granada.

<sup>2</sup> Departamento de Estomatología. Facultad de Odontología. Universidad de Granada.

<sup>3</sup> Departamento de Enfermería. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Granada.

<sup>4</sup> Departamento de Enfermería. Facultad de Enfermería de Melilla. Universidad de Granada.

<sup>5</sup> Department of Cell and Developmental Biology. University College London. Londres, Reino Unido.

<sup>6</sup> Instituto de Neurociencias "Federico Oloriz". Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** Múltiples factores han sido relacionados con la osteonecrosis maxilar por bisfosfonatos (ONB), patología de etiología aún no bien conocida. Su desarrollo ha sido asociado con la acidificación producida por la flora bacteriana de la cavidad oral, con cambios en la angiogénesis, o con alteraciones a nivel de las células óseas, osteoblastos y/o osteoclastos.

**Objetivo:** Analizar la influencia de un descenso del pH (de 7.4 a 7.0) sobre la inducción de apoptosis en osteoclastos cultivados en presencia de alendronato.

**Material y Métodos:** Osteoclastos aislados a partir de células no adherentes de médula ósea de ratón fueron cultivados en discos de dentina con alendronato a la dosis de 5  $\mu$ M y 500 nM. A los 6 días de cultivo se procedió a la acidificación (7.0) del medio mediante HCl (activación del osteoclasto) durante 48 horas. El estudio de apoptosis/necrosis se llevó a cabo mediante el marcaje del osteoclasto con anexina-V/IP, y su posterior análisis mediante citometría de flujo y microscopía confocal. **Resultados y Conclusiones:** Los resultados obtenidos muestran que una bajada del pH a 7.0 en presencia de alendronato a la dosis más elevada (5 $\mu$ M) produce un aumento significativo ( $p=0,03$ ) en el porcentaje de células apoptóticas en comparación con los osteoclastos cultivados a pH 7.4 (grupo control). La disminución del pH podría contribuir al desarrollo de ONB mediante la activación del osteoclasto que da lugar a la liberación y activación del BF unido a los cristales de HA.

## Referencias bibliográficas:

1. Otto S, et al. Osteonecrosis of the jaw: effect of bisphosphonate type, local concentration, and acidic milieu on the pathomechanism. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010 Nov;68(11):2837-45.
2. Xiong Y, et al. Effects of alendronate on the proliferation and osteogenic differentiation of MG-63 cells. *J Int Med Res.* 2009 Mar-Apr;37(2):407-16.
3. Otto S, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: is pH the missing part in the pathogenesis puzzle? *J Oral Maxillofac Surg.* 2010 May;68(5):1158-61.
4. Allen MR, et al. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 May;67(5 Suppl):61-70. Review.
5. Manzano-Moreno FJ, et al. Effect of Clodronate on Antigenic Profile, Growth, and Differentiation of Osteoblast-Like Cells. *J Oral Maxillofac Surg.* 2016 Sep;74(9):1765-70.
6. Manzano-Moreno FJ, et al. High doses of bisphosphonates reduce osteoblast-like cell proliferation by arresting the cell cycle and inducing apoptosis. *J Craniomaxillofac Surg.* 2015 Apr;43(3):396-401.
7. Manzano-Moreno FJ, et al. Nitrogen-containing bisphosphonates modulate the antigenic profile and inhibit the maturation and biomineralization potential of osteoblast-like cells. *Clin Oral Investig.* 2015 May;19(4):895-902.

## Morfología mitocondrial durante el ejercicio físico

**Casuso R\*, Martín Albo J, Nordsborg N, Hebberecht M, Salmerón LM, Huertas JR.**

*Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix Verdú” Laboratorio 116.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

En células cultivadas, las perturbaciones metabólicas que ocurren durante el ejercicio físico influyen sobre los procesos de fusión y fisión mitocondrial, pero no es conocido si el ejercicio de manera aguda altera la morfología mitocondrial y las interacciones de membrana en vivo (Picard et al., 2013). Para estudiar esta alteración hemos analizado biopsias musculares de nadadores tras ejercicio físico agudo, las biopsias se realizaron en reposo, tras series de 50m y 3 h después y tras series de 200 m y 3 h después. Para cuantificar la morfología mitocondrial se usó un enfoque de microscopía electrónica (TEM) con cortes transversales y longitudinales, se analizaron las imágenes utilizando el programa IMAGEJ y se utilizaron como parámetros, para determinar la alteración, form factor, aspect ratio, roundness, circularity. Tras series de 200 m se ha observado un mayor número de mitocondrias ramificadas y complejas (aspect ratio) con respecto a las biopsias analizadas en reposo lo que sugiere que el ejercicio físico agudo puede alterar la morfología de las mitocondrias.

### Referencias bibliográficas:

*Picard, M., Gentil, B. J., McManus, M. J., White, K., St. Louis, K., Gartside, S. E., ... Turnbull, D. M. (2013). Acute exercise remodels mitochondrial membrane interactions in mouse skeletal muscle. Journal of Applied Physiology, 115(10), 1562–1571. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00819.2013>*



## **Implementación de normas bpl en el servicio de experimentación animal/cic. una oportunidad para el desarrollo de I+D+I con empresas**

**Zúñiga JM\*, Braojos JP, Gamarra E, Gonzalez A, Morales B, Muñoz B, Nieto A, Rodriguez A, Rodriguez P, Ruiz C, Urquiza I.**

*Servicio de Unidad de Producción y Experimentación Animal /CIC/CIBM, Armilla, 18071, Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Objetivos:** A menudo nuestros investigadores, a pesar de disponer de los recursos humanos y materiales, no pueden acceder a proyectos y/o contratos con empresas al carecer de procesos de trazabilidad estandarizados. Las BPL son un instrumento para ello, y permiten que los estudios realizados y los productos evaluados obtengan la certificación para poder ser registrados en las diferentes Agencias.

**Ámbito de aplicación:** Instalación de Producción y Experimentación con capacidad para producir y/o mantener modelo animales estandarizados. Se definen y acotan los estudio posibles y programados (*master schedule*). Se parte de un estudio de toxicidad subcrónica de un compuesto de polifenoles rico en hidroxitirosol (OCDE-408).

**Actuaciones:** Se diseñan y establecen cerca de 40 PNTs\* de control (7), desinfección-esterilización (3), técnica experimentales (15), gestión (8) sistema de calidad (4), y otros (9), incluidas las específicas de BPL. Igualmente se certifican y validan 16 equipos incluidos en el Sistema de Barrera de la instalación o destinados a tomas de muestras y/o conservación de estas. Igualmente la validación del HVAC y el SCADA de control integral de la instalación. El proceso está en la fase final de evaluación interna por la empresa auditora (QTI) y pendiente de la certificación final por parte de la AEMPS.

*\*Procedimientos Normalizados de Trabajo*

*Referencias bibliográficas:*

- **Directiva 2004/10/CE<sup>4</sup>**, Aplicación principios BPL y al control de su aplicación

- OCDE. Monografías específicas sobre BPL. [www.oecd.org](http://www.oecd.org)

- **RD 822/1993 y RD 1369/2000**. Principios de BPL. Aplicación de estudios no clínicos sobre sustancias y productos químicos

- **RD 2043/1994 y Orden 14/4/2000**. Inspección y verificación BPL

-AEMPS. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. [www.aemps.gob.es](http://www.aemps.gob.es),

## Mitochondrial dysfunction induces different responses in sulfide metabolism

Mascaraque C<sup>1,2\*</sup>, Ziosi M<sup>3</sup>, Hidalgo Gutiérrez A<sup>1,2</sup>, Barriocanal Casado E<sup>1,2</sup>, Prokisch H<sup>4</sup>, Schuelke M<sup>5</sup>, Quinzii C<sup>3</sup>, López LC<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> *Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Department of Neurology, Columbia University Medical Center, New York, NY, USA.*

<sup>4</sup> *Institute of Human Genetics, Technische Universität München, München, Germany.*

<sup>5</sup> *Department of Neuropediatrics, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Sulfide metabolism in mammalian cells mainly consists of the transsulfuration (biosynthetic) and the hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) oxidation (catabolic) pathways, being the latter one involved in the mitochondrial energy production through the activity of Sulfide:Quinone Oxidoreductase (SQR). Recently, we have reported that under severe CoQ deficiency the levels of SQR are drastically reduced, inducing alteration H<sub>2</sub>S oxidation pathway<sup>1</sup>. Also HEK-293 cells and muscle with depleted mtDNA show an activation of serine biosynthesis and transsulfuration pathway that is dependent on the transcription factor ATF4<sup>2,3</sup>. These data suggest that both the transsulfuration and the H<sub>2</sub>S oxidation pathways are inter-regulated and may respond to mitochondrial dysfunction. Here we evaluate the enzymes of the sulfide metabolism in conditions of mitochondrial dysfunction, sulfur aminoacids availability and changes in SQR. Our results show that mitochondrial dysfunction does not induce an uniform and common response in the sulfide metabolism and is not dependent of the sulfur aminoacids availability. Furthermore, we observe correlative changes the transsulfuration and the H<sub>2</sub>S oxidation pathways. These data may show the importance of sulfide metabolism for mitochondrial functionality.

### References:

1 Luna-Sanchez, M. et al. CoQ deficiency causes disruption of mitochondrial sulfide oxidation, a new pathomechanism associated with this syndrome. *EMBO Mol Med* **9**, 78-95, doi:10.15252/emmm.201606345 (2017).

2 Bao, X. R. et al. Mitochondrial dysfunction remodels one-carbon metabolism in human cells. *Elife* **5**, doi:10.7554/eLife.10575 (2016).

3 Nikkanen, J. et al. Mitochondrial DNA Replication Defects Disturb Cellular dNTP Pools and Remodel One-Carbon Metabolism. *Cell Metab.* **23**, 635-648, doi:10.1016/j.cmet.2016.01.019 (2016).

# In-bioreactor ultrasonic monitoring of 3D culture human engineered cartilage

Melchor J<sup>1,2\*</sup>, López Ruiz E<sup>3,4</sup>, Soto JM<sup>5</sup>, Jiménez G<sup>2,4,6</sup>, Antich C<sup>2,4,6</sup>, Perán M<sup>3,4</sup>, Baena JM<sup>4</sup>, Rus G<sup>1,2</sup>, Marchal JA<sup>2,4,6</sup>.

<sup>1</sup> Department of Structural Mechanics, University of Granada, Politécnico de Fuentenuева, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Biosanitary Research Institute of Granada (ibs.GRANADA), University Hospitals of Granada-University of Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department of Health Sciences, University of Jaén, Jaén, Spain.

<sup>4</sup> Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research, University of Granada, Granada, Spain.

<sup>5</sup> Dpto de Óptica. Facultad de Ciencias Físicas. Universidad Complutense de Madrid, Spain.

<sup>6</sup> Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain. Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

Las técnicas de generación de cartilago mediante ingeniería tisular es uno de los tratamientos más prometedores para las patologías de cartilago articular<sup>1,2</sup>. En este estudio se ha diseñado un biorreactor para implementar la monitorización en tiempo real de los procesos de formación de tejidos neo-cartilagosos a través del análisis de señales ultrasónicas. Se fabricaron scaffolds de ácido poliláctico (PLA) para sembrar condrocitos humanos en ellos y después cultivarlos en el biorreactor integrado con ultrasonidos (US). Las señales recibidas por los sensores se analizaron mediante la interacción ultrasonido-tejido y por un tratamiento estocástico de la evolución de la matriz extracelular (ECM). Para reconstruir la velocidad y la atenuación de las señales extraídas, se combinó un problema inverso basado en algoritmos genéticos con una propagación iterativa computacional.

Los datos fueron validados frente a las mediciones de evolución de los cultivos de condrocitos 3D *in vitro* evaluados por la proliferación, observaciones morfológicas y ultraestructurales, parámetros bioquímicos y análisis de la expresión génica. Los parámetros reconstruidos desde la monitorización ultrasónica (velocidad, atenuación, cambios de densidad) demostraron ser útiles para determinar indirectamente parámetros de proliferación de cultivo celular de una manera no invasiva. La correlación significativa mostrada entre glicosaminoglicanos (GAG) y colágeno II (Col II) con la evolución del amortiguamiento elástico de la nueva ECM refuerza la viabilidad de utilizar técnicas ultrasónicas para evaluar la funcionalidad de los condrocitos. En consecuencia, los US pueden utilizarse para monitorizar la proliferación de condrocitos y la formación de ECM en el contexto de la ingeniería del cartilago 3D.

## Referencias bibliográficas:

1. López-Ruiz E, Jiménez G, García MÁ, et al. Polymers, scaffolds and bioactive molecules with therapeutic properties in osteochondral pathologies: what's new? *Expert Opin Ther Pat.* 2016;26(8):877-890. doi:10.1080/13543776.2016.1203903.
2. Camarero-Espinosa S, Rothen-Rutishauser B, Foster EJ, Weder C. Articular cartilage: from formation to tissue engineering. *Biomater Sci.* 2016;4(5):734-767. doi:10.1039/c6bm00068a.

## Paternal and maternal preconception and prenatal urinary concentrations of bisphenol a and size at birth

Mustieles V<sup>1\*</sup>, Messerlian C<sup>2</sup>, Mínguez Alarcón L<sup>2</sup>, Fernandez MF<sup>1</sup>, Ford JB<sup>2</sup>, Williams P<sup>3,4</sup>, Hauser R<sup>2,4,5</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria (ibs.GRANADA), Hospitales Universitarios de Granada, Spain. University of Granada, Centro de Investigación Biomédica, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Environmental Health, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA.

<sup>3</sup> Department of Biostatistics, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA.

<sup>4</sup> Department of Epidemiology, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA.

<sup>5</sup> Vincent Obstetrics and Gynecology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA, USA. Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

Corresponding author for abstract submission: Vicente Mustieles (vmustieles@ugr.es)

**Background:** Bisphenol A (BPA) is a synthetic chemical widely used in the manufacturing of polycarbonate plastics and epoxy resin food can liners, among other consumer products. While pregnancy exposure to BPA has been associated with lower infant size at birth, there is limited data on the effect of exposure before conception.

**Methods:** The study comprised 346 singletons born to 346 mothers and 190 fathers participating in a prospective preconception cohort of subfertile couples from Boston, USA. We estimated both mean preconception and prenatal exposure by averaging urinary ln-BPA concentrations in multiple paternal (n=477) and maternal (n=1370) samples collected before pregnancy, and maternal pregnancy samples collected in each trimester (n=760).

Infant birth weight (BW) and head circumference (HC) were abstracted from delivery records. We estimated the association of BPA concentrations with BW and HC using multivariable linear regression.

**Results:** Maternal preconception urinary BPA concentrations were associated with a significant decrease in both BW and HC: each ln-unit increase was associated with a BW decrease of -119 grams (95%CI: -212, -27), and a HC decrease of -0.60 centimeters (95%CI: -1.2, -0.03). Additionally, a borderline significant trend between maternal prenatal BPA concentrations and lower BW was also observed (-75 grams, 95%CI: -153, 2). Father's preconception BPA concentration was not associated with either outcome.

**Conclusions:** These results are consistent with prior studies on prenatal exposure and further suggest that the maternal preconception period may also be a sensitive window for BPA effects on infant size at birth.

## Urinary bisphenol a concentrations and levels of reproductive hormones and cortisol in peripubertal boys: The INMA-GRANADA COHORT.

Mustieles V<sup>1,2</sup>, Ocón Hernandez O<sup>1,3</sup>, Mínguez Alarcón L<sup>4</sup>, Dávila Arias C<sup>1</sup>, Pérez Lobato R<sup>1</sup>, Calvente I<sup>1</sup>, Arrebola JP<sup>1,2,5</sup>, Vela Soria F<sup>1</sup>, Rubio S<sup>6</sup>, Hauser R<sup>4,7</sup>, Olea N<sup>1,2,5</sup>, Fernández MF<sup>1,2,5</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria (ibs.GRANADA), Hospitales Universitarios de Granada, Spain.

<sup>2</sup>Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.

<sup>3</sup>University of Granada, Department of Obstetrics and Gynecology, Granada, Spain

<sup>4</sup>Department of Environmental Health, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA.

<sup>5</sup>CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain.

<sup>6</sup>University of Córdoba, Institute of Fine Chemistry and Nanochemistry, 14017 Córdoba, Spain.

<sup>7</sup>Department of Epidemiology, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, MA, USA; Vincent Obstetrics and Gynecology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

Corresponding author for abstract submission: Vicente Mustieles ( [vmustieles@ugr.es](mailto:vmustieles@ugr.es) )

**Background:** Bisphenol A (BPA) is a well-known endocrine disrupting compound. Although several studies have investigated the effect of BPA exposure and reproductive hormones in humans, results have been inconsistent.

**Objective:** To explore the cross-sectional relationship between BPA exposure and levels of reproductive hormones and cortisol in peripubertal boys.

**Methods:** We evaluated 158 peripubertal boys aged 9-11 years from the Environment and Childhood (INMA) birth cohort in Granada, Spain. Urinary BPA concentrations were quantified by liquid chromatography-mass spectrometry and serum levels of total testosterone (TT), luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH) and cortisol were measured by electrochemiluminescence immunoassay.

**Results:** After adjustment for confounders, linear regression models showed that urinary BPA concentrations were positively associated with serum TT levels ( $\beta=1.24$ , 95% CI =1.04, 1.50), and negatively with serum cortisol levels ( $\beta=0.92$ , 95% CI=0.86, 0.99). When urinary BPA concentrations were categorized in tertiles, boys in the 3<sup>rd</sup> tertile showed 50% higher serum TT levels and 17% lower serum cortisol levels compared to boys in the 1<sup>st</sup> tertile. Additionally, urinary BPA concentrations were also significantly associated with higher TT:LH and TT:cortisol ratios, but not with serum LH or FSH levels.

**Conclusions:** Our results suggest a possible involvement of BPA at the adrenal gland, resulting in a differential production of androgens/cortisol during this important period of development. However, given the cross-sectional design of our study, the heterogeneous results reported in the previous literature, and the scant experimental research on BPA effects at the adrenal gland, the present findings should be interpreted with caution.

# Transparencia en investigación animal

**Nieto Ruiz de Zárate AI**

*Unidad de Experimentación Animal*

*Centro de Instrumentación Científica.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

El uso de modelos animales en investigación ha experimentado un gran cambio en la última década y parte de este cambio lo han propiciado grupos opositores a su uso, que llevaron su propuesta de eliminación completa de la experimentación con animales hasta el Parlamento Europeo.

Fruto de este debate, ha sido la creación de un Acuerdo de Transparencia sobre el Uso de Animales en Experimentación coordinado por la Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE) a la que nuestra Universidad se ha adherido. Este acuerdo nos exige mejorar la información que se trasmite a la sociedad sobre el uso de los animales para concienciar sobre sus beneficios.

A día de hoy, uso de modelos animales es esencial para comprender el desarrollo y tratamiento de muchas enfermedades y al mismo tiempo, hay que imponer unas estrictas normas de conducta para conseguir un tratamiento ético de los animales. Se deben aplicar los principios de las 3Rs, **reemplazando** los animales cuando sea posible, **reduciendo** su número al estrictamente necesario y **refinando** los métodos para mejorar el bienestar de los animales.

Los investigadores deben ser los que transmitan a la sociedad de forma clara y cualificada la importancia del uso de animales en investigación. Por otro lado, desde las Unidades de Experimentación Animal, anualmente se remiten a las autoridades el número y usos de los animales y esa información es publicada en la página web del MAPAMA. Los resúmenes no técnicos de todos los proyectos autorizados son también publicados en esa misma web.

## *Referencias bibliográficas:*

*Documento COSCE sobre el uso de animales en Investigación Científica. Disponible en: <http://www.cnb.csic.es/documents/divulg/AnimalResearchCOSCE.pdf>*

*Directiva 2010/63 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. Diario oficial de la Unión Europea. L276/33-L276/79. 20 de octubre de 2010.*

*Programa de control oficial sobre el bienestar de animales en la investigación y docencia. Versión 2016. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Dirección General y Producción Agrícola y Ganadera. 16 de febrero de 2016.*

## Obtención y caracterización de exosomas de células madre estromales de origen intraoral

Olaechea A<sup>1\*</sup>, Padial Molina M<sup>2</sup>, Farias VA<sup>1</sup>, Capitán Sobrino D<sup>1</sup>, Carrasco Carmona A<sup>1</sup>, O'Valle F<sup>3</sup>, Galindo Moreno P<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Biomedicina Regenerativa (IBIMER).

<sup>2</sup> Departamento de Estomatología.

<sup>3</sup> Departamento de Anatomía Patológica e IBIMER.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.  
Universidad de Granada.

**Introducción:** Las células madre estromales (MSC) se pueden aislar de diversos tejidos, incluyendo la cavidad oral. Los mecanismos de comunicación intercelular son diversos. En los últimos años ha ganado especial interés el campo de las vesículas extracelulares y, particularmente, los exosomas para aplicaciones diagnósticas y terapéuticas.

**Objetivos:** Obtención y caracterización por tamaños de exosomas de células madre estromales de origen intraoral.

**Materiales y Métodos:** Se cultivaron MSC de hueso nativo maxilar (ABSC), germen dental (DGSC), pulpa dental (DPSC) y ligamento periodontal (PDLSC). Tras confirmar su fenotipo y capacidad multipotente, se cultivaron en hyperflasks con 500 ml de medio DMEM convencional con FBS libre de microvesículas. Tras 48 horas, este medio fue después sometido a ultracentrifugaciones diferenciales. Los pellets fueron resuspendidos en 50µl de PBS y posteriormente evaluados mediante microscopía electrónica de transmisión. Las imágenes obtenidas fueron evaluadas mediante Image J para determinación de la distribución de tamaños de las vesículas.

**Resultados:** La distribución de tamaños mostró rangos de diámetros dentro de lo descrito para las vesículas extracelulares de otros orígenes. Se encontraron diferencias significativas entre los tamaños de las vesículas extracelulares producidas por ABSC en comparación con todas las demás siendo de diámetro mayores.

Las vesículas extracelulares de DGSC y DPSC fueron también de tamaño significativamente menor que las de PDLSC.

**Conclusión:** Las MSC de origen intraoral son capaces de producir vesículas extracelulares que pueden ser aisladas de manera eficiente mediante técnicas de ultracentrifugación. La distribución por tamaños es concordante con lo previamente definido.

Referencias bibliográficas:

1.- Liu, J., Yu, F., Sun, Y., Jiang, B., Zhang, W., Yang, J., Xu, G.T., Liang, A., Liu, S. (2015) Concise reviews: Characteristics and potential applications of human dental tissue-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 33: 627-638.

## Evaluation of the antioxidant activity of *persea americana* extracts against paraquat- induced oxidative stress in parkinson's disease models

Ortega Arellano H<sup>1</sup>, Vélez Pardo C<sup>1</sup>, Jiménez Del Rio M<sup>1</sup>, Escames G<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> School of Medicine, Medical Research Institute, Neurosciences Research Group, University of Antioquia (UdeA), Av. 62 # 52-59, Building 1, Lab 412; SIU Medellin (Colombia).

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica, Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada, Avda. del Conocimiento s/n, 18016 Granada (Spain).

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.

**Background:** Parkinson's disease (PD) is a common progressive neurodegenerative disorder caused by genetic and environmental factors leading to oxidative damage and the loss of dopaminergic neurons. Research has focused on strategies to protect these neurons from dying. The natural products are accepted as potential antioxidant agents in PD. However, no data is available to establish whether *Persea americana* extracts protect against oxidative stress (OS) in PD models. Our objective was to study the effects of the methanolic extracts of *P. americana* var. *Hass*, *Fuerte*, *Reed* and *Collin reed* in oxidative stress in vivo model of Parkinson's disease.

**Materials and Methods:** The methanolic extracts of *P. americana* were obtained by percolation, rotary-evaporation and lyophilization process. Subsequently, we determined HPLC profile, total polyphenol content (TPC) and the antioxidant activity *in vitro* (e.g. ORAC, ABTS and FRAP). The knockdown TH-GAL4>UAS-Parkin(RNAi)+/- *D. melanogaster* and the Swiss albino mice were treated with paraquat (PQ) and *P. americana* extracts. Survival of flies, motor activity and lipid peroxidation (LPO) were evaluated.

**Results:** The HPLC revealed that the majority components in the extracts were procyanidins, flavanol monomers and chlorogenic acids. Direct correlation was observed between TPC and *in vitro* antioxidant capacity, which depended on the variety of the fruit and its different parts. The *P. americana* extracts increased survival, recovered the motor activity and reduced LPO of flies and mice against PQ-induced OS.

**Conclusion:** This study might contribute to the design of new antioxidant compounds, which constitutes a novel source for therapy approaches against OS in familiar PD.

### Referencias bibliográficas:

Ambegaokar SS, et al. *Neurobiol Dis* 2010;40:29-39.

Mao Z and Davis R. *Front Neural Circuits* 2009; 3:5.

Oboh G, et al. . *Basi. Clin Physio. Pharmacol* 2016; 27:131-140.



## New suicide gene therapy for non-small cell lung cancer

Hernández R<sup>1,2\*</sup>, Morote M<sup>2</sup>, García B<sup>2</sup>, Mesas C<sup>2</sup>, Rama AR<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Anatomía y Embriología Humana, Universidad de Granada, Granada, España.

<sup>2</sup>Instituto de Biopatología y Biomedicina Regenerativa, Universidad de Granada, Granada, España.

<sup>3</sup>Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén, Jaén, España.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Objetivo:** El cáncer de pulmón es la principal causa de mortalidad por cáncer en todo el mundo. La quimioterapia y radioterapia han demostrado ser eficaces, sin embargo, a menudo causan una toxicidad considerable. En los últimos años, la terapia génica se ha presentado para mejorar la respuesta de los pacientes con cáncer de pulmón avanzado sin dañar el tejido normal. La terapia génica clásica suicida se basa en el uso de genes de origen bacteriano o viral cuyas enzimas codificantes transforman el profármaco no tóxico en una molécula tóxica. El gen *E* de *E. Coli* codifica para una proteína de membrana con un dominio tóxico que no necesita profármacos. Hemos investigado este gen como una nueva terapia génica suicida para el tratamiento contra el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC).

**Métodos:** El gen *E* se clonó en el vector pcDNA3.1 (pcDNA3.1-E) y la línea NSCLC A-549 se cultivó como monocapa (ML) y como esferoides tumorales multicelulares (MTS). Para estudiar el efecto inhibitor del crecimiento del gen *E*, se transfectaron las células A-549 ML y MTS con pcDNA3.1-E o pcDNA3.1 vacío (control) y se compararon con A-549 ML y MTS parental, respectivamente. A-549 ML se evaluó mediante ensayo MTT y A-549 MTS por modulación de los volúmenes de crecimiento. La microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía electrónica de barrido (SEM) se utilizaron para analizar los posibles cambios ultraestructurales de las células A-549 transfectadas.

**Resultados:** El crecimiento de las células control fue similar al de las células parentales, mientras que las A-549/pcDNA3.1-E mostraron una inhibición significativa y dependiente del tiempo del crecimiento (42,2% a 92 h). TEM reveló mitocondrias dilatadas con matrices claras y crestas alteradas en las A-549/pcDNA3.1-E; También, SEM mostró una desaparición progresiva de microvillosidades y evaginaciones de la membrana celular. Ninguna característica fue observada en las células parentales y ni en las de control para ambas técnicas. Los análisis de volumen de A-549 MST mostraron hallazgos similares a ML, con una disminución de volumen significativa y dependiente del tiempo. La mayor disminución de volumen fue de 35,2% en A-549 MTS/pcDNA3.1-E después de 96 h en comparación con la MTS parental. Los MTS control mostraron el un volumen promedio similar a los MTS parentales.

**Conclusiones:** Nuestros resultados mostraron que el gen *E* es capaz de inhibir el crecimiento de la línea A-549, presentándose como una nueva terapia génica suicida para el tratamiento contra el NSCLC, cuya ventaja es la no necesidad de un profármaco para su acción de muerte celular.

### Referencias bibliográficas:

1. *E* phage gene transfection associated to chemotherapeutic agents increases apoptosis in lung and colon cancer cells. Rama AR, Prados J, Melguizo C, Alvarez PJ, Ortiz R, Madeddu R, Aranega A. *Bioeng Bugs*. 2011 May-Jun;2(3):163-7.
2. *E* phage gene transfection enhances sensitivity of lung and colon cancer cells to chemotherapeutic agents. Rama AR, Prados J, Melguizo C, Ortiz R, Alvarez PJ, Rodríguez-Serrano F, Hita F, Ramos JL, Burgos M, Aranega A. *Int J Oncol*. 2010 Dec;37(6):1503-14.

# Actividad física y consumo de alimentos. efecto en la composición de la microbiota intestinal y el metaboloma asociado en deportistas de alto rendimiento

Rodríguez Lara A, Casals C, Casuso RA, Martín Albo J, Aragón Vela J, Huertas JR.

*Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix Verdú”. Lab.116.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

La alimentación es un determinante del estado de salud de un individuo y se puede modificar por diversos factores, los cuales se encuentran estrechamente ligados al consumo de alimentos, la genética y los estilos de vida, entre ellos la práctica de actividad física (1). Estudios recientes han sugerido que existe evidencia que indica que la actividad física es un agente externo potencial que puede interferir en la composición de la microbiota intestinal (2). Asimismo, la actividad física tiene una vital importancia en el mantenimiento de la composición corporal y la salud. Por tanto, se han reportado diferentes perfiles de metabolomas del cuerpo en atletas y personas que realizan actividad física de moderada a intensa, correlacionado con los cambios en la composición de la microbiota intestinal (3). El objetivo del presente trabajo es comparar la relación de la triada, ejercicio-microbiota y consumo de alimentos y el grado en que el ejercicio afecta a la población microbiana. Dado que los extremos de ejercicio a menudo acompañan a los extremos del consumo de alimentos, se pretende abordar el tema mediante el estudio de atletas profesionales jugadores de fútbol. Se incluirán dos grupos para controlar el tamaño físico, la edad y el sexo. Se aplicará un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y se determinará el consumo de energía, macro y micronutrientes, se medirán parámetros antropométricos. Por otro lado, se pretende extraer ADN bacteriano a partir de muestras fecales y mediante reacción en cadena de polimerasa (qPCR) se detectará la composición de la microbiota intestinal.

**Palabras clave:** *consumo alimentario, microbiota intestinal, actividad física.*

*Referencias bibliográficas:*

1. Joyner MJ, Coyle EF. *Endurance exercise performance: the physiology of champions. J Physiol* 2008;**586**:35–44.
2. Queipo-Ortuno MI, Seoane LM, Murri M, Pardo M, Gomez-Zumaquero JM, Cardona F, et al. *Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. PLoS One* 2013;**8**:e65465.doi:10.1371/journal.pone.0065465
3. McFadzean R. *Exercise can help modulate human gut microbiota Colorado: University of Colorado; 2014. [Dissertation].*

## A novel concurrent exercise training program designed for a healthy pregnancy. the gestafit project

Romero Gallardo L<sup>1\*</sup>, Coll Risco I<sup>2</sup>, Acosta Manzano P, Borges Cosic M, Espinosa Rosso M<sup>4</sup>, Corcuera Ortiz L<sup>4</sup>, Ocón Hernández O<sup>3</sup>, Soriano Maldonado A, Aparicio VA<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Department of Physical Education and Sports, Faculty of Sport Sciences, University of Granada, Granada, Spain

<sup>2</sup> Biomedical Research Center. Institute of Nutrition and Food Technology. IMUDS. Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Spain

<sup>3</sup> Department and UGC of Gynaecology and Obstetrics. University Hospital Virgen de las Nieves. Granada, Spain

<sup>4</sup> Jerez Puerta del Sur Hospital. Jerez, Spain.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Background:** The benefits of physical exercise during pregnancy are widely demonstrated. Entities such as the American College of Obstetrics and Gynaecology have stated that “additional research is needed to study the effects of exercise in pregnancy-specific outcomes”. This project aims to assess the effects of a novel concurrent (aerobic+strength) training program during pregnancy, designed within the GESTAFIT project, on maternofoetal health markers.

**Methods:** This concurrent exercise training program consisted on three 60-min sessions/week of concurrent aerobic and strength training from the 17<sup>th</sup> gestational week until delivery. The training planning was developed in three phases: *Movement Learning phase* (1 week), *Physical Fitness Training phase* (PFT) (17 weeks) and *Delivery Moving phase* (4 weeks). All PFT sessions started with 10 minutes of warm-up and finished with 10 minutes of cool-down. The main part differed depending on the type of session: a) Muscular conditioning session: 2 days per week, composed by 2 resistance circuits (3 rounds of 5 exercises) with 2 aerobic blocks of 3-5 minutes between them. b) Aerobic session: dance, functional circuits or steps training during 40 minutes. The intensity was indicated with Rated Perceived Exertion (RPE) and was progressed over training's weeks.

