

I SIMPOSIO DE  
TERAPIAS  
**AVANZADAS**  
**TECNOLOGÍAS**  
BIOSANITARIAS

**LIBRO DE ABSTRACTS**  
**ABSTRACT BOOK**

HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN CECILIO  
10 SEPTIEMBRE 2019  
SALÓN DE ACTOS

## 1<sup>ER</sup> SIMPOSIO DE TERAPIAS AVANZADAS Y TECNOLOGÍAS BIOMÉDICAS

I<sup>st</sup> SYMPOSIUM ON ADVANCED THERAPIES AND BIOMEDICAL TECHNOLOGY

### PROGRAMA

#### 9:00 - 9:30 Inauguración del Simposio

D. **Indalecio Sánchez-Montesinos García**, Delegado de la Consejería de Salud y Familias de la Junta de Andalucía  
D<sup>a</sup> **Aurora Valenzuela Garach**, Decana de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada  
D. **José Guerrero Velázquez**, Director Gerente del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada  
D. **Manuel Reyes Nadal**, Director Gerente del Hospital Universitario San Cecilio de Granada  
D<sup>a</sup> **María José Sánchez Pérez**, Directora del Registro de Cáncer de Granada y Subdirectora del ibs.GRANADA  
D. **Pedro A. Castillo Valdivieso**, Director de Política Científica, Vicerrectorado de Investigación y Transferencia de la Universidad de Granada

#### 9:30 - 11:10 Mesa 1. Avances en nuevas tecnologías biomédicas

Moderador: D<sup>a</sup> **Cristina Lucía Dávila Fajardo**. Unidad de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario de Granada

- **La Nanoelectrónica como tecnología habilitadora en Ciencias de la Salud.** Francisco Gámiz (TEC-04)
- **Bioimpresión 3D y labs-on-chip con aplicación en medicina regenerativa y cáncer.** Juan Antonio Marchal Corrales (TEC-16)
- **Biomarcadores mecánicos por ultrasonidos para diagnóstico.** Guillermo Rus Carlborg (TEC-12)
- **Líneas de investigación del Grupo TEC17-BIOTEJSALUD.** Olga García Martínez (TEC-17)
- **Microbios y tracto reproductivo.** Signe Altmäe (TEC-14)

#### 11:10 - 11:40 Pausa café y visita a pósters

#### 11:40 - 13:00 Mesa 2. Terapias avanzadas: nuevos medicamentos

Moderador: D. **Antonio Campos Muñoz**. Departamento de Histología, Universidad de Granada

- **Generación de nuevos medicamentos de terapias avanzadas mediante ingeniería tisular.** Miguel Alaminos (TEC-03)
- **Hidrogeles magnéticos para medicina regenerativa.** Modesto T. López-López (TEC05)
- **Nuevas tecnologías ópticas no-invasivas para la determinación de las propiedades físicas de biomateriales.** María del Mar Pérez Gómez (TEC-09)
- **Farmacogenética. Implementación en la práctica clínica.** Cristina Lucía Dávila Fajardo (TEC-01)

#### 13:00 - 14:00 Mesa 3. Difusión y transferencia de las terapias avanzadas

Moderador: D. **Miguel Alaminos Mingorance**. Departamento de Histología, Universidad de Granada

- **Difusión de la investigación en terapias avanzadas.** Miguel Ángel Martín Piedra. Depto. Histología de la Universidad de Granada
- **Marco regulatorio en terapias avanzadas.** Gloria Carmona. Red Andaluza de Diseño y Traslación de Terapias Avanzadas (IATA - RADYTTA)
- **Biofabricación de medicamentos tisulares de terapias avanzadas** Fernando Campos. Depto. Histología de la Universidad de Granada

#### 14:00 - 14:45 Conferencia de clausura

- **Los nuevos tejidos artificiales como terapias avanzadas.** Dra. Julia Buján Varela (Catedrática del Departamento de Medicina y Especialidades Médicas de la Universidad de Alcalá y miembro del Comité Científico Externo del ibs.GRANADA)

#### 14:45 - 15:00 Cierre de la jornada y conclusiones finales

ÍNDICE DE RESÚMENES PRESENTADOS EN FORMA DE PÓSTERS  
POSTER ABSTRACT INDEX

1. GENERATION OF A BIOLOGICAL MODEL OF SQUAMOUS CELL SKIN CARCINOMA BY TISSUE ENGINEERING. Chato-Astrain J, Martínez-Vilchez A, Chato-Astrain I, Sánchez-Porras D, Irastorza-Lorenzo A, García-García OD, Durand-Herrera D, Carriel V, Garzón I, Alaminos M
2. IN VIVO USEFULNESS OF A NOVEL NANOSTRUCTURED FIBRIN-AGAROSE BIO-ARTIFICIAL NERVE SUBSTITUTE FOR PERIPHERAL NERVE REPAIR. García-García OD, El-Souri M, de Sousa BM, Chato-Astrain J, Sánchez-Porras D, Campos F, Crespo PV, Martín-Piedra MA, Campos A, Carriel V
3. BIOFABRICATION OF A MULTILAYERED SUBSTITUTE OF THE HARD PALATE BY TISSUE ENGINEERING. Garzón I, Campos F, Martín-Piedra MA, Durand-Herrera D, España A, Sánchez-Quevedo MC, Alaminos M, Campos A, Fernández-Valadés R
4. HIDROGELES SUPRAMOLECULARES CON PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE DIFERENTES RECUBRIMIENTOS. Gila-Vilchez C, Mañas-Torres MC, Álvarez de Cienfuegos L, Duran JDG, Lopez-Lopez MT
5. HYBRID SUPRAMOLECULAR HYDROGELS FOR REGENERATIVE MEDICINE. Mañas-Torres MC, Gila-Vilchez C, Lopez-Lopez MT, Álvarez de Cienfuegos L
6. TEST DE BIOSEGURIDAD PARA EL EMPLEO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE CORDÓN UMBILICAL HUMANO RADIADAS PARA EL TRATAMIENTO DE NEOPLASIAS. Martín-Morales N, de Araujo Farias V, Morata-Tarifa C, Antúnez C, Segovia C, Gonzalez L, Garcia-Gemar G, Lopez-Navas L, Arribas-Arribas B, Tovar I, Expósito J, Ruiz de Almodovar JM, O'Valle F, Sanchez-Pernaute R
7. CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA ENDOMETRIAL EN DIFERENTES FASES DEL CICLO MENSTRUAL. Solá-Leyva A, Molina-Morales N, Plaza-Díaz J, Sáez-Lara MJ, Fontes-Jiménez J, Mozas-Moreno J, Romero-Guadix B, Castilla-Alcalá JA, Martínez-Navarro L, Altmäe S
8. MUSHASHI-1, UN NUEVO MARCADOR DE CÉLULAS ESTROMALES MESENQUIMALES ADULTAS EN LA REPARACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS Y MOLECULARES. Padial Molina M, Crespo Lora V, Hernández Cortés P, Cáldido Corral C, Martín Morales N, Abril García D, Galindo Moreno P, O'Valle F
9. LA FARMACOGENÉTICA EN EL H.U. SAN CECILIO. Dávila-Fajardo CL, Fernández-Gómez AE, García-Navas P, Antúnez-Rodríguez A, Martínez-González LJ, Díaz-Villamarín X
10. HIDROGELES MAGNETIZABLES BASADOS EN ALGINATO DE SODIO. León-Cecilia A, Gila-Vilchez C, Durán JDG, López-López MT
11. MECHANOPHARMACOLOGY: HIGH-THROUGHPUT SEARCH OF MECHANOACTIVE MOLECULES AGAINST HIV-1 ENTRY. Reifs A, Alonso-Caballero A, Schönfelder J, San Sebastian E, Perez-Jimenez R
12. LASER SPECKLE RHEOLOGY A NON-INVASIVE TECHNIQUE FOR EVALUATING MECHANICAL PROPERTIES OF BIOMATERIALS. Rodríguez-Águila AB, Ruiz-López J, Yebra A, Ionescu AM, Cardona JC, Pérez MM
13. ÍNDICE WID: UNA HERRAMIENTA PARA EVALUAR EL BLANQUEAMIENTO DENTAL. Ruiz-López J, Pulgar R, Rodríguez-Águila AB, Pecho OE, Pérez MM
14. SETTING UP A REVERSIBLE SYSTEM TO STUDY EPIGENETIC PLASTICITY DURING EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION IN LUNG CANCER. Molina Sánchez A, Vukovic N, Gallardo A, Asenjo HG, Serrano Lopera A, de Miguel D, Granados S, Bayarri C, Serrano MJ, Landeira D
15. ESTIMULACIÓN DEL TEJIDO BLANDO Y CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL ÁCIDO FERÚLICO. Melguizo Rodríguez L, Illescas Montes L, Costela Ruiz VJ, García Recio E, García Martínez O
16. NEW HYDROGEL SCAFFOLDS AS VEHICLE OF MESENCHYMAL STEM CELLS FOR WOUND HEALING APPLICATIONS. Soriano-Ruiz JL, Gálvez-Martín P, López-Ruiz E, Suñer-Carbó J, Calpena-Campmany AC, Marchal JA, Clares-Naveros B
17. REGULATORY CONSIDERATIONS ON THE DEVELOPMENT OF BIOPRINTING TISSUES TO APPLICATION IN ADVANCE THERAPIES. Galocha C, Clares B, Gálvez-Martín P
18. EFECTO DE DIFERENTES ANTISÉPTICOS SOBRE FIBROBLASTOS HUMANOS EN CULTIVO. Illescas Montes R, Costela Ruiz VJ, Melguizo Rodríguez L, Manzano Moreno FJ, Ramos Torrecillas J
19. EFECTO DE 3 AGENTES DESCONTAMINANTES DE USO ORAL SOBRE LA PROLIFERACIÓN DEL OSTEOBLASTO. Manzano Moreno FJ, Melguizo-Rodríguez L, Costela-Ruiz VJ, Illescas-Montes R, de Iuna-Bertos E
20. COLOIDES MAGNÉTICOS EN BIOMEDICINA: SITUACIÓN ACTUAL. Alcalá-Santiago A, Fuerte-Rodríguez S, Arias JL

