

20-21  
SEPTIEMBRE  
**2022**



**PHD**  
*day*  
**I EDICIÓN**

**#IISLAFEPHDDAY**

**candidaturas**  
**comunicación**  
*oral*



Instituto de Investigación  
Sanitaria La Fe

## ÍNDICE

1. CHARLAS LARGAS .....	5
An Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for quantifying oxylipins in Human Milk Extracellular Vesicles (HMEVs).....	6
Abel Albiach-Delgado1*, Isabel Ten-Domenech1, Marta Gómez2, Pilar Sepulveda2, Guillermo Quintas3,4, Julia Kuligowski1 .....	6
Caracterización del splicing alternativo asociado con la leucemia promielocítica aguda .....	7
Fernández-Blanco B1, Liquori A1,2, Ibáñez Company M2,3, Guaita-Céspedes M1, Morote-Faubel M1, García-Ruiz C1, González Romero E1, Sanjuan-Pla A1, Sargas Simarro C1,5, Martínez-Valiente C1, Avetisyan G1,3, Santiago Balsera M1,3,4, Díaz-González A1,3, Such Taboada E2,3, Sanz Miguel-Ángel1, De la Rubia J2,3, Montesinos Fernández P2,3, Barragán González E2,5, Cervera Zamora J2,3,4.....	7
Estudio multicéntrico comparativo de la variabilidad interobservador en la segmentación manual y automática de tumores neuroblásticos en imágenes de Resonancia Magnética.....	8
Veiga-Canuto D1,2, Cerdà-Alberich L1, Sangüesa Nebot C2, Martí-Bonmatí L1,2 .....	8
A robust reprogramming strategy for generating hepatocyte-like cells usable in pharmacotoxicological testing and modelling of inherited liver diseases .....	9
Guillem Garcia-Llorens 1,2,3, Teresa Martínez-Sena 1, Eugenia Pareja 1,2,4, Teresa Jaijo 5, Laia Tolosa 1,2, José V. Castell 1,2,3 and Roque Bort 1,2 .....	9
Fragmentación del aparato de Golgi en la miocardiopatía dilatada y su relación con la alteración del transporte vesicular .....	10
Gimenez-Escamilla1, L. Perez-Carrillo1, M. Portoles1,2,3, L. Martinez-Dolz1,2,3, E. Tarazon1,2,3, E. Rosello-Lleti1,2,3 – .....	10
Gelatin-hyaluronic acid hydrogels for hepatocyte culture and liver regeneration .....	11
Julio Rodríguez-Fernández1, Estela Villanueva-Bádenas2,3, Emma García-Legler1, M. Teresa Donato2,3, Manuel Salmeron-Sanchez1, 4, 5,, Gloria Gallego-Ferrer1,4, Laia Tolosa 2,4.....	11
Pretratamiento de tejido cerebral de ratón para determinación de lípidos. ....	12
Laura Ferré González / GINEA .....	12
Non-alcoholic steatohepatitis as a liver transplant indication: similarities and differences between high and low prevalence countries .....	13
L. Martínez-Arenas1, A. Carvalho-Gomes1, V. Bhat2, F. Díaz-Fontenla3, S. Lorente4, M. Guerrero-Misas5, J.I. Herrero6, N. Selzner2and M. Berenguer7 .....	13
Combinación de los miR-144-3p y miR-652-3p como posibles biomarcadores séricos para el diagnóstico precoz y la estratificación del rechazo celular agudo en pacientes postransplante cardíaco .....	15
Pérez-Carrillo, L.1 ; Giménez-Escamilla, I.1 ; Sánchez-Lázaro, I.1,2,3; Triviño, J.C.d; Feijóo-Bandín, S.3,4; Lago, F.3,4; González-Juanatey, J.R.3,4; Martínez-Dolz, L.1,2,3; Portolés, M.1,3; Tarazón, E.1,3; Roselló-Lletí, E.1,3 .....	15

Estudio morfológico y molecular del proceso de fragmentación del Aparato de Golgi en un modelo experimental de la Enfermedad de Parkinson.....	16
Cara-Esteban M1,2, Marín MP 2, Martínez-Bellver S 2, Teruel V 2, Martínez-Alonso E 3, Martínez-Menárguez 3, Tomás M1.....	16
Restauración terapéutica in vitro de la degradación reducida de NETs en pacientes con cáncer vesical, ¿nueva herramienta para reducir la progresión tumoral? .....	17
Herranz R1, Oto J1, Hueso M1, Castaño M1, Plana E1,2, Cana F1, Bonanad S1,3, Vera-Donoso CD4, Martínez-Sarmiento M4, Medina P1.....	17
Utilidad del PET/RM en la valoración articular .....	18
Ginés Cárdenas S1, Martí-Bonmatí L1,2, Bonanand S2, Vera V2, Cerdá Alberich L1.....	18
Rapid characterization of the lipidomic profile of isolated extracellular vesicles using infrared spectroscopy .....	19
Victoria Ramos-Garcia1, Isabel Ten-Doménech1, Abel Albiach-Delgado1, Alba Moreno-Giménez1, María Gormaz2, Anna Parra-Llorca2, María Círia3, Pilar Sepúlveda3, David Pérez-Guaita4, Bernhard Lendl5, Guillermo Quintás6,7, Julia Kuligowski1.....	19
<b>2. CHARLAS CORTAS.....</b>	<b>21</b>
Avances en la atrofia muscular espinal: cribado neonatal y búsqueda de biomarcadores....	22
Berzal-Serrano A1, Aller E1,2,3, Jaijo T1, 2, 3, García-Bohórquez B1,3, Barberán-Martínez P1, Navarro-Moreno C1,3, Pitarch I2, Vázquez JF2,3, Ñungo NC2, Díaz-Flores F4, Marcos J2, Ruiz S2, Rausell MD2, García-García G1,3, Millán JM1,2,3.....	22
Estudio del gen DPYD previo a la administración de fluoropirimidinas. De la investigación a la traslación.....	23
Comes Raga A, Herrero Cervera MJ, Ferrer Bolufer I, Marcaida Benito G, Aliño Pellicer S.23	
Implementación de herramientas útiles para la detección precoz de la Enfermedad de Alzheimer .....	24
Gemma Garcia Lluch1-3, Carmen Peña-Bautista1, Juan Pardo Albiach2-3, Lucrecia Moreno Royo2-3, Miquel Baquero1,3 y Consuelo Cháfer- Pericás1-3 .....	24
A UPLC-MS/MS method for quantifying damage to protein and DNA Oxidation/Nitration in infant urine.....	25
J.L Moreno-Casillas1*, A Albiach-Delgado1, M.Cascant-Vilaplana1, A.Pinilla-González1, Á.Solaz-García1, I.Lara-Cantón1, M.Vento1,2, M.Aguar1, J.Kuligowski1.....	25
Hidrogeles biomiméticos funcionalizados con fibronectina para la presentación de factores de crecimiento e inducción del fenotipo hepático .....	26
Sánchez-González E.1, Salmerón-Sánchez M.4, Gallego-Ferrer G.1,3, Tolosa-Pardo L.2 ...	26
Simeprevir, a viral NS3/A4 protease inhibitor, causes oxidative celular photodamage after exposure to UVA light .....	27
Meryem El Ouardi2,3, Guillermo Garcia-Lainez1, Alejandro Moreno1, Miguel A. Miranda3, Inmaculada Andreu3, Emilio Lence4, Concepción González-Bello4 .....	27
Valores de referencia de saturación de oxígeno y frecuencia cardíaca en recién nacidos prematuros moderados y tardíos con pinzamiento tardío de cordón umbilical.....	28