**Conclusion:** The information obtained from this exercise training protocol developed in the GESTAFIT project will help to identify strategies for primary prevention and health promotion based on this exercise intervention program among pregnant women. Further, the exercise intervention designed is novel and non-expensive, and can be easily transferred to other similar contexts.

### References:

ACOG Comitee Opinion Number 650. *Physical activity and exercise during pregnancy and postpartum period. Obst Gynecol* 2015; 126: 1321-1322.

Perales, M.; Santos-Lozano, A.; Ruiz, JR; Lucía, A.; Barakat, R.: *Benefits of aerobic or resistance training during pregnancy on maternal health and perinatal outcomes: A systematic review. Early Human Development* 2016; 94: 43-48.

## SLAMF8. Role in the modulation of microbicidal functions in macrophages

Romero Pinedo S<sup>1,2\*</sup>, Abadía Molina AC<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), CIBM. 2. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular 3 e Inmunología. Universidad de Granada.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Slamf8 is a cell surface glycoprotein belonging to Slam family (Slamf) receptors<sup>1,2</sup>, mainly expressed in macrophages upon bacteria, LPS or IFN- $\gamma$  activation<sup>3,4</sup>.

Previous studies in mouse macrophages<sup>4</sup> have shown that Slamf8 is a negative regulator of phagocyte-NADPH oxidase (Nox2), a multiprotein complex able to produce reactive oxygen species (ROS) implicated in the elimination of phagocytosed bacteria<sup>5,6</sup>. It is known that negative regulation of Slamf8 on the NADPH oxidase activity is mediated through the Protein Kinase C (PKC)<sup>4</sup>, but the molecular mechanisms are not yet elucidated.

Due to the expression of Slamf8 is increased in macrophages upon bacteria or IFN- $\gamma$  stimulation and it is a negative regulator of Nox2 activity<sup>4</sup>, Slamf8 could regulate innate stimuli associated with bacterial infections and could be used as a therapeutic target, modifying the microbicidal capability in macrophages. With all this previous data in mind, we set out to study whether Slamf8 would modulate mechanisms related to a *Salmonella typhimurium* infection model, a Gram negative facultative intracellular pathogen which is the major cause of human gastroenteritis, and it is used as a mouse model of human typhoid fever.

To elucidate this, we study different aspects related with macrophage bacterial-clearance ability such as: phagocytosis, vesicle trafficking, microbicidal mechanisms (ROS/NOS production) and promotion of inflammatory context, doing comparative studies through the use of Slamf8-WT and Slamf8-KO Balb/c mice. Moreover, in order to unravel the molecular mechanisms throughout Slamf8 regulates Nox2, we test different inhibitors of its activation pathway under several stimuli (PMA, LPS and bacteria).

### References:

1. Calpe, S. et al. The SLAM and SAP Gene Families Control Innate and Adaptive Immune Responses. *Adv. Immunol.* 97, 177–250 (2008).
2. Cannons, J. L., Tangye, S. G. & Schwartzberg, P. L. SLAM Family Receptors and SAP Adaptors in Immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 29, 665–705 (2011).
3. Kingsbury, G. A. et al. Cloning, expression, and function of BLAME, a novel member of the CD2 family. *J. Immunol.* 166, 5675–5680 (2001).
4. Wang, G. et al. Cutting Edge: Slamf8 Is a Negative Regulator of Nox2 Activity in Macrophages. *J. Immunol.* 188, 5829–5832 (2012).
5. Segal, A. W. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 23, 197–223 (2005).
6. Lambeth, J. D. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nat. Rev. Immunol.* 4, 181–189 (2004).

## Modelo de abuso de alcohol en ratones: desarrollo del paradigma “driking in the dark” en cepa de baja preferencia

Ruiz Leyva L<sup>1\*</sup>, Jiménez García AM<sup>1,2</sup>, Cendán CM<sup>1</sup>, Morón I<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Farmacología e Instituto de Neurociencias. Universidad de Granada (España).

<sup>2</sup> Departamento de Psicobiología. Universidad de Granada (España).

<sup>3</sup> Centro de Investigación Mente, Cerebro y Comportamiento (CIMCYC), Universidad de Granada (España).

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

El consumo excesivo de alcohol es uno de los principales problemas relacionados con el abuso de sustancias en la sociedad actual. Para estudiar los desencadenantes y consecuencias de dicho consumo excesivo se usan modelos animales que desarrollen la conducta de abuso [1]. Para el presente estudio se planteó como objetivo probar en un paradigma de consumo de altas cantidades de alcohol, denominado “Drinking in the Dark” (DID) [2], distintas concentraciones de alcohol en una cepa de ratones que muestran baja preferencia hacia su consumo, como es la cepa CD-1. Para ello se utilizaron un total de 24 ratones CD-1 macho divididos en 4 grupos experimentales distintos, donde cada uno de ellos se expuso a una concentración de alcohol diferente (2, 4, 8 y 16%). Se comprobó que al 4º día del procedimiento era cuando se producía un mayor consumo con todas las concentraciones evaluadas (efecto DID), observándose que los ratones que eran expuestos a concentraciones de alcohol más bajas (2 y 4%) bebían significativamente más que los ratones que eran expuestos a soluciones con concentraciones más altas (8 y 16%), siendo la concentración óptima la del 4%. Estos resultados indican, que los ratones de la cepa CD-1, al contrario de otras cepas como la C57BL6, evitan las soluciones a altas concentraciones. Además, podemos concluir, que el paradigma DID usado a bajas concentraciones puede ser útil para inducir un consumo voluntario de alcohol en ratones, y por tanto, podría ser un modelo traslacional para estudiar posibles tratamientos para el alcoholismo.

### Referencias bibliográficas:

[1] Mustaca, A. E. y Kamenetzky, G. V. (2006). Alcoholismo y ansiedad: modelos animales. *Intern. Jour. Psych. Psychol. Ther.* 6; 343-364.

[2] Thiele, Todd E. y Navarro, M. (2014). “Drinking in the Dark” (DID) Procedures: A Model of Binge-Like Ethanol Drinking in Non-Dependent Mice. *Alcohol.* 48; 235– 241.

## Characterization of ectopic endometrial stromal cells

**Ruiz Magaña MJ\*, Martínez Aguilar R, Puerta Sanabria JM, Íñiguez Fernández CM, Llorca Colomina T, Abadía Molina AC, García Olivares E, M Ruiz Ruiz MC.**

IBIMER, Centro de Investigación Biomédica Departamento de Bioquímica y Biología Molecular 3 e Inmunología, Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Endometriosis is a chronic inflammatory gynecological disorder characterized by the presence of endometrial glands and stroma out of the uterine cavity and with a high prevalence in women of reproductive age (1). Several theories have been proposed to explain its etiology but it is still an enigmatic disease (2).

The aim of this study was to analyze the antigenic phenotype, the functional characteristics and the susceptibility to apoptosis of endometrial stromal cells from ectopic endometrial tissue (eEnSC). In addition, the characteristics of eEnSC have been compared with that of eutopic endometrial stromal cells (EnSC) and decidual stromal cells (DSC).

eEnSC were obtained from women with endometriosis undergoing laparoscopic surgery. Antigenic phenotype and apoptotic cells were analysed in a FACScan cytometer. Differentiation was performed by treating cells for 2 to 7 weeks with progesterone and cAMP.

We have observed that eEnSC show a fibroblastic morphology similar to that of EnSC and DSC and they also express the classical markers of the endometrial phenotype (3). However, there are some differences in the expression of stem cells markers. When eEnSC are decidualized, they produce much less prolactin (a marker of decidualization) than EnSC and DSC and maintain their morphology and viability for a longer period of time. Our preliminary results suggest that eEnSC differ from EnSC and DSC in the expression of differentiation markers. In addition, there are also functional differences related to their response to decidualization.

### *Referencias bibliográficas:*

1. Vercellini, P., et al. 2014. *Endometriosis: pathogenesis and treatment. Nat Rev Endocrinol* 10: 261-275
2. Halme, J. et al. 1984. *Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. Obstet Gynecol* 64: 151-154.
3. Gargett, C. E., et al. 2016. *Endometrial stem/progenitor cells: the first 10 years. Hum Reprod Update* 22: 137-163.

## Marcadores volátiles urinarios como herramienta diagnóstica y de screening del cáncer de próstata

Salinero M, Jiménez Pacheco A, Iribar C, Peinado JM.

*Grupo CTS-438.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

El Cáncer de Próstata (CaP), es el tumor maligno no cutáneo más frecuentemente diagnosticado en el varón en el mundo occidental [1]. Constituye uno de los problemas sanitarios más importantes en nuestro medio, tanto en términos de morbimortalidad, como de impacto social, económico o sobre la calidad de vida [2]. Sin embargo a pesar de tratarse de un cáncer muy prevalente el screening del cáncer de próstata es aún controvertido. Hasta ahora, se ha considerado que el PSA es el biomarcador más importante para la detección del CaP, pero carece de especificidad [3]. Esto ha llevado a buscar biomarcadores alternativos [4], como los Compuestos Orgánicos Volátiles (VOCs), que son gases del metabolismo celular, que aparecen en la respiración, orina y otros fluidos. Los VOCs se han implicado en el diagnóstico de otros tipos de cáncer, como el de pulmón, mama, ovario y colorrectal [5, 6, 7, 8, 9].

El objetivo del presente estudio será determinar en la orina de pacientes diagnosticados de cáncer de próstata la presencia de compuestos orgánicos volátiles que puedan correlacionarse con el resultado de la biopsia. Para ello hemos diseñado un estudio de validación prospectiva, que permite asegurar, por un lado, la evaluación independiente y ciega del test a validar y del test diagnóstico con el que se compara, y por otro, que todos los sujetos se sometan al proceso diagnóstico completo, independientemente de sus resultados.

### *Referencias Bibliográficas:*

- [1] Siegel, R., Ma, J., Zou, Z. & Jemal, A. *Cancer statistics. CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9–29.
- [2] Cabanes A, Perez-Gomez B, Aragonés N, Pollán M, Lopez-Abente G. *La situación del cáncer en España, 1975-2006. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, 2009.*
- [3] Van Neste L, Hendriks RJ, Dijkstra S, Trooskens G, Cornel EB, Jannink SA, et cols. *Detection of High-grade Prostate Cancer Using a Urinary Molecular Biomarker-Based Risk Score. Eur Urol* 2016; 70: 740-748.
- [4] Shariat SF, Scherr DS, Gupta A, Bianco FJ Jr; Karakiewicz PI, Zeltser IS, et al. *Emerging biomarkers for prostate cancer diagnosis, staging, and prognosis. Arch Esp Urol* 2011; 64: 681-694.
- [5] Peng G, Hakim M, Broza YY, et al. *Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. Br J Cancer* 2010; 103: 542-551.
- [6] Belda-Iniesta C, de Castro Carpeño J, Carrasco JA, et al. *New screening method for lung cancer by detecting volatile organic compounds in breath. Clin Transl Oncol* 2007; 9: 364-368
- [7] Horváth I, Lázár Z, Gyulai N, Kollai M, Losonczy G. *Exhaled biomarkers in lung cancer. Eur Respir J* 2009; 34: 261-675.
- [8] Peng G, Tisch U, Adams U, et al. *Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles. Nat Nanotechnol* 2009; 4: 669–673.
- [9] Buszewski B, Keszy M, Ligor T, Amann A. *Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. Biomed Chromatogr* 2007; 21:553-566.

## Evaluación del efecto de aceites de oliva virgen con diferente contenido en compuestos bioactivos sobre biomarcadores de daño endotelial

Sánchez Rodríguez E<sup>1</sup>, Biel Glesson S<sup>2</sup>, Fernández Navarro JR<sup>2</sup>, Calleja MÁ<sup>2</sup>, Espejo Calvo JA<sup>3</sup>, Romero C<sup>4</sup>, Covas MI<sup>5</sup>, Fitó Colomer M<sup>6</sup>, Gil Á<sup>1</sup>, Martínez de Victoria E<sup>7</sup>, Mesa García MD<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix" (INyTA). Universidad de Granada, Granada.

<sup>2</sup> Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental, Granada.

<sup>3</sup> Instituto para la Calidad y Seguridad Alimentaria S.L., Granada.

<sup>4</sup> Departamento de Biotecnología de los Alimentos. Instituto de la Grasa (IG-CSIC). Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

<sup>5</sup> NUPROAS (Nutritional Project Assessment), Handesbolag (NUPROAS HB), Nacka.

<sup>6</sup> Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Biomédicas. CIBEROBN ciber de la Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición. Parque de Investigación Biomédica de Barcelona, Barcelona.

<sup>7</sup> Departamento de Fisiología. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix" (INyTA). Universidad de Granada, Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

El aceite de oliva virgen (AOV) ha demostrado ser protector frente a la enfermedad cardiovascular debido a sus compuestos bioactivos, importantes por sus propiedades antioxidantes. El objetivo del estudio es evaluar el efecto de la administración de tres AOV con distinto contenido en compuestos bioactivos sobre marcadores de daño endotelial. Se realizó un estudio de intervención cruzado, aleatorizado, controlado y doble ciego en 51 adultos sanos.

Se evaluaron los beneficios del consumo de un AOV control, con bajo contenido en compuestos fenólicos (124 ppm), un AOV optimizado, con elevado contenido en compuestos fenólicos (490 ppm), y un aceite enriquecido, (488 ppm de compuestos fenólicos) al que se le añadieron ácidos triterpénicos obtenidos de la propia aceituna (350 ppm). Los voluntarios tomaron 30 mL diarios en crudo de cada uno de los aceites durante 3 semanas, separados por periodos de lavado de dos semanas y utilizaron el mismo tipo de aceite para cocinar. Se determinaron marcadores de función endotelial en plasma utilizando la tecnología xMAP y ELISA. Los resultados a tiempo inicial y tras tres semanas de intervención con cada aceite, se compararon mediante un modelo lineal mixto ajustado, considerando significativo  $p < 0,05$ . Los tratamientos con AOV control y optimizado redujeron la concentración de endotelina-1 plasmática sin observarse cambios en el resto de biomarcadores de daño endotelial determinados. En conclusión, la ingesta diaria de 30 mL de AOV con al menos 124 ppm de compuestos fenólicos durante tres semanas puede mejorar la función endotelial en voluntarios sanos.

### Referencias bibliográficas:

Biel, S.; Mesa, M.-D.; de la Torre, R.; Espejo, J.-A.; Fernández-Navarro, J.-R.; Fitó, M.; Sánchez-Rodríguez, E.; Rosa, C.; Marchal, R.; Alche, J. de D.; Expósito, M.; Brenes, M.; Gandul, B.; Calleja, M. A.; Covas, M.-I. The NUTRAOLEOUM Study, a randomized controlled trial, for achieving nutritional added value for olive oils. *BMC Complement. Altern. Med.* 2016, 16, 404.



## Implicación del receptor sigma-1 en la analgesia opioide de origen inmune durante la inflamación

Tejada MA<sup>1</sup>, Montilla García A<sup>1</sup>, Cronin SJ<sup>2</sup>, Penninger JM<sup>2</sup>, Baeyens JM<sup>1</sup>, Cobos EJ<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Facultad de Medicina, Instituto de Neurociencias y Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada.

<sup>2</sup> Institute of Molecular Biotechnology, Viena.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Durante la inflamación, las células inmunes infiltradas en el foco inflamatorio liberan simultáneamente sustancias pronociceptivas y péptidos opioides endógenos (POEs), aunque su potencial analgésico está poco explorado. Se ha descrito que el antagonismo del receptor  $\sigma 1$  periférico potencia la analgesia inducida por fármacos opioides. Nuestro objetivo fue estudiar si el receptor  $\sigma 1$  es capaz de modular la analgesia opioide endógena de origen inmune durante la inflamación.

La hiperalgesia inflamatoria frente al estímulo mecánico y térmico se evaluó en ratones a las 3 h tras la administración intraplantar de carragenina. La administración de los antagonistas selectivos  $\sigma 1$  BD-1063 y S1RA abolió la hiperalgesia inflamatoria. Este efecto fue revertido por el antagonista opioide periférico naloxona-metiodida, lo que sugiere que durante la inflamación se producen POEs susceptibles de ser modulados por el receptor  $\sigma 1$ . De hecho, detectamos un marcado incremento en la concentración de  $\beta$ -endorfina en la pata inflamada, y la captura de este POE mediante la administración de un anticuerpo selectivo en la zona inflamada revirtió el efecto antihiperalgésico del antagonismo  $\sigma 1$ . La administración in vivo de un anticuerpo frente a Ly6G disminuyó simultáneamente la infiltración de neutrófilos, los niveles de  $\beta$ -endorfina y los efectos antihiperalgésicos de los antagonistas  $\sigma 1$ , por lo que la presencia de los neutrófilos portadores de POEs en el sitio inflamado es necesaria para los efectos de los antagonistas  $\sigma 1$ .

En conclusión, la inhibición del receptor  $\sigma 1$  produce analgesia opioide en el lugar de la inflamación mediante la potenciación de los efectos de POEs de origen inmune.

Este es un mecanismo dirigido a maximizar el potencial analgésico inducido por células inmunes que de manera natural se acumularán en la zona inflamada.

### Referencias bibliográficas:

1- Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat Rev Drug Discov.* 2014, 13(7):533-48

2- Hua S, Cabot PJ. Mechanisms of peripheral immune-cell-mediated analgesia in inflammation: clinical and therapeutic implications. *Trends Pharmacol Sci.* 2010, 31(9):427-33

3- Kim FJ, Kovalyshyn I, Burgman M, Neilan C, Chien CC, Pasternak GW. Sigma 1 receptor modulation of G-protein-coupled receptor signaling: potentiation of opioid transduction independent from receptor binding. *Mol Pharmacol.* 2010, 77(4):695-703.

4- Sánchez-Fernández C, Montilla-García Á, González-Cano R, Nieto FR, Romero L, Artacho-Cordón A, Montes R, Fernández-Pastor B, Merlos M, Baeyens JM, Entrena JM, Cobos EJ. Modulation of peripheral  $\mu$ -opioid analgesia by  $\sigma 1$  receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014, 348:32-45.

5- Cobos EJ, Entrena JM, Nieto FR, Cendán CM, Del Pozo E. Pharmacology and therapeutic potential of  $\sigma 1$  receptor ligands. *Curr Neuropharmacol* 2008, 6:344-366.

## **Combination of melatonin and rapamycin as a potential therapeutic strategy for head and neck cancer: melatonin protects normal cells from rapamycin associated toxicity but acts as a pro-oxidant agent inducing cancer cells apoptosis.**

**Ying Qiang S<sup>1</sup>, Guerra Librero A<sup>1</sup>, Fernandez Gil BI<sup>1</sup>, Florido J<sup>1</sup>, Martinez Ruiz L<sup>1</sup>, Ortega Arellano HF<sup>2</sup>, Escames G<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Biomedical Research Center, Health Sciences Technology Park, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Medical Research Institute, Faculty of Medicine, University of Antioquia, Medellin, Colombia.*

*Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

The excess activity of mTOR signaling network is regarded as a frequent event in some prevalent human cancers [1, 2]. Rapamycin, the mTOR inhibitor, has been clinically proven to be an effective anti-tumor agent [3]. However, the anti-tumor activity of rapamycin has been confirmed only in a limited subset of cancer types because of the negative feedback loop from S6K1 to AKT signaling [4, 5]. In clinical trials of mTOR inhibitors, a number of adverse events have been also identified [6]. Among them, mucositis is regarded as the most severe one. Melatonin possess the ability of suppressing neoplastic growth in a variety of tumors with different mechanisms [7]. Besides, melatonin can prevent the activation of multiple pathways associated with oral mucositis [8, 9]. Given all that, we assumed that the combination of rapamycin and melatonin could be a potential cancer therapeutic strategy. We analyzed the interaction between rapamycin and different concentrations of melatonin using head and neck cancer cell lines *in vitro*, and HNC xenografts mice *in vivo*. We found that high concentration of melatonin exhibited anti-tumor effect and blocked the negative feedback loop from S6K1 to AKT signaling. Melatonin was also observed to cause reactive oxygen species (ROS) production. We confirmed that mitochondrial was the main target of melatonin. Melatonin improved the mitochondrial function, resulting in the ROS accumulation. Nevertheless, ROS accumulation resulted in severe oxidative damage of mitochondrial and finally led to mitophagy or even apoptosis. We also found that melatonin administration reduced rapamycin associated toxicity to healthy organs. In summary, melatonin can be used as an adjuvant agent with rapamycin and minimize the side effects in tumor therapy.

### *Referencias bibliográficas:*

1. Vander Broek, R., et al., *The PI3K/Akt/mTOR axis in head and neck cancer: functions, aberrations, cross-talk, and therapies. Oral diseases*, 2015. 21(7): p. 815-825.
2. Matter, M.S., et al., *Targeting the mTOR pathway in hepatocellular carcinoma: Current state and future trends. Journal of Hepatology*, 2014. 60(4): p. 855-865.
3. Benjamin, D., et al., *Rapamycin passes the torch: a new generation of mTOR inhibitors. Nature Reviews: Drug Discovery*, 2011. 10(11): p. 868-880.
4. Rodrik-Outmezguine, V.S., et al., *mTOR kinase inhibition causes feedback-dependent biphasic regulation of AKT signaling. Cancer discovery*, 2011. 1(3): p. 248-259.
5. Engelman, J.A., *Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. Nature Reviews: Cancer*, 2009. 9(8): p. 550-562.
6. Pallet, N. and C. Legendre, *Adverse events associated with mTOR inhibitors. Expert opinion on drug safety*, 2013. 12(2): p. 177-186.
7. Cardinali, D., et al., *Melatonin-Induced Oncostasis, Mechanisms and Clinical Relevance. J. Integr. Oncol. S.*, 2016. 1: p. 2.
8. Ortiz, F., et al., *Melatonin blunts the mitochondrial/NLRP3 connection and protects against radiation-induced oral mucositis. Journal of pineal research*, 2015. 58(1): p. 34-49.
9. Reiter, R., et al., *Melatonin in the oral cavity: physiological and pathological implications. Journal of periodontal research*, 2015. 50(1): p. 9-17.

## Melatonin reduces renal mitochondrial dysfunction and endoplasmatic reticulum stress in diabetic obese rats

Visiedo L, Agil A.

*Instituto de Neurociencias. Centro de Investigación Biomédica (CIBM) de la Universidad de Granada.*

**Abstract:** Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a major public health problem worldwide, as a consequence of the expanding pandemic of obesity. Our group has previously shown the melatonin effects at diabetes (obesity and diabetes mellitus type 2) including a browning effect and an improvement at mitochondrial level. Moreover, some data suggest that melatonin could restore mitochondrial/endoplasmic reticulum (RE) function, which are altered as a result of the cell damage and oxidative stress associated with obesity and T2DM in potentially affected organ, such as the kidney (diabetic nephropathy). However, the effect of melatonin at organular level in kidney hasn't been studied yet in this model of obesity-T2DM. The aim of this work was to study whether chronic melatonin treatment has a beneficial effect in kidneys of diabetic obese rats, well as those that control organular functionality (mitochondrion and endoplasmic reticulum). Male Zucker diabetic fatty (ZDF; n = 10) rats and lean littermates (ZL; (n = 10)) were given either melatonin (10 mg/kg BW/day) orally for 16 wk (starting from 5 wk) (M-ZDF and M-ZL) or vehicle as control groups (C-ZDF and C-ZL). Electron transfer chain (C IV), Super oxide dysmutase (SOD) and nitrites were measured spectrophotometrically. Western Blot analysis was used as indicator of mitochondrial dynamic (MFN2, OPA-1, DRP-1) and an indicator of the endoplasmic reticulum stress (ERS) (GRP78, PERK, IRE-1, ATF-6) and apoptosis (JNK, BAX, Caspase-3). Kidney morphology was evaluated by histopathology. Melatonin improves mitochondrial dysfunction in kidney ZDF rats by increasing activities of mitochondria, significantly enhances C IV activity and antioxidant enzyme (SOD), and reduces reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). Melatonin treatment to ZDF rats decreases significantly kidney ERS and modulates apoptosis pathway.

Melatonin decreased glomerular area. Thus, it is concluded that chronic oral melatonin reduces mitochondria dysfunction, ER stress and its downstream apoptosis in ZDF rats. Therefore, it may be beneficial in the treatment of obesity-diabetic nephropathy.

### References:

*Jiménez-Aranda A, Fernández-Vázquez G, Serrano MM, Reiter RJ, Agil A. Melatonin improves mitochondrial function in inguinal white adipose tissue of Zucker diabetic fatty rats. J Pineal Res. 2014 .*

*Funding: Project SAF 2013-45752-R & 2016-79794-R. Spanish Ministry of Economy and Competitiveness & FEDER.*

## **Producción y caracterización de exopolisacáridos producidos por bacterias gram positivas**

**Alajar Tortosa P<sup>1,2,3</sup>, Toral Navarro L<sup>1,2,3</sup>, Castro D<sup>1,2,3</sup>, Martínez Checa Barrero F<sup>1,2</sup>, Rodríguez González MA<sup>1,2</sup>, Béjar Luque V<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Granada, España.*

<sup>2</sup> *Centro Investigación Biomédica (CIBM), Instituto Biotecnología, Armilla, Granada, España.*

<sup>3</sup> *Xtrem Biotech S.L., Centro Europeo de Empresas e Innovación, Armilla, Granada, España.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Los exopolisacáridos son polímeros orgánicos de origen microbiano, liberados al espacio extracelular, que participan en la formación de agregados microbianos y/o biofilms, siendo los responsables de la unión entre células y otros materiales junto a un sustrato. Están compuestos en su mayoría por hidratos de carbono, pero también presentan en su composición otros componentes como son proteínas y ácidos urónicos. Los exopolisacáridos presentan una serie de funciones como la capacidad de formar agregados celulares siendo los responsables de la formación de biofilms, así como la capacidad de actuar como barrera protectora que protege al microorganismo frente a la acción de sustancias tóxicas o de la desecación [1].

El objetivo de este trabajo se centra en el estudio de la producción de exopolisacáridos a partir de bacterias aisladas, tanto en ambientes salinos como en ambientes normales. También se caracterizan dichos exopolisacáridos, determinándose su contenido en proteínas e hidratos de carbono, así como su actividad emulgente y la viscosidad que presentan los exopolisacáridos cuando se presentan en solución.

Los resultados muestran unos rendimientos en la producción de exopolisacáridos entre los 3,96 g/l y los 0,068 g/l. Además presentan una alta viscosidad comportándose como fluidos pseudoplásticos, y con una buena actividad emulgente. En lo referente a la composición de los exopolisacáridos, presentan un bajo contenido en proteínas, así como un contenido en hidratos de carbono bajo.

### *References:*

[1] Nwodo, U. U., Green, E., & Okoh, A. I. (2012). *Bacterial exopolysaccharides: functionality and prospects. International journal of molecular sciences*, 13(11), 14002-14015.

## Application of a new 3D-bioprinter in tissue and organ regeneration

Jiménez G<sup>1,2,3</sup>, Antich C<sup>1,2,3\*</sup>, López Ruiz E<sup>1,4</sup>, Baena JM<sup>1</sup>, Lisón G<sup>1,2</sup>, Marchal JA<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup> Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research, University of Granada, Granada E-18100, Spain.

<sup>2</sup> Biosanitary Research Institute of Granada (ibs.GRANADA), University Hospitals of Granada-University of Granada, Granada, Spain

<sup>3</sup> Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada E-18012, Spain.

<sup>4</sup> REGEMAT 3D S.L., Avenida de la innovación 1, 18100, Armilla, Granada, Spain, 4 Department of Health Sciences, University of Jaén, Jaén E-23071, Spain.

Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

\*E-mail: cantich@ugr.es

Tissue engineering has emerged as a new strategy to generate artificially functional tissue and organs substitutes. In this attempt, 3d printing technology has gained enormous attention as it enables to fabricate 3d biological constructs that mimic the structure and function of native tissue by controlled 3d deposition of tissue components, cells and matrix materials. In this study we present a new bioprinter, designed by REGEMAT 3D, with an innovative and enhanced fabrication system that combine two processes: fused deposition modelling of thermoplastic polymer to obtain the stiff structure combined with Injection Volume Filling (IVF) as cell delivery method. In addition, we have demonstrated the biocompatibility of this novel printing procedure by testing viability, proliferation and cytoskeletal organization of bioprinted cells. This technology means a great advance in the regenerative medicine field, since the combination of multiple cell types and a wide range of materials would allow the generation of any type of tissue and organ.

### References:

Billiet, T., M. Vandenhoute, et al. (2012). "A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering." *Biomaterials* 33(26): 6020-6041.

Boland, T., T. Xu, et al. (2006). "Application of inkjet printing to tissue engineering." *Biotechnol J* 1(9): 910-917.

Chang R1, Nam J, Sun W. Effects of dispensing pressure and nozzle diameter on cell survival from solid freeform fabrication-based direct cell writing. *Tissue Eng Part A*. 2008 Jan;14(1):41-8. doi: 10.1089/ten.a.2007.0004.

Khalil, S. and W. Sun (2007). "Biopolymer deposition for freeform fabrication of hydrogel tissue constructs." *Materials Science and Engineering: C* 27(3): 469-478.

Tsang, V. L. and S. N. Bhatia (2004). "Three-dimensional tissue fabrication." *Adv Drug Deliv Rev* 56(11): 1635-1647.

# Desarrollo de un nuevo sistema de bioimpresión 3D para la regeneración de tejidos y órganos

Jiménez G<sup>1,2,3</sup>, Antich C<sup>1,2,3\*</sup>, López Ruiz E<sup>1,4</sup>, Baena JM<sup>1</sup>, Griñán Lisón<sup>1,2</sup>, Marchal JA<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup> *Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research, University of Granada, Granada E-18100, Spain.*

<sup>2</sup> *Biosanitary Research Institute of Granada (ibs.GRANADA), University Hospitals of Granada-University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada E-18012, Spain.*

<sup>4</sup> *REGEMAT 3D S.L., Avenida de la innovación 1, 18100, Armilla, Granada, Spain, 4 Department of Health Sciences, University of Jaén, Jaén E-23071, Spain.*

*Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

La ingeniería tisular ha surgido como una nueva estrategia para generar artificialmente sustitutos funcionales de tejidos y órganos. La tecnología de impresión en tres dimensiones (3D) ha despertado una gran atención en dicho enfoque, ya que permite fabricar constructos biológicos en 3D que imitan el tejido nativo, estructural y funcionalmente, mediante la deposición controlada de los componentes del tejido: células y elementos de la matriz. En este estudio se presenta una nueva bioimpresora 3D, diseñada por REGEMAT 3D, con un innovador y mejorado sistema de fabricación que combina dos procesos: modelado de deposición por fusión de polímero termoplástico, para la obtención de la estructura rígida, combinada con el sistema de relleno por inyección de volumen (FIV) como método de dispensación celular. Además, se ha demostrado la biocompatibilidad de este nuevo procedimiento de impresión 3D mediante pruebas de viabilidad, proliferación y organización del citoesqueleto de las células bioimpresas.

Esta tecnología significa un gran avance en el campo de la medicina regenerativa, ya que la combinación de una amplia gama de materiales y múltiples tipos celulares permitiría la generación de cualquier tipo de órgano y/o tejido.

## Referencias bibliográficas:

Billiet, T., M. Vandenhaute, et al. (2012). "A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering." *Biomaterials* 33(26): 6020-6041.

Boland, T., T. Xu, et al. (2006). "Application of inkjet printing to tissue engineering." *Biotechnol J* 1(9): 910-917.

Chang R1, Nam J, Sun W. Effects of dispensing pressure and nozzle diameter on cell survival from solid freeform fabrication-based direct cell writing. *Tissue Eng Part A*. 2008 Jan;14(1):41-8. doi: 10.1089/ten.a.2007.0004.

Khalil, S. and W. Sun (2007). "Biopolymer deposition for freeform fabrication of hydrogel tissue constructs." *Materials Science and Engineering: C* 27(3): 469-478.

Tsang, V. L. and S. N. Bhatia (2004). "Three-dimensional tissue fabrication." *Adv Drug Deliv Rev* 56(11): 1635-1647.