## GENERATION OF A BIOLOGICAL MODEL OF SQUAMOUS CELL SKIN CARCINOMA BY TISSUE ENGINEERING

Chato-Astrain J<sup>a</sup>, Martínez-Vilchez A<sup>a</sup>, Chato-Astrain I<sup>a</sup>, Sánchez-Porras D<sup>a</sup>, Irastorza-Lorenzo A<sup>a</sup>, García-García OD<sup>a</sup>, Durand-Herrera D<sup>a</sup>, Carriel V<sup>a</sup>, Garzón I<sup>a</sup>, Alaminos M<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Histology, Tissue Engineering Group, University of Granada, Granada, Spain, and Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Spain ([malaminos@ugr.es](mailto:malaminos@ugr.es))

**Introduction:** Squamous skin carcinoma (SSC) is one of the most common types of skin cancer. Although the majority of SSC are successfully eradicated by surgical excision, a subset of SSC possesses features associated with a higher likelihood of recurrence and metastasis. Due to the poor clinical prognosis of some patients and the increased rate of incidence of the SSC, there is a growing urge in understanding the molecular mechanisms of metastasis and dissemination. In this regard, artificial 3D models are arising as a novel tools of research in a controlled and reproducible context, which could contribute to overcome the limitations of currently available 2D models of pathology [1].

The objective of this work is to develop in vitro models of healthy and tumoral skin using a fibrin-agarose biomaterial.

**Materials and methods:** Fibrin-agarose biomaterials with a final agarose concentration of 0.1% were combined with primary cultures of human skin fibroblasts [2]. Then, two types of artificial skin were generated. First, a normal epithelium was built on top by seeding a non-malignant immortalized cell line (CRL4048) on top of these stroma equivalents. Secondly, a squamous cancer cell line (A431) was seeded to form the epithelium of the malignant skin model. After 7 and 14 days under culture conditions, the artificial skin was fixed in formaldehyde and analyzed histologically using hematoxylin-eosin staining.

**Results and discussion:** Bioengineered skin models showed a very different behavior after a 14-days follow up. While the artificial skin with the healthy epithelium showed a little but well-organized stratification (1-2 layers), the artificial skin substitutes generated with A431 already displayed up to 3-4 layers of cells. Small invaginations of A431 cells migrating into the matrix could be observed at 7 days and, especially, at 14 days. Despite the early time-course evaluation the cancerous epithelium was disseminating into the stroma and the underneath matrix was notoriously damaged. The inclusion of cancer cells into the pathological model stroma contrasted the static and organized behavior of the healthy epithelium.

**Conclusions:** In this study, we have developed a time and cost-effective model of healthy skin and non-healthy skin bearing squamous skin cancer cells. These models enabled us to study the aforementioned disease in a controlled and reproducible context. Our skin model showed the invasive behavior of SSC cells from the very first movement. Such a precocious and aggressive character makes our model very attractive for the study of this disease.

**Acknowledgements:** Supported by Fundación Benéfica Anticáncer San Francisco Javier y Santa Cándida and Plan Propio de Investigación y Transferencia de la Universidad de Granada 2018.

### References:

- [1] Brauchle E, et al. (2013) *Biomaterials*. 34(30):7401-7
- [2] Carriel V, et al. (2011) *Cells Tissues Organs*. 196(1):1-12

## IN VIVO USEFULNESS OF A NOVEL NANOSTRUCTURED FIBRIN-AGAROSE BIO-ARTIFICIAL NERVE SUBSTITUTE FOR PERIPHERAL NERVE REPAIR

García-García OD<sup>a</sup>, El-Souri M<sup>a,b</sup>, de Sousa BM<sup>a,b</sup>, Chato-Astrain J<sup>a</sup>, Sánchez-Porras D<sup>a</sup>, Campos F<sup>a</sup>, Crespo PV<sup>a</sup>, Martín-Piedra MA<sup>a</sup>, Campos A<sup>a</sup>, Carriel V<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Histology, Tissue Engineering Group, University of Granada, Granada, Spain, and Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Spain ([vcarriel@ugr.es](mailto:vcarriel@ugr.es))

<sup>b</sup> Department of Clinical and Biological Sciences, University of Torino, Italy

**Introduction:** Peripheral nerves (PNs) are essential organs for the normal function of the body at the motor and sensory levels. Their structure and function is often affected by several conditions with different degrees of structural damage and/or dysfunction. Connecting the nerve extremes by surgery is the preferred treatment in short nerve defects, and autologous autografting is the current 'gold standard' to bridge critical nerve gaps. Nowadays it is clinically possible to bridge nerve gaps using nerve conduits (NCs) based on natural or synthetic biomaterials by a technique called tubulization [1], but an adequate substitute of the human nerve is still in need. The objective of this work is to elaborate novel nerve substitutes by tissue engineering using nanostructuration technologies [2] and to evaluate their putative usefulness in nerve regeneration.

**Methods:** In the present work, we first generated a novel nanostructured fibrin-agarose bio-artificial nerve substitute (Nano) containing human adipose-derived mesenchymal stem cells. Histological evaluation of this nerve substitute was carried out to determine the structure of the Nano substitutes and the viability of the cells immersed in the biomaterial. Then, Nano were implanted *in vivo* in laboratory rats with a critical sciatic nerve defect, and results were analyzed by assessing axonal regeneration after 12 weeks.

**Results and discussion:** In general, this study demonstrated that it is possible to generate biologically active and mechanically stable tissue-like nerve substitutes with specific dimensions, based on the use of fibrin-agarose hydrogels with human cells within. The nanostructuration technique allowed the fabrication of a tube-like structure that could be used as a nerve substitute. Histological analysis showed that the Nano substitutes consisted of a dense biomaterial with abundant cells immersed within. Cell morphology was compatible with a high viability, and cells were positive for markers of cell proliferation. On the other hand, analysis of the substitutes grafted *in vivo* revealed that the use of the Nano substitutes was associated to certain degree of axonal regeneration and nerve regeneration.

**Conclusions:** The present study suggests that Nano substitutes may partially resemble the structure of the native nerve and supports the use of these substitutes for the surgical repair of damaged nerves.

**Acknowledgements:** This study was Supported by Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I) from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Instituto de Salud Carlos III), grant FIS PI17/0393 (co-financed by ERDF-FEDER, EU).

### References:

- [1] Braga Silva J, et al. (2017) *Hand Surg Rehabil.* 36(2):71-85
- [2] Campos F, et al. (2018) *Biomed Mater.* 13(2):025021

## BIOFABRICATION OF A MULTILAYERED SUBSTITUTE OF THE HARD PALATE BY TISSUE ENGINEERING

Garzón I<sup>a</sup>, Campos F<sup>a</sup>, Martín-Piedra MA<sup>a</sup>, Durand-Herrera D<sup>a</sup>, España A<sup>a</sup>, Sánchez-Quevedo MC<sup>a</sup>, Alaminos M<sup>a</sup>, Campos A<sup>a</sup>, Fernández-Valadés R<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Department of Histology, Tissue Engineering Group, University of Granada, Granada, Spain, and Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Spain ([igarzon@ugr.es](mailto:igarzon@ugr.es))

<sup>b</sup> Craniofacial Malformations and Cleft Lip and Palate Management Unit, University Hospital Virgen de las Nieves, Granada, Spain

**Introduction:** Numerous congenital and acquired conditions may affect the structure and function of the human palate. However, the complex structure of the hard palate makes very difficult the surgical managements of these patients. In this regard, the recent development of tissue engineering allows the efficient generation in the laboratory of three-dimensional biological substitutes of several human tissues as advanced-therapies medical products [1]. In the present work, we have designed and evaluated a bioengineered model of the human palate including the epithelial, stromal and bone layers of this structure using plastic compression and biocompatible biomaterials.