# CHARLAS LARGAS



## **An Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for quantifying oxylipins in Human Milk Extracellular Vesicles (HMEVs)**

*Abel Albiach-Delgado*<sup>1\*</sup>, *Isabel Ten-Domenech*<sup>1</sup>, *Marta Gómez*<sup>2</sup>, *Pilar Sepulveda*<sup>2</sup>, *Guillermo Quintas*<sup>3,4</sup>, *Julia Kuligowski*<sup>1</sup>

1. Neonatal Research Unit, Health Research Institute Hospital La Fe, Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain

2. Regenerative Medicine and Heart Transplantation Unit, Health Research Institute Hospital La Fe, Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain

3. Health and Biomedicine, Leitat Technological Center, Carrer de la Innovació, 2, 08225 Terrassa, Spain

4. Analytical Unit, Health Research Institute La Fe, Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain.

\*Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain; Phone: +34/961246661; e-mail: [abel\\_albiach@iislafe.es](mailto:abel_albiach@iislafe.es).

### RESUMEN:

EVs are nano-size vesicles with sizes ranging between 30 - 200 nm that are present in all biofluids with especially highly abundances in HM. Furthermore, oxylipins, which are circulating bioactive lipids are involved in inflammatory response. This study aims at the characterization of a panel of oxylipins presents in HM and HMEVs to boost our understanding of the anti-inflammatory and pro-healing capacities of HM and potentially, HMEVs.

A method for the simultaneous detection of a panel of oxylipins biomarkers (i.e., 12,13-DiHOME; 17,18-DiHETE; 14,15-DiHETE; 8(S),15(S)-DiHETE; 19,20-DiHDPA; 14,15-DiHETrE; 9,10-DiHOME; Resolvine-D5; Maresin 2; 17-HDHA; 14-HDHA; PGF2 $\alpha$ ; PGE2 and the semi-quantitative analysis of 43 oxylipins) in 200  $\mu$ L of HM and 200  $\mu$ L of HMEVs was developed based on reversed-phase UPLC-MS/MS operating in positive electrospray ionization mode and multiple reaction monitoring. EVs were isolated from HM samples by multi-stage ultracentrifugation. For sample cleanup and preconcentration, solid phase extraction (SPE) was performed using Oasis<sup>®</sup> MAX plates. Extracts were evaporated and dissolved in 60  $\mu$ L CH<sub>3</sub>OH/CH<sub>3</sub>CN (50/50 v/v).

The method was applied to HM and their EVs from a cohort of HM donors (N=15), with pre-term (N=8) and term (N=7) infants. Eight and ten of 13 biomarkers were detected with ranges between 0.03 nM - 4.2 nM and 0.04 nM - 124 nM for HMEVs and HM, respectively. Future studies will focus on the determination of the oxylipin profile of HMEVs and the study of their anti-inflammatory and pro-healing capacity, with potential clinical applications in the field of preterm infant care, specifically the prevention of severe intestinal complications such as necrotizing enterocolitis.

## **Caracterización del splicing alternativo asociado con la leucemia promielocítica aguda**

*Fernández-Blanco B1, Liquori A1,2, Ibáñez Company M2,3, Guaita-Céspedes M1, Morote-Faubel M1, García-Ruiz C1, González Romero E1, Sanjuan-Pla A1, Sargas Simarro C1,5, Martínez-Valiente C1, Avetisyan G1,3, Santiago Balseira M1,3,4, Díaz-González A1,3, Such Taboada E2,3, Sanz Miguel-Ángel1, De la Rubia J2,3, Montesinos Fernández P2,3, Barragán González E2,5, Cervera Zamora J2,3,4.*

1. Grupo de Investigación en Hematología. IIS La Fe, Valencia
2. Grupo de Investigación en Hematología. IIS La Fe, Valencia. CIBER de oncología (CIBERONC)
3. Servicio de Hematología, HUyP La Fe, Valencia
4. Unidad de Genética HUyP La Fe, Valencia
5. Unidad de Biología Molecular, HUyP La Fe, Valencia

### RESUMEN:

La leucemia promielocítica aguda (LPA) es un tipo de leucemia mieloide aguda (LMA) causada por la translocación t(15;17), que involucra a los genes PML y RARA. El estudio previo de sus bases moleculares ha demostrado que se caracteriza por tener un perfil mutacional, de expresión génica y de metilación específico dentro de la LMA. Sin embargo, se desconoce si existe también una desregulación en el procesamiento del ARN o splicing, que podría alterar la localización celular y función de los transcritos de ARN e isoformas proteicas de un mismo gen. Para caracterizar el perfil de eventos de splicing asociado con la LPA, en este estudio empleamos datos de secuenciación de ARN de médula ósea de 132 pacientes de LMA y 19 donantes sanos de la cohorte Beat AML. Así, identificamos 3.116 eventos que permitieron diferenciar el grupo de LPA (N=10) del resto de LMA (N=122). Se trataba de eventos esencialmente independientes de la expresión génica, ya que solo el 28% de los genes afectados presentó cambios en su expresión. Además, el 33% de estos eventos también mostraron diferencias significativas respecto a los donantes sanos (N=19), por lo que suponen potenciales dianas terapéuticas. Entre otros, cabe destacar las diferencias en la inclusión de los exones 4, 5 y 6 de PTPRC, que según estudios anteriores definen isoformas con distinta expresión en promielocitos de LPA y normales. En el análisis de enriquecimiento funcional asociado a estos eventos destacan genes implicados en la formación de los cuerpos nucleares de PML, cuya disrupción está implicada en la patogénesis de la LPA. Por tanto, este estudio demuestra que la LPA presenta un perfil de splicing alternativo diferencial, que podría explicar algunos de los procesos celulares previamente asociados con la fisiopatología de la LPA.

## **Estudio multicéntrico comparativo de la variabilidad interobservador en la segmentación manual y automática de tumores neuroblásticos en imágenes de Resonancia Magnética**

*Veiga-Canuto D1,2, Cerdà-Alberich L1, Sangüesa Nebot C2, Martí-Bonmatí L1,2*

1. Grupo de Investigación Biomédica en Imagen, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Avenida Fernando Abril Martorell, 106 Torre A 7planta, 46026 Valencia, España

2. Área Clínica de Imagen Médica, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Avenida Fernando.