## A-Actina como marcador de daño muscular sarcomérico en pruebas de fuerza máxima incremental

**Aragón Vela J, Barranco Ruiz Y, Casals C, Casuso RA, Fontana L, Huertas JR.**

*Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix Verdú”, laboratorio 116.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada. España.*

**Introducción:** El ejercicio de resistencia, especialmente en contracciones excéntricas, puede generar daño en el músculo esquelético debido a estímulos mecánicos y al estrés oxidativo. Además, la cantidad de masa muscular involucrada podría afectar a dicho daño. El objetivo de este estudio fue evaluar el daño muscular sarcomérico y el estrés oxidativo en respuesta a distintos ejercicios de fuerza e identificar el umbral de fatiga en músculos individuales.

**Métodos:** 20 sujetos realizaron un test de fuerza máxima incremental en squat y press banca, ejercicios con movimientos explosivos y de corta duración. Se les extrajeron tres muestras de sangre: en reposo, 15 minutos y 24 horas post-ejercicio. Como marcadores de daño muscular se emplearon lactato deshidrogenasa (LDH), creatina quinasa (CK-MB) y  $\alpha$ -actina en suero. Se realizó un registro electromiográfico de los músculos más implicados en cada ejercicio.

**Resultados:** Los valores de CK-MB y LDH a los 15 minutos y 24 horas post-test, fueron significativamente más altos en press banca. Los valores electromiográficos se ajustaron a una regresión exponencial, que nos permitió identificar un punto de ruptura asociado al umbral de fatiga muscular.

**Conclusiones:** A cargas equivalentes de trabajo, el ejercicio de press banca genera mayor daño muscular que el ejercicio de squat. Además, hemos desarrollado un método electromiográfico, rápido y, no invasivo que permite determinar el umbral de fatiga en deportes de muy corta duración y de movimientos explosivos, donde no son aplicables las variables fisiológicas clásicas.

### Referencias bibliográficas:

*Lucía, a, Sánchez, O., Carvajal, a, & Chicharro, J. L. (1999). Analysis of the aerobic-anaerobic transition in elite cyclists during incremental exercise with the use of electromyography. British Journal of Sports Medicine, 33(3), 178–185.*

*Mäestu, J., Cicchella, A., Purge, P., Ruosi, S., Jürimäe, J., & Jürimäe, T. (2006). Electromyographic and neuromuscular fatigue thresholds as concepts of fatigue. Journal of Strength and Conditioning Research / National Strength & Conditioning Association, 20(4), 824–828*

*Calbet, JAL, Gonzalez-Alonso, J, Helge, JW, Søndergaard, H, Munch-Andersen, T, Saltin, B, et al. Central and peripheral hemodynamics in exercising humans: Leg vs arm exercise. Scand J Med Sci Sport 25: 144–157, 2015.*

*Jamurtas, AZ, Theocharis, V, Tofas, T, Tsiokanos, A, Yfanti, C, Paschalis, V, et al. Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. Eur J Appl Physiol 95: 179–185, 2005.*

*Farup, J and Sørensen, H. Postactivation potentiation: upper body force development changes after maximal force intervention. J Strength Cond Res 24: 1874–1879, 2010.*

## **Papel de los receptores sigma-1 en la potenciación de la analgesia morfinica en un modelo de dolor visceral murino.**

**Artacho Cordón A, Romero L, Baeyens JM, Cendán CM.**

Departamento de Farmacología e Instituto de Neurociencias.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Los receptores sigma-1 (RS-1) juegan un papel muy relevante en distintos tipos de dolor [1] incluido el dolor visceral [2], y se ha demostrado que este receptor modula la analgesia opioide en modelos de dolor somático [3]. Sin embargo, no está estudiado si esta modulación es extensible al dolor visceral, cuya prevalencia clínica es muy relevante. Por lo tanto, se pretende estudiar el uso potencial de antagonistas RS-1 asociados con morfina como posible estrategia terapéutica para el tratamiento del dolor visceral. Se usaron ratones CD-1 salvajes y knockout para RS-1 (KO). Los fármacos fueron: morfina, naloxona, naloxona metiodida, BD-1047, BD-1063, NE-100 y S1RA. Las respuestas dolorosas espontáneas y la hiperalgesia mecánica referida (evaluada mediante la aplicación en el abdomen de filamentos de von Frey) fueron inducidas por la administración intracolónica de capsaicina al 0,1%. En ratones salvajes, el efecto de la morfina (2 mg/kg), una dosis que produce una reducción moderada de las respuestas dolorosas pero no produce ningún efecto en la hiperalgesia mecánica fue potenciado por todos los antagonistas RS-1 evaluados, siendo mayor esta potenciación en la hiperalgesia mecánica referida. La naloxona revirtió la potenciación morfinica inducida por los antagonistas RS-1, mientras que la naloxona metiodida revirtió completamente la potenciación observada en el dolor referido pero solo parcialmente en dolor agudo. Ningún antagonista RS-1 potenció el efecto de la morfina en animales KO. Estos resultados sugieren que los antagonistas sigma-1 podrían tener un efecto potenciador sobre la analgesia morfinica con utilidad para el tratamiento del dolor visceral.

### *Referencias bibliográficas:*

1. Cobos EJ, Entrena JM, Nieto FR, Cendán CM, Del Pozo E. *Pharmacology and therapeutic potential of sigma-1 receptor ligands. Curr Neuropharmacol. (2008) 6:344-66*
2. Gonzalez-Cano, R., Merlos, M., Baeyens, J. M., Cendan, C. M.  *$\sigma 1$  receptors are involved in the visceral pain induced by intracolonic administration of capsaicin in mice. Anesthesiology (2013) 118, 691-700.*
3. Sánchez-Fernández, C., Nieto, F. R., González-Cano, R., Artacho-Cordón, A., Romero, L., Montilla-García, Á., Zamanillo, D., Baeyens, J. M., Entrena, J. M., Cobos, E. J. *Potential of morphine-induced mechanical antinociception by  $\sigma 1$  receptor inhibition: Role of peripheral  $\sigma 1$  receptors. Neuropharmacology (2013) 70, 348-358.*



# Use of a sigma-1 receptor antagonist as treatment of neuropathic pain produced by spared nerve injury in mice

Bravo Caparrós I<sup>1,2</sup>, Nieto FR<sup>1,2</sup>, Perazzoli G<sup>3</sup>, Baeyens JM<sup>1,2</sup>, Cobos EJ<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Granada, 18016 Granada, Spain.

<sup>2</sup> Institute of Neuroscience, Biomedical Research Center, University of Granada, 18100 Armilla, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department of Human Anatomy and Embryology, School of Medicine, University of Granada, 18016 Granada, Spain. Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Background and aims:** Sigma-1 receptors ( $\sigma_1$ Rs) are an emerging target for the treatment of neuropathic pain [1]. The role of  $\sigma_1$ Rs in neuropathic pain induced by nerve compression is known, but their participation on peripheral neuropathy induced by nerve transection is unexplored. Therefore, we investigated the effect of pharmacological and genetic blockade of  $\sigma_1$ Rs in the neuropathic pain associated to the sciatic nerve spared nerve injury (SNI) model.

**Methods:** SNI was performed on female CD1 wild-type (WT) and  $\sigma_1$ Rs knockout ( $\sigma_1$ Rs-KO) mice [2]. Mechanical allodynia (von Frey test) [3], cold-allodynia (acetone test) [4] and heat hyperalgesia (Hargreave's test) [5] were tested previously to SNI and during three weeks following injury. The effect of  $\sigma_1$ Rs antagonist S1RA (16-64 mg/kg, s.c.) and agonist PRE-084 (32 mg/kg, s.c.) were tested seven days after SNI.

**Results:** WT mice developed prominent cold and mechanical allodynia after SNI, whereas  $\sigma_1$ Rs-KO did not develop cold allodynia and showed reduced mechanical allodynia. These effects were mimicked by the administration of S1RA to neuropathic WT mice, and the effects of the  $\sigma_1$  antagonist were reversed by PRE-084.  $\sigma_1$ Rs-KO and WT mice showed a similar thermal hyperalgesia after SNI. However, S1RA abolished SNI-induced thermal hyperalgesia in WT mice, an effect which was reversed by PRE-084.

**Conclusion:**  $\sigma_1$  receptors have a relevant role in SNI-induced neuropathic pain. The pharmacological antagonism of this receptor can be useful to prevent and/or treat neuropathic pain produced by nerve section.

**Acknowledgments:** Supported by the Spanish Government (SAF2016-80540-R, FPU and Juan de la Cierva-Incorporación grants), Junta de Andalucía (P11-CTS-7649) and Research Program of University of Granada.

## References:

[1] Sánchez-Fernández C, Entrena JM, Baeyens JM, Cobos EJ. Sigma-1 Receptor Antagonists: A New Class of Neuromodulatory Analgesics. *Adv Exp Med Biol* 2017;964:109-132.

[2] Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 2000;87:149-58.

[3] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Method* 1994;53:55-63.

[4] Nieto FR, Cendán CM, Sánchez-Fernández C, Cobos EJ, Entrena JM, Tejada MA, Zamanillo D, Vela JM, Baeyens JM. Role of Sigma-1 Receptors in Paclitaxel-Induced Neuropathic Pain in Mice. *J Pain* 2012;13(11):1107-21.

[5] Nieto FR, Entrena JM, Cendán CM, Pozo ED, Vela JM, Baeyens JM. Tetrodotoxin inhibits the development and expression of neuropathic pain induced by paclitaxel in mice. *Pain* 2008;137(3):520-31.

## Macrophage infiltration into the dorsal root ganglia (DRG) following spared nerve injury (SNI) is reduced in sigma-1 receptor knockout mice

Bravo Caparrós I<sup>1,2</sup>, Nieto FR<sup>1,2</sup>, Perazzoli G<sup>3</sup>, Tejada MA<sup>1,2</sup>, Hamed MF<sup>4</sup>, Cobos EJ<sup>1,2</sup>, Baeyens JM<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Granada, 18016 Granada, Spain.

<sup>2</sup> Institute of Neuroscience, Biomedical Research Center, University of Granada, 18100 Armilla, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department of Human Anatomy and Embryology, School of Medicine, University of Granada, 18016 Granada, Spain.

<sup>4</sup> Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Mansoura University, 35516 Mansoura, Egypt. Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Background and aims:** Sigma-1 receptors ( $\sigma_1$ R<sub>s</sub>) are a neuromodulatory intracellular chaperone able to migrate to the plasma membrane under cellular stress to interact with several receptors and channels [1].  $\sigma_1$ R knockout ( $\sigma_1$ R-KO) mice show a reduced neuropathic pain phenotype, although the underlying mechanisms are not well known [2, 3]. We investigated  $\sigma_1$ R<sub>s</sub> cellular distribution in dorsal root ganglia (DRG) and macrophage infiltration into DRG in the sciatic spared nerve injury (SNI) model of neuropathic pain.

**Methods:** We used female CD-1 wild-type (WT) and  $\sigma_1$ R-KO mice. Immunohistochemistry was performed 7 days after SNI [4] to study the expression of  $\sigma_1$ R<sub>s</sub>, NeuN (neurons), ATF3 (cellular stress) and Iba1 (macrophages) in the L4 DRG.

**Results:**  $\sigma_1$ R<sub>s</sub> are exclusively expressed in DRG neurons (NeuN positive cells) of WT mice, and they were homogeneously distributed in the cytoplasm of most neurons under normal conditions. After SNI, the subcellular distribution of  $\sigma_1$ R<sub>s</sub> changed, as it was concentrated in the plasma membrane of many injured (ATF-3 positive) large DRG neurons, but was still restricted to neurons only. We also detected a massive infiltration of peripheral macrophages in the injured WT DRG, and this was strongly attenuated in  $\sigma_1$ R-KO mice.

**Conclusions:**  $\sigma_1$ R<sub>s</sub> migrate to neuronal plasma membrane and modulate macrophage infiltration into the injured DRGs after SNI. These results might suggest a role for  $\sigma_1$ R<sub>s</sub> in the cross-talk between the injured DRG neurons and macrophages.

**Acknowledgments:** Supported by the Spanish Government (SAF2016-80540-R, FPU and Juan de la Cierva-Incorporación grants), Junta de Andalucía (P11-CTS-7649) and Research Program of University of Granada.

### References:

[1] Sánchez-Fernández C, Entrena JM, Baeyens JM, Cobos EJ. Sigma-1 Receptor Antagonists: A New Class of Neuromodulatory Analgesics. *Adv Exp Med Biol* 2017;964:109-132.

[2] de la Puente B, Nadal X, Portillo-Salido E, Sánchez-Arroyos R, Ovalle S, Palacios G, Muro A, Romero L, Entrena JM, Baeyens JM, López-García JA, Maldonado R, Zamanillo D, Vela JM. Sigma-1 receptors regulate activity-induced spinal sensitization and neuropathic pain after peripheral nerve injury. *Pain* 2009;145(3):294-303.

[3] Nieto FR, Cendán CM, Sánchez-Fernández C, Cobos EJ, Entrena JM, Tejada MA, Zamanillo D, Vela JM, Baeyens JM. Role of Sigma-1 Receptors in Paclitaxel-Induced Neuropathic Pain in Mice. *J Pain* 2012;13(11):1107-21.

[4] Brenneis C, Kistner K, Puopolo M, Segal D, Roberson D, Sisignano M, Labocha S, Ferreirós N, Strominger A, Cobos EJ, Ghasemlou N, Geisslinger G, Reeh PW, Bean BP, Woolf CJ. Phenotyping the function of TRPV1-expressing sensory neurons by targeted axonal silencing. *J Neurosci* 2013;33(1):315-26.

## Doxorubicin-loaded poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles to improve drug antitumor effect

Cabeza L<sup>1,2,3</sup>, Ortiz R<sup>2,4</sup>, Jiménez Lopez J<sup>1,2,3</sup>, Perazzoli G<sup>1,2</sup>, Caba O<sup>2,4</sup>, Rama AR<sup>2,4</sup>, Velez C<sup>1,2,3</sup>, Leiva MC<sup>1,2,3</sup>, Prados J<sup>1,2,3</sup>, Delgado AV<sup>5</sup>, Arias JL<sup>1,2,6</sup>, Melguizo C<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup> Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER), University of Granada, 18100 Granada, España.

<sup>2</sup> Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), SAS-University of Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department of Anatomy and Embryology. Faculty of Medicine, University of Granada. Granada. Spain.

<sup>4</sup> Department of Health Sciences, University of Jaén, 23071 Jaén, España.

<sup>5</sup> Department of Applied Physic, University of Granada, Granada, Spain.

<sup>6</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Granada, 18071 Granada, España.  
Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

Nanotechnology has provided new strategies in biomedicine for the treatment of certain pathologies such as cancer by the development of nanoformulations that transport antitumor drugs improving their solubility, specificity, half-life in blood stream and reducing their toxicity [1]. The tumor pathology more common diagnosed and the main cause of death worldwide for this disease is lung cancer [2]. One of the drug used to treat it is Doxorubicin (DOX) alone or in combination with other drugs. DOX has a good antitumor activity. However, its low specificity for tumor tissues makes it toxic for non-tumor tissues causing severe side effects, especially cardiac toxicity [3].

Our study is based in the development of DOX-loaded poly ( $\epsilon$ -caprolactone) (DOX-PCL) nanoparticles (NPs) that were tested in *in vitro* and *in vivo* lung cancer models. For the *in vitro* model we used human and mouse lung cancer cell lines A549 and LL/2. For the *in vivo* model immunocompetent C57BL/6 mice were subcutaneously inoculated with LL/2 cell line. Our results showed no toxicity of blank PCL NPs in general in any cell line thus demonstrating its biosafety and biocompatibility. Otherwise, DOX-PCL NPs increased cell death reducing the half-inhibitory concentration (IC50) compared to free drug up to 56.3% and 63.6% in A549 and LL/2 respectively (Fig. 1). Furthermore, *in vivo* assays demonstrated better antitumor activity (Fig. 2) and survival and also a reduction of cardiac toxicity in mice treated with DOX-PCL NPs. These results suggest that PCL NPs are a safe and efficient nanoformulation to improve the treatment of lung cancer.

### References:

[1] Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC, *Annu Rev Med, Nanoparticle delivery of cancer drugs (2012) 185–188.*

[2] Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F, *IARC CancerBase No. 11 [Internet], GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide (2013) <http://globocan.iarc.fr>; accessed on 8/February/2017.*

[3] Angsutararux P, Luanpitpong S, Issaragrisil S, *Oxid. Med. Cell. Longev., Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity: Overview of the Roles of Oxidative Stress (2015) 795602.*

## Caracterización de microorganismos aislados de rambla salada (Murcia) mediante el método de dilución a extinción

Cerezo IM<sup>1</sup>, Castro D<sup>1,2</sup>, Martínez Checa F<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada. Instituto de Biotecnología. Centro de Investigación Biomédica. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Armilla (Granada).

<sup>2</sup>Xtrem Biotech Avenida de la Innovación, 1. Edificio BIC. 18016 (Granada).

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Rambla Salada es un espacio natural de especial protección en la comunidad de Murcia, posee ambientes acuáticos y terrestres de distinta concentración y composición salina. La diversidad procariota de este hábitat ha sido estudiada por el grupo de investigación “Exopolisacáridos Microbianos” (BIO 188) tanto por técnicas clásicas como moleculares.

Los métodos de cultivo de alta eficiencia fundamentados en la dilución a extinción<sup>1</sup> aprovechan que la diversidad de especies cultivables aparentemente se incrementa a medida que disminuye la densidad del inóculo, por lo que buscamos mejorar la recuperación de cepas de crecimiento lento o especies que son aparentemente no cultivables, empleando esta técnica junto a medios de cultivo oligotróficos.

De un total de 1100 aislados cultivados, se estudia la caracterización mediante pruebas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y aproximación taxonómica por amplificación del gen ribosomal 16S2 de 178 cepas. El 80% del total fueron bacilos Gram negativos y en menor cantidad cocos y bacilos Gram positivos. Todas las cepas crecieron en un rango de salinidad del 1% al 25% (p/v) de sales, indicando carácter eurihalino. Con respecto a las pruebas enzimáticas, 45% de los aislados produjeron lecitinasa, 43% ADNasa, 44% hidrolizaron la caseína, 40% el almidón, 11% la gelatina, 19% el Tween 20, 52% el Tween 80 y 8% hidrolizaron la quitina.

Pruebas de hibridación ADN-ADN, evidenciaron la existencia de nuevos reportes taxonómicos. Se destaca la descripción de una nueva especie al género *Blastomonas*<sup>3</sup>, denominada *Blastomonas quesadae*. De igual forma, se encuentran en revisión dos nuevas especies del género *Roseovarius*.

### Referencias Bibliográficas

1 Button, D. K., Schut, F., Quang, P., Martin, R. y Robertson, B. R. 1993. Viability and isolation of marine bacteria by dilution culture: theory, procedures, and initial results. *Appl Environ Microbiol* 59 (3): 881-891.

2 Sneath, P. H., & Sokal, R. R. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. San Francisco: Freeman.

3 Castro, D., Llamas, I., Béjar, V., Martínez-Checa, F. 2017. *Blastomonas quesadae* sp. nov. - a bacterium isolated from a saline soil in Rambla Salada (Murcia) by dilution-to-extinction cultivation. *Int J Sys Evol Microbiol* DOI 10.1099/ijsem.0.001902

## Effects of a concurrent exercise training program during pregnancy on maternal blood glucose and lipid profile. The GESTAFIT PROJECT

Coll Risco I<sup>1</sup>, Ruiz Cabello P<sup>1</sup>, Romero Gallardo L<sup>2</sup>, Acosta Manzano P<sup>2</sup>, Borges Cosic M<sup>2</sup>, Ocón O<sup>3</sup>, Onieva Aguayo C<sup>1</sup>, Gascón Cortes E<sup>1</sup>, Sánchez González C<sup>1</sup>, Aparicio VA<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Biomedical Research Center. Institute of Nutrition and Food Technology. IMUDS. Department of Physiology, Faculty of Pharmacy and University of Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Physical Education and Sport, Faculty of Sport Sciences. University of Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department and UGC of Gynaecology and Obstetrics. University Hospital Virgen de las Nieves. Granada, Spain. Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Aim:** During gestation, metabolic adaptations of the mother are essential to ensure appropriate growth and development of the fetus. Consequently, higher concentrations of circulating lipids are a normal physiological adaptive response<sup>1</sup>. Nevertheless, elevated plasma lipid or glucose concentrations during early pregnancy are associated with complications such as preeclampsia, gestational diabetes mellitus and other adverse outcomes for the mother and the newborn<sup>2</sup>. The aim of this study was to evaluate the effects of a training program during pregnancy on maternal glycaemic and lipid profile.

**Methods:** Sixty-six pregnant women were randomized to either an exercise (three 60-min sessions/week of concurrent aerobic and strength training) group (n=25), or usual care (control) group (n=31) from the 17<sup>th</sup> gestational week until delivery. Blood samples were collected at week 16<sup>th</sup> and 34<sup>th</sup> of pregnancy.

**Results:** Plasma fasting glucose was increased by 1% in the control group whereas in the exercise group was reduced by 5% (P<0.001). Total cholesterol increased by 25% in the control group while increased by 17% in exercise group (P=0.059). Low density lipoprotein-cholesterol decreased by 11% in the control and by 32% in the exercise group (P=0.009). Phospholipids increased in both groups but increased by 18% in the control while only by 8% in exercise group. No differences between groups were found in plasma triglycerides concentrations.

**Conclusion:** The concurrent exercise training program developed during pregnancy promoted a more appropriate lipid and glycaemic profile, which could prevent the appearance of complications such as gestational diabetes mellitus, preeclampsia, or offspring's macrosomia.

### References:

1. Basaran A. Pregnancy-induced Hyperlipoproteinemia: Review of the Literature. *Reprod Sci.* 2009;16(5):431-437. doi:10.1177/1933719108330569.
2. Emet T, Üstüner I, Güven SG, et al. Plasma lipids and lipoproteins during pregnancy and related pregnancy outcomes. *Arch Gynecol Obstet.* 2013;288(1):49-55. doi:10.1007/s00404-013-2750-y.

## Efecto de distintos AINES sobre la expresión génica de vegf en células osteoblasticas humanas

Costela Ruiz VJ<sup>1,2</sup>, Manzano Moreno FJ<sup>1,3</sup>, Illescas Montes R<sup>1,4</sup>, Melguizo Rodríguez L<sup>1,2</sup>, De Luna Bertos E<sup>1,2</sup>, Ruiz C<sup>1,2,5</sup>.

<sup>1</sup> Grupo Biosanitario (Bio 277). Departamento de Enfermería. Facultad de Ciencias de la Salud. Instituto Biosanitario (ibs), Granada.

<sup>2</sup> Departamento de Enfermería. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Granada.

<sup>3</sup> Departamento de Estomatología. Facultad de Odontología. Universidad de Granada.

<sup>4</sup> Departamento de Enfermería. Facultad de Enfermería de Melilla. Universidad de Granada.

<sup>5</sup> Instituto de Neurociencias "Federico Oloriz". Universidad de Granada.

Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Introducción:** El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) estimula la angiogénesis, lo que cumple un importante papel en la regeneración tisular, como ocurre en el tejido óseo. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), son fármacos de uso frecuente en el tratamiento de lesiones óseas. Sin embargo, estos medicamentos pueden alterar el crecimiento y la diferenciación/maduración del osteoblasto, célula responsable de la formación y regeneración del hueso.

**Objetivos:** El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de 8 AINEs distintos sobre la expresión génica de VEGF en dos poblaciones de células osteoblásticas.

**Metodología:** Osteoblastos humanos obtenidos por cultivo primario (HOp) y la línea celular de osteosarcoma humano MG63, fueron tratados con una dosis de 10 µM de acetaminofeno, indometacina, ketoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, ketorolaco, naproxeno y piroxicam. A las 24h del tratamiento analizamos la expresión génica de VEGF en las líneas celulares: HOp y MG63, mediante PCR- tiempo real (RT-PCR).

**Resultados y Discusión:** El tratamiento con los distintos AINEs estudiados redujo de manera significativa la expresión de VEGF, independientemente de la línea celular utilizada. Dicho efecto podría contribuir a la alteración de la fisiología de esta población celular. Nuestros resultados contribuyen a poner de manifiesto el efecto adverso que los AINEs pueden ejercer sobre el osteoblasto, repercutiendo sobre su capacidad formadora y reparadora del hueso.

### Referencias bibliográficas:

Berendsen AD and Olsen BR. Bone development. *Bone*. 2015; 80:14-18.

Díaz-Rodríguez L., García-Martínez O., De Luna-Bertos E., Ramos Torrecillas J., Ruiz C. Effect of ibuprofen on proliferation, differentiation, antigenic expression and phagocytic capacity of osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2012; 30:554–560.

Díaz-Rodríguez, L; García-Martínez O, Arroyo-Morales M, Rodríguez-Pérez L, Rubio-Ruiz B, Ruiz C. Effects of indomethacin, nimesulide and diclofenac on human MG-63 osteosarcoma cell line. *Biological Research Nursing*. 2012; 14: 98-107

De Luna-Bertos E, Ramos-Torrecillas J, García-Martínez O, Guildford A, Santin M, Ruiz C. Therapeutic doses of non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit osteosarcoma MG-63 osteoblast-like cells maturation, viability and biomineralization potential. *The Scientific World Journal*. 2013; ID 809891, 13 pages DOI: 10.1155/2013/809891.

De Luna-Bertos E, Ramos-Torrecillas J, Manzano-Moreno FJ, García-Martínez O, Ruiz C. Effects on cell growth of human osteoblast-like cells of three non-steroidal anti-inflammatory drugs, Metamizole, Dexketoprofen, and Ketorolac. *Biological research for Nursing*. 2015; 17(1): 62-67.

Chang JK, Li CJ, Liao H J, Wang C K, Wang GJ, & Ho ML. *Anti-inflammatory drugs suppress proliferation and induce apoptosis through altering expressions of cell cycle regulators and pro-apoptotic factors in cultured human osteoblasts. Toxicology.*2009; 258: 148–156.

Zelzer, E., Olsen, B.R., 2005. *Multiple roles of vascular endothelial growth factor (VEGF) in skeletal development, growth, and repair.*Curr.Top. Dev. Biol. 65, 169–187.

Ornitz DM and Marie PJ. *Fibroblast growth factor signaling in skeletal development and disease.*Genes Dev. 2015 Jul 15; 29(14):1463-86. Doi: 10.1101/gad.266551.115.

Esser JS, Rahner S, Deckler M, Bode C, Patterson C, Moser M. *Fibroblast growth factor signaling pathway in endothelial cells is activated by BMPER to promote angiogenesis.*ArteriosclerThrombVasc Biol. 2015 Feb;35(2):358-67. Do

Kusumbe AP, Ramasamy SK, Adams RH. *Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone.*Nature 2014507:323–328.

Yamamoto N, Otsuka T, Kondo A, Matsushima-Nishiwaki R, Kuroyanagi G; Kozawa O, Tokuda H. *Rac limits TGF- $\beta$ -induced VEGF synthesis in osteoblasts. Molecular and Cellular Endocrinology.*2014; 405: 35-41.

Ikeda, K., & Takeshita, S. (2014). *Factors and Mechanisms Involved in the Coupling from Bone Resorption to Formation: How Osteoclasts Talk to Osteoblasts. Journal of Bone Metabolism, 21(3), 163-167. https://doi.org/10.11005/jbm.2014.21.3.163*

## **Servicios generales en el CIBM unidades de resonancia magnética nuclear animal y de microscopia electrónica (CIC)**

**Ibáñez AF, Tassi M.**

*Centro de Instrumentación Científica.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

### UNIDAD DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR ANIMAL [RMA]

La imagen por resonancia magnética (IRM) es una técnica tomográfica basada en la resonancia magnética nuclear (RMN). La IRM es una de las herramientas más potentes para el estudio *in vivo* de multitud de procesos fisiológicos y fisiopatológicos. Las principales ventajas son la ausencia de radiaciones ionizantes, la versatilidad en el manejo del contraste y la capacidad multiplanar. Las IRM utilizadas en diagnóstico clínico y preclínico aprovechan la RMN del núcleo de H-1, principalmente, y es la energía liberada por los spins de H-1, tras la aplicación de radiofrecuencia, bajo un campo magnético, la que se pondera y potencia en los parámetros de interés.

### UNIDAD DE MICROSCOPIA ELECTRONICA [ME]

La unidad de Microscopia Electrónica del CIC ubicada en el CIBM ofrece servicio tanto de preparación de muestras como de análisis ultraestructural por el Microscopio Electrónico de Transmisión (MET). Las muestras tales como tejidos o pellets pueden ser procesadas para la obtención de cortes semifinos (menos de 1  $\mu\text{m}$ ) para su estudio por microscopia óptica, o ultrafinos (60-80nm) para su estudio por MET, mientras que partículas en suspensión (bacterias, microvisículas, exosomas, proteínas, etc.) son marcadas por tinción negativa para poder observarse directamente en el MET. El microscopio del que disponemos (Leo906E-Carl Zeiss Microscopy) nos permite magnificaciones hasta 600.000x con una resolución de 0.34nm, está equipado con un sistema digital de adquisición de imágenes y un software para la realización de mediciones directamente en pantalla.

#### *Información adicional*

<http://cic.ugr.es/servicios-y-unidades/ficha.php?codServicio=2&unidad=93>

<http://cic.ugr.es/servicios-y-unidades/ficha.php?codServicio=6&unidad=72>



## Niveles de metales en placenta y efectos cognitivos en niños en edad preescolar: proyecto infancia y medio ambiente (INMA)

Freire C<sup>1,2,3</sup>, Amaya E<sup>1</sup>, Gil F<sup>3</sup>, Fernández MF<sup>1,2,3</sup>, Andiarena A<sup>4</sup>, Rodríguez Dehli C<sup>5</sup>, Guxens M<sup>2,6</sup>, Llop S<sup>7</sup>, Olea N<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup> Centro de investigación Biomédica, Universidad de Granada.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA).

<sup>3</sup> CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP).

<sup>4</sup> Instituto de Investigación Sanitaria BIODONOSTIA.

<sup>5</sup> Servicio de Pediatría, Hospital San Agustín, Avilés.

<sup>6</sup> Instituto de Salud Global de Barcelona (ISGlobal).

<sup>7</sup> FISABIO-Universitat Jaume I, Universitat de València.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Objetivo:** Evaluar el posible efecto de la exposición temprana Pb, Hg, Cd, arsénico (As), cromo (Cr) y manganeso (Mn) en la función cognitiva a los 4-5 años de edad.

**Métodos:** Se exploró la asociación entre los niveles de dichos elementos en muestras aleatorias de placenta, recogidas entre 2000 y 2008, y la función cognitiva en cinco de las cohortes de nacimiento del estudio Infancia y Medio Ambiente (INMA) (Asturias, Granada, Guipuzkoa, Sabadell y Valencia). Los niveles de metales fueron determinados mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (Pb, Cd, Hg, Mn) y generación de hidruros en el caso del As. El desarrollo neuropsicológico fue evaluado a los 4-5 años de edad usando las escalas McCarthy de Aptitudes y Psicomotricidad para niños (MSCA). El análisis final se realizó con 280 niños para los que se disponía de información de exposición a metales, función cognitiva y covariables relevantes.

**Resultados:** Tras ajustar por los factores de confusión, los niveles de As se asociaron con una menor puntuación en la función ejecutiva global y verbal y en el área numérica, los de Hg con un peor desempeño en memoria verbal, función verbal del cortex posterior y función motora, y los de Mn se mostraron inversamente asociados con las puntuaciones obtenidas para las funciones perceptivo-manipulativa y función visual del cortex posterior. No se observaron efectos negativos para Cd, Cr y Pb.

**Conclusiones:** La exposición fetal a metales neurotóxicos puede ser un factor de riesgo para alteraciones del neurodesarrollo infantil.

## Analysis of economic cost and technical criteria to include samples of hematopoietic precursors not valid for clinical use in a biobank to research use

Gómez Cabañas L<sup>1,4,6</sup>, De La Torre Ortega L<sup>1,6</sup>, Gómez Ramírez R<sup>1,2,6</sup>, Miranda Serrano B<sup>1</sup>, Romero Vega E<sup>5</sup>, Barbero Garcés MA<sup>5</sup>, Sánchez López AM<sup>1,2,3,4,6</sup>.

<sup>1</sup> Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Granada.

<sup>2</sup> Plataforma "Red Nacional de Biobancos"-ISCIII.

<sup>3</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Ibs Granada.

<sup>4</sup> Plataforma de Recursos Biomoleculares y Bioinformáticos-ISCIII.