**Methods:** Cell cultures of oral mucosa fibroblasts and keratinocytes and adipose-derived mesenchymal stem cells (MSC) were generated from small biopsies using enzymatic digestion and conditioned culture media. Then, adipose-derived MSC were immersed in fibrin-agarose biomaterials and cultured in 3D condition with osteogenic medium to induce bone differentiation [2]. In turn, oral mucosa cells were used to generate a bioengineered substitute of the oral mucosa consisting of a stromal layer with a stratified epithelium on top. Finally, both structures were fused together using plastic compression methods to generate a tissue-like structure consisting of an epithelial layer on top, a stroma in the middle and a bone-like tissue underneath. This structure was analyzed ex vivo and in vivo.

**Results and discussion:** Histologically, these complex structures showed three layers: a stratified epithelium with 5-6 cell layers on top, a stroma with some cells immersed within a biomaterial and a lower layer with cells and biomaterials showing higher density than the stromal layer. The differentiation level of the three layers was not very high ex vivo. However, implant of this structure in laboratory animals revealed higher differentiation levels at the three layers of the structure, with the presence of some extracellular matrix components of the native tissues.

**Conclusions:** Novel tissue engineering biofabrication methods offer the possibility of generating complex three-dimensional structures containing different tissue layers such as the palate substitute fabricated in this work. These structures showed good in vivo biocompatibility and safety in animal models.

**Acknowledgements:** This study was Supported by Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I) from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Instituto de Salud Carlos III), grants FIS PI18/332 and PI18/331 (co-financed by ERDF-FEDER, EU).

### References:

- [1] Abdeen AA, et al. (2017) *Trends Biotechnol.* 35(10):971-982
- [2] Nieto-Aguilar R, et al. (2011) *J Biomater Appl.* 25(7):743-68

## HIDROGELES SUPRAMOLECULARES CON PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE DIFERENTES RECUBRIMIENTOS

Gila-Vilchez C<sup>a,b</sup>, Mañas-Torres MC<sup>a,b,c</sup>, Álvarez de Cienfuegos L<sup>b,c</sup>, Duran JDG<sup>a,b</sup>, Lopez-Lopez MT<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Física Aplicada, Universidad de Granada, España ([gila@ugr.es](mailto:gila@ugr.es))

<sup>b</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España

<sup>c</sup> Departamento de Química Orgánica, Universidad de Granada, España

**Resumen:** Los hidrogeles supramoleculares formados por péptidos están siendo recientemente el foco de muchas investigaciones biomédicas debido a las ventajas que presentan, como su alta porosidad, alto contenido de agua, biocompatibilidad o biodegradabilidad [1]. Estos hidrogeles, capaces de autoensamblarse mediante interacciones no covalentes, presentan sin embargo algunos inconvenientes, como sus débiles propiedades mecánicas. Una estrategia usualmente seguida para controlar las propiedades mecánicas y la estructura interna de estos hidrogeles, es añadir partículas magnéticas a la red peptídica, creando hidrogeles supramoleculares magnéticos controlables mediante la aplicación de campos magnéticos externos. Además, estas partículas se podrían funcionalizar utilizando otros péptidos que promuevan el crecimiento y la diferenciación celular, como ligandos arginina-glicina-aspártico (RGD) [2].

Basándonos en las premisas anteriores, y puesto que las propiedades de estos materiales dependen del tipo de interacción existente entre las partículas magnéticas y los péptidos que forman el gel, en este trabajo se ha estudiado el efecto del recubrimiento de las partículas magnéticas en las propiedades mecánicas y la estructura interna de hidrogeles supramoleculares magnéticos. Para ello, se prepararon hidrogeles de Fmoc-difenilalanina (Fmoc-FF) siguiendo una adaptación del protocolo descrito en [3] y se utilizaron partículas de hierro micrométricas con tres tipos distintos de recubrimientos: (i) sin recubrimiento, (ii) con un recubrimiento de sílice y (iii) recubiertas de polietilenglicol (PEG) y Fmoc-FF. En primer lugar, se ha caracterizado la estabilidad y corrosión de las partículas magnéticas, así como el tipo de inclusión dentro de la red peptídica. Después, se han medido sus propiedades reológicas a diferentes concentraciones de partículas, obteniendo tendencias distintas dependiendo del tipo de recubrimiento de estas. Por último, se ha estudiado cómo cambia la forma de los hidrogeles magnéticos ante la presencia de campos magnéticos externos de distintas intensidades.

**Agradecimientos:** Este estudio fue financiado por el proyecto FIS2017-85954-R (Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, MINECO, y Agencia Estatal de Investigación, AEI, España, cofinanciado por Fondo Europeo de Desarrollo Regional, FEDER, Unión Europea). Cristina Gila-Vilchez también agradece al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y a la Universidad de Granada su beca predoctoral FPU17/00491.

### Referencias:

- [1] Du X, et al. (2015) *Chem Rev.* 115:13165
- [2] Zhou M, et al. (2009) *Biomaterials.* 30: 2523-2530
- [3] Contreras-Montoya R, et al. (2018) *Mater. Chem. Front.* 2: 686-699

## HYBRID SUPRAMOLECULAR HYDROGELS FOR REGENERATIVE MEDICINE

Mañas-Torres MC<sup>a,b</sup>, Gila-Vilchez C<sup>a</sup>, Lopez-Lopez MT<sup>a</sup>, Álvarez de Cienfuegos L<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Física Aplicada, Universidad de Granada, España ([marimcmt@ugr.es](mailto:marimcmt@ugr.es))

<sup>b</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España

<sup>c</sup> Departamento de Química Orgánica, Universidad de Granada, España

**Abstract:** Supramolecular hydrogels are a particular type of gels formed by a low molecular weight solid (amino acids or peptides). These hydrogels are capable of self-assembly through non-covalent interactions, forming a three-dimensional reticular structure that immobilizes the macroscopic flow of water (up to 99% water) [1]. These hydrogels are of special importance because they possess biocompatibility, biodegradability and a high porosity, important characteristics for cell growth. In addition, thanks to its great versatility, they allow the introduction of different peptides, some of which, such as arginylglycyl aspartic acid, promote cell growth [2]. They also allow the introduction of magnetic nanoparticles (MNP), which stimulate the adhesion, proliferation and differentiation of cells [3].

Despite the clear advantages of peptide hydrogels, they have the disadvantage of their low mechanical strength, which limits the applications in clinical situations. This work focuses on overcoming this limitation; in order to do that, the peptide hydrogels have been combined with high molecular weight polymers, which allows benefiting from their advantages, avoiding their inconveniences. Furthermore, combining these hybrid hydrogels with MNP, their mechanical properties can also be modified. To achieve the formation of these hybrid hydrogels, the peptide solution is prepared by the pH-switch method and then, the polymer solution (alginate or agarose) is added. Figure 1 shows an environmental electron microscope image of one of these hybrid hydrogels. The next step is the introduction of MNP. The final goal is to have hydrogels with physiological pH, for this, cell culture medium is diffused once the gel is formed.

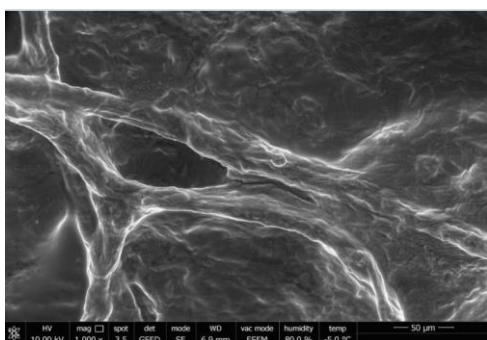


Figure 1: ESEM image of peptide hybrid hydrogel (Fmoc-Phe-Phe-OH) with alginate.

Once prepared, hybrid hydrogels are studied as artificial matrices for cell growth both on the surface and in three dimensions. Its cytotoxicity, viability and cell proliferation are evaluated by several standard tests: analysis of cell morphology; permeability of the nuclear membrane by quantification of DNA release. The mechanical properties of hybrid hydrogels are studied by rheological measurements.