Abril Martorell, 106 Torre A 7planta, 46026 Valencia, España

### RESUMEN:

Los tumores neuroblásticos son los tumores sólidos extracraneales más frecuentes en niños. El diagnóstico, el pronóstico y la decisión sobre el tratamiento se basan principalmente en la información obtenida de las imágenes, incluida la resonancia magnética (RM). Asimismo, la extracción de datos multiparamétricos, características de radiómica y los biomarcadores de imagen pueden proporcionar información relevante para el diagnóstico de la enfermedad, caracterización y evaluación de la agresividad y la respuesta al tratamiento. Para garantizar la mejor usabilidad de las imágenes, es esencial desarrollar un flujo de procesamiento de imágenes robusto y reproducible. La segmentación tumoral es uno de los pasos clave en el procesamiento de imágenes. Los objetivos de este estudio fueron evaluar la variabilidad entre dos observadores en la segmentación manual de tumores neuroblásticos y analizar si la recientemente descrita arquitectura de aprendizaje profundo nnU-Net puede proporcionar una solución robusta para detectarlos y segmentarlos en imágenes de RM. Se realizó un estudio multicéntrico retrospectivo de 132 pacientes con tumores neuroblásticos. Se emplearon el coeficiente de similitud DICE (DSC) y el área bajo la curva para comparar conjuntos de segmentación. Se elaboraron dos métricas más para comprender la dirección de los errores: índices de falsos positivos y falsos negativos. Dos radiólogos segmentaron manualmente 46 tumores y se realizó un estudio comparativo. La red neuronal nnU-Net fue entrenada y ajustada con 106 casos divididos en 5 grupos equilibrados para realizar una validación cruzada. Los 5 modelos resultantes se utilizaron como una solución de conjunto (ensemble) para medir el rendimiento del entrenamiento ( $n=106$ ) y la validación ( $n=26$ ), de forma independiente. Se comparó el tiempo que necesitó el modelo para segmentar automáticamente 20 casos con el tiempo requerido para la segmentación manual. La mediana de DSC para conjuntos de segmentación manual fue de  $0,969 (\pm 0,032$  rango intercuartílico). La mediana de DSC para la herramienta automática fue de  $0,965 (\pm 0,018$  rango intercuartílico). El modelo de segmentación automática logra un mejor desempeño respecto al índice de falsos positivos. El ahorro de tiempo al utilizar el modelo automático corresponde a un 99,7%. Con todo ello, la variabilidad de la segmentación de las imágenes de RM es similar entre los radiólogos y la nnU-Net, y el uso de ésta disminuye el tiempo requerido para el proceso de segmentación, lo que constituye un gran avance para la posterior extracción de datos cuantitativos de imagen.



## **A robust reprogramming strategy for generating hepatocyte-like cells usable in pharmaco-toxicological testing and modelling of inherited liver diseases**

*Guillem Garcia-Llorens 1,2,3, Teresa Martínez-Sena 1, Eugenia Pareja 1,2,4, Teresa Jaijo 5, Laia Tolosa 1,2, José V. Castell 1,2,3 and Roque Bort 1,2*

1. Unidad de Hepatología Experimental y Trasplante Hepático, Health Research Institute Hospital La Fe, Valencia, Spain.

2. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

3. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Valencia, Valencia, Spain. 4 Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo, Hospital Universitario Dr. Peset, Av. de Gaspar Aguilar, 90, 46017 Valencia, Spain.

5. Molecular, Cellular and Genomic Biomedicine, Health Research Institute Hospital La Fe, Valencia, Spain.

### RESUMEN:

Pharmaco-toxicological testing is commonly based on the use of established liver-derived cell lines, such as HepG2. However, these cells often display features of neoplastic transformation and performs a limited number of hepatocyte functions, characteristics that may bias the interpretation of the results. Models based on hepatocyte primary cultures or iPSC are limited, costly to handle and difficult to implement in high throughput screening platforms such as ToxCast. Hepatocyte-like cells (HLCs) with essential features such as reliability, low price, simplicity and reproducibility could meet the requirements of pharmacological platforms. In the same way, HLCs derived from patients displaying inherited liver diseases would be advantageous for their study and the development of new therapies.

We have designed and implemented a novel approach based on a combination of a single doxycycline-inducible expression vector containing hepatic factors, introduced in an hTERT immortalized fibroblast. The cells easily grow under standard cell culture conditions and can be expanded at least to 125 population doublings without signs of transformation or senescence. Low and high passage fibroblasts reprogrammed HLCs display very similar transcriptomic profiles, biotransformation activities and show analogous behavioural patterns in toxicometabonomic studies. Results indicate that our new cell model outperforms HepG2 in both hepatic phenotype and toxicological screening. In the same way, we succeed in generating HLCs from patients with alpha-1-antitrypsin deficiency and with Glycogenesis type IX. The HLCs, were able to reproduce the altered phenotype: intracellular polymers of alpha 1-antitrypsin and an excessive glycogen accumulation, respectively.

Our strategy can generate an unlimited source of clonal, homogeneous and non-transformed HLCs, capable of performing typical hepatic functions and suitable for pharmaco-toxicological testing. Moreover, it could be applied in patient cells for the study of hepatic diseases, such as idiosyncratic drug-induced liver injury (iDILI) and inherited hepatic disorders.

## **Fragmentación del aparato de Golgi en la miocardiopatía dilatada y su relación con la alteración del transporte vesicular**

*Gimenez-Escamilla1, L. Perez-Carrillo1, M. Portoles1,2,3, L. Martinez-Dolz1,2,3, E. Tarazon1,2,3, E. Rosello-Lleti1,2,3 -*

1. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), Valencia, España.
2. Hospital Universitario Politécnico La Fe.
3. CIBERCV (Instituto de Salud Carlos III, Madrid), Valencia España

### **RESUMEN:**

El aparato de Golgi (AG) es un orgánulo implicado en diversas funciones. Sin embargo, las alteraciones morfológicas del AG pueden perturbarlas. Previamente describimos la presencia de vesículas más pequeñas, numerosas y elipsoidales en pacientes con miocardiopatía dilatada (MCD). Esta situación puede estar relacionada con la fragmentación del AG.

Intentamos analizar componentes relacionados con el AG, específicamente con el transporte vesicular y la fragmentación del AG, en muestras de tejido cardíaco de pacientes con MCD, prestando especial atención a GM130.

Encontramos 134 genes expresados diferencialmente, de los cuales 15 estaban relacionados con la secreción vesicular. También observamos una infraexpresión de GOLGA2, gen que codifica GM130 (-1,23;  $P < 0.01$ ) y de su regulador, hsa-miR-17-5p (-1.42;  $P < 0.01$ ). A nivel proteico, no encontramos cambios en los niveles de GM130, pero sí en los de pGM130, molécula relacionada con la fragmentación del AG (1,19;  $P < 0,05$ ).

