

I Jornades de Biologia de Girona

Llibre de resums

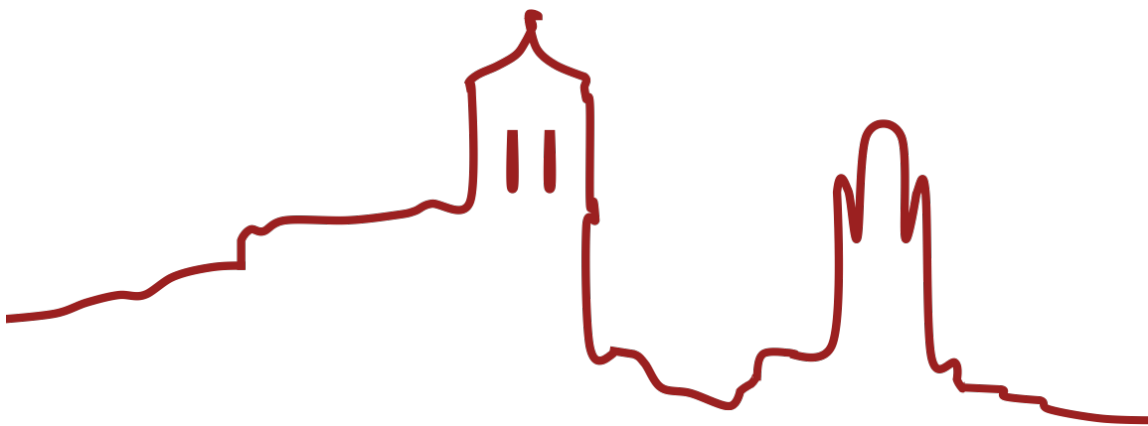
Dra. Elisabeth Pinart

Dr. Pere Boadas

Dr. Enric Verdú

Editors

Volum I, 2020



Societat Catalana
de **BIOLOGIA**

I Jornades de Biologia de Girona

Llibre de resums

Dra. Elisabeth Pinart

Dr. Pere Boadas

Dr. Enric Verdú

Editors

Volum I, 2020

Comitè Científic

Dra. Elisabeth Pinart (coordinadora). Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm). Institut de Tecnologia Agroalimentària. Departament de Biologia. Universitat de Girona.

Dr. Enric Verdú (coordinador). Grup de Recerca d'Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA). Departament de Ciències Mèdiques. Universitat de Girona.

Dr. Carles Borrego. Grup de Qualitat i Diversitat Bacteriana de l'Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) i Grup d'Ecologia Microbiana Molecular de l'Institut d'Ecologia Aquàtica. Departament de Biologia. Universitat de Girona.

Dr. Jordi Cabrefiga. Àrea de Producció Vegetal. Programa de Protecció Vegetal Sostenible. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA).

Dra. Margarida Casadevall. Grup de Biologia Animal. Departament de Ciències Ambientals. Universitat de Girona.

Dra. Mercè Figueras. Laboratori del suro. Departament de Biologia. Universitat de Girona.

Dra. Sara Pagans. Grup de Genètica Cardiovascular. Departament de Ciències Mèdiques. Universitat de Girona-IDIBGI.

Dr. Pere Boadas. Grup de Recerca d'Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA). Departament de Ciències Mèdiques. Universitat de Girona.

Comitè de suport i organització

Dra. Elisabeth Pinart (coordinadora). Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm). Institut de Tecnologia Agroalimentària. Departament de Biologia. Universitat de Girona.

Dr. Enric Verdú (coordinador). Grup de Recerca d'Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA). Departament de Ciències Mèdiques. Universitat de Girona.

Dr. Pere Boadas. Grup de Recerca d'Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA). Departament de Ciències Mèdiques. Universitat de Girona.

Dra. Meritxell Deulofeu Figueras. Grup de Recerca d'Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA). Departament de Ciències Mèdiques. Universitat de Girona.