<sup>5</sup> Centro Regional de Transfusión Sanguínea y Banco Sectorial de Tejidos de Cádiz.

<sup>6</sup> Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Background:** Numerous hematopoietic progenitors' units (HP units) are discarded for clinical use because the transplant for which they were collected wasn't carried out. Due to the enormous value and potential interest of these samples the SSPA (Andalusian Public Health System) Biobank recovered them for their possible use in research. With this purpose we evaluate the viability of hematopoietic cells and validate the preservation process and the best final storage format for its possible splitting and final distribution.

**Methods:** We first analyzed the initial viability of cells after thawing and then we studied the effect of the preservation process on freezing and defreezing total recovery and viability under different conditions: DMSO concentration and the freezing method. Finally, we analyzed the economic costs of the different process.

**Results:** We observe an average viability of 70% after hematopoietic cells initial thawing, so the samples would be suitable for research purposes.

Regarding the preservation process we did not observe any difference related to cell viability between the DMSO concentrations and freezing methods. However, we find differences in the economic cost associated with each of these methods of freezing, resulting cheaper the preservation method with refrigerant containers at -80°C.

**Conclusions:** PH units discarded for clinical use can be splitted and derived for research applications. Furthermore, the technical and economic analysis of the different processes indicates that the best method is a freezing ramp with refrigerant containers at -80°C and a 7-10% of DMSO, only due to economic reasons, since no technical differences are observed.

### References:

Dijkstra-Tiekstra et al. 2014. Optimization of the freezing process for hematopoietic progenitor cells: effect of precooling, initial dimethyl sulfoxide concentration, freezing program, and storage in vapor-phase or liquid nitrogen on in vitro White blood cell quality. *Transfusion*, volume 54, p. 3155-3163

UNE-EN ISO/IEC 17025:2005: Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. AENOR. Junio 2005.

Supplementary guidelines in good manufacturing practice: validation. Analytical method validation. In: WHO Expert Committee on Specifications for pharmaceutical Preparations. Fortieth report. Geneva, World Health Organization, 2006, Annex 4, (WHO Technical Report Series, No. 937

## **Dopamine d1 receptors blockade in the nucleus accumbens shell and attenuation of flavor neophobia in rats**

**Grau Perales A, Morillas E, Gómez Chacón B, Navarro Expósito A, Juan B, Morón I, Gallo M.**

*Dept. Psychobiology. Institute of Neurosciences.*

*Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

The attenuation of neophobia to a novel flavor over repeated exposures is associated with changes in its hedonic value as the flavor becomes more palatable. Previous studies have suggested a role of the nucleus accumbens (Nacc) in processing taste palatability which is affected by aging. To explore the role of Nacc in flavor neophobia during aging, we applied c-Fos immunohistochemistry as an index of neural activity of the Nacc Core and Shell. Twenty one adult (5-month-old) and 24 aged (24-month-old) male Wistar rats were exposed to a 3% cider vinegar solution for 1, 2 or 6 consecutive days ( $n=7$  adult and  $n=8$  aged rats/group). Aged rats exhibited slower attenuation of flavor neophobia than adult rats. This was consistent with the Nacc pattern of c-Fos activity. Adult rats exhibited increased Nacc Shell activity on day 2 compared to days 1 and 6, while this increase was delayed to day 6 in aged rats. Adult rats did not show differences in the number of Nacc Core c-Fos positive cells. However, increased c-Fos expression was found on day 6 compared to days 1 and 2 in the case of aged rats, suggesting changes in the activity of neural circuits during normal aging that could underlie the slower attenuation of flavor neophobia in aged rats.

We then explored the implication of D1 dopamine receptors in the Nacc Shell during flavor recognition memory. Forty adult (five-month-old) male Wistar rats were exposed to water ( $n=18$ ) or 3% cider vinegar solution ( $n=22$ ) for six consecutive days using 15-minute drinking sessions. They received i.c. injections of vehicle or the D1 receptors antagonist SCH23390 (1 $\mu$ l per hemisphere, 5 $\mu$ g/ $\mu$ l) into the Nacc Shell 15 minutes prior to the drinking session on day two.

The behavioral results indicated a neophobic response to the vinegar solution in all the groups. The control group receiving vehicle showed attenuation of flavor neophobia.

However, rats that received SCH23390 did not increase consumption of vinegar on day two. In addition, the groups exposed to water did not differ in consumption. These results are consistent with previous reports relating the area with the acquisition of learned taste aversions and support an additional role of the nucleus accumbens shell in flavor recognition memory mediated by D1 dopamine receptors.

### Reference:

*Supported by PSI2014-57643-P (MINECO.Spain). A.B Grau-Perales is recipient of a predoctoral grant (FPU 14/1531).*

# Importancia de la validación de normalizadores de heterogeneidad tumoral para el análisis de los patrones de expresión de miRs en cancer

Griñan Lison C<sup>1,2</sup>, Morata Tarifa C<sup>1,2,3</sup>, Picón M<sup>1,2,3</sup>, Boulaiz H<sup>1,2,4</sup>, Perán M<sup>1,5</sup>, Garcia MA<sup>1,2,6</sup>, Marchal JA<sup>1,2,4</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Universidad de Granada.

<sup>2</sup> Instituto Biosanitario de Granada (ibs.GRANADA).

<sup>3</sup> Braman Family Breast Cancer Institute, Sylvester Comprehensive Cancer Center, Universidad de Miami, Escuela de Medicina Miller, Miami.

<sup>4</sup> Departamento de Anatomía Humana y Embriología, Universidad de Granada.

<sup>5</sup> Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén.

<sup>6</sup> Hospitales Universitarios de Granada, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Departamento de Oncología, Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

Los microRNAs oncogénicos (miRs) han surgido como biomarcadores diagnósticos y nuevos dianas moleculares para las terapias con fármacos anticancerígenos. La PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) es una de las técnicas más usadas para analizar miRs. Sin embargo, varios estudios muestran discrepancias, lo que sugiere que el uso de normalizadores inadecuados podría sesgar los resultados. La heterogeneidad tumoral dificulta aún más la selección de un adecuado control normalizador endógeno. En este sentido, hemos evaluado cinco miRs reverenciados comúnmente (U6, rRNA5s, SNORD44, SNORD24 y hsa-miR-24c-3p) utilizando algoritmos RedFinder para realizar un análisis de expresión de estabilidad en i) las células normales de colon, ii) Y iii) subpoblaciones de células madre cancerígenas (CSCs) aisladas en base de su actividad ALDH y a su sensibilidad diferencial cuando se exponen a tripsina. Hemos identificado SNORD44 como un adecuado gen housekeeping para qPCR comparando células normales y células tumorales. Sin embargo, este miR no fue un normalizador útil para las subpoblaciones de CSCs versus subpoblaciones sin propiedades CSCs. Además, se muestra por primera vez que hsa-miR-24c-3p es el normalizador más estable para estas dos subpoblaciones. También en el análisis bioinformático y qPCR hemos identificado diferentes patrones de expresión miR en cáncer de colon versus células no tumorales utilizando los normalizadores adecuados previamente seleccionados. Nuestros resultados alientan a un análisis más profundo de los patrones de expresión de miRs en la heterogeneidad tumoral, para posibles estudios diagnósticos y terapéuticos, y enfatizan así la importancia de seleccionar normalizadores adecuados que asegure la robustez y fiabilidad de los estudios.

## Referencias bibliográficas:

Volinia S et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 2257–2261, doi: 10.1073/pnas.0510565103 (2006)

Dheda K et al. The implications of using an inappropriate reference gene for real-time reverse transcription PCR data normalization. *Anal Biochem* 344, 141–143, doi: 10.1016/j.ab.2005.05.022 (2005)

Morata Tarifa C. et al. Low adherent cancer cell subpopulations are enriched in tumorigenic and metastatic epithelial-to-mesenchymal transition-induced cancer stem-like cells. *Sci Rep* 6, doi: 10.1038/srep18772 (2016)

Saumet A, & Lecellier CH. microRNAs and Personalized Medicine: Evaluating Their Potential as Cancer Biomarkers. *Adv Exp Med Biol* 888, 5-15. doi: 10.1007/978-3-319-22671-2\_2 (2015)

Appaiah HN et al. Persistent upregulation of U6:SNORD44 small RNA ratio in the serum of breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 13, R86. doi: 10.1186/bcr2943 (2011)

Herzig DO & Tsikitis VL. Molecular markers for colon diagnosis, prognosis and targeted therapy. *Surg Oncol* 111, 96-102. doi: 10.1002/jso.23806 (2015)

Garcia DM et al. Weak seed-pairing stability and high target-site abundance decrease the proficiency of lsy-6 and other microRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 18 (10), 1139-46. doi: 10.1038/nsmb.2115 (2011)

## Regenerative therapies applied to central nervous system diseases: differentiation from mesenchymal stem cells to neural lineage cells

Hernández R<sup>1,2</sup>, Berdasco M<sup>3</sup>, Jiménez Luna C<sup>2</sup>, Zafra I<sup>2</sup>, Vélez C<sup>1,2</sup>, Melguizo C<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), SAS-Universidad de Granada, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER).

<sup>3</sup> Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL), Barcelona, Spain.

Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

At the present moment, degenerative diseases of the central nervous system (CNS) do not have an effective treatment. Stem cell research presents itself as a very promising tool in this field. Adipose tissue has been widely used for obtaining human mesenchymal stem cells (hMSCs) [1-2], which have the capacity to differentiate themselves into mesodermal origin cells [3] and nervous system cells [4] in vitro. The aim of this study was to isolate and characterize mesenchymal stem cells from lipoaspirates samples obtained from patients at the Health Hospital of Granada. These cells were characterized by flow cytometry for specific mesenchymal stem cells markers like CD73+, CD105+ and CD90+, being negative for hematopoietic antigens like CD45, CD34 and CD133. The culture of these cells was made with three differentiating medium composed by different growth factors such as EGF, FGF, HGF or VEGF among others; NEU 1, NEU 2 and NEU 3 that lasted 21, 15 and 10 days respectively. The result was a significant morphological change and the expression of neuronal lineage markers such as nestin, NFM, tubulin III or functional marker like SNAP25, in immunohistochemical characterization, western and RT-PCR studies.

The results indicate that differentiation of mesenchymal stem cells obtained from lipoaspirate samples to neuronal lineage is possible, and a better understanding of the mechanism of reprogramming adult stem cells could be a promising tool in the treatment of neurodegenerative diseases.

### References:

1. Rezanejad, H., et al., *In vitro* differentiation of adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells into neural retinal cells through expression of human PAX6 (5a) gene. *Cell Tissue Res*, 2014. 356(1): p. 65-75.
2. Qu, X., et al., Differentiation of reprogrammed human adipose mesenchymal stem cells toward neural cells with defined transcription factors. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013. 439(4): p. 552-8.
3. Hu, F., et al., Effects of epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor on the proliferation and osteogenic and neural differentiation of adipose-derived stem cells. *Cell Reprogram*, 2013. 15(3): p. 224-32.
4. Zhao, Y., et al., Neurogenic differentiation from adipose-derived stem cells and application for autologous transplantation in spinal cord injury. *Cell Tissue Bank*, 2014.

# Nueva metodología analítica para la cuantificación de disruptores endocrinos-no persistentes en leche materna

Iribarne Durán LM<sup>1\*</sup>, Vela Soria F<sup>1</sup>, Jiménez Díaz I<sup>1</sup>, Olea N<sup>1,2,3</sup>,

*e-mail:* luzmaria.irdu@gmail.com

<sup>1</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria (ibs.GRANADA. Complejo Hospitalario Universitario de Granada.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria (ibs.GRANADA), Universidad de Granada, España.

<sup>3</sup> CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), España.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.

**Palabras clave:** Leche materna, disruptores endocrinos, análisis químico, banco de leche.

**Objetivo:** La exposición a Disruptores Endocrinos (DEs), sustancias exógenas capaces de alterar la homeostasis del sistema endocrino, presentes en numerosos objetos de uso cotidiano, está relacionada con numerosos efectos adversos en salud. El objetivo de este trabajo es validar una metodología analítica para cuantificar la exposición a una selección de DEs nopersistentes en leche materna.

**Metodología:** Se ha desarrollado una metodología que incluye el tratamiento de muestras mediante microextracción dispersiva líquido-líquido (implicando tratamiento enzimático, precipitación de proteínas y extracción) y cuantificación de analitos mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem. Se ha llevado la optimización y validación del método en 15 muestras donadas al Banco de Leche Materna de Granada.

**Resultados:** Se han obtenido límites de cuantificación (0.3-0.7 ng/mL), detección (0.1-0.2 ng/mL), y desviaciones estándar relativas entre 4.3%-14.8%, para los DEs seleccionados: metilparaben, el compuesto detectado con mayor frecuencia (11/15, mediana= 2.5 ng/mL), seguido de benzofenona-3 (9/15). Otros compuestos detectados en menor proporción incluyeron propilparaben (6/15), etilparaben (5/15), bisfenol A (4/15) y butilparaben y benzofenona-1 (1/15), cuyas medianas de concentración estaban por debajo del límite de detección.

**Discusión/Conclusión:** La metodología propuesta permite la determinación simultánea de varios DEs de manera rápida y con bajo coste, por lo que es idónea para su utilización en estudios de biomonitorización de estos contaminantes ambientales.

## Referencias:

1: Rodríguez-Gómez R, Jiménez-Díaz I, Zafra-Gómez A, Ballesteros O, Navalón A. A multiresidue method for the determination of selected endocrine disrupting chemicals in human breast milk based on a simple extraction procedure. *Talanta*. 2014;130:561-70.

2: Jiménez-Díaz I, Zafra-Gómez A, Ballesteros O, Navalón A. Analytical methods for the determination of personal care products in human samples: an overview. *Talanta*. 2014;129:448-58.

3: Hines EP, Mendola P, von Ehrenstein OS, Ye X, Calafat AM, Fenton SE. Concentrations of environmental phenols and parabens in milk, urine and serum of lactating North Carolina women. *Reprod Toxicol*. 2015;54:120-8.

## Correlación entre factores de virulencia y las moléculas señal de quorum sensing en tres patógenos marinos

Izquierdo P<sup>1</sup>, Torres M<sup>1,2</sup>, Reina JC<sup>1</sup>, Llamas I<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España.

<sup>2</sup> Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación Biomédica, Parque Tecnológico de la Salud, Armilla, España.  
Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.

Los patógenos bacterianos más comunes que afectan a la acuicultura pertenecen al género *Vibrio* y son los responsables de muchas enfermedades como el blanqueamiento de corales y la septicemia hemorrágica (vibriosis) en peces y moluscos<sup>1</sup>. Durante los últimos años, se ha asociado la virulencia de diferentes bacterias patógenas con los sistemas quorum sensing (QS), un sofisticado mecanismo para coordinar la expresión génica en función de la densidad celular mediante la difusión de pequeñas moléculas señal, como las *N*-acilhomoserin lactonas (AHLs). Debido a ello, muchos de los organismos competidores han desarrollado diferentes estrategias con el fin de interrumpir los sistemas QS, como es el caso de la producción de enzimas degradadoras de AHLs, que se conoce como quorum quenching (QQ)<sup>2</sup>.

En el presente estudio se evalúa la expresión de los factores de virulencia en las especies patógenas *V. mediterranei*, *V. coralliilyticus* y *V. owensii* tras la inactivación de la producción de moléculas AHLs. Para ello, se construyeron mutantes de estas cepas afectadas en la síntesis de AHLs mediante la transferencia de plásmidos que contienen lactonasas y seguidamente se llevaron a cabo numerosas pruebas fenotípicas. Los resultados indican claramente que existe una correlación entre la producción de AHLs y la expresión de algunos factores de virulencia en las tres cepas patógenas de *Vibrio* estudiadas.

La información de esta investigación contribuye al desarrollo de nuevas terapias futuras basadas en la interrupción de AHLs, una de las alternativas más prometedoras actualmente para combatir las enfermedades infecciosas en acuicultura.

### Referencias bibliográficas:

1 Lafferty, K.D., Harvell, C.D., Conrad, J.M., Friedman, C.S., Kent, M.L., Kuris, A.M. 2015. *Ann Rev Mar Sci* 7: 471–496.

2 Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., and Bossier, P. 2008. *ISME J* 2: 19–26.

## **Improve of the paclitaxel activity by the use of polymeric nanoparticles of lactic and glycolic acid: assay in multicellular spheroids from lung cancer cells**

**Jiménez Lopez J<sup>1,2</sup>, Cabeza L<sup>1,2</sup>, El-Hammadi M<sup>3</sup>, Martín Balderas L<sup>3</sup>, Leiva MC<sup>1,2</sup>, Perazzoli G<sup>1,2</sup>, Melguizo C<sup>1,2</sup>, Prados JC<sup>1,2</sup>, Ortiz R<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup> *Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER), 18100 Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), SAS-Universidad de Granada, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Sevilla, 41012 Sevilla, Spain.*

<sup>4</sup> *Department of Health Science, University of Jaén, 23071 Jaén, Spain.*

*Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

Paclitaxel (PTX) is a cytotoxin used as a drug of choice for the treatment of various types of solid tumors, including breast and lung cancer. However, its commercial formulation (Taxol®) has been associated with several side effects such as hematologic toxicity, bone marrow depression, and painful peripheral neuropathy. A promising type of polymeric nanoparticles of lactic and glycolic acid loaded with this drug (PLGA-PTX) for the treatment of lung cancer is proposed to solve these limitations. The results of proliferation assays showed significant dose reduction IC<sub>50</sub> with PLGA-PTX up to 3.6 and 3.7 times lower in two human lung tumor cell lines A549 and NCI-H460, compared to free PTX. No inhibition was observed in the growth with blank nanoparticles. For cellular uptake studies with fluorescence microscopy, A549 was incubated with Nile red (NR) and NR-loaded NPs at different times. The results obtained suggest that NP-PTX facilitate the incorporation of NR into the cell compared with free NR. Finally, multicellular tumour spheroids (MTS) assays in A549 were performed and MTS were treated with PTX, PLGA-PTX and blank NPs at the IC<sub>50</sub> dose of free PTX.

MTS growth was monitored with imaging microscopy and the apoptosis induced was analyzed by a TUNEL assay. PLGA-PTX caused a significant reduction in the volume of MTS (73%) in comparison to free PTX (46%). In addition, the number of apoptotic cells was higher in MTS treated with PLGA-PTX. The set of results presented in this work suggest that the association of paclitaxel with nanoparticles improves the antitumor effect of the drug and facilitates its incorporation into the tumor cells.

### *References:*

[1] *Contreras-Cáceres, R., Leiva, M.C., Ortiz, R. et al., Nano Research (2017) 1-20*

[2] *Ma, P., & Mumper, R. J., Journal of Nanomedicine & Nanotechnology, 02 (2013) 1-16*

[3] *Sadat Tabatabaei Mirakabad, F., et al, Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 15 (2014) 517–535*

[4] *Sun, Y. B.; Yu, B.; Wang, G. Y.; Wu, Y. S.; Zhang, X. M.; Chen, Y. M.; Tang, S. Q.; Yuan, Y.; Lee, R. J.; Teng, L. S. et al. Colloids Surf. B Biointerfaces, 123 (2014) 716–723*



## Pancreatic ductal adenocarcinoma early detection: new biomarkers based on gene and metabolomics expression profiles

Jiménez Luna C<sup>1</sup>, Hernández R<sup>1,2</sup>, Rojas I<sup>3</sup>, Alvarez PJ<sup>1</sup>, Martínez Galan J<sup>4</sup>, Delgado JR<sup>4</sup>, Torres C<sup>5</sup>, Perales S<sup>5</sup>, Ríos S<sup>6</sup>, Díaz C<sup>6</sup>, Pérez J<sup>6</sup>, Linares A<sup>5</sup>, Prados J<sup>1,2</sup>, Caba O<sup>7</sup>.

<sup>1</sup> *Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER), Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), SAS-Universidad de Granada, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Department of Computer Architecture and Computer Technology, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>4</sup> *Department of Oncology, Virgen de las Nieves University Hospital, Granada, Spain.*

<sup>5</sup> *Department of Biochemistry and Molecular Biology I, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>6</sup> *Foundation Center of Excellence, Innovative Medicines Research (MEDINA) of Andalucía, Granada, Spain.*

<sup>7</sup> *Department of Health Science, University of Jaén, Jaén, Spain.*

*Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the most common type of pancreatic cancer (90% of cases) [1]. In comparison to other malignancies, the outcome of patients is strongly bad, in fact, the 5 years survival rate is only 5% [2]. At the time of diagnosis, over 80% of patients present an advanced tumor stage, where no curative therapy exists [3]. A desired strategy to improve prognostic of these patients is early diagnosis, however, the only biomarker approved by the FDA for PDAC, the CA-19.9, lacks both specificity and sensitivity as a diagnostic marker [4], which it highlights the urgent need for accurate diagnosis biomarkers.

The availability of genomic and metabolomics technologies, has led to an increasing interest in liquid biopsy as a potential source of biomarkers. In order to enable early detection of disease, our objective was to identify new biomarkers in peripheral blood, which differentiate between PDAC patients and healthy individuals. We observed a differential gene expression profile between peripheral blood mononuclear cells from 18 PDAC patients and 18 controls, by microarray and RT-qPCR techniques. Our analysis showed two genes, *CLEC4D* and *IRAK3*, which could identify PDAC patients with 86% sensitivity and 100% specificity. Additionally, we present the main findings observed from a metabolomics untargeted approach carried out with serum from patients and controls. In this regard, we determined that it is possible to discriminate these two groups using the differential concentration levels of specific phospholipids, such as different types of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine and other metabolites such p-cresol sulfate.

### References:

1. Biankin, A.V., et al., *Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes. Nature*, 2012. 491(7424): p. 399-405.
2. Buchholz, M., et al., *Specialized DNA arrays for the differentiation of pancreatic tumors. Clin Cancer Res*, 2005. 11(22): p. 8048-54.
3. Yeo, T.P., et al., *Pancreatic cancer. Curr Probl Cancer*, 2002. 26(4): p. 176-275.
4. Baine, M.J., et al., *Transcriptional profiling of peripheral blood mononuclear cells in pancreatic cancer patients identifies novel genes with potential diagnostic utility. PLoS One*, 2011. 6(2): p. e17014.

## **Alta plasticidad en el control de la reproducción estacional del topillo mediterráneo, *Microtus Duodecimcostatus***

**Lao M, Barrionuevo F, Massoud D, Hurtado A, Palomino R, Burgos M, Jiménez R.**

*Departamento de Genética, Universidad de Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

En especies con reproducción estacional, los testículos experimentan cambios sustanciales entre la época reproductiva y la no reproductiva. Muchas poblaciones sufren un proceso de involución que conlleva la degeneración y eliminación del epitelio germinativo. No obstante, el proceso varía entre especies, habiéndose detectado diferencias significativas que han suscitado cierta controversia acerca de si existe un mecanismo general de regresión testicular en mamíferos. En este trabajo hemos investigado varias poblaciones de topillo mediterráneo, *Microtus duodecimcostatus*, con el fin de estudiar: 1) si tienen reproducción estacional; 2) el estado funcional de los principales tipos celulares, estructuras y procesos biológicos durante el ciclo reproductivo; 3) el patrón espacio-temporal de expresión de varios genes involucrados en la función testicular; 4) la función androgénica testicular; 5) el papel de la apoptosis y la proliferación celular en el proceso de regresión testicular; y 6) el papel de las uniones intercelulares en la dinámica estacional de las células germinales.

Esta especie presenta regresión testicular completa durante el verano, pero esto sólo ocurre en las poblaciones localizadas en páramos y no en alamedas de la misma región geográfica ni en el animalario, donde la reproducción tiene lugar durante todo el año. Puesto que los tres grupos de animales estuvieron sometidos al mismo fotoperiodo, nuestras observaciones muestran que es el microambiente en el que vive cada población lo que determina su estatus reproductivo. Nuestros resultados indican 1) que los mecanismos que controlan la reproducción estacional son muy plásticos; y 2) que dichos mecanismos parecen evolucionar muy rápidamente.

### *Referencias bibliográficas:*

*Dadhich RK et al., (2010) Biology of Reproduction, 83: 83-91.*

*Dadhich RK et al., (2013) Biology of Reproduction, 88:101-114.*

*Jimenez R. et al., (2015) Sexual Development (in press).*

*Massoud D. et al., (2014) J. Experimental Zoology (Mol. Dev. Evol.) 322B: 304-315.*

## La leche de cabra fermentada mejora el estado antioxidante total

**Moreno Fernández J, Díaz Castro J, Alférez MJM, Nestares T, López Aliaga I.**

*Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix" y Departamento de Fisiología. Facultad de Farmacia e Universidad de Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Antecedentes:** Los productos lácteos fermentados, ya sean de leche de vaca o cabra, son alimentos tradicionalmente consumidos por la población en general, que además de su alto valor nutricional contienen determinados componentes bioactivos que juegan un papel clave en la defensa ante posibles infecciones patógenas y procesos alérgicos y en la promoción de la salud.

**Objetivo:** Estudiar la posible influencia de las leches fermentadas de cabra o vaca sobre el estado antioxidante total (TAS), como marcador de estrés oxidativo.

**Material y métodos:** 20 ratas macho Wistar albino se alimentaron durante 30 días con una dieta basada en leche de vaca fermentada (raza Holstein) o con leche de cabra fermentada (raza Murciano-granadina), en polvo (20 % de proteína y 10% de grasa). Al finalizar el estudio, y tras canulación de la aorta abdominal se obtuvieron muestras de sangre y se centrifugaron (1500g, 4°C, 15 min) para determinar el TAS plasmático, utilizando el kit comercial TAS Randox (Randoxlaboratories, Ltd, Crumlin, UK).

**Resultados:** El TAS fue mayor en animales controles alimentados con dieta basada en leche fermentada de cabra con respecto a la leche fermentada de vaca ( $P < 0,01$ ).

**Conclusión:** La leche de cabra fermentada presenta efectos positivos sobre el estado antioxidante total, limitando el daño oxidativo a las principales biomoléculas y mejorando su metabolismo celular. El conocimiento obtenido de estos hallazgos proporciona una base para recomendar la inclusión de la leche de cabra fermentada en la dieta.

## **Evaluación de la estabilidad genómica de dietas a base de leche de cabra o vaca suplementadas con ácido fólico**

**Díaz Castro J, Moreno Fernández J, Alférez MJM, Nestares T, López Aliaga I**

*Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix" y Departamento de Fisiología. Facultad de Farmacia e Universidad de Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Antecedentes:** La leche de cabra presenta unas características nutricionales beneficiosas, pero a pesar de ello es deficitaria en ácido fólico, una vitamina esencial que actúa como cofactor regulando el crecimiento celular, la diferenciación y los mecanismos de reparación de daños en la molécula de ADN.

**Objetivo:** Evaluar el efecto de dietas elaboradas a base de leche (cabra o vaca), con contenido normal en ácido fólico o suplementadas, sobre el daño mediado por el estrés oxidativo al ADN.

**Material y métodos:** 40 Ratas macho wistar albinas ( $42 \pm 5$  g de peso corporal) alimentadas durante 30 días con dieta basada en leche de cabra o leche de vaca, con contenido normal en ácido fólico (2 mg/kg) o alto (40 mg/kg). Posteriormente, se obtuvieron muestras de sangre para medir la estabilidad del ADN en linfocitos aislados usando el ensayo Comet alcalino.

**Resultados:** El daño en el ADN fue mucho menor en las ratas que recibieron la dieta basada en leche de cabra que en las que consumieron la dieta a base de leche de vaca, como lo revela el alto porcentaje de ADN en la cabeza y el bajo Olive Tail Moment (OTM). La suplementación con ácido fólico de la dieta a base de leche de cabra tuvo un efecto beneficioso sobre la estabilidad del ADN, reduciendo el OTM.

**Conclusión:** la leche de cabra presenta efectos beneficiosos, tales como la protección del ADN celular de los radicales libres y el daño oxidativo, y la suplementación con ácido fólico mejora este efecto protector.

## Obesidad y metales: su relación con parámetros espermáticos

López P<sup>1</sup>, Castro A<sup>2</sup>, Florez M<sup>2</sup>, Miranda K<sup>1</sup>, Sánchez C<sup>3</sup>, Llopis J<sup>3</sup>, Arredondo M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Micronutrientes. INTA, Universidad de Chile.

<sup>2</sup>Laboratorio de Gametos. IDIMI, Universidad de Chile.

<sup>3</sup>Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** Se ha reportado una disminución en la fertilidad y fecundidad masculina<sup>1</sup>, lo que se ha producido en forma paralela con el aumento de la obesidad<sup>2</sup>. Otros factores ambientales tales como los metales presentes en el agua y dieta tienen un impacto en los parámetros espermáticos<sup>3</sup>.

**Objetivo:** Estudiar el efecto que tiene la obesidad y los metales en plasma seminal (PS) en los parámetros espermáticos.

**Métodos:** Se clasificaron 24 hombres normozoospermicos (26-45 años) en: grupo control (GC, IMC <26 kg/m<sup>2</sup>) y grupo obeso (GO, IMC >30 kg/m<sup>2</sup>). Diecisiete metales fueron medidos por ICP-MS. Se realizó la prueba de Mann Whitney y correlación R de Spearman.

**Resultados:** En el grupo GC, un 61% (58%-64%) de los espermatozoides presenta motilidad progresiva y un 55% (50.5%-60.5%) en el grupo GO (p=0,01). Estos valores se correlacionan negativamente (r=-0,98; p<0,01) con el porcentaje de espermatozoides inmóviles que fue de un 40% (35,5%-46,5%) en GO y un 36% (32%-39%) en GC (p=0,02). Hubo diferencias en los porcentajes de espermatozoides con defectos en cola, reportando un 5% (4%-7,5%) en GO y un 4% (2%-5%) en GC (p=0,01). Se observaron mayores concentraciones de V, Cr, Mn, Y, Ni y Pb en el PS del GO con respecto al GC (p<0,01). De estos metales, V, Ni, Pb y Y tienen una correlación moderada (p<0,05) con IMC y defectos en cola.

**Conclusión:** La obesidad tiene un impacto en las características de motilidad espermática y se correlaciona con la presencia de seis metales en PS. De estos, V, Ni, Pb y Y presentan una correlación con defectos en cola.

### Referencias bibliográficas:

1. Swan, S.H., E.P. Elkin, and L. Fenster, *The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996. Environ Health Perspect*, 2000. 108(10): p. 961-6.
2. Du Plessis, S.S., et al., *The effect of obesity on sperm disorders and male infertility. Nat Rev Urol*, 2010. 7(3): p. 153-61.
3. Zhou, Y., et al., *Evaluation of urinary metal concentrations and sperm DNA damage in infertile men from an infertility clinic. Environ Toxicol Pharmacol*, 2016. 45: p. 68-73.

## **Analysis of quality indicators in DNA samples obtained from different types of biological samples for the consolidation of DNA isolation service in the biobank of the andalusian public health system**

**Lucena Aguilar G<sup>1237</sup>, Sánchez López AM<sup>12347</sup>, Barberán Aceituno C<sup>1</sup>, Carrillo Ávila JA, López Guerrero JA<sup>5,6</sup>, Aguilar Quesada R<sup>12347</sup>.**

<sup>1</sup> *Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía.*

<sup>2</sup> *Plataforma de recursos biomoleculares y bioinformáticos.*

<sup>3</sup> *Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, IBS Granada.*

<sup>4</sup> *Plataforma “Red Nacional de Biobancos”-ISCIII.*

<sup>5</sup> *Laboratorio de Biología Molecular y* <sup>6</sup> *Biobanco, Fundación Instituto Valenciano de Oncología.*

<sup>7</sup> *Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.*

### **Resumen:**

1. High-quality human DNA samples and associated information of individuals are necessary for biomedical research. Biobanks act as a support infrastructure for the scientific community by providing a large number of high-quality biological samples. For this purpose, biobank methods for sample preparation must ensure the usefulness and long-term functionality of the products obtained. Quality indicators are the tool to measure these parameters, the purity and integrity determination being those specifically used for DNA.
2. This study analyzes the quality indicators in DNA samples derived from human 118 frozen tissues OCT, 68 FFPE tissues, 119 frozen blood and 26 saliva samples. The results obtained for DNA quality are discussed in association to the usefulness and availability of the DNA source in the target study. Briefly, if any material is valid, saliva is the easier prospective collection of samples providing quality-high DNA.
3. However, if diseased tissue is a requisite, the recommended source of DNA would be frozen tissue. These conclusions will determine the distribution by the biobank of the best option of DNA source according to the downstream application of the DNA samples. By other side, our results support that a complete procedure of DNA quantification and qualification is necessary for guarantee the appropriate management of the samples, avoiding low confidence results, high costs and a waste of samples.