La alteración de genes relacionados con la secreción vesicular es concordante con los cambios morfológicos descritos, y sugiere cambios en la tasa de secreción. Además, las alteraciones observadas con GM130, junto con la sobreexpresión de pGM130, sugiere la presencia de fragmentación del AG relacionada con las alteraciones en la secreción en pacientes con MCD.



## **Gelatin-hyaluronic acid hydrogels for hepatocyte culture and liver regeneration**

*Julio Rodríguez-Fernández<sup>1</sup>, Estela Villanueva-Bádenas<sup>2,3</sup>, Emma García-Legler<sup>1</sup>, M. Teresa Donato<sup>2,3</sup>, Manuel Salmeron-Sanchez<sup>1, 4, 5</sup>, Gloria Gallego-Ferrer<sup>1,4</sup>, Laia Tolosa<sup>2,4</sup>*

1. Centre for Biomaterials and Tissue Engineering (CBIT), Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain

2. Experimental Hepatology Unit, Health Research Institute La Fe (IIS La Fe), Valencia, Spain

3. Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain

4. Biomedical Research Networking Centre on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Valencia, Spain

5 Centre for the Cellular Microenvironment, University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom

### RESUMEN:

Cell-based liver therapies are foreseen as a valuable therapeutic option to replace or complement whole organ transplantation by recovering and stabilizing the lost metabolic function for acute and chronic liver diseases. However, the low engraftment capability of the cells into the host liver limits its wider application. Hydrogels have been proposed as material supports to improve cell engraftment and survival. Materials composition based on biomolecules present in the liver extracellular matrix can be very useful to recreate the mechanical stiffness of the native tissue and can help to promote liver functionality. The objective of this study was to evaluate the suitability of gelatin-hyaluronic acid (Gel-HA) scaffolds seeded with primary human hepatocytes for the treatment of liver failure. Gel-HA hydrogels were prepared by enzymatically crosslinking their tyramine conjugates. Mechanical characterization of Gel-HA hydrogels and cell culture of HepG2 cells showed that the optimal composition was the Gel-HA 20-80. PHH were seeded in scaffolds made of selected composition. Culture within scaffolds increased albumin and urea secretion and metabolic capacity (CYP and UGT activity levels) of PHH compared to monolayer cultures. Scaffold with PHH were implanted in induced ALF mice. The survival of animals implanted with scaffolds containing PHH was 100%, while in the non-transplanted animals it was 65%. Transaminases levels decreased significantly in transplanted animals compared to non-transplanted animals, indicating a positive effect of transplanted cells on recovery from injury. To sum up, Gel-HA 20-80 scaffolds seeded with PHH showed increased functionality compared to 2D cell culture and established the base for a PHH transplantation system, which was able to recover ALF animal models.



## **Pretratamiento de tejido cerebral de ratón para determinación de lípidos.**

*Laura Ferré González / GINEA*

**INTRODUCCIÓN:** Los lípidos poseen una función biológica que incluye el almacenamiento de energía, la transducción de señales, la homeostasis intracelular y el transporte de sustancias. Últimamente, se les está dando mucha importancia en numerosas enfermedades tanto metabólicas como neurodegenerativas. Actualmente, existen pocos estudios sobre la composición lipídica del cerebro de ratón, además de no existir un consenso respecto a cuál es el mejor método y extracción para la cuantificación de compuestos lipídicos en tejido cerebral. Así pues, realizamos un estudio comparando diferentes técnicas de homogenado y extracción en cerebro de ratón wild type (WT). **OBJETIVOS:** Identificar el protocolo que proporciona un perfil lipídico más completo en cerebelo de ratón.

**RESULTADOS:** Se llevaron a cabo 8 métodos, uno de ellos se realizó con el homogeneizador Precellys 24 y el resto mediante homogeneizador Potter-Glass-Teflon (Rw20 DZM Homogenizer, Janke & Kunkel). En éstos últimos se llevaron a cabo diferentes extracciones con disolventes apolares (metanol,...) para su posterior comparación. Todos ellos se analizaron con la técnica UHPLC/Q-TOF/MS. Así pues, el método realizado con Precellys consiguió recuperar aproximadamente 300 lípidos, mientras que protocolos realizados con Potter-Glass consiguieron recuperar solamente entre 126 y 196 lípidos. La mayoría de estos compuestos pertenecen a las familias de ceramidas (Cer), diacilglicerogles (DG), monoacilgliceroles (MG), fosfatidilcolinas (PC), fosfatidiletanolaminas (PE), esfingomielinas (SM) y triglicéridos (TG). **CONCLUSIONES:** Existen diferentes procedimientos para la realización de un análisis lipídico no dirigido en cerebro de ratones. Según este estudio comparativo, el mejor método para la obtención de un mayor número de compuestos lipídicos es mediante la utilización del homogeneizador Precellys y su extracción con metanol, posiblemente debido a la mayor eficiencia en el proceso de homogenado.





## **Non-alcoholic steatohepatitis as a liver transplant indication: similarities and differences between high and low prevalence countries**

*L. Martínez-Arenas<sup>1</sup>, A. Carvalho-Gomes<sup>1</sup>, V. Bhat<sup>2</sup>, F. Díaz-Fontenla<sup>3</sup>, S. Lorente<sup>4</sup>, M. Guerrero-Misas<sup>5</sup>, J.I. Herrero<sup>6</sup>, N. Selzner<sup>2</sup> and M. Berenguer<sup>7</sup>*

1. Hepatology, Hepatobiliopancreatic Surgery and Transplant, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, CIBERehd, Valencia, Spain
2. Ajmera Transplant Center, University of Toronto, Toronto, Canada
3. Liver Unit and Digestive Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
4. Hepatology and Liver Transplantation Unit, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, Spain
5. Department of Hepatology and Liver Trans-plantation, Hospital Universitario Reina Sofía, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba, CIBERehd, Córdoba, Spain
6. Department of Internal Medicine, Clínica Universidad de Navarra, Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra, CIBERehd, Pamplona, Spain
7. Hepatology and Liver Transplantation Unit, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Universidad de Valencia, CIBERehd, Valencia, Spain

### RESUMEN:

**Background and Aims:** Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is the second most common indication for liver transplantation (LT) in North America. In Spain, while NASH is becoming the most common chronic liver disease, its impact in LT waiting list was negligible until recently. The aim of the study was to compare the prevalence and phenotype of NASH as a LT indication between Spain and a Canadian center, an area where prevalence of obesity began earlier.

**Methods:** Multicenter retrospective cohort study including adult patients transplanted for NASH-related cirrhosis from 2010 to 2020 in 6 reference LT centers, 5 in Spain and 1 in Canada. The percentage of LT for NASH and the most important risk factors associated with this indication were determined.