Anna Bagó Mas. Grup de Recerca d'Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA). Departament de Ciències Mèdiques. Universitat de Girona.

Ariadna Delgado Bermúdez. Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm). Institut de Tecnologia Agroalimentària. Departament de Biologia. Universitat de Girona.

Yentel Mateo Otero. Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm). Institut de Tecnologia Agroalimentària. Departament de Biologia. Universitat de Girona.

Edita

Societat Catalana de Biologia.

© Societat Catalana de Biologia, per a aquesta edició

Primera edició: març de 2020

Dipòsit Legal: B 7457-2020



Aquesta obra és d'ús lliure, però està sotmesa a les condicions de la llicència pública de *Creative Commons*. Es pot reproduir, distribuir i comunicar l'obra sempre que se'n reconegui l'autoria i l'entitat que la publica i no se'n faci un ús comercial ni cap obra derivada. Es pot trobar una còpia completa dels termes d'aquesta llicència a l'adreça:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.ca>.

Continguts

BIOLOGIA DEL CÀNCER	5
Administració dirigida de complexos metàl·lics amb activitat antitumoral mitjançant la seva conjugació a derivats de bombesina	7
Barrabés S ¹ , Martínez MA ² , Planas M ² , Feliu L ² , Massaguer A ¹	
Caracterització del mecanisme de citotoxicitat de variants de l'HP-RNAsa dirigides a nucli i avaluació de la seva capacitat per inhibir la migració cel·lular i la invasivitat.....	8
Bravo M, López-Ramos Neble B, Castro J, Benito A	
La glicosilació alterada de la mesotelina com a biomarcador pel càncer de pàncrees	9
Duran A ¹ , Guerrero PE ¹ , Ferri MJ ¹ , de Llorens R ¹ , Saldoval R ² , Llop E ¹ , Peracaula R ¹	
Estudi de la glicosilació de l'antigen prostàtic específic (PSA) en pacients amb càncer de pròstata agressiu	10
Gratacós-Mulleras A ¹ , Duran A ¹ , Ferrer-Batallé M ¹ , Ramírez M ^{2,3} , Saldoval R ⁴ , Comet J ⁵ , de Llorens R ¹ , Llop E ¹ , Peracaula R ¹	
Glicosilació diferencial de l'EGFR en línies cel·lulars de càncer de pàncrees deficients en α 2,3-sialiltransferases.....	11
Miró L, Guerrero PE, Llop E, de Llorens R, Massaguer A, Peracaula R	
BIOLOGIA ANIMAL	13
Creixement i procedència dels mascles de gamba vermella, <i>Aristeus antennatus</i> , al calador de Palamós	15
Abras A ¹ , García-Marín JL ¹ , Heras S ¹ , Agulló M ¹ , Planella L ¹ , Vera M ² , Roldán MI ¹	
Estudi comparatiu de l'estat de salut i cicle reproductor en sardines de les costes catalanes nord i sud	16
Frigola-Tepe X, Sánchez A, Serrat A, Viñas J, Muñoz M	
Efectivitat de les trampes de pèl com a tècnica de seguiment de micromamífers i petits carnívors al camp	17
Quintana-Pujolàs M	
BIOLOGIA CEL·LULAR I MOLECULAR	19
La mutació p.G357S_RYR2 associada a CPVT provoca un guany de funció en cardiomiòcits derivats de cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPS-CM)	21
Carreras D ^{1,2} , Martínez-Moreno R ^{1,2} , Selga E ³ , Brugada R ^{1,2} , Scornik F ^{1,4} , Pérez G ^{1,4}	
Emfisema pulmonar: quantificació histomorfomètrica i utilitat en el diagnòstic de barotraumatisme pulmonar en el busseig	22
Casadesús JM ^{1,2,3,4} , Nieto-Moragas J ^{2,4,6} , Serrando MT ^{2,4,6} , Boadas-Vaello P ^{2,3,4} , Carrera A ^{2,3,4} , Aguirre F ⁵ , Reina ^{2,3,4}	
El trànsit polaritzat de la subunitat beta2 del canal de sodi és dependent de l'associació a subdominis de membrana rics en colesterol.....	23
Cortada E ^{1,3} , Serradesanferm R ^{1,3} , Brugada R ^{1,2,3,4} , Verges M ^{1,2,3}	
Marcatge isotòpic seqüencial de proteïnes mitjançant trans-inteïnes ortogonals.....	24
Romero-Casañas A, Castro J, Benito A, Vilanova M, Ribó M	

BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓ.....	25
Efectes del pèptid antimicrobià Pediocina PA-1 sobre la viabilitat espermàtica i la càrrega bacteriana en dosis seminals porcines	27
Bussalleu E, Casas I, Bonet S, Briz M	
La concentració d'hormona antimulleriana al plasma seminal varia entre les diferents fraccions de les ejaculacions porcines	28
Delgado-Bermúdez A ¹ , Llavanera M ¹ , Padilla L ² , S Recuero ¹ , Tvarijonaviute A ² , Mateo-Otero Y ¹ , Bonet S ¹ , Fernández-Fuertes B ¹ , Yeste M ¹ , Barranco I ¹	
Els nivells d'activitat de l'adenosina deaminasa (ADA) del plasma seminal no estan relacionats amb la capacitat fecundant de l'esperma porcina	29
Garcia-Bonavila E ¹ , Padilla L ² , Tvarijonaviute A ² , Llavanera M ¹ , Mateo-Otero Y ¹ , Delgado-Bermúdez A ¹ , Recuero S ¹ , Yeste M ¹ , Fernández-Fuertes B ¹ , Barranco I ^{1,2}	
Els canals de potassi SLO1 tenen un paper essencial durant la capacitació <i>in vitro</i> d'espermatozoides de porcí.....	30
Llavanera M, Yeste M, Puig-Parri J, Bonet S, Pinart E	
Efectes de la fotoestimulació amb llum vermella sobre la criotolerància dels espermatozoides porcins..	31
Mateo-Otero Y ¹ , Fernández-Fuertes B ¹ , Recuero S ¹ , Delgado-Bermúdez A ¹ , Llavanera M ¹ , Rodríguez-Gil JE ² , Bonet S ¹ , Barranco I ¹ , Yeste M ¹	
Efecte de la còpula amb toros intactes o vasectomitzats en l'expressió gènica del tracte reproductor femení	32
Recuero S ¹ , Sánchez JM ² , Mateo-Otero Y ¹ , Bages-Arnal S ² , McDonald M ² , Behura SK ³ , Spencer TE ³ , Yeste M ¹ , Lonergan P ² , Fernández-Fuertes B ¹	
Factors que afecten el patró de col·lapse/expansió previ a l'eclosió de blastocists humans: estudi preliminar	33
Sarquella-Ventura J ¹ , Hugas M ¹ , Fernández-Reig M ¹ , Julià L ¹ , Ferrer-Guixeras M ¹ , Pinart E ²	
BIOLOGIA VEGETAL	35
Transcrits i miRNAs que diferencien el suro d'altres escorces tipus ritidoma	37
Armendariz I ¹ , López de Heredia U ² , Soto A ² , Serra O ¹ , Figueras M ¹	
Diferències fisiològiques i de creixement entre plantes de fulla caduca i perenne en resposta a un augment de la radiació UV i a una reducció de la disponibilitat hídrica	38
Díaz-Guerra L ¹ , Llorens L ¹ , Font J ^{1,2} , González JA ³ , Verdaguer D ¹	
Genètica inversa en Arabidopsis usant un sistema CRISPR-Cas9 multiplex per estudiar la formació del fel·lema.....	39
Sánchez-Guirado C ¹ , Ursache R ² , Figueras M ¹ , Geldner N ² , Serra O ¹	
GENÈTICA MOLECULAR.....	41
Una potencial mutació <i>de novo</i> a ACTC1 podria induir cardiomiopatia dilatada en un dels membres d'una família mexicana.....	43
Alvarado-Cervantes YA ¹ , Balderrabano N ² , Hu D ³ , Acuña-Ochoa J, Pfeiffer R ³ , Wu Y ³ , Carrier T ³ i Barajas-Martinez H ⁴	
Estudi comparatiu dels efectes d'una mutació a SCN5A en una família diagnosticada amb Síndrome de Brugada utilitzant iPS-CM.....	44
Martinez-Moreno R, Carreras D, Selga E, Sarquella-Brugada G, Brugada R, Perez GJ, Scornik FS.	