### **Referencias bibliográficas:**

*Lucena-Aguilar, et al. (2016). “DNA Source selection for downstream applications based on DNA quality indicators analysis”. Biopreservation and biobanking 14(4): 264-270.*

## Changes in body composition and its association with pharmaceutical costs in perimenopausal women following a four-month concurrent exercise intervention. the flamenco project

Marín Jiménez N<sup>1</sup>, Acosta Manzano P<sup>2</sup>, Ruiz Cabello P<sup>1</sup>, Borges Cósic M<sup>2</sup>, Peces Rama R<sup>2</sup>, Segura Jiménez V<sup>3</sup>, Camiletti Moirón D<sup>3</sup>, Aparicio VA<sup>1</sup>, Coll Risco I<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Biomedical Research Center. Institute of Nutrition and Food Technology. IMUDS. Department of Physiology, Faculty of Pharmacy and University of Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Physical Education and Sport, Faculty of Sport Sciences. University of Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department of Physical Education, School of Education Sciences, University of Cádiz, Cádiz, Spain. Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Aim:** Loss of oestrogens during climacteric promotes changes in body composition by increasing fat mass and decreasing bone mineral content (BMC), which may lead to diseases such as obesity or osteoporosis. The aim of this study was to evaluate the effects of a four-month exercise intervention on lean, fat and bone mass of the whole body in perimenopausal women. An exploratory aim was to assess the association of body composition changes with pharmaceutical costs.

**Methods:** One hundred and fifty perimenopausal women (52.2±4.4 years) were randomized to a four-month (60 minutes/session, 3 days/week) concurrent (aerobic+resistance) exercise intervention, or control group. Final number of subjects included a total of 116 women divided into exercise (n=60) and control (n=56) groups. Lean, fat, and bone mass were measured using dual-energy x-ray absorptiometry. Direct costs of medication were registered.

**Results:** The exercise program increased BMC of the pelvis by 1.5g when control group lost 4.0g (P=0.032).

Body mass index (BMI) was reduced by 0.9 kg/m<sup>2</sup> in the exercise group while in the control group remained the same (P=0.023). Android fat mass was reduced by 163g in the exercise group while control group reduced it by 64g (P=0.025). Reduced fat mass and android fat were associated with reductions in pharmacological cost.

**Conclusion:** The exercise intervention improved BMC in specific areas such as the pelvis, which is relevant due to the increased risk of hip fractures after menopause. This exercise program also decreased central fat deposition and BMI. These fat reductions were associated with lower pharmacological expenditure.

## **Feeding restriction in grouped rats. Aggregate influence on relationship from the behavioural and hormonal point of view**

**Moneo M, Morón I<sup>1</sup>, Zúñiga JM<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup> *Department of Psychobiology. University of Granada. Campus Cartuja. Granada-18011. Spain.*

<sup>2</sup> *Servicio de Producción y Experimentación Animal/CIC. Centro de Investigación Biomédica, Armilla, 18071, Spain. Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.*

The single-housing associated with caloric restriction (CR) may pose many logistical problems. Thus, it is necessary to study the effects of CR in conditions in which animals are group-housed. In the present research were studied: (i) the possible differences in the proportion of the weights and social behaviour in ad libitum and CR (at 70%) conditions, (ii) the eventual inequalities in the proportion of the weights and social behaviour (the time spent eating under the feeder as an indicator of dominance and empathy, and the number of “pushes” as an indicator of aggressiveness) in brother and non-brother rats in CR conditions, and (iii) to compare the concentrations of corticosterone (stress biomarker) in serum in *ad libitum* and CR conditions. Results confirm the effectiveness of the CR associated with the housing in groups of three, with independence of the consanguinity. Equally, all the results exposed suggest not only the viability, but also the suitability of apply an aggrupation of the rats in long-periods of CR maintenance. Finally, these results open de possibility of performing groupings in RC conditions avoiding isolation and improving the welfare level.

### *Referencias bibliográficas:*

*Nuneset al. (2005), Neuropsychobiology, 51(4), 248-255;*

*Stranahanet al. (2006), Nature neuroscience, 9(4), 526-533;*

*Weindruchet al. (1985), J Nutr, 116(4), 641-54;*

*Yanaiet al. (2003), Neurobiology of aging, 25(3), 325-332;*

*Yu (1996), Free radical biology and medicine, 21(5), 651-668*



## **A murine-based endometriosis model reveals the chemoattractant properties of menstrual blood-derived stromal cells**

**Martínez Aguilar R, Ruiz Magaña MJ, Romero Pinedo S, Ruiz Ruiz MC, García Olivares E, Abadía Molina AC.**

*IBIMER, Centro de Investigación Biomédica.*

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular e Inmunología, Universidad de Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.*

Endometriosis is a gynecological disorder classically defined as the presence of endometrial tissue out of the uterine cavity (1). Despite affecting between 5% and 15% of women at childbearing age, its origin remains elusive although several hypotheses have been proposed, such as the retrograde menstruation or the erroneous homing of endometrial precursors (2,3).

The aim of this work was to develop an *in vivo* mEnSC (menstrual blood-derived endometrial stromal cells)-based murine model of endometriosis in order to achieve a better comprehension of its etiopathogeny and development.

7-11 weeks old BALB/c female mice were intraperitoneally injected a 4% thioglycollate (TGC) dose to generate an inflammatory context. Twenty four hours later, mEnSC-established cell lines were intraperitoneally administrated. After 4 days, mice were sacrificed to perform a peritoneum lavage and localize the endometriotic foci. Mice without mEnSCs and/or TGC injection were used as controls. Chemokines expression was analyzed by RT-PCR; endometriotic foci were evaluated by RT-PCR and confocal microscopy; peritoneum lavage populations were studied by flow cytometry.

Mice treated with mEnSCs after the inflammatory insult experiment a variation in the peritoneum populations, such as a decrease in the percentage of macrophages and a rise in the neutrophil number, in contrast with controls.

The analysis of endometriotic foci reveals that mEnSCs use peritoneum adipose tissue as scaffold to recruit macrophages and neutrophils. For its part, mEnSCs mRNA analysis shows a basal expression of macrophage and neutrophil chemoattractants.

Our results suggest that mEnSCs, along with an inflammatory context, might play a key role in the endometriosis' etiopathogeny by the expression of chemotactic factors and recruitment of immune populations.

### *Referencias bibliográficas:*

1.- Vercellini, P., P. Viganò, E. Somigliana, and L. Fedele. 2014. *Endometriosis: pathogenesis and treatment. Nat Rev Endocrinol* 10: 261-275.

2.- Halme, J., M. G. Hammond, J. F. Hulka, S. G. Raj, and L. M. Talbert. 1984. *Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. Obstet Gynecol* 64: 151-154.

3.- Gargett, C. E., K. E. Schwab, J. J. Brosens, P. Puttemans, G. Benagiano, and I. Brosens. 2014. *Potential role of endometrial stem/progenitor cells in the pathogenesis of early-onset endometriosis. Mol Hum Reprod* 20: 591-598.

## **Establecimiento del modelo experimental *Caenorhabditis Elegans* para el estudio de compuestos procedentes de la industria agroalimentaria de interés en investigación biomédica**

**Martínez López S<sup>1</sup>, Varela López A<sup>1</sup>, Cordero MD<sup>1</sup>, Battino M<sup>2</sup>, Quiles JL<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Institute of Nutrition and Food Technology “José Mataix Verdú”, Biomedical Research Center, Department of Physiology, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Department of Scienze Cliniche Specialistiche ed Odontostomatologiche, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.*

*Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

*Caenorhabditis elegans* es un nematodo minúsculo de vida libre y distribución ubicua con un ciclo de vida que pasa por 4 estados larvarios hasta llegar al estado adulto. Presenta múltiples similitudes con animales superiores en términos de metabolismo, estructura y función de orgánulos, regulación de genes, biología de proteínas, etc. Por otro lado, entre el 60 y el 80% de los genes humanos tienen un ortólogo en el genoma de *C. elegans* y el 40% de los genes asociados con enfermedades humanas tienen ortólogos en *C. elegans*.

La alimentación, la nutrición, los productos agroalimentarios y los compuestos de origen natural representan una fuente muy importante de sustancias protectoras de la salud. Un problema a la hora de buscar moléculas de interés biomédico provenientes de la industria agroalimentaria es la elección de un adecuado modelo experimental en el que realizar los ensayos. Tradicionalmente, los cultivos celulares y los roedores han sido modelos muy relevantes.

No obstante, ambos presentan diversos inconvenientes, referidos en el primer caso a la ausencia de procesos fisiológicos complejos propios de organismos multicelulares, y en el segundo al coste de los estudios y diversas consideraciones bioéticas.

Nuestro laboratorio ha implantado *C. elegans* como modelo experimental ya que a lo anteriormente mencionado se suma el hecho de que este modelo no está sujeto a control por parte de los comités de ética en experimentación animal, es un modelo barato, permite el trabajo en modo de alto rendimiento y hay disponible un elevado número de cepas que reproducen diferentes patologías.

# Efecto de los compuestos fenólicos presentes en diferentes variedades de aceite de oliva virgen extra sobre el osteoblasto

Melguizo Rodríguez L<sup>1,2</sup>, De Luna Bertos E<sup>1,2</sup>, Ramos Torrecillas J<sup>1,2</sup>, Rivas A<sup>4</sup>, Ruiz Rodríguez C<sup>1,2,5</sup>, Martínez OG<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Enfermería. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Granada.

<sup>2</sup> Grupo de Investigación Biosanitario (BIO277). Instituto Biosanitario, *ibs.granada*.

<sup>3</sup> Departamento de Estomatología. Facultad de Odontología. Universidad de Granada.

<sup>4</sup> Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.

<sup>5</sup> Instituto de Neurociencias "Federico Oloriz", Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** La salud ósea constituye uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Según la Organización Mundial de la Salud, la osteoporosis es el segundo problema sanitario asistencial en el mundo. En Europa, existen grandes diferencias en la distribución de la prevalencia de osteoporosis, encontrándose mejores resultados, en cuanto a severidad de la patología, en los países del área mediterránea lo que podría estar relacionado con el mayor consumo de aceite de oliva virgen extra.

**Objetivo:** Determinar el efecto de los compuestos fenólicos procedentes de distintas variedades de aceite de oliva virgen extra (Picual, Arbequina, Picudo y Hojiblanca) sobre la diferenciación, expresión antigénica y capacidad fagocítica de osteoblastos de la línea celular MG-63.

**Material y Métodos:** Las células fueron tratadas con los distintos extractos fenólicos a una concentración de 10<sup>-6</sup>M durante 24h. La expresión antigénica (CD54, CD80, CD86, HLA-DR) y la capacidad fagocítica fueron analizadas mediante citometría de flujo. La actividad fosfatasa alcalina fue evaluada mediante espectrofotometría.

**Resultados:** A las 24h de tratamiento se observó un incremento significativo de la actividad fosfatasa alcalina y una reducción de la expresión de los antígenos CD54, CD80 y HLA-DR y de la actividad fagocítica en comparación con los controles (células sin tratar).

**Conclusiones:** Estos resultados sugieren que los compuestos fenólicos presentes en distintas variedades de aceite de oliva virgen extra pueden modular diferentes parámetros relacionados con la función y la diferenciación del osteoblasto.

**Palabras clave:** Olive oil extracts, osteoblasts, differentiation, antigenic expression, phagocytosis.

## Referencias bibliográficas:

Cauley, J. A. Osteoporosis: fracture epidemiology update 2016. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2017, 29 (2), 150–156.

García-Martínez, O.; Luna-Bertos, E. D.; Ramos-Torrecillas, J.; Ruiz, C.; Milia, E.; Lorenzo, M. L.; Jimenez, B.; Sánchez-Ortiz, A.; Rivas, A. Phenolic Compounds in Extra Virgin Olive Oil Stimulate Human Osteoblastic Cell Proliferation. *PLOS ONE* 2016, 11 (3), e0150045.

Reyes-Botella, C.; Montes, M. J.; Vallecillo-Capilla, M. F.; Olivares, E. G.; Ruiz, C. Antigenic phenotype of cultured human osteoblast-like cells. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 2002, 12 (5–6), 359–364.

Ruiz, C.; Pérez, E.; García-Martínez, O.; Díaz-Rodríguez, L.; Arroyo-Morales, M.; Reyes-Botella, C. Expression of cytokines IL-4, IL-12, IL-15, IL-18, and IFN $\gamma$  and modulation by different growth factors in cultured human osteoblast-like cells. *J. Bone Miner. Metab.* 2007, 25 (5), 286–292.

Ruiz, C.; Pérez, E.; Vallecillo-Capilla, M.; Reyes-Botella, C. Phagocytosis and allogeneic T cell stimulation by cultured human osteoblast-like cells. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 2003, 13 (5), 309–314.

## Fuerza de agarre como modelo translacional de dolor artrítico

**Montilla García Á<sup>1,2</sup>, Tejada MA<sup>1,2</sup>, Perazzoli G<sup>1,2</sup>, Entrena JM<sup>2,3</sup>, Fernández Segura E<sup>1</sup>, Cañizares FJ<sup>1</sup>, Cobos EJ<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Centro de Instrumentación Científica, Universidad de Granada, Granada, Spain.

La pérdida de la fuerza de agarre en pacientes artríticos correlaciona con el dolor, y se usa como indicador de la eficacia del tratamiento farmacológico. Los modelos animales de dolor deben aproximarse a la situación clínica para mejorar la translación de los descubrimientos preclínicos al paciente. Nuestro objetivo fue estudiar la fuerza de agarre en el ratón artrítico como indicador de dolor.

La inflamación articular se indujo mediante la administración periarticular de CFA en los tobillos de ratones CD1. Los animales artríticos mostraron un masivo infiltrado inmune periarticular en el tobillo, así como una disminución de la fuerza de agarre y alodinia mecánica. Sin embargo, la alodinia mecánica persistente más tiempo que los déficits en la fuerza de agarre. Por tanto, la fuerza de agarre y el umbral de von Frey, manifiestan aspectos diferentes del fenotipo doloroso. Los opioides oxicodona y tramadol produjeron una completa recuperación del agarre, mientras que ibuprofeno, celecoxib y paracetamol produjeron un efecto máximo más limitado. Estos datos concuerdan con su eficacia analgésica en humanos. Además, la ablación in vivo de neuronas TRPV1<sup>+</sup> abolió la alodinia táctil sin alterar los déficit de fuerza de agarre, lo que indica que la neurobiología de la alodinia táctil y los déficit de fuerza de agarre difieren.

Nuestros resultados indican que la fuerza de agarre es un buen indicador de dolor en animales artríticos. Este parámetro aproxima la valoración preclínica del dolor al fenotipo doloroso del paciente; esta metodología podría incrementar la translación de nuevos analgésicos desde el laboratorio a la clínica.

### Referencias bibliográficas:

Chaplan, S.R., Bach, F.W., Pogrel, J.W., Chung, J.M., Yaksh, T.L., 1994. *Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. J Neurosci Methods* 53, 55-63.

Cobos, E.J., Portillo-Salido, E., 2013. "Bedside-to-bench behavioral outcomes in animal models of pain: beyond the evaluation of reflexes. *Curr Neuropharmacol* 11, 560-591.

Fraser, A., Vallow, J., Preston, A., Cooper, R.G., 1999. Predicting 'normal' grip strength for rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)* 38, 521-528.

Gotzsche, P.C., Johansen, H.K., 2000. Short-term lowdose corticosteroids vs placebo and nonsteroidal antiinflammatory drugs in rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. CD000189.

Hallert, E., Bjork, M., Dahlstrom, O., Skogh, T., Thyberg, I., 2012. Disease activity and disability in women and men with early rheumatoid arthritis (RA): an 8-year followup of a Swedish early RA project. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 64, 1101-1107.

Julius, D., 2013. TRP Channels and pain. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 29, 355-384

# Evaluación de la exposición del riesgo a contaminantes de la dieta, a través de estudios de dieta total. Proyecto TDS-EXPOSURE (FP7-KBBE-2011-5; N° 289108)

Moreno Martínez A<sup>1</sup>, De Victoria, Muñoz EM<sup>1,2</sup>, De Victoria Muñoz IM, Yago Torregrosa MD<sup>1,2</sup>, Mañas Almendros M<sup>1,2</sup>, Martínez Burgos MA<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos “José Matáix” (INYTA). Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Universidad de Granada. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS).

<sup>2</sup> Departamento de Fisiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** Los estudios de dieta total (EDT, en inglés TDS) tienen por objeto proporcionar datos representativos sobre la contaminación de los alimentos consumidos por una población y su exposición a sustancias de interés en salud pública (EFSA et al., 2011), permitiendo proporcionar una concentración promedio de sustancias químicas presentes en los mismos (Elegbede et al., 2017).

**Palabras clave:** Estudios de Dieta Total, Contaminantes, Bases de Datos, FoodCaseRisk

## Objetivos:

- Identificar la información sobre exposición y riesgo desde TDS.
- Estimar la ingesta dietética de contaminantes en alimentos procedentes de TDS.
- Aumentar el número de TDS europeos.
- Armonizar sus métodos.
- Desarrollar una base de datos para evaluadores y gestores de riesgos.

## Objetivos específicos

La UGR ha participado en:

- Work package 3 (WP3 Food sampling: foods products collection).
- Work package 6 (WP6 Database management, description).

## WP3

- Diseñar el plan estratégico de muestreo de productos alimenticios, en el marco de TDS europeos.
- Establecer criterios para formular muestras de alimentos representativos.
- Definir listas de la compra.

## WP6

- Desarrollar y probar un sistema de gestión de contaminantes de alimentos (FoodCASE-Risk), para su uso con TDS en Europa.

## Metodología

### WP3

- Análisis de datos y estadístico.

### WP6

- Sistema de gestión: FoodCASE.

## Resultados

### WP3

- Análisis de Datos: Base de datos de alimentos (fuente: 180 documentos). Estadísticas individuales de ingesta.
- Análisis cualitativo: Diseño de un protocolo para la recolección de alimentos.

### WP6

- Implementación de FoodCASE-Risk.
- Mantenimiento y apoyo para estudios piloto de TDS.

**Conclusiones:** TDS-EXPOSURE establece un legado de métodos armonizados de muestreo y análisis para futuros estudios de exposición al riesgo de contaminantes, a través de la dieta.

### Referencias bibliográficas:

- 1- European Food Safety Authority; Food and Agriculture Organization; World Health Organization. *Towards a harmonised Total Diet Study approach: a guidance document*. EFSA, 2011. *EFSA Journal* 2011; 9(11): 2450.
- 2- Elegbede C.F., Papadopoulos A., Anna Elena Kolbaum, et al. *TDS exposure project: How and when to consider seasonality in a total diet study?* *Food and Chemical Toxicology* 2017, vol. 105: 119–126.

# Actualización de la base de datos española de composición de alimentos (bedca) (versión 2.1)

**Moreno Martínez A<sup>1</sup>, Martínez Burgos MA<sup>1,2</sup>, De Victoria Muñoz IM<sup>1</sup>, Yago Torregrosa MD<sup>1,2</sup>, Mañas Almendros M<sup>1,2</sup>, De Victoria Muñoz EM<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (INRYTA). Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Universidad de Granada. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS).*

<sup>2</sup> *Departamento de Fisiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.*

**Palabras clave :** Bases de datos de Composición de Alimentos; BEDCA; EuroFIR

**Introducción:** Las tablas y bases de datos de composición de alimentos (BDCAs) son herramientas necesarias para conocer el valor nutricional de los alimentos y servir de guía a la población, profesionales de la nutrición, gobiernos e industria alimentaria (Williamson, 2005). La heterogeneidad de información entre BDCAs hace necesaria una estandarización, para su uso a nivel europeo (Slimani, 2007; Martínez-Victoria et al., 2015).

**Objetivo:** Actualización de la BDCA española (BEDCA) ([www.bedca.net](http://www.bedca.net)), por el método combinado, según estándares de EuroFIR ([www.eurofir.org](http://www.eurofir.org)).

## **Metodología:**

1. Sistemas de descripción y codificación de alimentos:
  - a) FoodEx2, establecido por EFSA.
  - b) LanguaL (versión 2008), establecido por EuroFIR.
2. Literatura científica (fuente de datos analíticos).
3. Software Excel (datos y metadatos).
4. BEDCA (versión 2.0).
5. Paquete SPSS (versión 22.0).

## **Resultados:**

1. Estandarización de componentes para cada alimento.
2. Actualización de métodos y referencias asociadas.
3. Descripción y codificación doble de los alimentos:
  - a) FoodEx2
  - b) LanguaL
4. Incorporación de 22 nuevos componentes (57 totales): ácidos grasos individuales, carotenoides no provitamínicos (datos propios) y azúcares simples.
5. Recogida de datos de alimentos sin gluten.
6. Elaboración de un listado de alimentos con azúcares añadidos y naturales de los alimentos, según método propuesto por JCY Louie et al. (2015).

**Conclusiones:** BEDCA es, actualmente, la única BDCA desarrollada en España con datos documentados y compilados según estándares de EuroFIR e incluida en FoodExplorer (<http://www.eurofir.org/foodexplorer/instructionfoodexplorer.html>).

BEDCA permite a usuarios y profesionales de la Nutrición y Salud Pública la utilización online de datos de composición de alimentos de calidad.

*Referencias bibliográficas:*

*Williamson, C. EuroFIR. Synthesis report No 2: The Different Uses of Food Composition Databases (2005).*

*Slimani N., Deharveng G., Unwin I., et al. The EPIC nutrient database project (ENDB): a first attempt to standardize nutrient databases across the 10 European countries participating in the EPIC study. Eur J Clin Nutr, 61 (2007), pp. 1037–1056.*

*Martínez de Victoria E., Martínez de Victoria I., Martínez Burgos M.A. Intake of energy and nutrients; harmonization of Food Composition Databases. Nutr Hosp 2015, 31 (Supl.3): 168-76.*

*Louie J.C., Moshtaghian H., Boylan S., et al. A systematic methodology to estimate added sugar content of foods. Eur J Clin Nutr, 2015 Feb;69(2):154-61.*



## **Effect of vanadium on calcium homeostasis, osteopontin mRNA expression, and bone microarchitecture in diabetic rats**

**Sánchez González C<sup>1</sup>, Moreno L<sup>1</sup>, López Cháves C<sup>1</sup>, Nebot E<sup>1,2</sup>, Pietschmann P<sup>2</sup>, Rodríguez Nogales A<sup>3</sup>, Gálvez J<sup>3</sup>, Montes Bayón M<sup>4</sup>, Sanz Medel A<sup>4</sup>, Llopis J<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> CIBM, IMUDS, Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, E-18071 Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Pathophysiology and Allergy Research, Center for Pathophysiology, Infectiology and Immunology, Medical University of Vienna, Austria.

<sup>3</sup> CIBERehd, Department of Pharmacology, University of Granada, 18071 Granada, Spain.

<sup>4</sup> Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Oviedo, 33007 Oviedo, Spain.

Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

We examine whether alterations caused by diabetes in calcium homeostasis, expression of osteopontin and the microarchitecture of bone are corrected by exposure to vanadium. Four study groups were examined over five weeks: control (C), diabetic (DM), diabetic treated with 1 mg V/d (DMV), and diabetic treated with 3 mg V/d (DMVH). Vanadium was supplied in drinking water as bis(maltolato)oxovanadium(IV). Calcium was measured in the food, faeces, urine, serum, kidneys, liver, muscles, and femur. Osteopontin gene expression was determined in the liver, and the bone microarchitecture was studied using micro-computed tomography. In the DM group, food intake as well as calcium absorbed and retained and liver osteopontin mRNA increased, while Ca in the serum and femur decreased, and the bone microarchitecture worsened, compared to the control. In the DMV group, the amount of Ca absorbed and retained was similar to DM rats. Although the Ca content in the femur increased and osteopontin mRNA decreased, there were no significant changes in the bone microarchitecture, in comparison to the DM rats.

In the DMVH group, the amount of Ca absorbed and retained, and the serum and femur content were equivalent to the control.

The levels of osteopontin mRNA decreased and bone mineralization improved, compared to the DM group. We conclude that treatment with 3 mg V per d of the glucose lowering agent bis(maltolato)oxovanadium(IV) causes a decrease in osteopontin mRNA, which could favour the normalization of changes in Ca homeostasis and bone microarchitecture, both at the cortical and trabecular levels, caused by diabetes.

## Estudio de calidad del sueño en personal sanitario

**Gutiérrez Lucena L, González Muñoz A, Muñoz Alférez MJ.**

*Departamento de Fisiología e Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Universidad de Granada.  
Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Univerisdad de Granada, Granada, España.*

**Introducción:** El sueño, dormir bien, es vital para que nuestro organismo realice sus funciones fisiológicas y psicológicas, como reparar los tejidos, el crecimiento, fortalecer la memoria y el aprendizaje 1. Conciliar el sueño puede volverse una tarea difícil, al igual que obtener sueño de calidad especialmente si el trabajo es en horario nocturno. Un colectivo que trabaja habitualmente en turno de noche es el personal sanitario.

**Objetivo:** Conocer la calidad del sueño en un grupo de médicos y enfermeros (10 mujeres y 10 hombres), de dos hospitales públicos de la provincia de Córdoba.

**Metodología:** A cada sujeto se le ha pasado un cuestionario estandarizado “cuestionario de Pittsburg de calidad del sueño “. Este consiste en 19 cuestiones, agrupadas en 7 áreas relacionadas con los hábitos de sueño del último mes de la persona.

**Resultados y conclusiones:** El 70% de la población total presenta de 1-9 perturbaciones del sueño en el último mes. Sin embargo, el 80%, sin diferencia por sexo, no han tomado medicación para dormir y la mitad de la población estudiada valora por encima del 85% la eficiencia del sueño a pesar de realizar varias jornadas al mes trabajo nocturno. Se han detectado problemas de somnolencia en la mitad de los encuestados y diferencias significativas de apreciación por sexo del riesgo que esto supone para la realización de sus actividades en el trabajo y su vida diaria, siendo las mujeres las que mayor riesgo encuentran en una situación de somnolencia.

*Referencias bibliográficas:*

*1 Sociedad Española del Sueño: <http://ses.org.es/> 2017*

## **Increased medial prefrontal cortex activation during the habituation of flavor neophobia in adult and aged rats**

**Expósito AN, Morillas E, Gómez Chacón B, Gallo M.**

*Dept. Psychobiology. Institute of Neurosciences. Center for Biomedical Research (CIBM). University of Granada. Spain.  
Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

While previous data has shown that the medial prefrontal cortex (mPFC) activation increases with the repeated presentation of an aversive auditory stimulus, there are no data on the effect of repeated exposure to neophobic flavors in this area. Immunohistochemistry of c-Fos as a marker of neural activity was applied in order to explore the activity of mPFC associated to flavor neophobia and its habituation. Additionally, the effect of aging was explored. Twenty one 5-month-old male Wistar adult rats (n=7 per group) and 24 aged (24-month-old) male Wistar rats (n=8 per group) were exposed to a solution of cider vinegar (3%) and sacrificed 90 minutes after drinking during the first (Novel), second (Familiar1) and sixth (Familiar2) day. The number of c-Fos-positive cells in mPFC was quantified dissociating the prelimbic area (PRL) and infralimbic (IL) areas. The results showed attenuation of flavor neophobia in both age groups as the intake of the vinegar solution increased over exposure sessions. However, the process was slower in the older group. The overall statistical analysis showed greater number of c-Fos-positive cells in the group Familiar1 compared to the Novel group, regardless of age, in both PRL and IL. The results support a role for the mPFC in the formation of the familiar flavor trace during the habituation of flavor neophobia that is preserved at older ages.

### *References:*

*Supported by grant PSI2014.57643.P and FPI fellowship to Expósito A.N. (MINECO, Spain).*

## **Papel del envejecimiento y de la alimentación con diferentes fuentes grasas (aceites de oliva virgen, girasol o pescado) en la morfometría mitocondrial de músculo liso de aorta de rata**

**Navarro Hortal MD<sup>1,2</sup>, Varela López A<sup>1,2</sup>, Ramírez Tortosa CL<sup>3</sup>, Ochoa Herrera JJ<sup>1,2</sup>, Ramírez Tortosa MC<sup>1,4</sup>, Battino M<sup>5</sup>, Quiles JL<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Institute of Nutrition and Food Technology “José Mataix Verdú”, Biomedical Research Center, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Department of Physiology, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Department of Pathology, Jaén City Hospital, Jaén, Spain.*

<sup>4</sup> *Department of Biochemistry and Molecular Biology 2, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>5</sup> *Department of Scienze Cliniche Specialistiche ed Odontostomatologiche, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.*

*Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

El envejecimiento afecta a la función vascular comprometiendo aspectos funcionales como los procesos de vasodilatación y vasoconstricción, vinculados a la función muscular y por tanto mitocondrial. Por otro lado, es conocido que la función mitocondrial se puede modular a través de la dieta. El presente estudio ha evaluado la morfometría mitocondrial en músculo liso de aorta de ratas alimentadas durante 6 o 24 meses con dietas que sólo variaron en su fuente grasa (aceite de oliva virgen, girasol o pescado). Tras el sacrificio de los animales se extrajo su aorta, que fue procesada para su observación por microscopía electrónica de transmisión. Las imágenes obtenidas fueron analizadas mediante el software Image J calculándose para las mitocondrias observadas el área, perímetro, ratio área/perímetro, circularidad, solidez, aspect ratio y densidad integrada. A los 6 meses no se observaron diferencias entre tratamientos para los parámetros estudiados.

A los 24 meses, en relación a los otros grupos, los animales alimentados con aceite de oliva virgen mostraron menor circularidad (relacionado con mayor funcionalidad) y mayor aspect ratio (relacionado con bajo nivel de procesos de fisión mitocondrial). La solidez mitocondrial (relacionado con procesos de fusión mitocondrial) fue mayor en los animales alimentados con aceite de girasol, seguido de los alimentados con aceite de pescado y por último los alimentados con aceite de oliva virgen. Estos resultados ponen de manifiesto el valor de los estudios de morfometría mitocondrial para evaluar el efecto de componentes de la dieta en el envejecimiento a nivel cardiovascular.

## **Efecto del consumo de dieta sin gluten sobre la evolución clínica de patologías musculo-esqueléticas**

**Nestares Pleguezuelo T<sup>1</sup>, Montoya Lozano L, López Frías M<sup>1</sup>, López Aliaga I, Muñoz Alférez MJ, Díaz Castro J, Moreno J, De Teresa Galván C<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Fisiología e Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix”, Universidad de Granada, España.*

<sup>2</sup> *Centro Andaluz de Medicina del Deporte, Junta de Andalucía, España.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Introducción y Objetivos:** El seguimiento de una dieta sin gluten, en ausencia de enfermedad celíaca, se ha asociado el éxito en el tratamiento de algunas enfermedades. El objetivo de este trabajo fue estudiar en sujetos con patología musculo-esquelética crónica el efecto del consumo de dieta sin gluten sobre la evolución clínica de su enfermedad.

**Métodos:** Se estudiaron 47 sujetos que acudían a consulta de rehabilitación con más de un año de evolución de patología musculo-esquelética. Todos tenían síntomas de trastornos digestivos y padecían: Artritis reumatoide (10), síndrome de intestino irritable (15), fibromialgia (10), artrosis (10) y pelviespondilitis reumática (2). Tras consentimiento informado, comienzan el seguimiento de dieta sin gluten estricta durante 6 meses, durante los que se les realiza seguimiento semanal con estudio nutricional mediante encuesta recordatorio de 48h. Al inicio y final del estudio se realiza test de valoración de signos y síntomas musculo-esqueléticos (escala de dolor EVA, debilidad muscular y rigidez articular) y extra-articulares (cansancio, molestias gastrointestinales y percepción de su estado). Los datos se procesaron con el programa SPSS 20.0.

**Resultados:** Los resultados mostraron mejoría en todos los pacientes ya que disminuyeron los síntomas gastrointestinales, el dolor, debilidad, rigidez y cansancio. Esta mejoría fue mayor en los sujetos diagnosticados de síndrome de intestino irritable. Ningún paciente empeoró con el tratamiento dietético.

**Conclusión:** Podemos concluir que la sensibilidad al gluten no celíaca puede ser la causa subyacente de los síntomas lo que plantea la necesidad de llevar a cabo un ensayo clínico controlado para verificarlo.

## Association between postpartum maternal body composition and colostrum breast milk mineral composition. The GESTAFIT project.