**Results:** 418 adult patients (118 in Spain and 300 in Canada) were transplanted for NASH-related cirrhosis between 2010-2020. Despite similar percentage of LT for NASH in 2010 in both countries (around 2%), the number of transplants due to this indication has increased faster in Canada (x12 in 2020) than in Spain (x3). In fact, Spain has only reached the 7.5% transplant rate for NASH in 2020, a rate that was observed a decade earlier in Canada. Similar rate of obesity was observed between transplant recipients for NASH in both countries. Posttransplant mortality was 16.3% (Canada) and 16.9% (Spain). Actuarial survival at 1-, 3- and 5-year post-LT in Spain was 0.92, 0.87 and 0.8, and in Canada was 0.93, 0.87 and 0.82, respectively ( $p = 0.572$ ).

Conclusion: Our results suggest an upward trend for NASH-related LT both in Spain and Canada, possibly related to the increasing prevalence of metabolic syndrome. Risk factors and posttransplant outcomes are similar in both countries. Spain prevalence for NASH-related transplant is slower than in Canada but raises concern regarding the rise of NASH in a country with low prevalence.



## **Combinación de los miR-144-3p y miR-652-3p como posibles biomarcadores séricos para el diagnóstico precoz y la estratificación del rechazo celular agudo en pacientes postransplante cardíaco**

*Pérez-Carrillo, L.1 ; Giménez-Escamilla, I.1 ; Sánchez-Lázaro, I.1,2,3; Triviño, J.C.d; Feijóo-Bandín, S.3,4; Lago, F.3,4; González-Juanatey, J.R.3,4; Martínez-Dolz, L.1,2,3; Portolés, M.1,3; Tarazón, E.1,3; Roselló-Lletí, E.1,3*

1. Grupo de Investigación Clínica y Traslacional en Cardiología, Instituto de Investigación Sanitaria la Fe, Valencia.
2. Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Trasplante, Departamento de Cardiología, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia.
3. CIBERCV, Madrid.
4. Sistemas Genómicos, Paterna (Valencia), España. eGrupo de Investigación en Cardiología Molecular y Celular, Departamento de Cardiología e Instituto de Investigación Biomédica, Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela.

Existe una gran necesidad de identificar biomarcadores específicos y no invasivos que puedan detectar de manera precisa y temprana el rechazo celular agudo (ACR) tras el trasplante cardíaco. Anteriormente, describimos al miR-144-3p como un excelente candidato para detectar Grado  $\geq 2R$  de ACR. Ahora, investigamos la combinación de miR-144-3p con otros miARNs séricos expresados diferencialmente que hemos descrito previamente para mejorar la precisión diagnóstica, principalmente en el rechazo leve.

Seleccionamos los miR-652-3p, miR-6747-3p y miR-221-3p, procedentes de un estudio preliminar de ARN-secuenciación, para su validación por RT-qPCR en 212 muestras de suero consecutivas de receptores de trasplantes sometidos a biopsias endomiocárdicas de rutina, para posteriormente ser combinados con los resultados del miR-144-3p e investigar su capacidad de diagnóstico.

Confirmamos la sobreexpresión de miR-652-3p ( $p < 0.0001$ ) y su capacidad para discriminar entre pacientes con y sin ACR de cualquier grado ( $p < 0,0001$ ), pero no de los miR-6747-3p o miR-221-3p. Los niveles séricos combinados de miR-144-3p y miR-652-3p fueron significativamente mayores en pacientes con rechazo independientemente del tiempo postrasplante ( $p < 0,0001$ ). La combinación de los dos miARNs mostró una eficacia diagnóstica para 1R (AUC=0.794) y  $\geq 2R$  (AUC=0,892) ( $p < 0,0001$ ) que fue superior a cada biomarcador solo. Además, fue un fuerte predictor independiente de ACR para 1R (odds ratio de 10,950,  $p < 0,0001$ ) y  $\geq 2R$  (odds ratio de 14,289,  $p < 0,01$ ).

Demostramos que una combinación adecuada de biomarcadores en sangre puede exhibir una mayor eficiencia para el diagnóstico de rechazo cardíaco. La detección combinada de la expresión anormal de miR-144-3p y miR-652-3p en el suero de pacientes con ACR puede mejorar la sensibilidad diagnóstica del rechazo en la etapa temprana y contribuir a aumentando la precisión diagnóstica, principalmente en los grados de rechazo más bajos.



## **Estudio morfológico y molecular del proceso de fragmentación del Aparato de Golgi en un modelo experimental de la Enfermedad de Parkinson**

*Cara-Esteban M1,2, Marín MP 2, Martínez-Bellver S 2, Teruel V 2, Martínez-Alonso E 3, Martínez-Menárguez 3, Tomás M1.*

1. Departamento de Anatomía y Embriología Humana. Facultad de Medicina, Universitat de Valencia.

2. Unidad de Microscopía. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia;

3. Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia.

### RESUMEN:

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común. Se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta (SNpc) y por la acumulación de alfa-sinucleína en el citoplasma formando los cuerpos de Lewy. Estudios recientes han demostrado que, tanto en EP como en otras enfermedades neurodegenerativas, el aparato de Golgi (AG) aparece fragmentado. Además, se han descrito cuerpos de Lewy no solo en el sistema nervioso central (SNC), sino también en el sistema nervioso periférico, del que forma parte el sistema nervioso entérico (SNE).

En este trabajo, se ha utilizado un modelo experimental de rata hemiparkinsoniana, inducido por 6-hidroxidopamina (6-OHDA) con el fin de analizar, utilizando técnicas morfológicas de alta resolución y bioquímicas, la estructura del AG y la expresión de proteínas implicadas en su mantenimiento y en el transporte intracelular en las neuronas dopaminérgicas de la SNpc, así como en los plexos nerviosos del SNE.

Los resultados obtenidos, revelan, que tanto en muestras de SNpc, como en muestras del SNE, existen alteraciones en el AG, mostrando fragmentación y dispersión en su citoarquitectura. También se observan alteraciones en los niveles de expresión de proteínas implicadas en el transporte intracelular, como RAB1, Sintaxina-5 o alfa-sinucleína. Sin embargo, en nuestro estudio no se han descrito cuerpos de Lewy, lo que podría indicar, que las alteraciones observadas en el transporte intracelular y en el AG pueden ser previas a la aparición de estos.

Nuestro estudio valida el uso del modelo de rata inducido por 6-OHDA para el estudio de la EP en el SNE, y demuestra importantes alteraciones en la estructura del AG y en la expresión de proteínas implicadas en el transporte intracelular.