**Acknowledgements:** project FIS2017-85954-R (MINECO and AEI, Spain, cofounded by FEDER, European Union).

### References:

- [1] Du X, et al. (2015) *Chem Rev.* 115:13165
- [2] Zhou M, et al. (2009) *Biomaterials.* 30:2523-2530
- [3] Perez RA, et al. (2015) *RSC Adv.* 5:13411-13419

## TEST DE BIOSEGURIDAD PARA EL EMPLEO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE CORDÓN UMBILICAL HUMANO RADIADAS PARA EL TRATAMIENTO DE NEOPLASIAS

Martín-Morales N<sup>a,h</sup>, de Araujo Farias V<sup>b</sup>, Morata-Tarifa C<sup>c</sup>, Antúnez C<sup>d,e</sup>, Segovia C<sup>d,e</sup>, Gonzalez L<sup>d,e</sup>, Garcia-Gemar G<sup>d,e</sup>, Lopez-Navas L<sup>c</sup>, Arribas-Arribas B<sup>e</sup>, Tovar I<sup>f</sup>, Expósito J<sup>g</sup>, Ruiz de Almodovar JM<sup>b,g</sup>, O'Valle F<sup>a</sup>, Sanchez-Pernaute R<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria (IBS), Granada, Spain

<sup>b</sup> Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Granada, Spain

<sup>c</sup> Iniciativa Andaluza en Terapias Avanzadas (IATA), Sevilla, Spain

<sup>d</sup> Centro de Transfusión, Tejidos y Células (CTTC), Málaga, Spain

<sup>e</sup> Red de laboratorios GMP en Andalucía, Málaga and Sevilla, Spain

<sup>f</sup> Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, Spain

<sup>g</sup> Complejo Hospitalario de Granada, Servicio Andaluz de Salud, PTS, Granada, Spain

<sup>h</sup> Departamento de Cirugía Oral e Implantología, Facultad de Odontología, Universidad de Granada ([nati@ugr.es](mailto:nati@ugr.es))

**Introducción:** La radioterapia está indicada para pacientes con melanoma con metástasis extensas o después de una linfadenectomía. Las dosis bajas de radiación pueden activar las células madre mesenquimales (MSC), lo que desencadena la liberación de citoquinas antitumorales y otras moléculas con actividad citotóxica, que pueden afectar la carga tumoral o la metástasis a distancia, lo que mejora el efecto terapéutico de la radioterapia.

**Métodos:** 24 ratones hembra NOD scid gamma (NSG) fueron inyectaron por vía subcutánea con  $10^6$  células de la línea celular de melanoma humano A375 y se trataron con radioterapia sola o combinada con MSC de cordón umbilical humano irradiadas con 2Gy. El peso del ratón, el volumen del tumor y la tasa de supervivencia se midieron durante 35 días. Para probar la biodistribución y la posible toxicidad, se inocularon  $10^5$  IR-MSC (n = 30) y  $10^5$  MSC, IR-MSC o MSC transformadas (tMSC) como control positivo del potencial tumoral (n = 32), respectivamente, mediante inyección intravenosa en la cola. Los órganos se procesaron en diferentes momentos, de 1 a 90 días, para detectar la presencia de MSC y los cambios morfológicos mediante el análisis histopatológico e inmunohistoquímico (IHQ) y con qPCR para la detección de secuencias de Alu humanas.

**Resultados:** MSC irradiado con 2 Gy (IR-MSC) mostró una buena viabilidad 48 horas después de la irradiación. Los ratones tratados con IR-MSC y radioterapia mostraron un crecimiento tumoral significativamente reducido en comparación con los ratones control y los ratones tratados con radioterapia sola. Los estudios de biodistribución mostraron un tropismo inicial en los pulmones y el hígado, pero no se detectaron células en ningún órgano en el día 14 utilizando IHQ. Usando qPCR para secuencias Alu humanas, se detectaron IR-MSC en todos los órganos examinados en el día 14, pero no se encontraron a los 90 días. Ningún potencial tumorigénico o cualquier otro efecto tóxico se asociaron con la inoculación de IR-MSC en cualquier momento.

**Conclusiones:** Las IR-MSC humanas activadas mejoran significativamente el efecto terapéutico de la radioterapia en ratones con melanoma. Las células inicialmente migran hacia el pulmón y el hígado, pero no se detectan después de 90 días en tejidos de ratón. Estos estudios preclínicos sugieren que nuestro producto celular es seguro y eficaz y, por lo tanto, podría proponerse como un tratamiento adyuvante para el melanoma.

## CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA ENDOMETRIAL EN DIFERENTES FASES DEL CICLO MENSTRUAL

Sola-Leyva A<sup>a</sup>, Molina-Morales N<sup>a</sup>, Plaza-Díaz J<sup>b</sup>, Sáez-Lara MJ<sup>a</sup>, Fontes-Jiménez J<sup>c</sup>, Mozas-Moreno J<sup>c</sup>, Romero-Guadix B<sup>c</sup>, Castilla-Alcalá JA<sup>c</sup>, Martínez-Navarro L<sup>c</sup>, Altmäe S<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España ([albertosola@ugr.es](mailto:albertosola@ugr.es))

<sup>b</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España

<sup>c</sup> U. Reproducción, UGC Laboratorio clínico y UGC Obstetricia y Ginecología. HU Virgen de las Nieves. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España

<sup>d</sup> Competence Centre on Health Technologies, Tartu, Estonia

**Introducción:** Hasta hace poco se creía que el útero era un órgano completamente estéril. Pero investigaciones recientes apuntan a que al igual que otras partes del cuerpo, el útero puede tener su propio microbioma. Tanto es así que se ha demostrado que existe una relación entre la composición microbiana uterina y diferentes patologías, asociándose incluso a resultados de técnicas de reproducción asistida. Sin embargo, se necesita aún mucha investigación para definir el microbioma uterino y esclarecer su papel en la fisiología humana. No está aún claro si el microbioma endometrial cambia a lo largo de las distintas fases del ciclo menstrual. Un pequeño número de estudios afirman que no hay diferencias, mientras que un número aún menor de estudios detectan diferencias entre las fases del ciclo. Por lo tanto, todavía se está buscando el consenso sobre si las diferencias en las fases del ciclo también se reflejan a nivel de microorganismos presentes en el útero.

**Objetivo:** El objetivo principal de este trabajo es describir la microbiota uterina en dos puntos del ciclo menstrual en pacientes sanas.

**Materiales y métodos:** Un total de 14 muestras endometriales (7 muestras de fase secretora media y 7 muestras de la fase proliferativa consecutiva) fueron previamente recogidas y analizadas mediante la secuenciación del RNA. Los datos de secuenciación fueron obtenidos del repositorio GEO mediante el número de acceso GSE86491.

**Resultados:** Usando este nuevo enfoque metodológico es posible investigar la presencia de bacterias, hongos, virus y arqueas activos en el endometrio. A nivel taxonómico hemos detectado un total de 33 taxones bacterianos con abundancia relativa significativamente diferente entre la fase secretora y la fase proliferativa. Además, las funciones metabólicas de las bacterias detectadas difirieron entre las dos fases del ciclo, donde rutas como la biosíntesis del prostanoide C20, la degradación de aminas aromáticas biogénicas o la degradación del triptófano eran más activas en la fase secretora del ciclo menstrual.

**Conclusiones:** Los resultados de este estudio muestran que hay diferencias en la composición microbiana del endometrio entre las fases proliferativa y secretora media del ciclo menstrual. Asimismo, se pudieron observar diferencias en las funciones metabólicas de los microorganismos en las distintas fases.

## MUSHASHI-1, UN NUEVO MARCADOR DE CÉLULAS ESTROMALES MESENQUIMALES ADULTAS EN LA REPARACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS Y MOLECULARES

Padial Molina M<sup>a</sup>, Crespo Lora V<sup>b</sup>, Hernández Cortés P<sup>c</sup>, Cándido Corral C<sup>b</sup>, Martín Morales N<sup>a,b</sup>, Abril García D<sup>a</sup>, Galindo Moreno P<sup>a</sup>, O'Valle F<sup>b,d,e</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Cirugía Oral e Implantología, Facultad de Odontología, Universidad de Granada ([nati@ugr.es](mailto:nati@ugr.es))

<sup>b</sup> Departamento de Anatomía Patológica, Universidad de Granada

<sup>c</sup> Departamento de Cirugía Ortopédica, Hospital Universitario San Cecilio, Granada

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

<sup>e</sup> Instituto Biosanitario (Ibs.GRANADA), Granada, España

**Introducción:** Musashi-1 (MSI1) es una proteína de unión a ARN que regula las células progenitoras en organismos adultos y en desarrollo para mantener las capacidades de autorrenovación. El papel específico de MSI1 en la reparación ósea y en relación con otros factores osteogénicos es aún desconocido.

**Material y métodos:** Analizamos la expresión de MSI1 en un modelo experimental en rata de fractura ósea femoral y lo relacionamos con la expresión de otros marcadores osteogénicos, como Periostin (Postn) y el factor de transcripción relacionado con Runt 2 (Runx2), tanto a nivel de ARNm mediante qRT-PCR como de proteína mediante inmunohistoquímica con la técnica de micropolímero conjugado con peroxidasa y revelado con DAB.