Onieva Aguayo C<sup>1</sup>, Coll Risco I<sup>1</sup>, Romero Gallardo L<sup>2</sup>, Ocón O<sup>3</sup>, Gascón Cortes E<sup>1</sup>, Moreno L<sup>1</sup>, Aranda P<sup>1</sup>, Llopis J<sup>1</sup>, Aparicio VA<sup>1</sup>, Sánchez González C<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Biomedical Research Center. Institute of Nutrition and Food Technology. iMUDS. Department of Physiology, Faculty of Pharmacy. University of Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Physical Education and Sport, Faculty of Sport Sciences. University of Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Department and UGC of Gynaecology and Obstetrics. University Hospital Virgen de las Nieves. Granada, Spain. Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Objective:** Major minerals and trace and ultratrace elements have key role in physiological and metabolic processes, having structural, regulatory and transport functions and taking part of multiple metal dependent live processes[1][2]. An optimum nutrient transference and adequate regulation of potentially toxic trace elements through the breastmilk is crucial for the newborn present and future health[3]. Up to now, little relevance has taken the effect of the maternal body composition on composition and quality of maternal breastmilk, although it could influence the growth and development of the offspring[3]. The aim of this study was to describe possible associations between postpartum maternal body composition (determined by dual energy x-ray absorptiometry, DEXA) and colostrum breastmilk mineral and trace elements composition.

**Methods:** Body composition of twenty-two puerperal women, four weeks after delivery, was measured using dual energy X-ray absorptiometry. Colostrum breastmilk samples were collected and analyzed by means of ICPMS technics.

**Results:** Significant direct correlations have been found between total fat mass, android fat mass, and body mass index of the puerperal women, and the levels of the elements Aluminum (Al), Scandium (Sc), Vanadium (V), Chromium (Cr), Manganese (Mn), Iron (Fe), Cobaltous (Co), Nickel (Ni), and Arsenic (As) in colostrum ( $p < 0.05$  in all cases).

**Conclusions:** Maternal body composition affects the mineral composition and trace elements levels of colostrum breastmilk. Increased levels of several potentially toxic elements were found in women with higher fat mass, android fat mass and BMI values.

### References:

[1] P. J. Aggett, "Physiology and metabolism of essential trace elements: an outline.," *Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 14, no. 3, pp. 513–43, Aug. 1985.

[2] C. Sánchez, M. López-Jurado, P. Aranda, and J. Llopis, "Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: Influence of age, obesity and lifestyle factors," *Sci. Total Environ.*, vol. 408, no. 5, pp. 1014–1020, Feb. 2010.

[3] M. Bopp, C. Lovelady, C. Hunter, and T. Kinsella, "Maternal Diet and Exercise: Effects on Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Concentrations in Breast Milk," *J. Am. Diet. Assoc.*, vol. 105, no. 7, pp. 1098–1103, Jul. 2005.

## Laboratorio de citometria de flujo

**Ortiz Ferrón G.**

*Unidad de Citometría de Flujo. Centro de instrumentación Científica. Sede CIBM.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Presentación del servicio de citometría de Flujo en investigación Biomédica y Biológica. La Citometría de Flujo es una tecnología muy potente que obtiene información de cada célula que es interrogada por el láser/es (single cell technology). Esta tecnología capaz de procesar varios miles de eventos (ej células) por segundo y ver célula por célula sus características de tamaño y complejidad y fluorescencia (con sondas determinadas o la fluorescencia intrínseca). Según la(s) sonda(s) fluorescentes utilizadas o la propia naturaleza de la célula (si tiene autofluorescencias por ejemplo) podremos obtener información de su estado y procesos biológicos. Fenotipajes, detección de ROS, flujo de iones (ej liberación de calcio intracelular), viabilidad, apoptosis, proliferación celular, potencial de membrana, mRNA, ciclo celular, FISH, detección de proteínas fluorescentes (eGFP, YFP, CFP, etc) , detección y cuantificación de bacterioplankton y fitoplankton, son algunas de las aplicaciones de esta tecnología. En principio cualquier partícula de un tamaño determinado y/o cierta intensidad de fluorescencia puede ser detectada por citometría.

Además la unidad cuenta con un citómetro separador que permite la separación de hasta 4 poblaciones simultáneamente en condiciones de asepsia para cultivar las células o recogerlas para hacer biología molecular por ejemplo.

## Implication of MGMT, MMR, P-Glycoprotein and CD133 expression as potential mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma cell lines

Perazzoli G<sup>1</sup>, Ortiz R<sup>2</sup>, Cabeza L<sup>1,3</sup>, Caba O<sup>2</sup>, Vélez C<sup>1,3</sup>, Prados J<sup>1,3</sup>, Melguizo C<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup> Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), SAS-Universidad de Granada, Granada, Spain.

<sup>2</sup> Department of Health Science, University of Jaén, Jaén, Spain.

<sup>3</sup> Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER).

<sup>4</sup> Biomedical Research Center (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

The current treatment of cancer have in the development of drug resistance one of the leading causes of treatment failure and limited the effectiveness of many drugs, leading to disease recurrence and death. The resistance mechanisms developed by the cells depend heavily on the type of tumor. In brain tumors, such as glioblastoma multiforme, the most common primary brain tumor in adults<sup>1</sup> treated with temozolomide (TMZ), the most studied resistance mechanism is mediated by O6 methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) protein<sup>2</sup>. However it is not the only mechanism involved in the resistance. Other mechanisms as the mismatch repair (MMR) complex<sup>3</sup>, P-glycoprotein<sup>4</sup>, and/or the presence of cancer stem cells<sup>5</sup> may also be implicated. The aim of our study is to analyze all these mechanisms of resistance in four nervous system tumor cell lines. Based on our results we can classified this cell lines into two groups by low (A172 and LN229) and high (SF268 and SK-N-SH) basal MGMT expression. A surprising fact is that cell lines with no MGMT expression, associated with a low TMZ IC50 showed a high MMR complex expression, whereas cell lines with high MGMT expression and high TMZ IC50 did not express the MMR complex.

In addition to this we see that in lines without basal expression of MGMT variation on this protein causes a significant increase in the TMZ IC50, unlike those cell lines with basal expression of MGMT in which their IC50 does not undergo any change. In contrast, P-glycoprotein and CD133 was found to be unrelated to TMZ resistance in these cell lines. These results may be relevant in understanding the phenomenon of TMZ resistance, especially in glioblastoma multiforme patients lacking MGMT expression, and may also aid in the design of new therapeutic strategies to improve the efficacy of TMZ in glioblastoma multiforme patients.

### Referencias bibliográficas:

1 Shahar T, Nossek E, Steinberg DM, Rozovski U, Blumenthal DT, Bokstein F, et al. The impact of enrollment in clinical trials on survival of patients with glioblastoma. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas.* 2012;19(11):1530-4.

2 Melguizo C, Prados J, Gonzalez B, Ortiz R, Concha A, Alvarez PJ, et al. MGMT promoter methylation status and MGMT and CD133 immunohistochemical expression as prognostic markers in glioblastoma patients treated with temozolomide plus radiotherapy. *J Transl Med.* 2012;10:250.

3 Yoshimoto K, Mizoguchi M, Hata N, Murata H, Hatae R, Amano T, et al. Complex DNA repair pathways as possible therapeutic targets to overcome temozolomide resistance in glioblastoma. *Front Oncol.* 2012;2:186.

4 Binkhathlan Z, Lavasanifar A. P-glycoprotein inhibition as a therapeutic approach for overcoming multidrug resistance in cancer: current status and future perspectives. *Curr Cancer Drug Targets.* 2013;13(3):326-46

5 Choy W, Nagasawa DT, Trang A, Thill K, Spasic M, Yang I. CD133 as a marker for regulation and potential for targeted therapies in glioblastoma multiforme. *Neurosurg Clin N Am.* 2012;23(3):391-405.



## Modelos animales para el estudio del síndrome metabólico: modelo genético vs modelo inducido por la dieta

**Martínez R, Kapravelou G, Galisteo M, Nebot E, Aranda P, López Jurado M, Porres JM.**

*Departamentos de Fisiología y Farmacología. Facultad de Farmacia.*

*Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos.*

*Instituto mixto Universitario Deporte y Salud.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de alteraciones tales como la obesidad central, dislipidemias, glucosa plasmática elevada, aparición de resistencia a la insulina, presión sanguínea elevada y un estado pro-inflamatorio/pro-trombótico (Grundy, 2016). Debido al incremento de su prevalencia en la población actual, es necesario diseñar modelos animales para hallar los mecanismos implicados en su desarrollo. Esta patología implica a factores genéticos y a factores medioambientales, por lo que en nuestros estudios utilizamos tanto modelos genéticos (rata Zucker Fatty) como modelos inducidos por la dieta (rata Sprague Dawley) donde ensayamos distintas estrategias para tratar o prevenir el desarrollo del SM: (i) intervenciones dietéticas, (ii) realización de actividad física o (iii) intervenciones farmacológicas. Actualmente nuestro equipo de investigación están implementando estas tres estrategias: (i) Las leguminosas así como sus extractos o hidrolizados proteicos han sido testadas en diferentes modelos establecidos para el estudio del SM (Martínez et al., 2016b) siendo efectivas en la prevención y tratamiento de distintas alteraciones que aparecen en el desarrollo de este síndrome (Kapravelou et al., 2013; Martínez et al., 2016a). (ii) La realización de actividad física es una estrategia idónea para mejorar distintas alteraciones del SM como la resistencia a la insulina y las alteraciones del metabolismo lipídico (Kapravelou et al., 2015). Por último, (iii) la estrategia terapéutica ha puesto de manifiesto el papel que el sistema endocannabinoide juega en la regulación del metabolismo, la administración de fármacos específicos han conseguido prevenir el desarrollo de esteatosis hepática y en general mejorar el perfil lipídico (Merroun et al. 2013).

### Referencias bibliográficas:

Grundy, S.M. (2016). *Metabolic syndrome update. Trends Cardiovasc. Med.* 26, 364–373.

Kapravelou, G., Martínez, R., Andrade, A.M., Sánchez, C., Chaves, C.L., López-Jurado, M., Aranda, P., Cantarero, S., Arrebola, F., Fernández-Segura, E., et al. (2013). *Health promoting effects of Lupin (Lupinus albus var. multolupa) protein hydrolyzate and insoluble fiber in a diet-induced animal experimental model of hypercholesterolemia. Food Res. Int.* 54, 1471–1481.

Kapravelou, G., Martínez, R., Andrade, A.M., Nebot, E., Camiletti-Moirón, D., Aparicio, V.A., López-Jurado, M., Aranda, P., Arrebola, F., Fernández-Segura, E., et al. (2015). *Aerobic interval exercise improves parameters of Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and other alterations of metabolic syndrome in obese Zucker rats. Appl. Physiol. Nutr. Metab.*

Martínez, R., Kapravelou, G., Porres, J.M., Melesio, A.M., Heras, L., Cantarero, S., Gribble, F.M., Parker, H., Aranda, P., and López-Jurado, M. (2016a). *Medicago sativa L., a functional food to relieve hypertension and metabolic disorders in a spontaneously hypertensive rat model. J. Funct. Foods* 26, 470–484.

Martínez, R., López-Jurado, M., Wanden-Berghe, C., Sanz-Valero, J., Porres, J.M., and Kapravelou, G. (2016b). *Beneficial effects of legumes on parameters of the metabolic syndrome: a systematic review of trials in animal models. Br. J. Nutr.* 116, 402–424.

Merroun, I., Sánchez-González, C., Martínez, R., López-Chaves, Carlos., Porres, JM., Aranda, P., Llopis, J., Galisteo, M., Zarzuelo, A., Errami, M., López-Jurado, M. (2013). *Novel effects of the cannabinoid inverse agonist AM 251 on parameters related to metabolic syndrome in obese Zucker rats. Metabolism.* 62, 1641–1650.

## New suicide gene therapy for non-small cell lung cancer

Morote M<sup>2</sup>, Hernández R<sup>1,2</sup>, García B<sup>2</sup>, Mesas C<sup>2</sup>, Rama AR<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup> *Departamento de Anatomía y Embriología Humana, Universidad de Granada, Granada, España.*

<sup>2</sup> *Instituto de Biopatología y Biomedicina Regenerativa, Universidad de Granada, Granada, España.*

<sup>3</sup> *Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén, Jaén, España.*

<sup>4</sup> *Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Objetivo:** El cáncer de pulmón es la principal causa de mortalidad por cáncer en todo el mundo. La quimioterapia y radioterapia han demostrado ser eficaces, sin embargo, a menudo causan una toxicidad considerable. En los últimos años, la terapia génica se ha presentado para mejorar la respuesta de los pacientes con cáncer de pulmón avanzado sin dañar el tejido normal. La terapia génica clásica suicida se basa en el uso de genes de origen bacteriano o viral cuyas enzimas codificantes transforman el profármaco no tóxico en una molécula tóxica. El gen E de *E. Coli* codifica para una proteína de membrana con un dominio tóxico que no necesita profármacos. Hemos investigado este gen como una nueva terapia génica suicida para el tratamiento contra el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC).

**Métodos:** El gen E se clonó en el vector pcDNA3.1 (pcDNA3.1-E) y la línea NSCLC A-549 se cultivó como monocapa (ML) y como esferoides tumorales multicelulares (MTS). Para estudiar el efecto inhibitorio del crecimiento del gen E, se transfectaron las células A-549 ML y MTS con pcDNA3.1-E o pcDNA3.1 vacío (control) y se compararon con A-549 ML y MTS parental, respectivamente. A-549 ML se evaluó mediante ensayo MTT y A-549 MTS por modulación de los volúmenes de crecimiento. La microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía electrónica de barrido (SEM) se utilizaron para analizar los posibles cambios ultraestructurales de las células A-549 transfectadas.

**Resultados:** El crecimiento de las células control fue similar al de las células parentales, mientras que las A-549/pcDNA3.1-E mostraron una inhibición significativa y dependiente del tiempo del crecimiento (42,2% a 92 h). TEM reveló mitocondrias dilatadas con matrices claras y crestas alteradas en las A-549/pcDNA3.1-E; También, SEM mostró una desaparición progresiva de microvillosidades y evaginaciones de la membrana celular. Ninguna característica fue observada en las células parentales y ni en las de control para ambas técnicas. Los análisis de volumen de A-549 MST mostraron hallazgos similares a ML, con una disminución de volumen significativa y dependiente del tiempo. La mayor disminución de volumen fue de 35,2% en A-549 MTS/pcDNA3.1-E después de 96 h en comparación con la MTS parental. Los MTS control mostraron el un volumen promedio similar a los MTS parentales.

**Conclusiones:** Nuestros resultados mostraron que el gen E es capaz de inhibir el crecimiento de la línea A-549, presentándose como una nueva terapia génica suicida para el tratamiento contra el NSCLC, cuya ventaja es la no necesidad de un profármaco para su acción de muerte celular.

### Referencias bibliográficas:

1. *E phage gene transfection associated to chemotherapeutic agents increases apoptosis in lung and colon cancer cells.* Rama AR, Prados J, Melguizo C, Alvarez PJ, Ortiz R, Madeddu R, Aranega A. *Bioeng Bugs.* 2011 May-Jun;2(3):163-7.
2. *E phage gene transfection enhances sensitivity of lung and colon cancer cells to chemotherapeutic agents.* Rama AR, Prados J, Melguizo C, Ortiz R, Alvarez PJ, Rodríguez-Serrano F, Hita F, Ramos JL, Burgos M, Aranega A. *Int J Oncol.* 2010 Dec;37(6):1503-14.

# Estudio de proliferación y expresión de marcadores en fibroblastos humanos tratados con láser de diodo

Illescas Montes R<sup>1</sup>, Melguizo Rodríguez L<sup>2</sup>, Manzano Moreno FJ<sup>3</sup>, García Martínez O<sup>2</sup>, Ruiz C<sup>2,4</sup>, Ramos Torrecillas J<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Grupo Biosanitario (BIO277). Departamento de Enfermería. Facultad de Enfermería de Melilla, Universidad de Granada. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA.

<sup>2</sup> Grupo Biosanitario (BIO277). Departamento de Enfermería. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA.

<sup>3</sup> Grupo Biosanitario (BIO277). Departamento de Estomatología. Facultad de Odontología, Universidad de Granada. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA.

<sup>4</sup> Instituto de Neurociencias "Federico Oloriz". Universidad de Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** En biomedicina existen distintos tipos de láseres que producen efectos en los tejidos según sus características. Por otra parte, en el proceso de cicatrización de heridas, el fibroblasto es la principal población implicada en su regeneración.

**Objetivo:** Analizar el efecto del láser de diodo de 940nm sobre el crecimiento y la diferenciación de los fibroblastos humanos en cultivo a distintas dosis de radiación y diferentes pautas de tratamiento.

**Metodología:** La línea de fibroblastos epiteliales humanos (CCD-1064Sk) fue tratada con un láser de diodo (ezLase) de 940nm a distintas dosis de energía (potencia: 0.2 a 1 W y densidad de energía: 1 a 7 J/cm<sup>2</sup>) y bajo distintos modos de transmisión (continuo o pulsado). Después de 24h y/o 72h de la irradiación, se estudió el crecimiento celular (MTT assay), el ciclo celular (citometría de flujo) y diferenciación celular (expresión de fibronectina y  $\alpha$ -actina mediante inmunofluorescencia).

**Resultados:** El tratamiento incrementó la proliferación de fibroblastos a las 24h y 72h, en función de la dosis de energía aplicada, considerando 0.2W, 0.5W y densidad de energía entre 1 y 4 J/cm<sup>2</sup> como parámetros más efectivos, indistintamente del modo de transmisión. No observamos cambios significativos en el ciclo celular respecto al control. Observamos un incremento de expresión de  $\alpha$ -actina de las células tratadas, susceptible de diferenciación celular.

**Conclusiones:** El láser usado presenta propiedades bioestimulantes sobre el fibroblasto, al estimular la capacidad proliferativa y la diferenciación celular, sin alterar el ciclo celular. Estos datos justifican su posible utilidad clínica en regeneración de heridas.

**Palabras clave:** *Wound healing, Fibroblasts, Diode laser, Biostimulation, Cell culture.*

## Referencias bibliográficas:

1. De Lima FJC, de Oliveira Neto OB, Barbosa FT, et al. Is there a protocol in experimental skin wounds in rats using low-level diode laser therapy (LLDLT) combining or not red and infrared wavelengths? *Systematic review. Lasers Med Sci* 2016; 31: 779–787.
2. Huertas RM, De Luna-Bertos E, Ramos-Torrecillas J, et al. Effect and Clinical Implications of the Low-Energy Diode Laser on Bone Cell Proliferation. *Biological Research For Nursing* 2014; 16: 191–196.
3. Manzano-Moreno FJ, Medina-Huertas R, Ramos-Torrecillas J, et al. The effect of low-level diode laser therapy on early differentiation of osteoblast via BMP-2/TGF- $\beta$ 1 and its receptors. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*

2015; **43**: 1926–1932.

4. Medina-Huertas R, Manzano-Moreno FJ, De Luna-Bertos E, et al. The effects of low-level diode laser irradiation on differentiation, antigenic profile, and phagocytic capacity of osteoblast-like cells (MG-63). *Lasers Med Sci* 2014; **29**: 1479–1484.

5. Manzano-Moreno FJ, Ramos-Torrecillas J, De Luna-Bertos E, et al. High doses of bisphosphonates reduce osteoblast-like cell proliferation by arresting the cell cycle and inducing apoptosis. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 2015; **43**: 396–401.

6. Darby IA, Laverdet B, Bonté F, et al. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2014; **7**: 301–311.

7. Ramos-Torrecillas J, De Luna-Bertos E, García-Martínez O, et al. Use of platelet-rich plasma to treat pressure ulcers: a case study. *Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing* 2013; **40**: 198–202.

## **Caracterización de enzimas degradadoras de AHLs encontradas en cepas de *Stenotrophomonas Maltophilia* aisladas de invertebrados marinos**

**Reina JC<sup>1</sup>, Ruiz N<sup>1</sup>, Llamas I<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, España.*

<sup>2</sup> *Universidad de Granada, Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Granada, España. Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Distintas bacterias patógenas marinas regulan la expresión de genes de virulencia mediante un sistema de comunicación celular denominado quorum sensing (QS)<sup>1</sup>, mediado por la producción de moléculas señal que difunden al exterior y que, al alcanzar una concentración umbral, desencadenan la expresión de determinados genes. Por ello, la inhibición de los sistemas QS es una de las estrategias más prometedoras para controlar las infecciones en general y las que afectan a la acuicultura en particular<sup>2</sup>. Uno de los mecanismos en los que se basa se denomina quorum quenching (QQ)<sup>3</sup>, y consiste en la degradación enzimática de las moléculas señal, siendo las más comunes y estudiadas las moléculas del tipo N-acilhomoserin lactonas (AHLs).

En este trabajo se presenta un estudio de los sistemas de inhibición QQ de cuatro cepas bacterianas pertenecientes a la especie *Stenotrophomonas maltophilia*, aisladas de la microbiota de animales pertenecientes a los phyla Echinodermata y Cnidaria.

Se ha determinado tanto el rango de moléculas AHLs sintéticas que degradan las bacterias objeto de estudio como la actividad QQ sobre AHLs de origen natural producidas por los patógenos marinos *Vibrio coralliilyticus*, *V. owensii* y *V. mediterranei* utilizando los biosensores *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (pZRL4), *Chromobacterium violaceum* CV026 y *C. violaceum* VIR07.

También se ha caracterizado el tipo de enzima QQ, resultando ser una acilasa, y se ha amplificado por PCR el gen con actividad QQ en las bacterias seleccionadas utilizando primers específicos y los productos de PCR se han clonado en *Escherichia coli*, demostrando su actividad QQ.

### *Referencias bibliográficas:*

1. *Natrah FMI, Defoirdt T, Sorgeloos P, Bossier P. Disruption of Bacterial Cell-to-Cell Communication by Marine Organisms and its Relevance to Aquaculture. Mar Biotechnol. 2011;13(2):109-126. doi:10.1007/s10126-010-9346-3.*
2. *Grandclément C, Tannières M, Moréra S, Dessaux Y, Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. FEMS Microbiol Rev. 2016;40(1):86-116. doi:10.1093/femsre/fuv038.*
3. *Dong Y, Zhang L. Quorum Sensing and Quorum-Quenching Enzymes. J Microbiol. 2005;43(February):101-109.*

# Recomendaciones para la prevención del cáncer dadas por el código europeo contra el cáncer: análisis de la situación en España

Reina I, Arriaga A, Benítez E, Olea N, Fernández MF.

*Instituto de Investigación Biosanitaria (ibs.GRANADA).*

*CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), España.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

*Programa de Doctorado Medicina Clínica y Salud Pública coautores*

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, con un aumento progresivo y continuo en la incidencia de algunos tumores durante los últimos años, constituyendo uno de los problemas de salud pública más importantes en la actualidad. Los estudios epidemiológicos, revisados por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), revelan que más de la mitad de los casos podrían prevenirse, por lo que es necesario incrementar los esfuerzos en encontrar estrategias adecuadas para evitar esta enfermedad (prevención primaria). La IARC ha propuesto recomendaciones que constituyen el Código Europeo contra el Cáncer (CECC), con el propósito de dar a conocer los principales factores de riesgo susceptibles de modificación. El objetivo de nuestro trabajo ha sido analizar la aplicación de estas recomendaciones en España. Para ello se han revisado estudios epidemiológicos y datos aportados por organismos nacionales que informan sobre salud en España. Los datos recogidos permiten afirmar que nuestra población presenta un perfil de riesgo de cáncer elevado, determinado, entre otros, por factores conductuales y hábitos dietéticos que favorecen la aparición de cáncer. Muchos de estos factores son modificables tales como el cambio a dietas más saludables, la disminución del sedentarismo que ha traído consigo una elevada prevalencia de sobrepeso y obesidad, además de la disminución del consumo de alcohol, la erradicación del hábito tabáquico y la promoción de ambientes libres de carcinógenos en las ciudades, los hogares y los lugares de trabajo.

En conclusión, mediante la educación sanitaria se podría disminuir la incidencia del cáncer en nuestro país de forma eficiente.

## Referencias bibliográficas:

1. GLOBOCAN 2012: *Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M et al. *Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012*. *Int J Cancer* 2015;136(5):E359-86.
3. Galceran J, Ameijide A, Carulla M, Mateos A, Quirós JR, Rojas D et al. *Cancer incidence in Spain, 2015*. *Clin Transl Oncol* 2017. [Epub ahead of print].
4. REDECAN: *Red Española de Registros de Cáncer*. <http://redcan.org>
5. Schüz J, Espina C, Villain P, Herrero R, Leon ME, Minozzi S, et al. *European Code against Cancer 4th Edition: 12 ways to reduce your cancer risk*. *Cancer Epidemiol* 2015;39(Suppl 1):S1-S10.
6. Stewart BW. *Priorities for cancer prevention: lifestyle choices versus unavoidable exposures*. *Lancet Oncol* 2012;13(3):e126-33.

## Participación en programas externos para la garantía de calidad en la cartera de servicios del biobanco del SSPA

Rejón JD<sup>1,2,3,4,5</sup>, Gutiérrez Aranda I<sup>1,2,5</sup>, Catalina P<sup>1,2,3,4,5</sup>, Lucena Aguilar G<sup>1,2,4,5</sup>, Carrillo Ávila JA<sup>1,5</sup>, De la Puente R<sup>1,4,5</sup>, Gómez Cabañas L<sup>1,4,5</sup>, Del Pino Zumaquero A<sup>1,5</sup>, Ligeró G<sup>1,2,3,4,5</sup>, Aguilar Quesada R<sup>1,2,3,4,5</sup>.

<sup>1</sup> Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Granada.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Ibs Granada.

<sup>3</sup> Plataforma “Red Nacional de Biobancos”-ISCIII.

<sup>4</sup> Plataforma de Recursos Biomoleculares y Bioinformáticos-ISCIII.

<sup>5</sup> Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introducción:** Los programas externos para la garantía de calidad son una herramienta que permiten verificar y/o validar la precisión, exactitud y eficacia de los procedimientos de procesamiento y caracterización de las muestras biológicas, determinando el grado de adecuación de todos los elementos que contribuyen (método, equipos y personal técnico) e identificando potenciales problemas mediante la monitorización regular de los resultados. El Biobanco del SSPA ha elegido estos programas para la evaluación periódica de los procedimientos asociados a su cartera de servicios.

**Material y métodos:** Para cada servicio ofrecido por el Biobanco del SSPA se seleccionó el esquema (test de evaluación) correspondiente de entre los descritos en el programa para la garantía de calidad.

**Resultados:** Desde el inicio en 2011 de la participación del Biobanco del SSPA en programas externos para la garantía de calidad se ha incrementado el número de esquemas de 1 a 15 en 2016, cubriéndose el 30 % de los servicios ofrecidos. Del resto de servicios, sólo 6% fueron cubiertos/evaluados mediante el contacto con laboratorios de referencia. Los resultados obtenidos muestran la identificación de 4 oportunidades de mejora, que han llevado a la modificación de los procedimientos implicados, y una desviación en la detección de un equipo, que ha sido revisada.

**Conclusión:** La participación en estos programas ha permitido evaluar y validar los procedimientos implantados en el Biobanco del SSPA y extender la cartera de servicios mejorando la calidad de los mismos. Conscientes de los beneficios aportados, la búsqueda de esquemas ofrecidos por entidades afines y la creación de otros nuevos mediante diferentes iniciativas es necesaria.

## Efecto del bis (maltolato) oxovanadio (iv) y otros metales (cobre y manganeso) sobre la viabilidad de células HEPG2

Rivas García L<sup>1</sup>, Sánchez González C<sup>1</sup>, Moreno Terrón L<sup>1</sup>, López Chaves C<sup>1</sup>, Montes Bayón M<sup>2</sup>, Aranda Ramírez P<sup>1</sup>, Llopis González J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Centro de Investigación Biomédica, Instituto Mixto de Deporte y Salud, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus Cartuja s/n, ES18071- Granada, España.

<sup>2</sup>Departamento de Química Física y Analítica. Facultad de Química. Universidad de Oviedo. Oviedo. España. Centro de investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Palabras clave:** vanadio, manganeso, cobre, HepG2.

El vanadio es un elemento traza involucrado en el metabolismo de hidratos de carbono mejorando la sensibilidad a la insulina. Sin embargo, se ha demostrado su toxicidad ligada a su carácter pro-oxidante. Cobre y manganeso son elementos esenciales, presentes en numerosas enzimas, contribuyendo en la defensa antioxidante [1,2].

El objetivo fue evaluar el efecto de la exposición al vanadio de forma aislada o conjunta con Cu o Mn (elementos con capacidad antioxidante) de células hepáticas (involucradas en el metabolismo glucídico y lipídico), con el fin de tratar de neutralizar los efectos deletéreos del V en la terapia antidiabética.

Para los experimentos *in vitro* la línea HepG2 se expuso a concentraciones crecientes de V (bis(maltolato)oxovanadio), Mn (cloruro) y Cu (cloruro), y a combinaciones entre elementos. El tiempo de exposición fue de 32 h. Se estudió la viabilidad celular por la prueba del MTT.

El V ocasionó un descenso significativo de la viabilidad celular en las concentraciones más altas. Mn y Cu ocasionaron un aumento significativo en la viabilidad, siendo más intenso al aumentar su concentración (especialmente en el caso del Mn); esta asociación también fue apreciable al combinar estos metales. Cuando se expuso a las células a una combinación de Cu y V no se observan cambios en la viabilidad celular. La exposición combinada de células a Mn y V causó un aumento significativo de la viabilidad para las dosis más altas.

Se concluye que la exposición de células hepáticas a vanadio ocasiona un descenso en la viabilidad posiblemente atribuible a sus propiedades prooxidantes, situación que revierte cuando la exposición al vanadio se hace de forma combinada con Mn, elemento con propiedades antioxidantes. Estos resultados podrían ayudar a minimizar la toxicidad del vanadio en el tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus.

*Referencias bibliográficas:*

[1] Thompson K.H.; Orvig C. *J Inorg Biochem* **2006**, 100, 1925-1935.

[2] Sanchez-Gonzalez C.; Bermudez-Peña C.; Guerrero-Romero F.; Trenzado C.E.; Montes-Bayon M.; Sanz-Medel A.; Llopis J. *Br J Nutr* **2012**, 108, 893-899.



# Genetic relationship between the RS9939609 *FTO* polymorphism, body mass index and depression

Agudo M<sup>1</sup>, Gutierrez B<sup>1,2</sup>, Cervilla J<sup>1,2</sup>, Ching Lopez A<sup>1,2</sup>, Molina E<sup>3</sup>, McKenney K<sup>1</sup>, Ruiz Perez I<sup>4</sup>, Rodriguez Barranco M<sup>5</sup>, Rivera M<sup>1,6</sup>.

<sup>1</sup>Institute of Neurosciences, Centre of Biomedical Research, University of Granada, Granada, Spain.

<sup>2</sup>Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain.

<sup>3</sup>Department of Nursing, Faculty of Nursing, Physiotherapy and Podiatry, University of Seville, Seville, Spain.

<sup>4</sup>Andalusian School of Public Health and CIBERESP.

<sup>5</sup>Andalusian School of Public Health.

<sup>6</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology II, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Granada, Spain. Biomedical Research Center, University of Granada.

Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Introduction:** Obesity and depression are highly prevalent major public health problems that frequently co-occur (1). The role of the *FTO* gene in body mass index (BMI) and obesity has been confirmed in many studies (2,3). Recently, we reported the first study showing that depression modifies the effect of the *FTO* on BMI (4). The aim of this study is to investigate the genetic influence of the *FTO* rs9939609 polymorphism, BMI and depression and try to replicate previous findings.

**Methods:** The PISMA-ep is a cross-sectional epidemiological study of mental disorders based on a representative sample of the adult population of Andalusia (5). The sample consists of 337 individuals with depression and 921 psychiatrically healthy controls. Linear regression models for quantitative traits assuming an additive genetic model were applied to test the association between this polymorphism and BMI. Finally, we performed interaction analysis between the rs9939609, depression and BMI.

**Results:** We found that individuals with depression had significantly higher BMI values compared to controls ( $p < 0.01$ ). The rs9939609 polymorphism was significantly associated with BMI in the whole sample ( $p < 0.05$ ) and in controls ( $p < 0.05$ ), but not in depressive cases ( $p > 0.05$ ). There was no significant interaction between rs9939609, depression and BMI ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** This study provides additional support for an association between BMI and depression in a representative sample of the Spanish population. We found an association between the rs9939609 polymorphism that is in keeping from previous reports. Given the relevance of exploring the genetic relationship between obesity and depression and to overcome the issue of insufficient sample size, we are working on the genotyping of the remaining 3,000 samples that constitute the entire PISMA-ep target population.