## **Restauración terapéutica in vitro de la degradación reducida de NETs en pacientes con cáncer vesical, ¿nueva herramienta para reducir la progresión tumoral?**

*Herranz R1, Oto J1, Hueso M1, Castaño M1, Plana E1,2, Cana F1, Bonanad S1,3, Vera-Donoso CD4, Martínez-Sarmiento M4, Medina P1.*

1. Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular
2. Servicio de Angiología y Cirugía Vascular
3. Unidad de Hemostasia y Trombosis
4. Servicio de Urología

### RESUMEN:

Los neutrófilos liberan neutrophil extracellular traps (NETs) en un proceso llamado NETosis, lo cual favorece el crecimiento tumoral, la metástasis y la trombosis asociada a cáncer. Un mayor nivel de NETs en sangre podría estar mediado por una menor degradación de los NETs formados, lo cual nunca se ha descrito en cáncer vesical (CV).

Quisimos analizar el posible aumento de NETosis en plasma de 73 pacientes con CV comparado con 64 controles sanos, determinar si dicho proceso está mediado por alteraciones en la DNasal plasmática y explorar posibles intervenciones terapéuticas in vitro con DNasal (Pulmozyme, Dornase alfa, Roche).

Los pacientes con CV mostraron un aumento de los marcadores de NETs y una actividad DNasal reducida en plasma en comparación con los controles ( $P < 0,0001$ ), así como una menor capacidad de degradar NETs in vitro ( $P < 0,0001$ ). Notablemente, la adición de DNasal restauró su capacidad de degradar NETs al nivel de los controles ( $P < 0,0001$ ).

Los pacientes con CV tienen un aumento de NETosis en plasma, en parte mediado por una actividad DNasal reducida. La adición in vitro de DNasal exógena restaura la degradación de NETs en pacientes con CV, lo que podría convertirse en una herramienta terapéutica para reducir el riesgo de trombosis, la progresión tumoral y la metástasis.

## Utilidad del PET/RM en la valoración articular

*Ginés Cárdenas S1, Martí-Bonmatí L 1,2, Bonanand S2, Vera V2, Cerdá Alberich L1*

**Introducción:** Los pacientes con hemofilia se evalúan periódicamente para monitorizar su estado ya que su sintomatología puede ser muy discreta e incluso oculta. Aunque la RM es capaz de observar la inflamación, estos cambios en las fases precoces se observan con mayor sensibilidad mediante la PET, lo que ayudaría al mejor manejo y control de la hemofilia con una evaluación temprana de los avances en el tratamiento.

**Objetivo:** El objetivo primordial de esta revisión es determinar la utilidad de la PET en la valoración articular.

**Materiales y métodos:** Se realizó una revisión sistemática en las bases de datos Pubmed, The Cochrane Library, Medes y Mendeley (01/2012-01/2022). La búsqueda se realizó usando las siguientes palabras confirmadas en el DEsc como palabras clave: Tomografía por emisión de Positrones, Microhemorragias, PET, sinovitis, valoración articular, y siguió las recomendaciones de PRISMA.

**Resultados:** Los artículos encontrados muestran un gran acuerdo al afirmar que la FDG-PET consigue delinear con precisión la actividad inflamatoria en curso en varias enfermedades reumáticas (tanto articulares como extraarticulares) y se relaciona bien con los síntomas clínicos. La imagen molecular FDG-PET también se reconoce como una herramienta sensible en la evaluación temprana de la respuesta al tratamiento, especialmente cuando se utiliza información cuantitativa. Se ha conseguido predecir la respuesta metabólica en el análisis conjunto visual PET/CT con una especificidad del 91% y una precisión del 86%.

**Conclusiones:** Con estos beneficios, la FDG-PET podría desempeñar un papel clínico fundamental en el diagnóstico y tratamiento de los trastornos inflamatorios de las articulaciones en el futuro.



## Rapid characterization of the lipidomic profile of isolated extracellular vesicles using infrared spectroscopy

*Victoria Ramos-Garcia<sup>1</sup>, Isabel Ten-Doménech<sup>1</sup>, Abel Albiach-Delgado<sup>1</sup>, Alba Moreno-Giménez<sup>1</sup>, María Gormaz<sup>2</sup>, Anna Parra-Llorca<sup>2</sup>, María Círia<sup>3</sup>, Pilar Sepúlveda<sup>3</sup>, David Pérez-Guaita<sup>4</sup>, Bernhard Lendl<sup>5</sup>, Guillermo Quintás<sup>6,7</sup>, Julia Kuligowski<sup>1</sup>*

1. Neonatal Research Unit, Health Research Institute Hospital La Fe, Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain

2. Division of Neonatology, University & Polytechnic Hospital La Fe, Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain

3. Regenerative Medicine and Heart Transplantation Unit, Health Research Institute Hospital La Fe, Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain

4. Department of Analytical Chemistry, University of Valencia, 50 Dr. Moliner Street, research building, 46100 Burjassot, Valencia, Spain

5. Institute of Chemical Technologies and Analytics, Technische Universität Wien, Getreidemarkt 9/164. A 1060 Vienna, Austria

6Health and Biomedicine, Leitat Technological Center, Carrer de la Innovació, 2, 08225 Terrassa, Spain

7Analytical Unit, Health Research Institute La Fe, Avda Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain

### RESUMEN:

Extracellular vesicles (EVs) are nanosized (30-200 nm) vesicles containing specific cargos of DNA, RNA, proteins, metabolites, and lipids. The objective of this study was to develop rapid characterization of the lipidomic profile of EVs by infrared spectroscopy using EVs isolated from human milk (HM-EVs) as a model example.

HM-EVs were isolated employing a multi-stage ultracentrifugation procedure. After a single-phase extraction, lipidomic fingerprinting was carried out using ultra-high performance liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-qTOF-MS) operating in positive and negative ionization modes. Automated MSMS-based annotation of metabolites was carried out using different databases. Then, dry films of 2  $\mu$  L of HM-EVs were directly analysed by Attenuated Total Reflectance - Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy.

As a result, a total of 693 LC-MS features detected in HM-EVs were successfully annotated. The classes with the most annotated features were glycerolipids (230), glycerophospholipids (217) and sphingolipids (173). Multivariate analysis showed significant associations between specific regions of the ATR-FTIR spectra and the concentrations of different lipid classes. Besides, principal component analysis of IR and lipidomic data showed that ATR-FTIR renders valuable qualitative descriptors of the lipid content of isolated EVs.



As a conclusion, a correlation between the lipidomic profile of HM-EVs and their ATR-FTIR spectra has been obtained, indicating that the latter technique can be used for a rapid evaluation of the composition of HM-EVs, thus supporting the development of a new tool for a direct and fast quality control of the EVs isolation procedure.





# CHARLAS CORTAS



## **Avances en la atrofia muscular espinal: cribado neonatal y búsqueda de biomarcadores**

*Berzal-Serrano A1, Aller E1,2,3, Jaijo T1, 2, 3, García-Bohórquez B1,3, Barberán-Martínez P1, Navarro-Moreno C1,3, Pitarch I2, Vázquez JF2,3, Ñungo NC2, Díaz-Flores F4, Marcos J2, Ruiz S2, Rausell MD2, García-García G1,3, Millán JM1,2,3.*

1. Grupo de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, IIS-La Fe, 46026 Valencia, España.
2. Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia (España).
3. CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), 28029 Madrid, España.
4. Unidad de Diagnóstico Molecular del Hospital Universitario de Canarias, España.