**Resultados:** Se demostró una mayor expresión de Musashi-1 en células madre estromales mesenquimales (MSC), osteoblastos y osteocitos, pero no en condrocitos maduros en el callo óseo. La expresión de Musashi-1, Periostin y Runx2 se correlacionó significativamente, lo que sugiere un papel positivo de MSI1 en la diferenciación osteogénica de las MSC.

**Conclusión:** MSI1 se expresa en gran medida en el callo de fractura ósea en correlación con otros factores osteogénicos importantes, como Runx-2 y periostin. Esto sugiere que MSI1 juega un papel en la diferenciación osteogénica de las MSC.

## LA FARMACOGENÉTICA EN EL H.U. SAN CECILIO

Dávila-Fajardo CL<sup>a</sup>, Fernández-Gómez AE<sup>a</sup>, García-Navas P<sup>a</sup>, Antúnez-Rodríguez A<sup>b</sup>, Martínez-González LJ<sup>b</sup>, Díaz-Villamarín X<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Farmacia, H.U. San Cecilio e Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA ([cristinal.davila.sspa@juntadeandalucia.es](mailto:cristinal.davila.sspa@juntadeandalucia.es))

<sup>b</sup> Unidad de Genómica, GenYo, Granada

**Introducción:** La farmacogenética (PGX) permite predecir la respuesta de los pacientes a los medicamentos. Durante los últimos años se han desarrollado guías de dosificación, como las del *Dutch Pharmacogenomics Working Group* (DPWG) y las del *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) americano, basadas en información PGX. Incluso, en la ficha técnica de algunos medicamentos se recomienda el genotipado preventivo de determinados polimorfismos genéticos antes del inicio de algunos tratamientos.

**Objetivo:** Describir la evolución en la utilización de las pruebas farmacogenéticas en nuestro hospital desde la primera prueba realizada en 2012.

**Metodología:** Desde el año 2012, en nuestro hospital, se ofrece la posibilidad de determinar la presencia de polimorfismos genéticos (*Single nucleotide polymorphisms*, SNP) asociados, con el mayor nivel de evidencia, con la respuesta variable de los pacientes a algunos medicamentos. Para esto, una vez solicitada la prueba al servicio de farmacia, se toma una muestra de saliva con hisopos estériles, de la cual se extrae el ADN y sobre la que se analiza la presencia de los SNP relevantes en cada caso, informando los resultados entre 48-72h, interpretados en forma de recomendación de dosificación e informados en la historia clínica digitalizada de los pacientes.

Se recogieron las frecuencias absolutas de los pacientes para los que se solicitó alguna prueba farmacogenética a nuestra unidad para la orientación de algún tratamiento farmacológico, año a año desde la implementación de estas pruebas, diferenciando por medicamento y servicio. Además, se recogieron las frecuencias genotípicas, fenotípicas y de las recomendaciones de dosificación derivadas de los resultados genéticos.

Las traducciones de genotipo a fenotipo, y por tanto, la decisión sobre las recomendaciones terapéuticas derivadas de los resultados genéticos se dieron de acuerdo con lo contenido en las guías CPIC y DPWG.

**Resultados:** Desde la implementación de las pruebas farmacogenéticas en nuestro hospital en abril de 2012 se han genotipado 2414 pacientes de 7 servicios diferentes dando lugar a 932 recomendaciones terapéuticas afectando la pauta de dosificación de 9 medicamentos: Clopidogrel (n=2013) con 845 recomendaciones terapéuticas; Azatioprina (n=208) con 21; Capecitabina (n=48) con 1 sola recomendación; 5-FU (n=5) sin recomendaciones terapéuticas; Tamoxifeno (n=117) con 48; Trastuzumab (n=34) con 15; Irinotecán (n=4) con 2; y Simvastatina/atorvastatina (n=2) sin dar lugar a recomendaciones de dosificación.

**Conclusiones:** Desde la realización del primer test genético en 2012 hasta el 20 de agosto de 2019 se ha conseguido implementar en nuestro hospital el uso de las pruebas farmacogenéticas previo al inicio del tratamiento con clopidogrel, azatioprina, capecitabina, tamoxifeno, 5-FU, trastuzumab, irinotecán, atorvastatina y simvastatina.

## HIDROGELES MAGNETIZABLES BASADOS EN ALGINATO DE SODIO

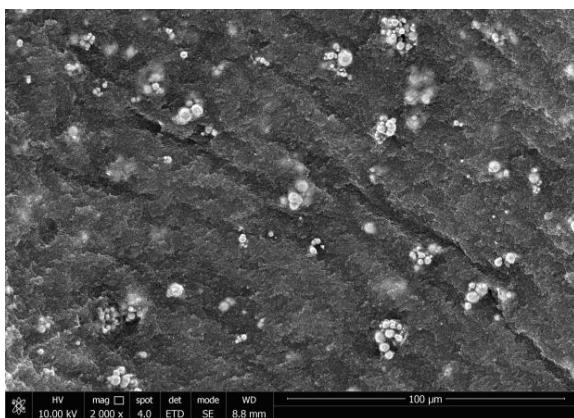
León-Cecilia A<sup>a</sup>, Gila-Vilchez C<sup>a,b</sup>, Durán JDG<sup>a,b</sup>, López-López MT<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Física Aplicada, Universidad de Granada, España ([modesto@ugr.es](mailto:modesto@ugr.es))

<sup>b</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria ibs. GRANADA, España

**Resumen:** Los hidrogeles son redes tridimensionales de cadenas hidrófilas de polímeros entrecruzadas dispersadas en un medio acuoso continuo, con una gran capacidad para absorber agua y otros tipos de fluidos. Su popularidad se debe a su gran contenido en agua, en general mayor del 90 % en peso, porosidad, consistencia blanda, flexibilidad, propiedades mecánicas y biocompatibilidad. Los hidrogeles magnéticos, por otra parte, son suspensiones de partículas magnéticas en el seno de hidrogeles, que se encuadran dentro de los geles con respuesta a estímulos. Su gran interés reside en su respuesta ante campos magnéticos, que combinan con todas las características de los geles antes mencionadas. Su consistencia blanda y su respuesta ante la presencia de campos magnéticos los convierte en materiales convenientes en aplicaciones biomédicas en las que se requiera una manipulación de la forma o la alteración de las propiedades mecánicas del gel sin necesidad de contacto.

Debido a su interés antes descrito y basándonos en los procedimientos descritos en [1], generamos hidrogeles de alginato de sodio con una concentración de 4% peso-peso, en los que se dispersaron partículas de hierro recubiertas de sílice de tamaño micrométrico. Estos geles se caracterizaron desde un punto de vista reológico, que nos permitió comprobar una mejora de las propiedades mecánicas con el aumento de la concentración de partículas y la presencia de un campo magnético. También se realizó una caracterización microestructural de los geles que permitió comprobar la alta porosidad de estos, así como la tendencia de las partículas de distribuirse en pequeños agregados de distintos tamaños (figura adjunta). En estos geles se esperan crear anisotropías generadas por medios mecánicos, tracción y compresión, que también modifiquen la respuesta de estos [2] [3].



**Agradecimientos:** Proyecto FIS2017-85954-R (Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, MINECO, y Agencia Estatal de Investigación, AEI, cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, FEDER, Unión Europea).

### Referencias:

- [1] Gila-Vilchez C, et al. (2018) *J Rheol.* 62(5):1083-1096
- [2] Scionti G, et al. (2014) *J Biomed Mater Res A.* 102(8):2573-2582
- [3] Mredha MTI, et al. (2018) *Adv Mater.* 30(9):1704937

MECHANOPHARMACOLOGY: HIGH-THROUGHPUT SEARCH OF  
MECHANOACTIVE MOLECULES AGAINST HIV-1 ENTRY

Reifs A<sup>a</sup>, Alonso-Caballero A<sup>d</sup>, Schönfelder J<sup>c</sup>, San Sebastian E<sup>b</sup>, Perez-Jimenez R<sup>a,e</sup>

<sup>a</sup> CIC nanoGUNE, Donostia/San Sebastián, Spain ([a.reifs@nanogune.eu](mailto:a.reifs@nanogune.eu))

<sup>b</sup> Basque Country University, Faculty of Chemistry, Donostia/San Sebastián, Spain

<sup>c</sup> Radboud University, Department of Molecular Biology, Nijmegen, Netherlands