## Referencias bibliográficas:

- (1) WHO. 2008.
- (2) Luppino FS et al. *Arch Gen Psychiatry* 2010.
- (3) Fawcett KA, Barroso I, *Trends Genet*, 2010.
- (4) Rivera M et al. *Molecular Psychiatry*, 2012.
- (5) Cervilla et al. *Revista de Psiquiatría y Salud Mental*, 2016.

## Comorbid medical conditions in individuals with major psychiatric disorders

Rivera M<sup>1,2</sup>, Rovira P<sup>1,3,4</sup>, Gutierrez B<sup>1,5</sup>, Ching López A<sup>1,5</sup>, Molina E<sup>6</sup>, Martín Laguna MV<sup>1</sup>, Ibanez Casas I<sup>1</sup>, Kathryn McKenney<sup>1</sup>, Ruiz Pérez I<sup>7</sup>, Rodríguez Barranco M<sup>8</sup>, Cervilla J<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup> *Institute of Neurosciences, Centre of Biomedical Research, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Departament of Biochemistry and Molecular Biology II, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Psychiatric Genetics Unit, Vall d'Hebron Research Institute (VHIR), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.*

<sup>4</sup> *Department of Psychiatry, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain.*

<sup>5</sup> *Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain.*

<sup>6</sup> *Department of Nursing, Faculty of Nursing, Physiotherapy and Podiatry, University of Seville, Seville, Spain.*

<sup>7</sup> *Andalusian School of Public Health and CIBERESP.*

<sup>8</sup> *Andalusian School of Public Health.*

*Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

**Introduction:** People with major psychiatric disorders (MPD) have higher prevalence of comorbid medical conditions, such as obesity, diabetes and cardiovascular diseases (1). It is well documented that people with MPD have an excess mortality rates (2). About 60% of this excess mortality is due to medical conditions, being cardiovascular disease the primary cause (3). The aim of this study is to examine the prevalence of medical conditions in people with MPD compare with a psychiatrically healthy control group.

**Methods:** The sample is part of the PISMA-ep, a cross-sectional study of a representative sample of the Andalusian population (4). The sample included 1,005 participants with diagnosis of MPD and 3,502 psychiatrically healthy controls. A standard medical disorders checklist, including 21 self-reported specific medical conditions was given to all participants. We carried out contingency table analyses and binary logistic regressions to examine the prevalence of the medical conditions both in individuals with MPD and controls.

**Results:** Nineteen medical disorders were significantly more frequent in the MPD group. In particular, the highest significant differences were found for chronic pain, asthma, migraine, vertigo, rhinitis and arthritis ( $p < 10^{-6}$ ). There were also differences between groups in cancer, chronic bronchitis, diabetes, stomach ulcer, chronic allergy, hypercholesterolemia, thyroid problems, renal and liver difficulties, embolism, tinnitus, anaemia and cancer ( $p < 0.05$ ). In contrast, no significant differences were found for heart attack, epilepsy or hypertension.

**Conclusion:** Lifetime prevalence of medical disorders was significantly higher in the MPD group compare to psychiatrically healthy controls in the vast majority of the diseases. This study highlights the importance of address medical conditions in people with major psychiatric disorders.

### Referencias bibliográficas:

- (1) Sartorius N. *World Psychiatry* 2007; 6 (1): 3-4.
- (2) Harris EC, Barraclough B. *British Journal of Psychiatry* 1998;173:11-53.
- (3) Druss BG, et al. *Med Care* 2011 Jun;49(6):599-604.
- (4) Cervilla et al. *Revista de Psiquiatria y Salud Mental*. 2016 Oct - Dec;9(4):185-194.

## Pathomechanisms in primary coenzyme q deficiency

Rodríguez Hidalgo M<sup>2</sup>, Luna Sánchez M<sup>1,2</sup>, Hidalgo Gutiérrez A<sup>1,2</sup>, García Corzo L<sup>1,2</sup>, Barriocanal Casado E<sup>1,2</sup>, López LC<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> *Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada, Granada, Spain.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Primary coenzyme Q10 (CoQ10) deficiency is due to mutations in genes involved in CoQ biosynthesis. The disease has been associated with five major phenotypes, and this clinical heterogeneity is not completely understood. In the last years, we have generated and characterized two mouse models with two different genetic modifications in *Coq9* gene, *Coq9<sup>R239X</sup>* and *Coq9<sup>Q95X</sup>*, which manifest fatal mitochondrial encephalopathy and mild mitochondrial myopathy, respectively<sup>1,2</sup>. The studies of both mouse models have revealed novel pathomechanisms that are important to determine the clinical manifestation of the disease. These pathomechanisms are: 1) the efficiency of the nonsense-mediated mRNA decay; 2) the stability of the multiprotein complex for CoQ biosynthesis; 3) the mitochondrial supercomplexes instability in symptomatic tissues; 4) the disruption in the sulfide oxidation pathway under severe CoQ deficiency<sup>1-3</sup>; and 5) the response in the CNS in form of severe reactive astrogliosis. These results provide new insights to understand the genotype-phenotype heterogeneity associated with human CoQ deficiency and may have a potential impact on the treatment of this mitochondrial disorder.

### References:

1.- Garcia-Corzo, L. et al. *Hum. Mol. Genet.* 22, 1233-1248, 2013.

2.- Luna-Sanchez, M. et al. *EMBO Mol Med* 7, 670-687, 2015.

3.- Luna-Sanchez, M. et al. *EMBO Mol Med* 9, 78-95, 2017.

## Intervención en actividad física en supervivientes de cáncer de mama

Rodríguez Carrillo A, Ruiz Vozmediano J, Arroyo Morales M, Fernández Cabrera MF.

*Universidad de Granada, Facultad de Fisioterapia y Medicina.*

*CIBERESP, ibs.GRANADA.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Introducción:** El cáncer de mama (CM) es el tumor más diagnosticado y primera causa de muerte por cáncer en mujeres. A los tratamientos convencionales se están incorporando nuevas perspectivas terapéuticas complementarias que mejoren la calidad de vida y la supervivencia de las supervivientes.

**Objetivo:** Estimar la eficacia de un Programa de Ejercicio Terapéutico (PET) sobre el grado de fatiga, la fuerza de prensión manual y el equilibrio en supervivientes de CM.

**Métodos:** 34 pacientes, estadios II-III, se aleatorizaron al grupo control (GC) o intervención (GI), tras finalizar su tratamiento oncológico. Durante siete semanas el GI realizó un programa de ejercicio con circuitos de fuerza y sesiones de danza flamenca. El grado de fatiga, la fuerza de prensión manual y el equilibrio se evaluaron mediante Escala Modificada de Borg, Dinamometría Manual y Test Flamingo, respectivamente.

**Resultados:** El GI experimentó una **disminución del grado de fatiga** con una diferencia de  $3,88 \pm 0,78$  puntos entre el inicio y finalización del PET ( $p < 0,001$ ), respecto al grupo control cuya diferencia fue de  $0,82 \pm 0,29$ . El GI **incrementó la fuerza de prensión manual no dominante**, con una diferencia de  $1,91N \pm 0,41N$  respecto al grupo control ( $p < 0,015$ ), que empeoró ( $-1,24N \pm 0,04N$ ), y **mejoró su equilibrio estático** con una disminución de las caídas ( $-1,29 \pm 2,31$  caídas/min) respecto al grupo control ( $1,11 \pm 2,03$  caídas/min) ( $p = 0,001$ ).

**Conclusiones:** La inclusión de Programas de Ejercicio Terapéutico en los servicios oncológicos podría contribuir a la mejora de las capacidades físicas de mujeres con CM repercutiendo en la mejora de su calidad de vida.

### Referencias bibliográficas:

1. Baumann FT, Bieck O, Oberste M, et al. Sustainable impact of an individualized exercise program on physical activity level and fatigue syndrome on breast cancer patients in two German rehabilitation centers. *Support Care Cancer*. 2017;25(4):1047-54.
2. Beurskens CH, van Uden CJ, Strobbe LJ, Oostendorp RA, Wobbles T. The efficacy of physiotherapy upon shoulder function following axillary dissection in breast cancer, a randomized controlled study. *BMC Cancer*. 2007;7(1):166.
3. Hidding JT, Beurskens CHG, Van Der Wees PJ, Van Laarhoven HWM, Nijhuis-van Der Sanden MWG. Treatment related impairments in arm and shoulder in patients with breast cancer: A systematic review. *PLoS One*. 2014;9(5).
4. Lipsett A, Barrett S, Haruna F, Mustian K, O'Donovan A. The impact of exercise during adjuvant radiotherapy for breast cancer on fatigue and quality of life: A systematic review and meta-analysis. *Breast*. 2017;32:144-55.
5. Syka A. The Effect of Exercise in Surviving Patients with Breast Cancer: A Systematic Review. *Int J Caring Sci*. 2015;8(2):488-98

## Activity of surfactants produced by *Bacillus Atrophaeus* strain 1193 against aphids

Rodríguez M<sup>1</sup>, Marín A<sup>1</sup>, Torres M<sup>1</sup>, Sampedro I<sup>1</sup>, Fernández L<sup>2</sup>, Campos M<sup>2</sup>, Béjar V<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación Biomédica (CIBM). Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud (PTS). Granada.

<sup>2</sup> Departamento de Protección Ambiental. Estación Experimental del Zaidín – CSIC. Granada.  
Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

*Rhopalosiphum padi* is an aphid species that affects several cereal crops resulting in severe economic losses in agriculture. Currently, the management of this pest is performed by applying chemical insecticides, however they are not totally effective and produce resistances. On the other hand, many predator insects are used for its control in greenhouse crops; however the efficacy of these treatments in open fields is very low. Interestingly, within the genus *Bacillus* there are different species with insecticidal activity that could be used for the bio-control of *R. padi*.

The objectives of this study are to determine the insecticidal activity of *Bacillus atrophaeus* strain L193 against *R. padi*, and to characterize the compounds responsible for it.

The strain L193 was selected after a screening conducted with halotolerant strains in search of surfactant producers and hydrolytic enzymes in order to find insecticidal activity. It was tested using the purified surfactant, the culture supernatant and the whole culture by applying it on barley seedlings infested with *R. padi*.

The type of surfactants was determined by PCR using primers for the detection of different nonribosomal peptide synthetase (NRPS's) clusters.

Strain L193 produces proteases, lipases, chitinases and glucanases. In addition, it produces 1,6 g/L of surfactants. These surfactants belong to the family of surfactins, iturins, bacillomycins and fengycins.

All treatments produced a significantly higher mortality of *R. padi* than the control with a confidence level higher than 0.95. This strain could, therefore, be used for the biological control of aphids in open field crops.

## **Propiedades funcionales y aplicaciones biotecnológicas de los exopolisacáridos extraídos de bacterias gram negativas**

**Romera Á<sup>1,2</sup>, Rodríguez MA<sup>1,2</sup>, Torres M<sup>1,2</sup>, Toral L<sup>1,2</sup>, Castro D<sup>1,2</sup>, Martínez F<sup>1,2</sup>, Béjar V<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Granada, España.*

<sup>2</sup> *Centro Investigación Biomédica, Instituto Biotecnología, Armilla, Granada, España.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

La industria farmacéutica y alimentaria emplean en la actualidad un amplio abanico de sustancias para mejorar las características y el aspecto final de sus productos. Incluidos en ese extenso catálogo de compuestos se encuentran agentes que modifican la textura: espesantes, gelificantes, emulsionantes, etc., entre otros. Cada día se demandan nuevos aditivos con mejores propiedades y al mismo tiempo con precios competitivos. Los exopolisacáridos microbianos (EPS) encajan a la perfección en ese perfil de búsqueda.

Los EPS son sustancias de naturaleza polisacáridica secretadas por las bacterias al medio extracelular. Presentan funciones biológicas diversas, como participar en la matriz de los biofilms, actuar de reservorio de energía y nutrientes; y proteger a la célula frente a agentes nocivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades físicas de los EPS producidos por seis cepas bacterianas Gram negativas procedentes de la colección del grupo de investigación Exopolisacáridos Microbianos BIO-188 optimizando el crecimiento y la producción de los polímeros en distintos medios de cultivo, así como realizando la caracterización taxonómica de las cepas.

Los resultados de mayor crecimiento y de mayor productividad se obtuvieron en medios de cultivo con cloruro sódico, especialmente en caldo marino. Se comparó la viscosidad y actividad emulgente utilizando como control el xantano. Los polímeros en solución presentaron comportamiento pseudoplástico. El polímero de la cepa XLD01 presentó mayor viscosidad que el xantano y el polímero de la cepa H2Mic3 tuvo una elevada actividad emulgente frente al miristato de isopropilo. Ambos polímeros tienen por estas propiedades una potencial aplicación en la industria farmacéutica y cosmética. Las cepas estudiadas pertenecen a los géneros *Alteromonas*, *Enterobacter*, *Marinobacter* y *Pseudoalteromonas*.

## Human predecidual stromal cells are closely related to pericytes

**Ruiz Magaña MJ, De la Mata C, Muñoz Fernández R, Martínez Aguilar R, Abadía Molina AC, Ruiz Ruiz MC, García Olivares E.**

*IBIMER, Centro de Investigación Biomédica.*

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular 3 e Inmunología, Universidad de Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Pericytes are contractile cells surrounded microvascular endothelial cells, which regulate vessel structure and vascular homeostasis. Previous studies suggested a relationship between human decidual stromal cells (DSCs) and pericytes because these cells have in common a perivascular location, alpha smooth muscle actin ( $\alpha$ -SM actin) expression and the ability to contract under the effects of cytokines.

The objective of this study was to further ascertain the relationship between DSC and pericytes.

We established human DSC lines and clones that were tested by flow cytometry with a panel of mAb. The expression of angiogenic factors was determined by PCR; chemotactic activity was studied with the migration assay, and cell contractility was evaluated with the collagen cell contraction assay. Decidual sections were examined by confocal microscopy.

The DSC lines and clones consisted of predecidual stromal cells (preDSCs), since under the effect of progesterone and cAMP they decidualized in vitro: the cells became rounder and secreted prolactin, a marker of physiological DSC decidualization. The antigen phenotype of these DSC lines and clones was fully compatible with that reported for pericytes. DSC lines displayed pericyte functions: they expressed angiogenic factors and showed chemotactic and cytokine-induced contractile activity.

Examination of decidual sections revealed the expression of antigens detected in DSC lines:  $\alpha$ -SM actin colocalized with CD146, CD140b, MFGE8, nestin, and STRO-1 (all of which are pericyte markers) in cells located around the vessels, a distinctive location of preDSCs and pericytes.

Our results show that preDSCs are closely related pericytes. We discuss this relationship in the context of maternal-fetal immune tolerance.

### *Referencias bibliográficas:*

1. Armulik, A., et al., 2011. *Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. Dev. Cell.* 21, 193-21.
2. Bergers, G., Song, S., 2005. *The role of pericytes in blood-vessel formation and maintenance. Neuro. Oncol.* 7, 452-464.
3. Castrechini, N.M., et al., 2012. *Decidua parietalis-derived mesenchymal stromal cells reside in a vascular niche within the choriodecidua. Reprod.Sci.* 19, 1302-1314.

## Estudio del gen tenomodulina y su relación con otros genes implicados en el metabolismo de adipocitos humanos diferenciados

**Ruiz Ojeda FJ, Gómez Llorente C, Rupérez Cano AI, Gil Á, Aguilera CM.**

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Facultad de Farmacia.*

*Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix”, Centro de Investigación Biomédica. Universidad de Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Introducción y objetivos:** Tenomodulina (*TNMD*) es una proteína transmembrana inhibidora de la angiogénesis y que participa en la diferenciación adipogénica (1). Nuestro grupo ha observado, tanto por análisis de genoma completo como por qRT-PCR, una sobreexpresión en el tejido adiposo omental de *TNMD* en niños obesos prepúberes (3). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la posible función metabólica de *TNMD* y su relación con la adipogénesis en adipocitos humanos diferenciados.

**Metodología:** Células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo humano (ADSCs) se diferenciaron hasta adipocitos durante 14 días. Los adipocitos diferenciados (d14) fueron incubados con un adenovirus-5 (Ad-5) que contenían un plásmido con un sh-RNA-*TNMD* o bien sh-RNA-scrambled (control) durante 48 h y se analizaron diferentes genes relacionados con el metabolismo y adipogénesis como “*CCAAT/enhancer-binding protein alpha*” (*C/EBP- $\alpha$* ), receptor activado por proliferador de los peroxisomas-gamma (*PPAR- $\gamma$* ), transportador de glucosa 4 (*GLUT4*) y Adiponectina (*ADIPOQ*).

**Resultados:** La expresión génica y proteica de *TNMD* aumentó de forma significativa durante la diferenciación. La inhibición de *TNMD*, tanto de mRNA como proteína, fue de alrededor de un 90 % en los adipocitos incubados con el vector Ad-5-sh-RNA-*TNMD* frente al Ad-5 control. La expresión génica de *C/EBP- $\alpha$* , *PPAR- $\gamma$* , *GLUT4* y *ADIPOQ* fue significativamente más baja en las células donde *TNMD* fue inhibida con el Ad-5-shRNA-*TNMD*.

**Conclusiones:** La *TNMD* se sobreexpresa en los adipocitos diferenciados a partir de ADSCs. La inhibición de *TNMD* da lugar a una alteración de genes implicados en el metabolismo y adipogénesis en los adipocitos.

### Referencias bibliográficas:

- 1- Senol-Cosar O, Flach RJ, DiStefano M, Chawla A, Nicoloso S, Straubhaar J, et al. Tenomodulin promotes human adipocyte differentiation and beneficial visceral adipose tissue expansion. *Nat Commun.* 2016; 7:10686.
- 2- Aguilera CM, Gomez-Llorente C, Tofe I, Gil-Campos M, Cañete R, Gil Á. Genome-wide expression in visceral adipose tissue from obese prepubertal children. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(4): 7723-37.



## **Analysis of the $\beta$ -glucocerebrosidase and $\beta$ -galactosidase lysosomal enzymes activity in the pathogenesis of parkinson disease**

**Ruz C<sup>1</sup>, Bandrés Ciga S<sup>1</sup>, Barrero FJ<sup>2</sup>, Pelegrina J<sup>2</sup>, Gutiérrez J<sup>2</sup>, Mínguez A<sup>2</sup>, Gallo C<sup>3</sup>, Luna M<sup>3</sup>, Vives F<sup>1</sup>, Duran R<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Department of Physiology and Institute of Neurosciences “Federico Olóriz”, Centre of Biomedical Research, University of Granada, Spain.*

<sup>2</sup> *Movement Disorders Unit, University Hospital “Health Campus”, Granada, Spain.*

<sup>3</sup> *Department of Physiology, Centre of Biomedical Research, University of Granada, Spain.  
Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

Lysosomes play a key role in protein clearance but also in catabolism of glucosphingolipids. Several studies have demonstrated that lysosomal dysfunction is a central event in neurodegenerative diseases such as Parkinson’s disease (PD). Here, we aimed to study the contribution of lysosome in the pathogenesis of PD through the analysis of  $\beta$ -glucocerebrosidase ( $\beta$ -GBA) and  $\beta$ -galactosidase activities in peripheral blood leucocytes from sporadic PD patients.

In addition, we are now analyzing other lysosomal enzymes, explore their impact on lipid and protein metabolism as well as cognitive impairment.

31 PD patients and 29 age-matched healthy controls were initially subjected under study. We first analyzed the  $\beta$ -glucocerebrosidase ( $\beta$ -GBA) and  $\beta$ -galactosidase activity in leucocytes according to van Dijk et al., (2013). Statistical analysis was performed using the SPSS software. Mann-Whitney U tests was used for all group comparisons.

$\beta$ -GBA activity was significantly lower in PD patients compared to healthy controls (PD group:  $10.44 \pm 3.42$  nmol/min/mg; healthy control group:  $12.00 \pm 4.22$  nmol/min/mg; p value = 0.038). No differences were found between groups, relative to  $\beta$ -galactosidase activity.

Enzymatic activity was correlated to protein concentration in both groups.

Despite the number of samples in each group needs to be increased to get clearer differences, our results show that  $\beta$ -GBA activity, but not  $\beta$ -galactosidase activity, significantly decreases in patients suffering from sporadic PD. These results encourage to develop new and efficient pharmacological approaches aimed to restore the impaired lysosomal enzyme activities.

### *References:*

*Manzoni C, Lewis P. FASEB Journal 2013; 27:3424-3429.*

*Sidransky E. et al. New England Journal of Medicine 2009; 361:1651-1661.*

*Van Dijk KD. et al. Movement Disorders 2013; 28:747-754.*

## Laboratorio de microscopía de fluorescencia y confocal del cibm, equipamiento, técnicas y aplicaciones

**Santos AM.**

*Centro de Instrumentación Científica UGR, sede CIBM.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**E-mail:** [asantos@ugr.es](mailto:asantos@ugr.es)

La unidad de Microscopía de Fluorescencia y Confocal (MFC) se enmarca dentro del Servicio de Microscopía del Centro de Instrumentación Científica (CIC) de la Universidad de Granada. El laboratorio MFC, ubicado en el CIBM, está diseñado para prestar apoyo científico-tecnológico dentro del área de la Microscopía óptica convencional y sus técnicas derivadas: microscopía de fluorescencia, microscopía de escaneo láser Confocal, microscopía de célula viva y preparación de muestras histológicas.

La unidad MFC cuenta, entre otros, con los siguientes equipos: microscopio Confocal espectral de alta velocidad Nikon A1, equipado con un incubador para observaciones de célula viva; microscopio de fluorescencia Leica DM5500B; estación de trabajo para análisis de imágenes confocales mediante el software NIS-Elements. Dentro de la preparación de muestras histológicas, nuestro laboratorio cuenta con el equipamiento necesario para la fijación, procesado e inclusión de muestras en parafina, seccionamiento (micrótopo y criostato) y tinciones histológicas convencionales. Los equipos cuentan con agendas de reserva on-line así como con la posibilidad de ser utilizados tanto en presencia del técnico responsable de la unidad como en régimen de autoservicio por usuarios independientes.

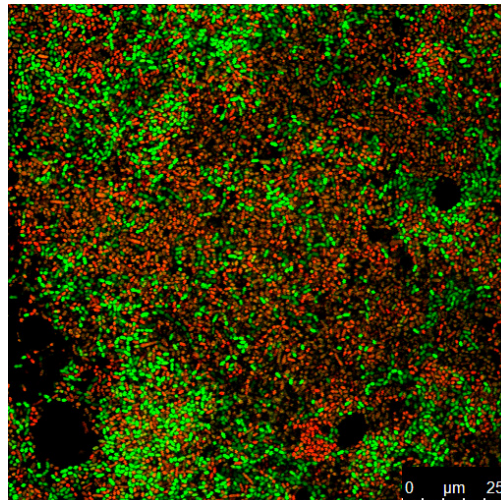
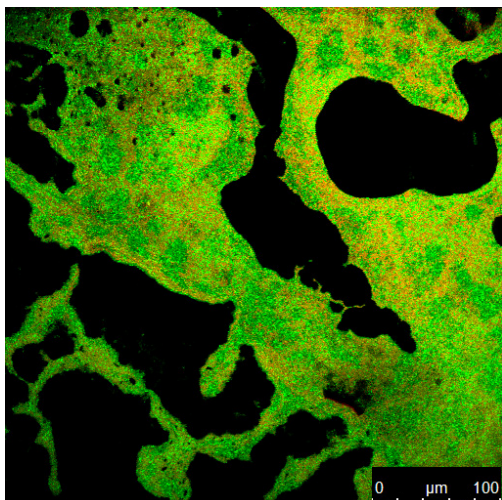
Entre las aplicaciones disponibles en el laboratorio MFC se encuentran el procesado y la observación de muestras histológicas, la adquisición de imágenes digitales, el estudio de la expresión de marcadores fluorescentes de muestras vivas o fijadas en dos y tres dimensiones, reconstrucciones 3D a partir de imágenes confocales, estudios de time-lapse y célula viva, FRAP, congelación y seccionamiento de biopsias, tinción de Hematoxilina-Eosina, etc.

### *Referencias bibliográficas:*

*Pawley (ed), 2006. Handbook of Biological Confocal Microscopy, 3rd Edition.*

<http://cic.ugr.es/servicios-y-unidades/ficha.php?codServicio=6&unidad=73>

[https://www.nikoninstruments.com/en\\_EU/Products/Confocal-Microscopes/A1](https://www.nikoninstruments.com/en_EU/Products/Confocal-Microscopes/A1)



## Evaluación del efecto de aceites de oliva virgen con diferente contenido en compuestos bioactivos sobre biomarcadores de inflamación

Sánchez Rodríguez E<sup>1</sup>, Biel Glesson S<sup>2</sup>, Fernández Navarro JR<sup>2</sup>, Calleja MA<sup>2</sup>, Espejo Calvo JA<sup>3</sup>, Roca M<sup>4</sup>, Covas MI<sup>5</sup>, Fitó Colomer M<sup>6</sup>, Gil Á<sup>1</sup>, De Victoria EM<sup>7</sup>, Mesa García MD<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix” (INyTA). Universidad de Granada, Granada.

<sup>2</sup> Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental, Granada.

<sup>3</sup> Instituto para la Calidad y Seguridad Alimentaria S.L., Granada.

<sup>4</sup> Departamento de Fitoquímica de los Alimentos. Instituto de la Grasa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

<sup>5</sup> NUPROAS (Nutritional Project Assessment), Handesbolag (NUPROAS HB), Nacka.

<sup>6</sup> Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Biomédicas. CIBEROBN ciber de la Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición. Parque de Investigación Biomédica de Barcelona, Barcelona.

<sup>7</sup> Departamento de Fisiología. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix” (INyTA). Universidad de Granada, Granada.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

El aceite de oliva virgen (AOV) ha demostrado protección frente a la enfermedad cardiovascular, principalmente debido a su contenido en compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y antiinflamatorios. El objetivo del estudio es evaluar el efecto de la administración de tres AOV con distinto contenido en compuestos bioactivos sobre marcadores de inflamación. Se realizó un estudio de intervención cruzado, aleatorizado, controlado y doble ciego en 51 adultos sanos.

Se evaluaron los beneficios del consumo de un AOV control, con bajo contenido en compuestos fenólicos (124 ppm), un AOV optimizado, con elevado contenido en compuestos fenólicos (490 ppm), y un aceite enriquecido, obtenido a partir del mismo AOV optimizado (488 ppm de compuestos fenólicos) al que se le añadieron ácidos triterpénicos obtenidos de la propia aceituna (350 ppm). Los voluntarios tomaron 30 mL diarios en crudo de los tres aceites durante 3 semanas, separados por periodos de lavado de dos semanas y utilizaron el mismo tipo de aceite para cocinar. Se determinaron marcadores de inflamación en plasma mediante la tecnología xMAP. Los resultados a tiempo inicial y tras tres semanas de intervención con cada aceite, se compararon mediante un modelo lineal mixto ajustado, considerando ( $p < 0,05$ ) significativo. La ingesta diaria de 30 mL de AOV enriquecido con ácidos triterpénicos durante tres semanas disminuyó la concentración de IL-8 y TNF- $\alpha$  plasmática en voluntarios sanos. La presencia de ácidos triterpénicos en un AOV con elevado contenido en compuestos fenólicos proporcionó un efecto antiinflamatorio adicional al observado tras el consumo de un AOV sin estos compuestos.

### Referencias bibliográficas:

Biel, S.; Mesa, M.-D.; de la Torre, R.; Espejo, J.-A.; Fernández-Navarro, J.-R.; Fitó, M.; Sánchez-Rodríguez, E.; Rosa, C.; Marchal, R.; Alche, J. de D.; Expósito, M.; Brenes, M.; Gandul, B.; Calleja, M. A.; Covas, M.-I. *The NUTRAOLEOUM Study, a randomized controlled trial, for achieving nutritional added value for olive oils. BMC Complement. Altern. Med.* 2016, 16, 404.

## Metallomics: the role of metal in organism

**Sánchez González C, López Chaves C, Moreno Terrón L, Onieva Aguayo C, Rivas García L, Aranda Ramírez P, Llopis González J.**

*Dpto. Fisiología. Facultad de Farmacia. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix”.*

*Centro de Investigación Biomédica. Universidad de Granada Avda. del Conocimiento. PTS. Armilla. Granada.*

The emerging field of metallomics refers to the entirety of research activities aimed at the understanding of the molecular mechanisms of metal-dependent life processes. The role of metals in organisms is considered on the basis, not only of the total levels, biodistribution and metabolism of the different metals and other elements, but also of the abundance of metalloproteins and metallometabolites. The concept of metallomics focuses on analytical techniques and methods for the probing of interactions between metal ions and the organism's genome and the derived -omes: proteome and metabolome.

Particular attention is paid to the in vivo screening for the native metal-protein and metal-metabolite complexes by speciation analysis: hyphenated techniques that combine a high-resolution separation technique (gel electrophoresis, chromatography or capillary electrophoresis) with sensitive elemental (inductively coupled plasma, ICP) or molecular (electrospray or MALDI) mass spectrometric detection. The contribution of bioinformatics to the prediction of metal-binding sequences in proteins and the role of molecular biology approaches for the detection of metal-dependent genes, proteins and metabolites are highly relevant [1].

Omic technologies (i.e. genomics, metallomics, proteomics, metabolomics) are very powerful tools to characterize the global biological response to different interventions, pathological states, pharmacological treatments and environmental exposures.

Recent new generation of analytical approaches to obtain massive information from biological samples, such as metallomics to characterize the entirety metal biomolecules in an organism (metallome) and metabolomics to decipher the whole molecules with mass less than 1,000 Da, are now available for nutritional and biological purposes[2].

### *Referencias bibliográficas:*

1. Mounicou S, Szpunar J, Lobinski R. *Metallomics: The concept and methodology. Chem Soc Rev* 2009;38(4):1119-38.
2. Szpunar J. *Advances in analytical methodology for bioinorganic speciation analysis: Metallomics, metalloproteomics and heteroatom-tagged proteomics and metabolomics. Analyst* 2005;130(4):442-65.

# Halophilic bacteria chemotaxis towards aromatic hydrocarbons

Tena M<sup>1,2</sup>, Llamas I<sup>1,2</sup>, Toral L<sup>1,2,3</sup>, Béjar V<sup>1,2</sup>, Sampedro I<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Pharmacy Faculty, Campus de Cartuja s/n, 18071 Granada, Spain.

<sup>2</sup> Biomedical Research Center (CIBM), Biotechnology Institute, Avda del Conocimiento s/n, 18100, Armilla, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Xtrem Biotech S.L., European Business Innovation Center, Avenida de la Innovación, 1, 18016, Armilla, Granada, Spain.

Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Background:** Hydrocarbon pollution has spread to hypersaline environments, which are appreciated for their economic, ecological and scientific importance [1]. Bioremediation efficiency is limited by the heterogeneous distribution or the reduced bioavailability of the pollutants [2]. However, available information demonstrates that chemotaxis increases biodegradation efficiency [3]. As the presence of the salt is a limiting factor in bioremediation processes, technologies using halophilic bacteria could be a promising approach to use in hypersaline environments. Nevertheless, the chemotactic response of halophilic bacteria toward hydrocarbons involved in this response are essentially unknown.

**Objectives:** The main objectives of this study are to classify hydrocarbons for their capability to attract (or not) the halophilic bacterium *H. anticariensis* FP35<sup>T</sup> and to analyse the potential of this bacterium to catabolize aromatic compounds.

**Methods:** Chemotaxis is quantified using a modified Adler capillary assay [4]. PCR amplification with degenerate primers for genes encoding ring-cleaving enzymes and HPLC studies are using to study the catabolic versatility of FP35<sup>T</sup>.

**Conclusions:** The behavioural motility response known as chemotaxis renders *H. anticariensis* FP35<sup>T</sup> capable of responding to pollutants.

We have found that hydrocarbons like naphthalene and phenol are chemoattractant for this halophilic bacterium in a dose-dependent manner. Furthermore, the presence of genes encoding ring-cleaving enzymes in the  $\beta$ -ketoacid pathway for aromatic catabolism suggest that *H. anticariensis* FP35<sup>T</sup> have the potential to catabolize aromatic compounds and might be use in bioremediation processes in environments with high salinity.