### RESUMEN:

La Atrofia Muscular Espinal (AME) es una enfermedad hereditaria caracterizada por la degeneración progresiva de las motoneuronas de la médula espinal, causando debilidad y atrofia muscular. Es una enfermedad autosómica recesiva producida por mutaciones en el gen SMN1 y actualmente existen tres tratamientos disponibles. En los ensayos clínicos ha quedado clara la importancia de una detección temprana de la enfermedad para la evolución y pronóstico del paciente, especialmente si se trata en fase asintomática. Sin embargo, esto solo se puede lograr incluyendo la enfermedad en los programas de cribado neonatal. Por otro lado, no todos los pacientes responden del mismo modo al tratamiento, lo que hace necesaria la identificar de algún tipo de biomarcador de respuesta al tratamiento.

Los objetivos del estudio son el desarrollo de un estudio piloto en la Comunidad Valenciana para el cribado neonatal de AME y realizar estudios de transcriptómica de pacientes antes y después del tratamiento.

Para el cribado neonatal, se han recogido muestras de sangre seca de los recién y se ha determinado la presencia o ausencia del exón 7 del gen SMN1 mediante PCR cuantitativa.

Para la búsqueda de biomarcadores, se dispone de muestras de plasma y líquido cefalorraquídeo (LCR) previo al inicio del tratamiento con Spinraza™ y en las sucesivas administraciones de 30 niños respondedores y no respondedores al tratamiento. En estas muestras se han realizado pruebas de aislamiento de exosomas mediante 3 métodos distintos que se han caracterizado por Nanoparticle Tracking Analysis y microscopía electrónica y posteriormente se ha aislado el RNA.

Hasta la fecha, se ha puesto a punto la técnica de cribado y se han estudiado a más de 5000 niños nacidos en el Hospital de La Fe y en el Hospital Universitario de Canarias. De momento no se ha detectado ningún caso positivo, pero durante el próximo año esperamos estudiar a 40000 niños nacidos, entre los que se estima que habrán 4 o 5 casos positivos, lo que permitirá tratarlos de manera presintomática y así mejorar su pronóstico. Al mismo tiempo, los biomarcadores de respuesta al tratamiento que podremos identificar al finalizar el estudio permitirán la elección del tratamiento más adecuado para cada paciente.

## **Estudio del gen DPYD previo a la administración de fluoropirimidinas. De la investigación a la traslación**

*Comes Raga A, Herrero Cervera MJ, Ferrer Bolufer I, Marcaida Benito G, Aliño Pellicer S.*

### RESUMEN:

El gen DPYD codifica la enzima DPD, clave en la inactivación de las fluoropirimidinas empleadas en el tratamiento del cáncer colorectal (CCR). En 2020 la AEMPS recomendó estudiar el estatus de 4 variantes genéticas del gen DPYD antes de iniciar la terapia antineoplásica con estos fármacos. Nuestro estudio se basó en el realizar el genotipado de las variantes rs3918290 o DPYD \*2 A, rs67376798, rs55886062 o DPYD\*13 y rs75017182 (HapB3), y el posterior ajuste posológico en el servicio médico correspondiente. El método empleado fue la discriminación alélica con sondas TAQMAN tras amplificación en ABI Prism 7900. La técnica utilizada fue una PCR real time. Se elaboró un informe de resultados. El tamaño muestral fue de 1474 pacientes de los cuales 3 presentaron la mutación DPYD \*2 A en heterocigosis, 11 la rs67376798 en heterocigosis, 2 en DPYD\*13 en heterocigosis y 17 en HapB3. Para los pacientes que presentaron reacciones adversas (RAMs) clasificadas como graves por la CTCAE, se amplió el estudio de otros SNPs del gen DPYD, hallándose mutaciones causantes de disminución de la actividad de la enzima DPD. Con todo ello, el estudio rutinario de estos polimorfismos genéticos ha permitido que los pacientes con CCR se hayan beneficiado de recibir una terapia ajustada a su perfil genético.



## **Implementación de herramientas útiles para la detección precoz de la Enfermedad de Alzheimer**

*Gemma García Lluch<sup>1-3</sup>, Carmen Peña-Bautista<sup>1</sup>, Juan Pardo Albiach<sup>2-3</sup>, Lucrecia Moreno Royo<sup>2-3</sup>, Miquel Baquero<sup>1,3</sup> y Consuelo Cháfer-Pericás<sup>1-3</sup>*

1. Grupo de Investigación en Enfermedad de Alzheimer (GINEA)
2. Universidad CEU- Cardenal Herrera
3. Cátedra DeCo

### RESUMEN:

La Enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por una pérdida de las capacidades cognitivas que acaba afectando a las actividades de la vida diaria. Además, la EA presenta una alta tasa de infradiagnóstico, que en la mayoría de las veces se produce de manera tardía. Por ello, la identificación de factores de riesgo y de herramientas que permitan detectarlo de manera precoz son de fundamental importancia.

El objetivo del trabajo es identificar herramientas sencillas de aplicar que mejoren el diagnóstico precoz. Evaluar la sensibilidad y la especificidad de dichas herramientas, así como el grado de asociación de cada una de las variables que las conforman.

Se han incluido 213 participantes en el estudio, de los cuales 158 presentan EA y 55 son controles. Mayores puntuaciones en la escala ERICE para calcular el riesgo cardiovascular o de la escala CALS para calcular la carga anticolinérgica resultaron asociadas con una mayor probabilidad de presentar EA.

La implementación de las escalas ERICE y CALS en atención primaria o desde centros sanitarios cercanos al paciente podría contribuir a la detección precoz de la EA, proporcionando un mejor abordaje de la patología al paciente.