Un haplotip comú en una regió “enhancer” està fortament associat amb un augment de la susceptibilitat a arrítmia cardíaca.....	45
Pinsach-Abuin M ^{1,2,3,4} , del Olmo B ^{1,2,3,4} , Mates J ^{1,2,3} , Pérez-Agustín A ^{1,2,3} , Allegue C ^{2,3,4} , Ma Q ⁴ , Merkurjev D ⁴ Konovalov, S ⁴ , Telenti A ⁷ , Duran M ⁵ , Brugada R ^{1,2,3,6} , di Iulio J ⁷ , Garcia-Bassets I ⁴ , Pagans S ^{1,2,3}	
Un codó stop prematur en la Placofilina-2 causa una disminució en l’expressió de gens relacionats amb la Cardiomiopatia Arritmogènica en el model cel·lular HL1.....	46
Vallverdú-Prats M ¹ , Alcalde M ¹ , Brugada R ^{1,2}	
MICROBIOLOGIA	47
Transcriptòmica comparativa per identificar diferències en l’expressió gènica entre soques AIEC i no-AIEC durant la infecció in vitro de cultius cel·lulars	49
Bonet-Rossinyol Q, Camprubí-Font C, Martínez-Medina M	
Efectes colaterals de l’addició de nitrat sobre el resistoma dels col·lectors d’aigua residual	50
Gionchetta G ¹ , Kassotaki E ¹ , Fillol M ¹ , Sanchez A ¹ , Balcazar JL ¹ i Borrego CM ^{1,2}	
Bio-càtodes per a la producció <i>in-situ</i> d’hidrogen.....	51
Perona-Vico E ¹ , Feliu-Paradeda L ¹ , Rovira-Alsina L ² , Balaguer MD ² , Puig S ² , Bañeras LL ¹	
NEUROBIOLOGIA	53
Estudi dels efectes preventius d’un extracte polifenòlic d’origen vegetal sobre el desenvolupament del dolor neuropàtic induït per una lesió medul·lar en ratolí	55
Bagó-Mas A ¹ , Deulofeu M ¹ , Homs J ^{1,2} , Verdú E ¹ , Fiol N ³ , Boadas-Vaello P ¹	
Un mètode innovador basat en la combinació de MALDI-TOF i de xarxes neurals artificials per classificar diferents tipus de dolor patològic en models animals.....	56
Deulofeu M ^{1,2,3} , Peña-Méndez EM ⁴ , Vañhara P ^{3,5} , Havel J ^{2,5} , Verdú E ¹ , Salvadó V ⁶ , Boadas-Vaello P ¹	
L’autoestimulació elèctrica intracranial modula els nivells de la proteïna SIRT1 i de microRNAs relacionats amb la malaltia d’Alzheimer	57
Puig-Parnau I ¹ , Garcia-Brito S ² , Faghihi N ¹ , Gubern C ^{1,3} , Aldavert-Vera L ² , Segura-Torres P ² , Huguet G ¹ , Kádár E ¹	
El Polipèptid Activador de l’Adenilat Ciclasa de la Pituitària (PACAP) millora els símptomes motors i promou la supervivència de cèl·lules estriatals a la malaltia de Huntington	58
Solés-Tarrés I ¹ , Cabezas-Llobet N ¹ , Fournier A ² , Alberch A ^{3,4,5} , Vaudry D ⁶ , Xifró X ^{1,5}	
Efectes antinociceptius d’un extracte polifenòlic natural en un model experimental de dolor nociplàstic induït per reserpina.....	59
Toledano-Martos R ¹ , Deulofeu M ¹ , Bagó-Mas A ¹ , Homs J ^{1,2} , Fiol N ³ , Verdú E ¹ , Boadas-Vaello P ¹	