<sup>d</sup> Columbia University, New York, United States

<sup>e</sup> IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain

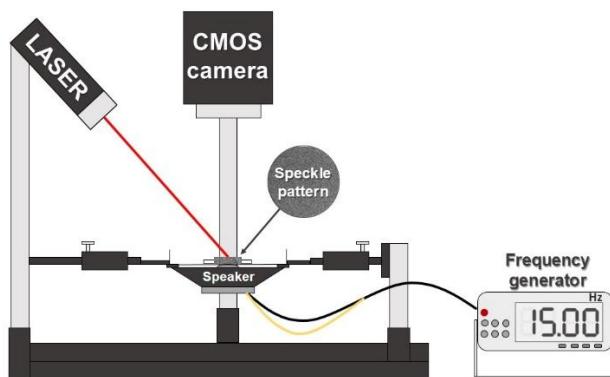
**Abstract:** Cell-surface receptors are essentials in the communication between cells and their extracellular space. CD4 is a coreceptor present in T lymphocytes membrane and it is required in the activation process of these cells, but also, is the primary receptor of HIV-1. It has been suggested that mechanical forces can play an important role in this infection mechanism, allowing conformational and chemical changes on CD4 during viral attachment, but the exact mechanism of how these mechanical forces affect at the dynamic of CD4 is not fully understood. Here we show how three different mechano-active molecules enhance mechanical stability of CD4 and prevent these structural and chemical changes needed for a successful virus infection. We use high-throughput virtual screening and docking to search in a chemical library of more than a million compounds that interact with mechanically relevant parts of human HIV-1 receptor CD4. We have identified three molecules capable of increasing the mechanical stability of CD4 and prevent HIV-1 entry into CD4+ cells. We have used single-molecule force spectroscopy and analysis on HIV-1 infectivity to probe it. We propose these molecules as an example of mechanodrug opening the possibility of investigating diseases and disorders through the intervention in the mechanical properties of the proteins involved.

## LASER SPECKLE RHEOLOGY A NON-INVASIVE TECHNIQUE FOR EVALUATING MECHANICAL PROPERTIES OF BIOMATERIALS

Rodríguez-Águila AB<sup>a</sup>, Ruiz-López J<sup>a</sup>, Yebra A<sup>a</sup>, Ionescu AM<sup>a</sup>, Cardona JC<sup>a</sup>, Pérez MM<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Laboratory of Biomaterials Optics. Department of Optics, Faculty of Science, University of Granada, Spain ([mmperez@ugr.es](mailto:mmperez@ugr.es))*

**Abstract:** The mechanical properties of bio-engineered tissues have to be determined to evaluate their quality and clinical viability. Even today, the methodology applied to analyze any biomaterials requires their destruction, involving minimum conditions of repeatability. Thus, a new integrated experimental device (Figure 1) has been developed based on the Laser Speckle Rheology technology, which is a method of non-contact optical approach, based on dynamic light scattering. To test the viability of the method, agarose and polyacrylamide phantoms have been developed. The method enables to characterize a sample without modify and destroy it, allowing a subsequent clinical use.



*Figure 1. Schematic representation of the experimental setup based on Laser Speckle*

**Acknowledgments:** The authors acknowledge funding support from the research projects PGC-2018-101904-A-I00 from Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Spain). The authors would like to thank to research groups “Coordination chemistry and structural analysis” and “Tissue Engineering” from the University of Granada, Spain, for their collaboration on this work.

## ÍNDICE WID: UNA HERRAMIENTA PARA EVALUAR EL BLANQUEAMIENTO DENTAL

Ruiz-López J<sup>a</sup>, Pulgar R<sup>b</sup>, Rodríguez-Águila AB<sup>a</sup>, Pecho OE<sup>a</sup>, Pérez MM<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Óptica de Biomateriales. Departamento of Óptica, Faculta de Ciencias, Universidad de Granada ([mmperez@ugr.es](mailto:mmperez@ugr.es))

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

**Objetivos.** El presente estudio evalúa la eficacia del blanqueamiento dental *in vivo* utilizando un nuevo índice de blanqueamiento y umbrales de diferencias en blancura.

**Material y Método.** El estudio fue aprobado por el Comité de Ética local y todos los voluntarios (n=37; 20 hombres y 17 mujeres) firmaron formularios de consentimiento informado y fueron instruidos en el uso adecuado del producto blanqueador. El tratamiento de blanqueamiento casero realizado en voluntarios (edad media: 42,8 años) era a base de peróxido de carbamida al 20% con pH=6,5 (OpalescenceTM PF, Ultradent Products Inc.). La reflectancia espectral de los 4 dientes incisivos superiores de cada voluntario fue medida utilizando un espectrorradiómetro (SpectraScan PR-704, Photo Research Inc.) bajo iluminante D65 (Demetron Shade Light, Kerr) con geometría de iluminación difusa/0°. Se tomaron tres medidas: antes del tratamiento (T0), después de 1 semana (T1) y después de 2 semanas (T2) del tratamiento de blanqueamiento. Se calcularon las coordenadas CIELAB y se obtuvo el valor del nuevo índice de blanqueamiento dental basado en el espacio de color CIELAB ( $WID = 0,511L^* - 2,324a^* - 1,100b^*$ ). Se calcularon las diferencias entre los valores de WID en los diferentes períodos ( $\Delta WID$  T1-T0;  $\Delta WID$  T2-T0; y  $\Delta WID$  T2-T1). Las diferencias obtenidas se analizaron utilizando los umbrales de perceptibilidad (WPT=0,72) y aceptabilidad (WAT=2,62) para las diferencias en blancura.

**Resultados.** El rango de valores de  $\Delta WID$  T1-T0 (5,92-7,56) y  $\Delta WID$  T2-T0 (7,67-9,27) estaban por encima del WAT (2,62 unidades WID). Sin embargo, los valores de  $\Delta WID$  T2-T1 (1,28-2,23) estaban por encima del WPT (WPT=0,72) y por debajo del WAT (WAT=2,62). Así, el mayor cambio se observó hasta que se ponderó T1 y hubo un cambio imperceptible en el período T1-T2.

**Conclusiones.** El índice WID y los umbrales WPT y WAT pueden ser utilizados como herramientas clínicas para cuantificar la eficacia de los tratamientos de blanqueamiento dental.

**Agradecimientos:** El estudio ha sido realizado gracias a la financiación del Proyecto PGC-2018-101904-A-I00 del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

## SETTING UP A REVERSIBLE SYSTEM TO STUDY EPIGENETIC PLASTICITY DURING EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION IN LUNG CANCER

Molina Sánchez A<sup>a,b,c</sup>, Vukovic N<sup>a,b,c</sup>, Gallardo A<sup>a,b,c</sup>, Asenjo HG<sup>a,b,c</sup>, Serrano Lopera A<sup>a,b</sup>, de Miguel D<sup>b</sup>,  
Granados S<sup>b</sup>, Bayarri C<sup>c,d</sup>, Serrano MJ<sup>b</sup>, Landeira D<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biology II, University of Granada, Spain

<sup>b</sup> GENYO. Centre for Genomics and Oncological Research: Pfizer / University of Granada /  
Andalusian Regional Government, GRANADA, Spain ([aldara.molina@genyo.es](mailto:aldara.molina@genyo.es))

<sup>c</sup> Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Hospital Virgen de las Nieves, Granada, Spain

<sup>d</sup> Department of Thoracic Surgery, Virgen de las Nieves University Hospital, Granada, Spain

**Abstract:** Lung cancer is the leading cause of cancer death worldwide. It is among the most aggressive cancer types due to the high occurrence of early metastases. During dissemination and onset of metastasis, epithelial to mesenchymal transition (EMT) of cancer cells is believed to be a fundamental process. EMT involves loss of polarity and cell adhesions of tumor epithelial cells together with the acquisition of mesenchymal features including motility, invasiveness and resistance to apoptosis. These features allow cancer cells to enter the blood stream as circulating tumor cells (CTCs) and disseminate throughout the human body reaching and colonizing other organs. To establish secondary metastatic epithelial tumors, CTCs go through the inverse process called mesenchymal to epithelial transition (MET). Recent studies suggest that epithelial and mesenchymal states in cancer cells are highly dynamic and reversible and thus deciphering the master epigenetic regulators of these processes is of key importance to design effective treatments that block cancer cell dissemination and the formation of metastatic nodules. Here, we have established conditions to induce EMT using TGF-beta and EGF cytokines in a reversible way in a human non-small cell lung cancer line (A549). Analysis of gene expression patterns of polycomb proteins and treatment with polycomb chemical inhibitors suggest that polycomb proteins play a key role in the regulation of lung cancer dissemination. Potential application of our model system and implications of our observations will be discussed.

## ESTIMULACIÓN DEL TEJIDO BLANDO Y CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL ÁCIDO FERÚLICO

Melguizo Rodríguez L<sup>a,b</sup>, Illescas Montes L<sup>a,b</sup>, Costela Ruiz VJ<sup>a,b</sup>, García Recio E<sup>a,b</sup>, García Martínez O<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Biomedical Group (BIOb77). Department of Nursing, Faculty of Health Sciences. University of Granada, Spain ([luciamr@ugr.es](mailto:luciamr@ugr.es))

<sup>b</sup> Instituto Investigación Biosanitaria, ibs.GRANADA, Granada, Spain

**Introducción:** Uno de los principales elementos constitutivos de este tejido es el fibroblasto, principal responsable de la síntesis de colágeno y glucosaminoglucanos de la matriz extracelular e indispensable en el proceso de cicatrización de heridas siendo la infección una de las principales complicaciones. En la actualidad, existe un gran interés en la identificación de nuevos tratamientos que favorezcan la regeneración del tejido blando, como es por ejemplo el aceite de oliva y sus polifenoles entre los que se encuentra el ácido ferúlico.