## **A UPLC-MS/MS method for quantifying damage to protein and DNA Oxidation/Nitration in infant urine**

*J.L. Moreno-Casillas<sup>1\*</sup>, A. Albiach-Delgado<sup>1</sup>, M. Cascant-Vilaplana<sup>1</sup>, A. Pinilla-González<sup>1</sup>, Á. Solaz-García<sup>1</sup>, I. Lara-Cantón<sup>1</sup>, M. Vento<sup>1,2</sup>, M. Aguar<sup>1</sup>, J. Kuligowski<sup>1</sup>*

1. Neonatal Research Group, IIS La Fe

2. Division of Neonatology, University & Polytechnic Hospital La Fe

Phone: +34/691794562; e-mail: jomoca2@alumni.uv.es

### RESUMEN:

Inhaled nitric oxide (iNO) is a selective pulmonary vasodilator that is used as a treatment for persistent pulmonary hypertension in neonates with hypoxic respiratory failure. This treatment might induce oxidative/nitrosative damage to multiple organs. We developed a method for the simultaneous detection of a panel of oxidative and nitrosative stress-related biomarkers, useful for quantifying damage to proteins and DNA/RNA in 20  $\mu$ L of infant urine samples. A method based on UPLC-MS/MS operating in positive electrospray ionization mode was developed and validated following FDA guidelines. The method was applied to the analysis of urine samples from a cohort of preterm (N=49) and term infants (N=14), of which 6% were exposed to iNO treatment. Nine of 13 biomarkers were detected in over 96% of infant urine samples, with ranges between 3 nmol/g creatinine and 1.4 mmol/g creatinine. When comparing levels of term and preterm infants, differences were found for phenylalanine, meta-tyrosine, 2'-deoxyguanosine, and cyclic guanosine monophosphate (p-value < 0.05, Wilcoxon rank-sum test), as well as ortho-tyrosine (p-value < 0.01). This method will be used in future studies focusing on the evaluation of the effect of iNO treatment on oxidative/nitrosative stress levels in infants and its long-term impact on health.



## **Hidrogeles biomiméticos funcionalizados con fibronectina para la presentación de factores de crecimiento e inducción del fenotipo hepático**

*Sánchez-González E.1, Salmerón-Sánchez M.4, Gallego-Ferrer G.1,3, Tolosa-Pardo L.2*

1. Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular (CBIT), Universitat Politècnica de València, Valencia, España
2. Unidad de Hepatología Experimental, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), Valencia, España
3. Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Valencia, España
4. Centre for the Cellular Microenvironment, University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom

### RESUMEN:

Actualmente, los modelos in vitro propuestos para la detección de fármacos hepatotóxicos presentan limitaciones, baja efectividad y no representan la heterogeneidad de los pacientes. Por ello, es evidente la necesidad de diseñar modelos que representen más fielmente el tejido in vivo. Las últimas aproximaciones apuestan por el uso de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs), siendo una fuente celular ilimitada, de origen no tumoral y que abren la posibilidad de hacer modelos personalizados. Sin embargo, una de sus limitaciones es la falta de diferenciación a un fenotipo hepático maduro y estable. Por ello, las últimas estrategias proponen el uso de hidrogeles como entornos 3D que recapitulan la arquitectura y composición del hígado, así como las interacciones célula-célula y célula-matriz. Del mismo modo, la presentación en fase sólida de factores de crecimiento (GF) surge como una estrategia más robusta para la regulación del comportamiento celular que la presentación en fase soluble. La combinación de ambas estrategias podría alcanzar la diferenciación completa a hepatocitos derivados de iPSCs. El objetivo de este trabajo es obtener fibronectina (FN) de una sola cadena e incorporarla a hidrogeles para presentar GF y diferenciar iPSCs a un fenotipo hepático más estable y maduro. En este trabajo se ha desnaturalizado la FN dimérica en una monomérica y se han funcionalizado hidrogeles de gelatina entrecruzados con un polietilenglicol de 4 brazos. Se han caracterizado mecánicamente los hidrogeles, realizado los primeros cultivos in vitro y evaluado la retención de la FN y del GF en ellos. En definitiva, se espera que los factores se presenten localmente gracias a las cadenas FN y su acción se potencie en sinergia con integrinas, conduciendo al uso de dosis bajas de GF y a la diferenciación completa de iPSCs a hepatocitos.

## **Simeprevir, a viral NS3/A4 protease inhibitor, causes oxidative cellular photodamage after exposure to UVA light**

*Meryem El Ouardi<sup>2,3</sup>, Guillermo Garcia-Lainez<sup>1</sup>, Alejandro Moreno<sup>1</sup>, Miguel A. Miranda<sup>3</sup>, Inmaculada Andreu<sup>3</sup>, Emilio Lence<sup>4</sup>, Concepción González-Bello<sup>4</sup>*

1. Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) La Fe, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Avenida de Fernando Abril Martorell 106, 46026, Valencia, Spain

2. Departamento de Química-Instituto de Tecnología Química UPV-CSIC. Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, Spain

3. Unidad Mixta de Investigación UPV- IIS La Fe, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Avenida de Fernando Abril Martorell 106, 46026, Valencia, Spain

4. Centro Singular de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares (CiQUS), Departamento de Química Orgánica, Universidade de Santiago de Compostela, Jenaro de la Fuente s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

### RESUMEN:

**Introduction.** Simeprevir is a targeted antiviral agent that inhibits HCV NS3/4A protease to treat chronic hepatitis C virus (HCV) infection. Photosensitivity has been reported in over 60% of patients and has not been demonstrated yet the implications of phototoxicity reactions. **Objectives.** In this study we report the results of a thorough evaluation of the phototoxic potential of simeprevir in human fibroblast cells (FSK) by means of NRU assay and biomolecules photodamage, as well as its photophysical properties in aqueous solution. **Results.** The photobehavior of simeprevir showed a clear formation of triplet excited state parallelly with the generation of singlet oxygen species which explains the significant damage generated towards proteins and genomic DNA after UVA light exposure. **Conclusions.** In summary, a good correlation is established between the photophysical behavior and the photobiological properties of GFT, which provides a mechanistic basis for the observed phototoxicity.



## **Valores de referencia de saturación de oxígeno y frecuencia cardíaca en recién nacidos prematuros moderados y tardíos con pinzamiento tardío de cordón umbilical**

*Nerea Valles Murcia / Perinatología*

Antecedentes/justificación: El pinzamiento tardío de cordón (PTC) y el contacto piel con piel (CPP) son actividades incluidas de forma reciente en los paritorios. Actualmente no existen valores de referencia para la saturación de oxígeno y la frecuencia cardíaca aplicables a recién nacidos prematuros (RNPT) tardíos a los que se les ha realizado estas prácticas, y RNPT moderados con PTC estas nuevas prácticas.

Objetivos/Hipótesis: Estimar los valores de referencia de saturación de oxígeno y frecuencia cardíaca en recién nacidos prematuros moderados y tardíos a los que se les ha aplicado PTC mediante el cálculo de curvas de percentiles. Metodología: Se presenta un estudio observacional prospectivo en el que se recogerán los datos de saturación de oxígeno y de frecuencia cardíaca durante los primeros 10 minutos de vida de 500 recién nacidos prematuros moderados y tardíos mediante los cuales se estimarán los rangos de referencia a partir del cálculo de los percentiles. Se llevará a cabo en la unidad de Urgencias-Observación-Paritorio-Quirófano del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.



## ORGANIZADORES

---



Instituto de Investigación  
Sanitaria La Fe

## COLABORADORES

---



**CECOVA**

Consejo de Enfermería de  
la Comunidad Valenciana

thewhiteam  
— SPECIALIZED IT CONSULTANTS



Instituto de Investigación  
Sanitaria La Fe

[WWW.IISLAFE.ES](http://WWW.IISLAFE.ES)