Biologia del càncer

Administració dirigida de complexos metàl·lics amb activitat antitumoral mitjançant la seva conjugació a derivats de bombesina

Barrabés S¹, Martínez MA², Planas M², Feliu L², Massaguer A¹

¹*Departament de Biologia, Universitat de Girona, 17003 Girona, Spain*

²*Departament de Química, Universitat de Girona, 17003 Girona, Spain*

La quimioteràpia és una estratègia molt efectiva pel tractament del càncer. No obstant, comporta un alt risc d'efectes secundaris. Una aproximació per reduir la seva toxicitat és dirigir els agents quimioterapèutics cap als tumors mitjançant pèptids amb elevada afinitat per receptors de les cèl·lules canceroses [1]. La bombesina (BN) és un pèptid de 14 aminoàcids que s'uneix a receptors (BN-R) sobre-expressats per molts tumors humans i que ha mostrat potencial per a l'administració dirigida de molècules [2].

En aquest treball, s'ha sintetitzat un derivat de BN (BNd) com a agent vehiculador amb la Met C-terminal substituïda per una Leu per evitar interaccions amb els metalls. BNd internalitza eficientment en cèl·lules tumorals que sobreexpressen BN-R (PC-3). S'han preparat diferents conjugats entre BNd i el complex de Pt(II) (1) sintetitzat pel nostre grup. 1 presenta elevada capacitat d'intercalar-se en l'ADN i generar citotoxicitat (IC₅₀: 5,4±1,1 μM) [3]. Per obtenir els conjugats, el complex 1 s'ha unit directament a l'extrem amino- de BNd (C1) o a una Lys addicional, bé al seu grup Nε-amino (C2) o al grup Nα-amino (C3). El conjugat C3 presenta la millor activitat citotòxica (IC₅₀: 19,2±1,2 μM) i més capacitat d'intercalació en l'ADN que 1. Per incrementar l'activitat dels conjugats, s'ha incorporat un senyal de localització nuclear (SV40 NLS) a l'extrem amino- de BNd (NLS-BNd), generant el conjugat C4. Tècniques de citometria de flux i microscòpia confocal han determinat que NLS-BNd té una major capacitat d'internalització que BNd i que arriba al nucli cel·lular. Conseqüentment, l'activitat citotòxica de C4 en les cèl·lules PC-3 (IC₅₀: 12,0±1,1 μM) és superior a la dels conjugats C1-C3. Cal destacar que l'activitat de C4 és menor en les cèl·lules no tumorals 1.BR3.G que expressen poc BN-R (IC₅₀ > 50 μM). Per tant, l'administració dirigida del complex 1 mitjançant el pèptid NLS-BNd permet una acció efectiva en cèl·lules tumorals amb efectes mínims en cèl·lules sanes.

Referències

- [1] M. Srinivasarao, C. V. Galliford, P. S. Low, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2015**, *14*, 203–219.
- [2] D. B. Cornelio, R. Roesler, G. Schwartzmann, *Ann. Oncol.* **2007**, *18*, 1457–1466.
- [3] M. Á. Martínez, M. P. Carranza, A. Massaguer, L. Santos, J. A. Organero, C. Aliende, R. de Llorens, I. Ng-Choi, L. Feliu, M. Planas, et al., *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 13679–13696.