**Objetivo:** Estudiar el efecto del ácido ferúlico sobre la proliferación de fibroblastos humanos en cultivo y determinar su capacidad antimicrobiana.

**Material y métodos:** Para el estudio de la capacidad proliferativa, fibroblastos humanos de la línea CCD-1064sk fueron cultivados durante 96 h y tratados con ácido ferúlico a la dosis de 10<sup>-6</sup> M. Tras el tratamiento, las células fueron sometidas a la técnica de MTT y los resultados fueron cuantificados mediante espectrofotometría. Para determinar la capacidad antimicrobiana de este compuesto fenólico, las distintas cepas incluidas en el estudio (*Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus sp.*) fueron cultivadas en medio Tryptic Soja Broth hasta alcanzar una concentración de 0.5 de la escala McFarlan. Posteriormente, se dispusieron en sus respectivas placas con medio de cultivo Müller Hinton y se colocaron los discos de celulosa impregnados con ácido ferúlico (10ul a una concentración 10-6M) y se incubaron durante 24h, tras las cuales, se hizo la lectura.

**Resultados:** Tras 96 h horas de tratamiento con ácido ferúlico, las células mostraron un incremento significativo de la proliferación con respecto a las células no tratadas ( $P=0.000$ ). En relación al estudio sobre la capacidad antimicrobiana, el tratamiento con este compuesto produjo un halo de inhibición del crecimiento bacteriano de 2.2 mm, 1.2 mm, 0.8 mm y 1.2 mm para *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. coli* y *Proteus sp.* respectivamente, no encontrándose ningún efecto para el resto de cepas analizadas.

**Conclusión:** Estos resultados sugieren que el ácido ferúlico podría ejercer un efecto bioestimulante sobre el crecimiento de fibroblastos humanos mejorando la capacidad regenerativa del tejido blando, y ejerciendo, simultáneamente, un efecto protector frente a posibles infecciones dado su potencial antimicrobiano.

## NEW HYDROGEL SCAFFOLDS AS VEHICLE OF MESENCHYMAL STEM CELLS FOR WOUND HEALING APPLICATIONS

Soriano-Ruiz JL<sup>a</sup>, Gálvez-Martín P<sup>a</sup>, López-Ruiz E<sup>b,c</sup>, Suñer-Carbó J<sup>d</sup>, Calpena-Campmany AC<sup>d,e</sup>, Marchal JA<sup>f,g</sup>, Clares-Náveros B<sup>a,e,g</sup>

<sup>a</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Spain ([galmafarma@gmail.com](mailto:galmafarma@gmail.com))

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

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

<sup>d</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, University of Barcelona, Spain

<sup>e</sup> Nanoscience and Nanotechnology Institute (IN2UB), University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain

<sup>f</sup> Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Granada, Spain

<sup>g</sup> Biosanitary Institute of Granada ibs.GRANADA

**Abstract:** Skin burns are severe injuries causing high rates of morbidity and mortality. The World Health Organization (WHO) has reported around 180,000 deaths caused by burns [1]. Thermal burns are the most frequent type [2]. However, burns produced by radiation exposure are usually the most complicated to treat, involving damage at several levels of severity, from erythema and dermatitis to tissue necrosis and ulceration.

Mesenchymal stem cells (MSCs) therapy represents an attractive area of translational research because MSCs may promote the repairment and regeneration of damaged tissue [3]. In this context, scaffolds made of natural polysaccharides and proteins are attractive platforms because of their biocompatibility properties, as well as biological functions.

The main purpose of this study was the development of a chitosan hydrogel scaffold based on three glycosaminoglycans and collagen to provide an optimal microenvironment for human mesenchymal stem cells (hMSCs) isolated from adipose tissue for potential use in wound healing to treat skin lesions.

A package medium for hMSCs which was assayed in previous studies was used as dispersion medium for the elaboration of scaffolds. Appropriate amounts of chitosan, hyaluronic acid, chondroitin sulfate, dermatan sulfate and collagen were selected. Once hydrogels were elaborated, hMSCs were trypsinized and mixed at a density of  $1 \times 10^6$  cells/mL. To evaluate the cell viability in the developed hydrogel scaffold the metabolic activity of encapsulated cells was measured using Alamarblue® Assay, cell growth was analyzed after 1, 3, 5 and 7 incubation days at 37 °C.

Results showed that proliferation decreased until the third day of the experiment. This decrease can be probably attributed to an accommodation phase of hMSCs in the hydrogel environment. However, hMSCs proliferation underwent a significant increase from day 3 to day 7 reaching 100% cell viability.

This finding indicates that chitosan hydrogel scaffold elaborated provided a suitable niche for cell hMSCs.

### References:

- [1] World Health Organization (2008) *Burns* (accessed 5 January 2019)
- [2] American Burn Association (2017) *National Burn Repository* 2017 Update (accessed 15 February 2019)
- [3] Wu Y, et al. (2007) *Stem Cells*. 25:2648–2659

## REGULATORY CONSIDERATIONS ON THE DEVELOPMENT OF BIOPRINTING TISSUES TO APPLICATION IN ADVANCE THERAPIES

Galocha C<sup>a</sup>, Clares B<sup>a,b,c</sup>, Gálvez-Martín P<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Spain ([galmafarma@gmail.com](mailto:galmafarma@gmail.com))

<sup>b</sup> Nanoscience and Nanotechnology Institute (IN2UB), University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain

<sup>c</sup> Biosanitary Institute of Granada ibs.GRANADA

**Abstract:** Advances in three-dimensional (3D) bioprinting of tissues and organs have allowed the development of 3D constructs as innovative treatments to application in advance therapies. These 3D matrices combine living and non-living cells with bioresorbable, biocompatible and biodegradable materials, and specific molecules that favour the environment of the designed structure, in order to repairing, replacing, restoring or regenerating a damaged tissue [1]. The development of 3D constructs is a complex process which covers from the preclinical studies, clinical trials and finally the approval process. Each stage must be performed under specific requirements both legal and technical, according to the regulatory framework where the 3D construct will be marketed [2]. The objective of this work is describing the main regulatory pathways involved thought the development of 3D constructs to be marketed in European Union (EU).

According to their cell component, 3D bioactive constructs can be manufactured cellloaded or free-cells, which implies different regulatory strategies for each one of them. 3D cells-load constructs are defined as Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs) and are regulated under Regulation (EC) No. 1394/2007 [3]. Based on this Regulation, 3D cells-load constructs can be classified as tissue engineered products

(TEPs) or combined advanced therapy medicinal products (CATMPs). According to this consideration, sponsor of new 3D constructs must request a Marketing Authorization Application through the European Medicines Agency by centralized approval procedure.

On the other hand, 3D free-cells constructs must be regulated as medical devices under Regulation (EU) 2017/745 [4]. These constructs are classified as class III medical devices and a CE certificate must be request for their marketing through an accredited notified body.

The knowledge and adaptation to these regulatory shifts is essential for the clinical translation of 3D constructs in order to support their development as new therapeutic treatments promoting their use in a greater number of patients.

### References:

- [1] Yang JM, et al. (2018) *Adv Exp Med Biol.* 1077:197-224
- [2] Gálvez P, et al. (2013) *Br Med Bull.* 105(1):85-105
- [3] European Commission. (2007) Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004
- [4] European Commission. (2017) Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017on medical devices, amending Directive 2001/83/EC, Regulation (EC) No 178/2002 and Regulation (EC) No 1223/2009 and repealing Council Directives 90/385/EEC and 93/42/EEC

## EFFECTO DE DIFERENTES ANTISÉPTICOS SOBRE FIBROBLASTOS HUMANOS EN CULTIVO

Illescas Montes R<sup>1,2</sup>, Costela Ruiz VJ<sup>1,2</sup>, Melguizo Rodríguez L<sup>1,2</sup>, Manzano Moreno FJ<sup>2,3</sup>, Ramos Torrecillas J<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Biomedical Group (BIO277), Department of Nursing, Faculty of Health Sciences, University of Granada. Spain ([rebecaim@ugr.es](mailto:rebecaim@ugr.es))

<sup>2</sup> Instituto Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA. University of Granada. Spain

<sup>3</sup> Biomedical Group (BIO277). Department of Stomatology, School of Dentistry, University of Granada, Spain

**Introducción:** La limpieza de las heridas es un proceso esencial integrado en el cuidado básico de estas el cual se relaciona con una reducción del riesgo de infección. Para la prevención de la colonización y el crecimiento de microorganismos es común el uso de agentes antisépticos. Existe una alta variedad de antisépticos tópicos, así como los formatos en los que se presentan. Sin embargo, el uso de antisépticos está bajo debate ya que se le atribuye una actividad citotóxica, que pudiera repercutir en la cicatrización de la herida.

