

DECLARACIÓN DE INTERÉS PROGRAMA FORMATIVO BANKIA PARA TÉCNICOS FP-II

Grupo Acreditado/ Unidad Mixta Integrada/ Plataforma: Cardiopatías Familiares, Muerte Súbita y Mecanismos de Enfermedad (CaFaMuSMe)

Responsable: Esther Zorio Grima

ESPECIALIDAD/ES SOLICITADAS ACORDE CON LA NATURALEZA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN AL CUAL SE ADSCRIBIRÍA Y COLABORARÍA EL CONTRATADO

Otros, especificar (TÉCNICO DE LABORATORIO)

Mecanismos de enfermedad en la miocardiopatía arritmogénica (MCA), mejoras en su diagnóstico y búsqueda de dianas terapéutica. IP: E. Zorio. Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III, P114/01477.

En este proyecto profundizamos en los mecanismos fisiopatogénicos de la MCA, una cardiopatía genética causante de muerte súbita (MS) en jóvenes. En particular, tratamos de identificar un patrón de expresión de microRNAs plasmáticos característico en vivos (como potenciales biomarcadores) y de miRNAs en la grasa epicárdica (GE) de víctimas de MS por MCA (como futuras dianas terapéuticas si en cultivos se logra demostrar su papel fisiopatogénico en el desarrollo de MCA). Por último, estudiamos la vía del Wnt con inmunohistoquímica en miocardio de los fallecidos buscando diferencias en las distintas formas de afectación del ventrículo derecho, izquierdo o biventricular (pudiendo convertirse en dianas para detenerla o retrasarla).

Descifrando el mensaje de los microRNAs en la arteriosclerosis y la inflamación asociada a la aterosclerosis. Contratada: A. Braza-Boïls. IP del grupo E. Zorio. Entidad financiadora: Premio "Stop Fuga de Cerebros"-Roche-IIS La Fe, 2017/0055.

La primera causa de MS es la cardiopatía isquémica producida por la aterotrombosis coronaria. Se trata de una enfermedad crónica sistémica, facilitada por una inflamación subclínica que favorece la rotura o erosión de las placas ateroscleróticas sobre las que se genera un trombo más o menos oclusivo que desencadena un síndrome coronario agudo. En base a dos trabajos publicados por nuestro grupo (Braza-Boïls et al, Liver Int. 2016 y Mari-Aleixandre et al, Rev Esp Cardiol 2018 in press) sospechamos que la grasa GE que rodea parte de las arterias coronarias y sus miRNAs participan activamente en esa inflamación liberando citocinas que activan neutrófilos y éstos inducen la formación de redes extracelulares (NETs). Objetivos: 1) comprender la comunicación intercelular mediada por miRNAs entre adipocitos y macrófagos de la GE, así como entre células endoteliales y plaquetas; 2) identificar nuevos marcadores de inflamación en pacientes con cardiopatía isquémica; 3) obtener un modelo estadístico con nuestros resultados que identifique a los pacientes con cardiopatía isquémica y que pudiera ser de utilidad en el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes.

PROGRAMA FORMATIVO A REALIZAR POR EL CONTRATADO

Describir el proyecto de investigación, haciendo especial énfasis en los aspectos formativos y las tareas a realizar por el contratado FP-II

La temática y la tecnología para trabajar en los dos proyectos expuestos (PI14 y Roche-IIS) en curso es común, lo cual reportará importantes ventajas al técnico que se podrá beneficiar de participar en publicaciones en una y otra vía de investigación. Tareas concretas:

1.- **Actualización de bases de datos.** Las bases de datos de los dos proyectos mencionados necesitan ser alimentadas con los resultados que se va obteniendo con datos epidemiológicos, analíticos y cardiológicos de interés en pacientes con cardiopatía isquémica, pacientes con MCA y controles. Estas bases de datos serán imprescindibles para el posterior análisis dentro del modelo estadístico a construir tanto en el ámbito de la cardiopatía isquémica como de la MCA.

2.- **Identificación de los perfiles de expresión de miRNAs característicos de determinados tejidos como la 1) GE de fallecidos por MCA y por otras causas como controles por un lado y 2) la GE y la grasa subcutánea de pacientes con cardiopatía isquémica y controles vivos.** Para ello se realizarán **arrays de expresión** de miRNAs empleando la Plataforma de Arrays del IIS La Fe (Affymetrix). Se seleccionarán miRNAs con expresión significativamente diferente entre los grupos a estudio y con potenciales dianas en las rutas de interés (identificadas con distintas bases de datos reconocidas a tal efecto). Estos miRNAs serán **validados** mediante qRT-PCR en un número mayor de muestras. Igualmente, el contratado participará en la fase de validación del perfil de miRNAs plasmáticos característico de MCA que ya hemos identificado en una cohorte de casos y controles local y del hospital Virgen de la Arrixaca de Murcia.

3.- **Caracterización del papel de los miRNAs en la comunicación intercelular entre adipocitos-macrófagos, y células endoteliales-plaquetas en modelos experimentales.**

3.1.- Para ello se prepararán **cultivos primarios de adipocitos y macrófagos a partir de GE y grasa subcutánea de pacientes (n=30) y controles (n=30)**. Las células serán congeladas hasta su empleo en estudios in vitro. También **se obtendrán plaquetas lavadas** de 30 pacientes y 30 controles para **evaluar la actividad plaquetar** así como el **contenido de miRNAs de los exosomas liberados por qRT-PCR**.

3.2.- Se diseñarán **experimentos in vitro** para monitorizar la liberación y captación de **exosomas** por los adipocitos, macrófagos, plaquetas y monocitos de pacientes y controles. Para ello se marcarán los exosomas liberados por el tipo celular donante mediante BODIPY TR (membranas) y SYTO RNASelect (RNA presente en los exosomas) que serán incubados junto con las células receptoras de interés y, mediante **microscopía confocal**, se evaluará la captación de los mismos.

3.3.- Se valorará la modificación del fenotipo de las células receptoras de dichos exosomas. Para ello se cuantificarán los posibles cambios en el contenido de miRNAs (**qRT-PCR**), citoquinas y adipoquinas (**ELISA**) en las células receptoras. Los resultados de estos experimentos permitirán definir el papel de los distintos tipos celulares implicados en el desarrollo de la aterotrombosis.

3.4.- En paralelo, vamos a solicitar beca al ISCIII y a La Caixa para demostrar en cultivos de miocardiocitos procedentes de células mesenquimales y/o comerciales el papel fisiopatogénico de los miRNAs que hemos identificado disregulados en MCA (en GE y plasma). Se analizarán los cambios hacia un fenotipo celular fibroadiposo y con apoptosis, característico de la MCA mediante tinciones histológicas y marcajes inmunohistoquímicos.

4.- **Evaluación del papel de los marcadores de inflamación no convencionales en cardiopatía isquémica.** Cuantificaremos con **ELISA** los NETS así como los niveles plasmáticos de biomarcadores clásicos de enfermedad aterosclerótica (TNF α , IL-6, PAI-1 y PCR) y otros nuevos derivados de tejidos adiposos (adiponectina, leptina, resistina, visfatina, MIF, PAI-1, MCP-3, GM-CSF, TNF, FABF-2 y ICAM-1).

Aunque no será una tarea directa del contratado, la generación de un modelo bioinformático que permita definir el estatus de "paciente con cardiopatía isquémica" y de "paciente con MCA" versus "control" se habrá nutrido de su trabajo como técnico por haber participado en los puntos anteriores.