Caracterització del mecanisme de citotoxicitat de variants de l'HP-RNasa dirigides a nucli i avaluació de la seva capacitat per inhibir la migració cel·lular i la invasivitat

Bravo M, López-Ramos Neble B, Castro J, Benito A

Grup de recerca d'Enginyeria de Proteïnes Departament de Biologia, Facultat de Ciències, Universitat de Girona, Campus de Montilivi, C/Maria Aurèlia Capmany, 40, E-17003 Girona, Spain

Les ribonucleases (RNases) són un conjunt d'enzims alguns dels quals presenten activitat antitumoral, ja sigui de manera natural o quan han estat modificades per enginyeria de proteïnes. El meu grup de recerca ha desenvolupat un conjunt de variants de la ribonucleasa pancreàtica humana (HP-RNasa) adreçades al nucli (ND-RNases). Entre aquestes, una de les més eficaces és NLSPE5. Aquesta posseeix en la seva estructura dues senyals de localització nuclear (NLS) i presenta selectivitat i citotoxicitat enfront de diferents línies cel·lulars tumorals en cultius 2D i 3D. En aquest treball es mostra a través d'arrays d'anticossos que NLSPE5 produeix una disminució de la quantitat de proteïna fosforilada pel que fa a diverses proteïna quinases i receptors tirosina quinasa. NLSPE5 afecta també la capacitat d'invasió i migració de la línia tumoral de mama MDA-MB-231. Quan es realitzen assajos en càmeres Transwell s'observa que el tractament de les cèl·lules durant 48 hores amb NLSPE5 provoca una disminució d'un 80% de la seva migració i invasivitat. D'altra banda aquest efecte s'ha confirmat en assajos de tancament de ferida que mostren que NLSPE5 afecta la migració de les cèl·lules tumorals a partir de baixes concentracions. Finalment, s'ha analitzat el perfil d'expressió gènica de diverses línies cel·lulars de la que es coneix la seva sensibilitat a NLSPE5. Mitjançant una anàlisi de correlació s'ha observat que existeixen proteïnes que semblen estar involucrades en la sensibilitat a NLSPE5. S'ha intentat validar aquesta hipòtesi utilitzant inhibidors o activadors d'aquestes proteïnes però els resultats no han pogut ser corroborats.

La glicosilació alterada de la mesotelina com a biomarcador pel càncer de pàncrees

Duran A¹, Guerrero PE¹, Ferri MJ¹, de Llorens R¹, Saldova R², Llop E¹, Peracaula R¹

¹*Unitat de bioquímica i biologia molecular, Departament de Biologia, Universitat de Girona, Girona, Espanya.*

²*GlycoScience Group, National Institute for Bioprocessing Research and Training (NIBRT), Dublin, Ireland.*

El càncer de pàncrees (CP) és la tercera causa de mort per càncer, amb un pronòstic molt desfavorable degut principalment a la falta de biomarcadors pel seu diagnòstic precoç. Vist que la majoria de biomarcadors actuals són glicoproteïnes, es creu que l'anàlisi combinat de nivells proteics i epítops glucídics en glicoproteïnes sèriques podria conduir al descobriment de nous biomarcadors més específics.

La mesotelina (MSLN) és una glicoproteïna candidata per aquests estudis. S'expressa de-novo en CP i altres tumors, i ja s'han descrit nivells sanguinis elevats en varis càncers. La seva glicosilació, però, no s'ha estudiat fins el moment. Per tant, ja que una eventual glicofoma específica en CP podria ser utilitzada per al seu diagnòstic, ens hem proposat analitzar l'expressió de MSLN i la seva glicosilació en línies cel·lulars de CP.

L'expressió de la MSLN s'ha estudiat per western blot en llisats proteics i medis de secreció de 7 línies cel·lulars de CP i una de càncer d'ovari. L'anàlisi dels glicans s'ha fet a partir de MSLN immunopurificada dels medis de secreció. L'ocupació de les tres potencials dianes d'N-glicosilació s'ha estudiat per espectrometria de masses (UPLC-ESI-QToF), mentre que les estructures glucídiques s'han determinat per cromatografia d'interacció hidrofílica (HILIC-UPLC) combinada amb digestions d'exoglicosidases i per western blot amb lectines específiques.