## References:

1. Le Borgne et al. (2008). *J Mol Microbiol Biotechnol.* 15: 74-92.
2. Pandey and Jain (2002). *Appl Environ Microbiol.* 68:5789-5795.
3. Bhushan et al. (2004). *Biochem Biophys Res Commun.* 316: 816-821.
4. Parales et al. (2000). *Appl Environ Microbiol.* 66: 4098-4104.

## Biological control of *Botrytis Cinerea* by lipopeptides from *Bacillus sp*

Toral L<sup>1,2,3</sup>, Rodríguez M<sup>1,2</sup>, Béjar V<sup>1,2</sup>, Sampedro I<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Pharmacy Faculty, Campus de Cartuja s/n, 18071 Granada, Spain.

<sup>2</sup> Biomedical Research Center (CIBM), Biotechnology Institute, AvdadelConocimiento s/n, 18100, Armilla, Granada, Spain.

<sup>3</sup> Xtrem Biotech S.L., European Business Innovation Center, Avenida de la Innovación, 1, 18016, Armilla, Granada, Spain.

Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.

**Background:** *Botrytis cinerea* is a filamentous fungus classified as the second most important phytopathogen worldwide. Due to the low efficiency of control strategies against this fungus it causes important economic and agricultural losses in vineyards, and in tomato and strawberry crops.

**Objectives:** The main objectives of this study are to characterize the antifungal activity of strain *Bacillus sp.* against *B. cinerea* and to identify the compounds that are responsible for its activity.

**Methods:** *In vitro* techniques antibiosis, microscopy studies, determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacterial concentration (MBC), identification and characterization of lipopeptides using PCR and electrospray Q-TOF mass spectrometry.

**Conclusions:** The strain *Bacillus sp.* exhibited antifungal activity against *B. cinerea* in solid and liquid medium (inhibition rates of 60% and 100%, respectively). Microscopy studies revealed a morphological alteration of phytopathogen in interaction with the strain subject of study. Molecular and mass spectrometry analyzes confirmed that *Bacillus sp.* secretes various forms of surfactin, iturin/mycosubtilin and fengycin. We demonstrate that these are the main compounds that have a bio-control ability.

## Naip expression increases in rat liver regeneration

**Toribio Castelló S<sup>1,5</sup>, Plaza Díaz J<sup>2,4,5</sup>, Morón Calvente V<sup>1,5</sup>, Sáez Lara MJ<sup>3,4,5</sup>, Robles Sánchez C<sup>4,5</sup>, Fontana L<sup>2,4,5</sup>, Abadía Molina F<sup>1,5</sup>.**

<sup>1</sup>*Department of Cell Biology, Faculty of Science, University of Granada, Spain.*

<sup>2</sup>*Department of Biochemistry and Molecular Biology II, School of Pharmacy, University of Granada, Spain.*

<sup>3</sup>*Department of Biochemistry and Molecular Biology I, Faculty of Science, University of Granada, Spain.*

<sup>4</sup>*Institute of Nutrition and Food Technology “José Mataix”.*

<sup>5</sup>*Biomedical Research Centre (CIBM), University of Granada, Granada, Spain.*

NAIP (NLR-family/apoptosis inhibitory protein) belongs to the IAP (Inhibitor of Apoptosis) and NLR (NOD-Like Receptor) protein families. As a receptor of pathogen/damaged associated molecular patterns (PAMPs/DAMPs), NAIP is involved in the innate immune response, is also a fundamental component of the NLRC4 inflammasome<sup>1</sup> and participates in caspase-1 activation leading to inflammatory cytokine secretion. Recently, we have reported the implication of NAIP with cell proliferation<sup>2</sup>. The aim of this study is to analyze NAIP expression in the hepatic regenerative process.

Eight female Wistar rats were used. The major liver lobe of the rats was removed. Hepatectomized rats were sacrificed 3 days (n=4) and 7 days (n=4) after surgery, and pieces from both regenerated and intact liver lobes were taken. Total RNA and proteins were extracted and analyzed by qRT-PCR and western blotting. Normal and regenerated liver histology was also assessed.

NAIP mRNA showed a 3-fold increase at day 3 after hepatectomy, and a 2-fold increase at day 7 after hepatectomy.

NAIP protein levels exhibited a 2-fold higher expression in the regenerating liver lobe compared with the intact lobe from the same animal 3 days after hepatectomy. Histological analysis in regenerating liver parenchyma showed very few, or absent lobule central veins.

Interestingly, lentiviral NAIP overexpression in the hepatic WRL68 cell line has shown a significant increase in the G2/M phase of the cell cycle (34%) compared to normal WRL68 cells (19.4%).

This study shows the implication of NAIP in liver regeneration. Further studies are needed to elucidate the role of NAIP in both cell cycle progression and liver regeneration.

### References:

1. Maltez VI, Miao EA. NAIP inflammasomes give the NOD to bacterial ligands. *Trends in immunology* 2014; 35(11):503–4.

2. Abadía-Molina F, Morón-Calvente V, Baird SD, Shamim F, Martín F, MacKenzie A3. Neuronal apoptosis inhibitory protein (NAIP) localizes to the cytokinetic machinery during cell division. *Scientific Reports* 2017; Enero 6;7:39981. doi: 10.1038/srep39981.

## Intestine anti-inflammatory effects of oligosaccharides derived from lactulose in the tnbs model of rat colitis

Veza T<sup>1</sup>, Algieri F<sup>1</sup>, Rodríguez Nogales A<sup>1</sup>, Garrido Mesa J<sup>1</sup>, Utrilla MP<sup>1</sup>, Montilla A<sup>2</sup>, Cardelle Cobas A<sup>2</sup>, Olano A<sup>2</sup>, Corzo N<sup>2</sup>, Garrido Mesa N<sup>1</sup>, Zarzuelo A<sup>1</sup>, Rodríguez Cabezas ME<sup>1</sup>, Gálvez J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>CIBER-EHD, Department of Pharmacology, Institute of Bio-Health Research, CIBM, University of Granada, Spain.

<sup>2</sup>Departamento de Bioactividad y Análisis de Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (CSIC-UAM), Madrid, Spain.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.

**Introduction:** The manipulation of the intestinal microbiota by the administration of prebiotics seems to be an interesting approach in the management of IBD. Previous studies have demonstrated the intestine anti-inflammatory effects of the prebiotic lactulose. The aim of the present study was to test the preventative effects of oligosaccharides derived from lactulose with prebiotic properties (OsLu), in the TNBS model of rat colitis.

**Methods:** Wistar rats (200 g) were assigned to four groups (n=10): Non colitic, control colitic and treated groups, which were given lactulose or OsLu in the drinking water (2.5% -w/v-) for three weeks. TNBS colitis was induced after two weeks of treatment, and colonic evaluation was performed one week after. The analysis of gene expression in the colonic samples was performed by real time quantitative PCR (RT-qPCR), by determining pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17), chemokines (MCP-1 and CINC-1), iNOS, the mucins MUC-2 and MUC-3 and the trefoil factor TFF-3. Microbiota was also characterized by PCR analysis of bacterial counts of lactobacilli, bifidobacteria, clostridia and bacteroides in the intestine contents.

**Results:** Both Lactulose and OsLu, showed intestine anti-inflammatory effects, as evidenced by the reduced expression of pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17) and chemokines (CINC-1, MCP-1), and increased expression of MUC-2, MUC-3 and TFF-3, thus revealing the restoration of the colonic epithelial integrity. Only OsLu lowered iNOS and IL-17 expression. The prebiotic treatments also promoted a recovery of both lactobacilli and bifidobacteria counts when compared with the control colitic group.

**Discussion / Conclusion:** OsLu shows greater anti-inflammatory properties than lactulose, probably due to inhibition of iNOS expression and reduction of T17 cell activity in the inflamed tissue together with the restoration of the luminal microbiota balance. This also improved intestinal membrane integrity and promoted a faster recovery of the inflamed tissue.



## **Análisis comparativo de metodologías de esterilización de sangre periférica y extracción de ARN para la detección de biomarcadores**

**Carrillo Ávila JA<sup>1,2</sup>, De La Puente R<sup>1</sup>, Catalina P<sup>1,2</sup>, Lucena Aguilar G<sup>1,2</sup>, Garrancho Pérez J<sup>1</sup>, Haro Mariscal C<sup>1</sup>, Miranda B<sup>1</sup>, Aguilar Quesada R<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía.*

<sup>2</sup> *Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada. ibs.GRANADA.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Existen una gran variedad de procedimientos de estabilización de sangre periférica y extracción de ARN que proporcionan rendimientos y calidad del ARN derivado muy diversos, con resultados contradictorios en la bibliografía e incluso en discordancia con las especificaciones de los fabricantes. Por este motivo y para el establecimiento del procedimiento más apropiado, nos proponemos el estudio comparativo de rendimiento y calidad del ARN extraído mediante diferentes metodologías, así como el análisis de su aplicabilidad para detección de biomarcadores. Previa solicitud del Consentimiento Informado, se obtuvieron 300 muestras de sangre de 25 individuos sanos (12 muestras de cada donante: 8 tubos Tempus® y 4 tubos Paxgene®) procediéndose a su codificación. La extracción de ARN se realizó por duplicado y a su vez por 2 técnicos diferentes utilizando 3 metodologías: A) Tempus Spin RNA Isolation kit para tubo Tempus®, B) MagMAX for Stabilized Blood Tubes RNA Isolation kit para tubo Tempus® y C) PAXgene blood miRNA kit para tubo Paxgene®. A continuación se realizó el análisis espectrofotométrico y de determinación del RIN de las muestras de ARN. Se observaron diferencias significativas en cuanto a rendimiento, pureza e integridad de las muestras de ARN extraídas mediante las 3 metodologías. Los rendimientos más altos se obtuvieron con la metodología A, mientras que los resultados de integridad y pureza fueron mejores para las metodologías A y C. En cualquier caso se observó una buena reproducibilidad entre los duplicados. La metodología A presentó una mejor relación coste/muestra pero sin garantías de recuperación de los miRNA.

## **Establecimiento de un programa de análisis citogenético para las líneas celulares establecidas y depositadas en el BSSPA, con fines en investigación o potencial uso en terapia celular**

**Catalina P<sup>1,2</sup>, Ligeró G.<sup>1,2</sup>, Del Pino Zumaquero A<sup>1,2</sup>, Rejón JD<sup>1,2</sup>, Carrillo JA<sup>1,2</sup>, Miranda B<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup> *Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Granada.*

<sup>2</sup> *Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Ibs Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Introducción:** Los Biobancos cobran importancia como herramientas en el campo de la investigación biomédica. El uso futuro de muestras biológicas de origen humano requiere una garantía de control integral con respecto a la calidad de las muestras, garantizando la seguridad y la trazabilidad de las mismas. Por lo tanto, la introducción de un programa para determinar la estabilidad cromosómica en líneas celulares es un punto clave en el establecimiento de controles de calidad para el uso de estas muestras tanto en investigación como en posibles terapias.

**Materiales y métodos:** En el laboratorio de citogenética de la BSSPA, se han analizado en los últimos años más de 500 muestras de diferentes orígenes como células madre pluripotentes (hPSC), líneas celulares tumorales y líneas de células madre adultas. Todas ellas se han caracterizado utilizando citogenética convencional y/o molecular.

**Resultados y discusión:** Los análisis citogenéticos de las muestra arrojan resultados concordantes con lo encontrado en la bibliografía con respecto a la aparición de alteraciones en las hPSCs, se han encontrado anomalías cromosómicas en un porcentaje muy alto de las células caracterizadas. Para las líneas de células tumorales hemos visto resultados muy diferentes, dependiendo de la naturaleza del tumor de partida y evolución del cultivo.

**Conclusión:** La inestabilidad genética y las anomalías cromosómicas representan una debilidad potencial en la utilización de estas células en investigación básica y en futuras aplicaciones terapéuticas basadas en células madre. Los cambios genéticos en general, afectan negativamente a la eficacia y seguridad de las terapias basadas en hPSCs y las células genéticamente aberrantes distorsionan dramáticamente los resultados experimentales, lo que llevaría a conclusiones científicas erróneas. Por tanto desde el BBSSPA la tendencia debe ser a desarrollar protocolos de detección de alteraciones genómicas eficaces y que reduzcan al mínimo el riesgo de inestabilidad genómica y permitan su identificación.

## **Optimización de procedimientos de caracterización de líneas celular pluripotenciales en el biobanco del sistema sanitario público de Andalucía.**

**Carrillo Ávila JA<sup>1</sup>, Catalina P<sup>1</sup>, Del Pino Zumaquero A<sup>1</sup>, Ligeró G<sup>1</sup>, Gutiérrez Aranda I<sup>1</sup>, Aguilar Quesada R<sup>1</sup>, Rejón JD<sup>1</sup>, Vigo Poleo A<sup>1</sup>, Miranda B<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> *Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Granada.*

*Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

**Antecedentes:** Desde que en 1998 se publicó la obtención de las primeras líneas celulares madre embrionario humana (hESCs), por James Thomson, se han derivado un importante número de hESCs genéticamente diversas a partir de blastocistos humanos. Además, en 2006 se describió por primera vez por Yamanaka y Takahashi, la generación de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) sin necesidad de embriones, esta metodología se ha convertido en un método ampliamente utilizado para la obtención de células pluripotentes.

El Biobanco del Sistema de Salud Pública de Andalucía (BSSPA) como parte del Banco Nacional de Células (BNLC), tiene implementado la caracterización de hESCs e iPSCs, para comprobar la capacidad pluripotente de estas células. Varios marcadores se han asociado en la última década con capacidad pluripotente de líneas celulares. Los más utilizados tanto en inmunofluorescencia como RT-PCR son los marcadores OCT 3/4, Sox-2 y Nanog.

**Metodología:** Se analizaron marcadores de pluripotencia de las líneas AND3 hESCs y MSUH001 iPSCs, mediante inmunofluorescencia y RT-PCR, se optimizaron estas técnicas para marcadores OCT 3/4, Sox-2 y Nanog. Se han realizado análisis de cariotipo para analizar el estatus cromosómico.

**Resultados:** Los resultados para los marcadores OCT3 / 4, Sox-2 y Nanog mediante inmunofluorescencia y RT-PCR, han sido positivos. Otros marcadores adicionales se están optimizando en este momento en el BBSSPA. El resultado del cariotipo en ambas muestras concluyó que son estables cromosómicamente en el pase de cultivo estudiado. Por tanto, la tendencia en el BBSSPA es definir la técnica más apropiada para la verificación de capacidad pluripotente de las células, e implementar nuevos marcadores.

## Donor registry of samples for biomedical research

**Vigo Poleo A<sup>1,2,6</sup>, Sáez Castillo A<sup>1,2,3,4,6</sup>, Aroca Siendones I<sup>1,2,3,4,6</sup>, Sánchez López A<sup>1,2,3,4,6</sup>, Llamas Llamas JM<sup>5,6</sup>, Rejón JD<sup>1,2,3,4,6</sup>, Miranda B<sup>1,2,4,6</sup>.**

<sup>1</sup> *Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Granada.*

<sup>2</sup> *Plataforma “Red Nacional de Biobancos”-ISCIII.*

<sup>3</sup> *Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Ibs Granada.*

<sup>4</sup> *Plataforma de Recursos Biomoleculares y Bioinformáticos-ISCIII.*

<sup>5</sup> *SICROM.*

<sup>6</sup> *Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.*

Andalusia is a region with approximately 8 million people and with a unique Public Health System(SSPA) which serves the entire population.

The Andalusian Biobank, is a network structure with 32 nodes which attends an average of 300 research applications and distributes 20.000 samples per year.

Society itself and through patients societies, ask for participation in a more direct way in the support to investigation. This has been properly detailed by the EU in the H2020, program, Social Challenges. This weakness has also been reflected on literature with initiatives as British Columbia *BioLibrary*. We have also noticed this demand of healthy citizens in our Biobank.

For this reasons, Andalusian Government has taken the initiative to organize the Andalusian Donor Registry of Samples for Biomedical Research. The registry allows citizens, sick or healthy, to be identified as donors. The Andalusian Biobank is the responsible of the management of this registry. When researchers apply for samples and associated data, which we cannot provide, we go to the registry, identify the candidate donors and we ask for their agreement for the specific sample obtaining.

We present the organization and results of this registry, unique in its nature, and a comparative meta-analysis with similar initiatives.

### *References:*

*UNESCO (2005) and European Council declaration , about the human genome, human rights and biomedical research.*

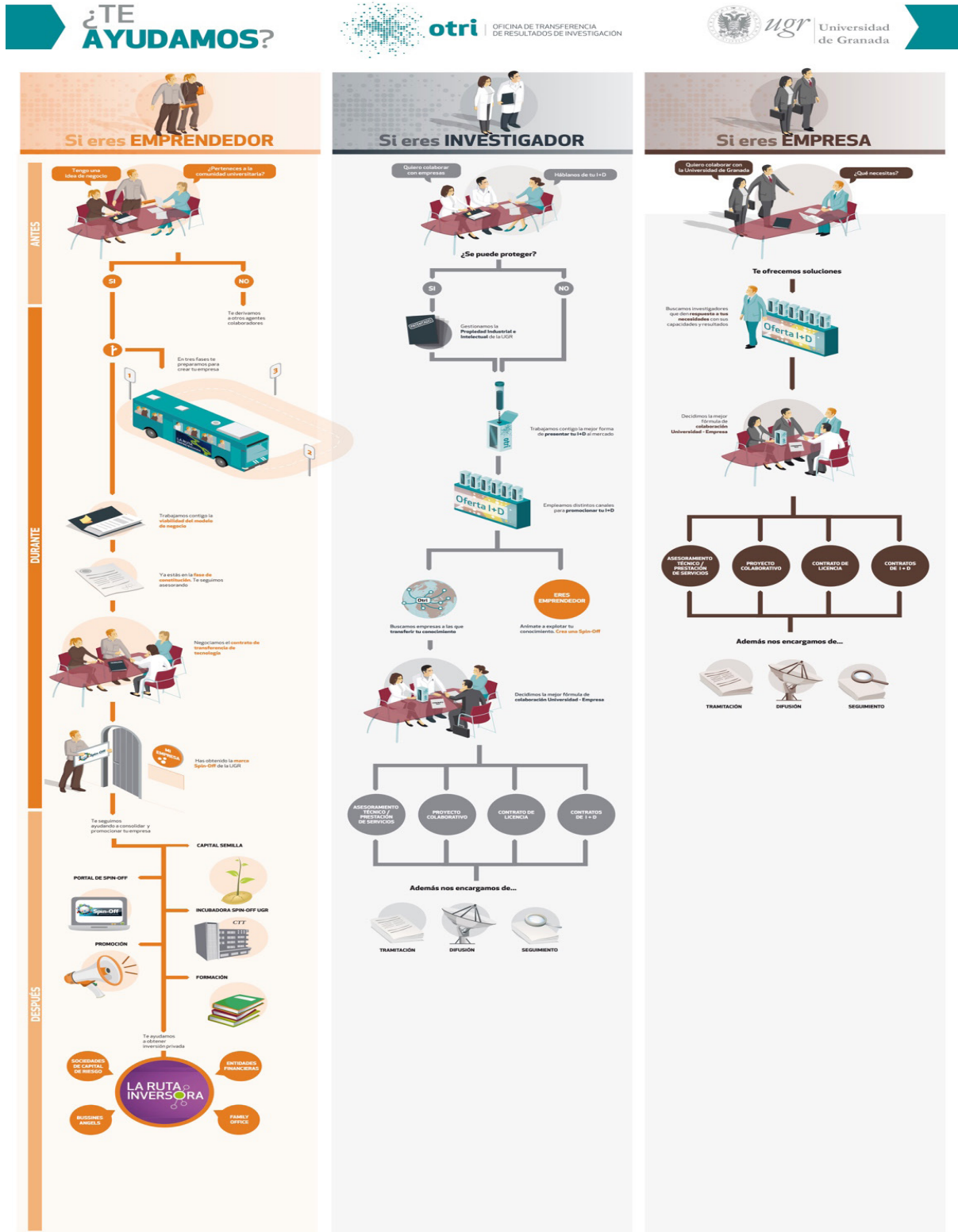
*Spanish Law: Biomedical Reseach Law 14/2007*

*Andalusian Law: Orden 23/junio/2015*

# Te ayudamos a transferir tus resultados de investigación

Sánchez Ruiz L, Gonzalez Tenorio R, Plaza Montoya L.  
Oficina de transferencia de resultados de investigación.

Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, Granada, España.



## Índice de trabajos

A murine-based endometriosis model reveals the chemoattractant properties of menstrual blood-derived stromal cells .....	81
A novel concurrent exercise training program designed for a healthy pregnancy. The gestafit project .....	43
A-Actina como marcador de daño muscular sarcomérico en pruebas de fuerza máxima incremental .....	55
Actividad física y consumo de alimentos. Efecto en la composición de la microbiota intestinal y el metaboloma asociado en deportistas de alto rendimiento .....	42
Activity of surfactants produced by <i>Bacillus Atrophaeus</i> strain 1193 against aphids .....	109
Actualización de la base de datos española de composición de alimentos (bedca) (versión 2.1) .....	87
ADAMDEC1, EDNRB AND PTGS1/COX1, inflammation genes upregulated in the intestinal mucosa of obese rats, are downregulated by three probiotic strains .....	17
Alta plasticidad en el control de la reproducción estacional del topillo mediterráneo, <i>Microtus Duodecimcostatus</i> .....	74
Análisis comparativo de metodologías de esterilización de sangre periférica y extracción de ARN para la detección de biomarcadores .....	121
Analysis of economic cost and technical criteria to include samples of hematopoietic precursors not valid for clinical use in a biobank to research use .....	66
Analysis of quality indicators in DNA samples obtained from different types of biological samples for the consolidation of dna isolation service in the biobank of the andalusian public health system .....	78
Analysis of the b-glucocerebrosidase and b-galactosidase lysosomal enzymes activity in the pathogenesis of parkinson disease .....	113
Application of a new 3D-bioprinter in tissue and organ regeneration .....	53
Association between postpartum maternal body composition and colostrum breast milk mineral composition. The GESTAFIT project. ....	94
Association of sedentary time and physical fitness with ideal cardiovascular health in perimenopausal women. The flamenco project. ....	4
Biological control of <i>Botrytis Cinerea</i> by lipopeptides from <i>Bacillus</i> sp .....	118
Caracterización de enzimas degradadoras de ahl's encontradas en cepas de <i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> aisladas de invertebrados marinos .....	101
Caracterización de microorganismos aislados de rambla salada (Murcia) mediante el método de dilución a extinción .....	60
Changes in body composition and its association with pharmaceutical costs in perimenopausal women following a four-month concurrent exercise intervention. The flamenco project .....	79
Characterization of ectopic endometrial stromal cells .....	46
Combination of melatonin and rapamycin as a potential therapeutic strategy for head and neck cancer: melatonin protects normal cells from rapamycin associated toxicity but acts as a pro-oxidant agent inducing cancer cells apoptosis .....	50

Comorbid medical conditions in individuals with major psychiatric disorders .....	106
Correlación entre factores de virulencia y las moléculas señal de quorum sensing en tres patógenos marinos .....	71
Desarrollo de un nuevo sistema de bioimpresión 3D para la regeneración de tejidos y órganos .....	54
Descelularización y re-endotelización de vasos sanguíneos para su uso en medicina regenerativa .....	29
Donor registry of samples for biomedical research .....	124
Dopamine d1 receptors blockade in the nucleus accumbens shell and attenuation of flavor neophobia in rats .....	67
Doxorubicin-loaded poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles to improve drug antitumor effect .....	59
Efecto de distintos AINES sobre la expresión génica de VEGF en células osteoblasticas humanas .....	62
Efecto de los compuestos fenólicos presentes en diferentes variedades de aceite de oliva virgen extra sobre el osteoblasto .....	83
Efecto de microvesículas bacterianas sobre células madre estromales de origen intraoral .....	27
Efecto del bis (maltolato) oxovanadio (iv) y otros metales (cobre y manganeso) sobre la viabilidad de células HEPG2 .....	104
Efecto del consumo de dieta sin gluten sobre la evolución clínica de patologías musculo-esqueléticas .....	93
Effect of vanadium on calcium homeostasis, osteopontin mRNA expression, and bone microarchitecture in diabetic rats .....	89
Effects of a concurrent exercise program during pregnancy on colostrum and mature breast milk inflammatory markers. The GESTAFIT PROJECT .....	8
Effects of a concurrent exercise training program during pregnancy on maternal blood glucose and lipid profile. The GESTAFIT PROJECT .....	61
Enhancement of chemotherapy by high melatonin concentrations in head and neck cancer .....	16
Enriquecimiento selectivo de subpoblaciones de células madre cancerígenas basado en el secretoma de células madre mesenquimales .....	25
Establecimiento de un programa de análisis citogenético para las líneas celulares establecidas y depositadas en el BSSPA, con fines en investigación o potencial uso en terapia celular .....	122
Establecimiento del modelo experimental Caenorhabditis Elegans para el estudio de compuestos procedentes de la industria agroalimentaria de interés en investigación biomédica .....	82
Estudio de calidad del sueño en personal sanitario .....	90
Estudio de ncRNA exosomales asociados a la telangiectasia hemorrágica hereditaria .....	10
Estudio de proliferación y expresión de marcadores en fibroblastos humanos tratados con láser de diodo .....	99

Estudio del gen tenomodulina y su relación con otros genes implicados en el metabolismo de adipocitos humanos diferenciados .....	112
Evaluación de la estabilidad genómica de dietas a base de leche de cabra o vaca suplementadas con ácido fólico .....	76
Evaluación de la exposición del riesgo a contaminantes de la dieta, a través de estudios de dieta total. Proyecto TDS-EXPOSURE (FP7-KBBE-2011-5; N° 289108) .....	85
Evaluación del daño ocasionado en lípidos, proteínas y ADN por la exposición a nanopartículas de oro. Estudio in vitro e in vivo .....	28
Evaluación del efecto de aceites de oliva virgen con diferente contenido en compuestos bioactivos sobre biomarcadores de daño endotelial .....	48
Evaluación del efecto de aceites de oliva virgen con diferente contenido en compuestos bioactivos sobre biomarcadores de inflamación .....	115
Evaluation of the antioxidant activity of persea americana extracts against paraquat- induced oxidative stress in parkinson's disease models .....	40
Feeding restriction in grouped rats. Aggregate influence on relationship from the behavioural and hormonal point of view .....	80
Fuerza de agarre como modelo translacional de dolor artrítico .....	84
Gene therapy corrects mitochondrial dysfunction in mefs and hscs from coq9r239x mice .....	9
Genetic relationship between the RS9939609 FTO polymorphism, body mass index and depression .....	105
Gut microbiota is involved in the of blood pressure control in spontaneously hypertensive rats .....	26
Halophilic bacteria chemotaxis towards aromatic hydrocarbons .....	117
Human predecidual stromal cells are closely related to pericytes .....	111
Immunomodulatory effect of minocycline in intestinal inflammation .....	18
Implementación de la caracterización de líneas celulares en el biobanco del SSPA: identificación de líneas celulares y detección de micoplasma .....	14
Implementación de normas bpl en el servicio de experimentación animal/cic. una oportunidad para el desarrollo de I+D+I con empresas .....	33
Implicación del receptor sigma-1 en la analgesia opioide de origen inmune durante la inflamación .....	49
Implication of MGMT, MMR, P-Glycoprotein and CD133 expression as potential mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma cell lines .....	96
Importancia de la validación de normalizadores de heterogeneidad tumoral para el análisis de los patrones de expresión de mirs en cancer .....	68
Impresión 3D de constructos bioactivos basados en ácido hialurónico para la formación de neocartílago in vitro .....	7
Improve of the paclitaxel activity by the use of polymeric nanoparticles of lactic and glycolic acid: assay in multicellular spheroids from lung cancer cells .....	72



In-bioreactor ultrasonic monitoring of 3D culture human engineered cartilage .....	35
Increased medial prefrontal cortex activation during the habituation of flavor neophobia in adult and aged rats .....	91
Influencia del ejercicio físico y la ingesta de hidroxitirosol en el estado redox de ratas ejercitadas .....	5
Influencia del pH sobre la inducción de apoptosis en osteoclastos tratados con alendronato .....	31
Intervención en actividad física en supervivientes de cáncer de mama .....	108
Intestine anti-inflammatry effects of oligosaccharides derived from lactulose in the tnbs model of rat colitis ...	120
Is the DNA methylation state associated to sequence variation? .....	19
La experiencia previa de un alto reforzador produce un mayor consumo de alcohol en ratas .....	24
La leche de cabra fermentada mejora el estado antioxidante total .....	75
Laboratorio de citometria de flujo .....	95
Laboratorio de microscopía de fluorescencia y confocal del cibm, equipamiento, técnicas y aplicaciones .....	114
Macrophage infiltration into the dorsal root ganglia (DRG) following spared nerve injury (SNI) is reduced in sigma-1 receptor knockout mice .....	58
Marcadores volatiles urinarios como herramienta diagnóstica y de screening del cáncer de próstata .....	47
Melatonin reduces renal mitochondrial dysfunction and endoplasmatic reticulum stress in diabetic obese rats .....	51
Metabolic switch produced by melatonin at high concentration induces apoptosis in cancer .....	21
Metallomics: the role of metal in organism .....	116
Mitochondrial dysfunction induces different responses in sulfide metabolism .....	34
Modelo de abuso de alcohol en ratones: desarrollo del paradigma “driking in the dark” en cepa de baja preferencia ...	45
Modelos animales para el estudio del síndrome metabólico: modelo genético vs modelo inducido por la dieta .....	97
Morfología mitocondrial durante el ejercicio físico .....	32
Musashi-1 en regeneración ósea tras elevación de seno maxilar .....	20
Naip expression increases in rat liver regeneration .....	119
New suicide gene therapy for non-small cell lung cancer .....	98
New suicide gene therapy for non-small cell lung cancer .....	41
Niveles de metales en placenta y efectos cognitivos en niños en edad preescolar: proyecto infancia y medio ambiente (INMA) .....	65
Nueva metodología analítica para la cuantificación de disruptores endocrinos-no persistentes en leche matena .....	70
Obesidad y metales: su relación con parámetros espermáticos .....	77
Obtención de células madre estromales de origen intraoral .....	12

Obtención y caracterización de exosomas de células madre estromales de origen intraoral .....	39
Optimización de procedimientos de caracterización de líneas celular pluripotenciales en el biobanco del sistema sanitario público de Andalucía .....	123
Pancreatic ductal adenocarcinoma early detection: new biomarkers based on gene and metabolomics expression profiles .....	73
Papel de los receptores sigma-1 en la potenciación de la analgesia morfínica en un modelo de dolor visceral murino .....	56
Papel del envejecimiento y de la alimentación con diferentes fuentes grasas (aceites de oliva virgen, girasol o pescado) en la morfometría mitocondrial de músculo liso de aorta de rata .....	92
Participación en programas externos para la garantía de calidad en la cartera de servicios del biobanco del SSPA ...	103
Paternal and maternal preconception and prenatal urinary concentrations of bisphenol a and size at birth .....	36
Pathomechanisms in primary coenzyme q deficiency .....	107
Potencial de diferenciación de células madre estromales de origen intraoral .....	11
Pre-pregnancy mother's body mass index associates with offspring cognitive outcomes and gut microbiota .....	13
Producción y caracterización de exopolisacáridos producidos por bacterias gram positivas .....	52
Propiedades funcionales y aplicaciones biotecnológicas de los exopolisacáridos extraídos de bacterias gram negativas ...	110
Recomendaciones para la prevención del cáncer dadas por el código europeo contra el cáncer: análisis de la situación en España .....	102
Regenerative therapies applied to central nervous system diseases: differentiation from mesenchymal stem cells to neural lineage cells .....	69
Revealing the immunomodulatory effect second-generation tetracyclines exert on macrophages .....	22
Servicios generales en el CIBM unidades de resonancia magnética nuclear animal y de microscopía electrónica (CIC)...	64
SLAMF8. Role in the modulation of microbicidal functions in macrophages .....	44
SOX9 Y SOX8 mantienen el fenotipo del testículo adulto y evitan la reprogramación genética de macho a hembra .....	23
Te ayudamos a transferir tus resultados de investigación .....	125
Tenomodulin genetic variants on the X chromosome are associated with childhood obesity .....	6
Toxicity of radiotherapy is enhanced by high concentration of melatonin in head and neck cancer cells .....	15
Transparencia en investigación animal .....	38
Urinary bisphenol a concentrations and levels of reproductive hormones and cortisol in peripubertal boys: The INMA-GRANADA COHORT. ....	37
Use of a sigma-1 receptor antagonist as treatment of neuropathic pain produced by spared nerve injury in mice .....	57