**Objetivos:** conocer el efecto de agentes descontaminantes sobre la capacidad proliferativa y migratoria de fibroblastos humanos en cultivo, principal población responsable en la cicatrización de heridas.

**Material y métodos:** Para llevar a cabo el estudio la línea de fibroblastos humanos CCD-1064sk fue expuesta durante un minuto a los siguientes agentes antisépticos: clorhexidina 0.06% (v/v), peróxido de oxígeno 50% (v/v), povidona iodada, eosina 2% (w/v) y Prontosan®. La viabilidad y capacidad proliferativa fue determinada tras la exposición mediante la técnica de MTT, cuantificando los resultados mediante espectrofotometría. Para determinar la acción sobre la cicatrización de heridas se empleó la técnica *scratch wound healing assay*. Esta consistió en la creación de un *scratch* tras la exposición de los fibroblastos a los antisépticos mencionados anteriormente, y posterior medición de la dimensión del *scratch* a las 0, 12 y 24 horas. En todos los ensayos, se utilizó un cultivo control al cual se mantuvo en las mismas condiciones, excepto de la exposición a antisépticos.

**Resultados:** los resultados muestran un descenso significativo en la capacidad proliferativa y viabilidad celular de los fibroblastos tras la exposición a los agentes antisépticos ( $p<0.001$ ). En el ensayo de cicatrización de heridas *in vitro* observamos que los controles disminuyeron significativamente a las 12 horas ( $p<0.001$ ), estando completamente cicatrizado a las 24h. Sin embargo, las heridas *in vitro* de los fibroblastos expuestos a povidona iodada y Prontosan® no presentaron una disminución a las 12 y 24 horas, manteniéndose la herida abierta a las 24 horas. Cuando los fibroblastos fueron expuestos a clorhexidina, peróxido de oxígeno y eosina no se pudo medir la dimensión del *scratch* dada la ausencia de células, posiblemente como consecuencia del efecto citotóxico que han ejercido estas sustancias.

**Conclusión:** Los resultados muestran que los antisépticos estudiados inhiben la proliferación y viabilidad de los fibroblastos, alterando el proceso cicatrización *in vitro*.

## EFFECTO DE 3 AGENTES DESCONTAMINANTES DE USO ORAL SOBRE LA PROLIFERACIÓN DEL OSTEOBLASTO

Manzano Moreno FJ<sup>a</sup>, Melguizo-Rodríguez L<sup>b</sup>, Costela-Ruiz VJ<sup>b</sup>, Illescas-Montes R<sup>b</sup>, de Iruña-Bertos E<sup>b</sup>

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

<sup>b</sup> Departamento de Enfermería. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Granada ([rebecaim@ugr.es](mailto:rebecaim@ugr.es))

**Introducción:** El hueso autólogo recogido mediante fresado biológico ha demostrado tener capacidad osteogénica y bajo riesgo de contaminación bacteriana en comparación con otras técnicas de recogida de injertos óseos. Sin embargo, sigue existiendo una alta susceptibilidad de contaminación bacteriana del hueso recogido por este procedimiento, debido a la gran cantidad de microorganismos que constituyen la flora oral habitual. Estudios previos de nuestro grupo han demostrado la efectividad de distintos agentes descontaminantes, dos antibióticos (Amoxicilina y Clindamicina) y un antiséptico (Clorhexidina) para disminuir la carga bacteriana de los injertos óseos. Sin embargo, es necesario estudiar el efecto de estos agentes sobre la célula formadora del tejido óseo.

**Objetivo:** Evaluar el efecto de dos antibióticos (Amoxicilina, Clindamicina) y un antiséptico (clorhexidina) con respecto a un control (suero fisiológico) sobre la proliferación de osteoblastos humanos en cultivo.

**Material y Métodos:** La línea celular de osteoblastos humanos, obtenidos mediante cultivo primario de explantes óseos intraorales, fue tratada con los diferentes agentes descontaminantes: amoxicilina 400 µg/ml, clindamicina 150 µg/ml, clorhexidina al 0,2% y 0,12%, y con suero fisiológico (control). La proliferación celular fue evaluada tras 1 minuto de tratamiento con un método colorimétrico (MTT). Posteriormente la absorbancia fue medida en un espectrofotómetro a 570 nm.

**Resultados y Conclusiones:** El tratamiento de los osteoblastos con Clorhexidina al 0,2 % y 0,12% durante 1 minuto, mostró una disminución significativa en la proliferación celular ( $p < 0,001$ ) con respecto al control (suero fisiológico). Sin embargo, se observó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de la proliferación celular con el tratamiento con clindamicina 150 µg/ml. No se observaron cambios significativos tras el tratamiento de los osteoblastos con amoxicilina (Figura 1).

Este posible efecto tóxico de la clorhexidina sobre el osteoblasto, con dosis habitualmente utilizadas de forma tópica en la cavidad oral, puede indicar que, a pesar de ser un agente efectivo para la descontaminación bacteriana, debe ser utilizado con cautela puesto que puede tener efectos adversos sobre la regeneración del tejido óseo de la cavidad oral.

**Palabras clave:** antibióticos; antisépticos; osteoblastos; proliferación; MTT.

## COLOIDES MAGNÉTICOS EN BIOMEDICINA: SITUACIÓN ACTUAL

Alcalá-Santiago A<sup>1</sup>, Fuerte-Rodríguez S<sup>1</sup>, Arias JL<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, España ([angypadul@correo.ugr.es](mailto:angypadul@correo.ugr.es))

<sup>2</sup> Instituto Biosanitario de Salud (ibs.GRANADA), Servicio Andaluz de Salud (SAS) – Universidad de Granada, España

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

**Resumen:** Los coloides magnéticos han sido ampliamente estudiados en el área biomédica, siendo el desarrollo de nuevas metodologías de formulación exponencial, teniendo un elevado impacto en nanotecnología [1]. Sus propiedades les permiten tener una amplia variedad de aplicaciones. Quizás, una de las más relevantes sea el guiado magnético que confiere a las nanopartículas la capacidad de transporte activo y acumulación selectiva en la célula o tejido diana de agentes terapéuticos (fármacos y material genético). Esta cualidad puede ser potenciada mediante la funcionalización superficial de estas nanopartículas, la cual permite controlar su destino biológico, potenciando la acción terapéutica. Además, los óxidos de hierro superparamagnéticos son capaces de producir efecto citotóxico de forma específica en las células tumorales, dada su capacidad de generación de hipertermia controlada. Por otro lado, son muy buenos agentes de diagnóstico en Resonancia Magnética de Imagen (RMI) ya que son capaces de producir relajatividad en ( $T_1$ ,  $T_2$ ). Por todo ello, los coloides magnéticos se consideran prometedores agentes teranósticos [2].

Los materiales utilizados en este contexto son principalmente óxidos de hierro: magnetita ( $Fe_3O_4$ ) y maghemita ( $\gamma-Fe_2O_3$ ). Además de otras aleaciones metálicas de hierro ( $FePt$ ,  $FePt$ ,  $Fe_3Pt$ ,  $FeCo$ ,  $CoFe_2O_4$ ,  $FePt-Au$ ). Los primeros son más utilizados en Biomedicina debido a su biodegradabilidad. Con respecto a los métodos de formulación, existe una gran diversidad, tanto métodos físicos (deposición en fase gaseosa, litografía por haz de electrones) como químicos (oxidación, coprecipitación, método de fluidos supercríticos, entre otros). Además, existen algunas nanopartículas preexistentes en la Naturaleza. El tamaño, la forma, las propiedades eléctricas y termodinámicas superficiales, y la funcionalización serán determinantes en la aplicación biomédica de estas nanopartículas magnéticas. Por tanto, es de gran importancia el control del proceso de formulación.

Este trabajo pretende actualizar la situación actual en el diseño de estos coloides magnéticos para las principales aplicaciones biomédicas indicadas. Especial atención recibirá la funcionalización superficial de estas nanopartículas y los avances más relevantes que han posibilitado en estos campos de la Biomedicina.

Los coloides magnéticos son actualmente una realidad. Sus usos son muy prometedores en el campo de la Biomedicina, encontrándose ya comercializados (o en última etapa de estudio clínico) como medicamentos para el diagnóstico de enfermedades (agentes de contraste en RMI) o medicamentos para el tratamiento de enfermedades (agentes de hipertermia). Sin embargo, todavía son precisos más estudios *in vitro* e *in vivo* que permitan un diseño más específico y funcional para asegurar un amplio uso en clínica.