Totes les línies cel·lulars expressen MSLN, en més quantitat al medi de secreció que als seus llisats. L'ocupació de les tres dianes d'N-glicosilació és >95%. La seqüenciació glucídica mostra una gran abundància d'àcid siàlic en totes les línies, així com l'expressió diferencial d'altres epítops glucídics (fucosa core, ramificació i bisecting GlcNAc) entre cèl·lules de CP i càncer d'ovari. Aquestes glicofomes s'analitzaran mitjançant metodologies més sensibles i que permetin un anàlisi *high-throughput* en mostres de teixits i sèrum per determinar el seu valor diagnòstic i/o pronòstic en CP.

Estudi de la glicosilació de l'antigen prostàtic específic (PSA) en pacients amb càncer de pròstata agressiu

Gratacós-Mulleras A¹, Duran A¹, Ferrer-Batallé M¹, Ramírez M^{2,3}, Saldova R⁴, Comet J⁵, de Llorens R¹, Llop E¹, Peracaula R¹

¹*Grup de Bioquímica del Càncer. Àrea de Bioquímica i Biologia Molecular, Departament de Biologia, Universitat de Girona, Girona, Espanya.*

²*Institut de Recerca Biomèdica de Girona (IDIBGI). Hospital Universitari Dr. J. Trueta, Girona, Espanya*

³*Laboratori Clínic. Hospital Universitari Dr. J. Trueta, Girona, Espanya*

⁴*NIBRT GlycoScience Group, National Institute for Bioprocessing Research and Training, Dublin, Irlanda.*

⁵*Unitat d'Urologia. Hospital Universitari Dr. J. Trueta, Girona, Espanya.*

El càncer de pròstata (CaP) és el carcinoma que presenta una major incidència en homes. El biomarcador utilitzat per la seva detecció és l'antigen prostàtic específic (PSA), una glicoproteïna secretada a la pròstata. Els nivells d'aquesta proteïna en sang no són suficientment específics per distingir entre patologies prostàtiques benignes i càncer de pròstata, ni entre càncer agressiu i indolent. La glicosilació del PSA es veu alterada en càncer. En pacients amb CaP agressiu s'ha identificat un increment del percentatge d'àcid siàlic amb enllaç α 2,3 en la cadena glucídica del PSA. Malgrat això, encara no s'han descrit les glicofomes específiques del PSA que es troben alterades en càncer agressiu. L'objectiu d'aquest estudi és identificar les glicofomes majoritàries del PSA en pacients amb CaP agressiu per poder-los diferenciar de controls sans.

Per fer-ho, s'ha purificat el PSA de mostres de sèrum de pacients amb CaP agressiu de l'Hospital Dr. Josep Trueta i s'han seqüenciat els seus N-glicans. S'ha utilitzat PSA purificat de plasma seminal d'homes sans com a control. El PSA s'ha immunoprecipitat i s'han separat les glicofomes amb àcid siàlic amb enllaç α 2,6 de les amb α 2,3 per cromatografia d'afinitat amb la lectina SNA unida a agarosa. El PSA eluït de cada fracció s'ha immunoprecipitat de nou, carregat en un gel de SDS-PAGE i tenyit amb Coomassie Blue. Per extreure els N-glicans, les bandes del PSA s'han tallat i digerit amb PNGasaF. Els N-glicans obtinguts s'han identificat per cromatografia líquida hidrofílica combinada amb digestions amb enzims glicolítics. Els resultats mostren diferències en les glicofomes del PSA de càncer agressiu i el control. En CaP agressiu, s'incrementen les estructures sialilades amb GalNAc, i disminueixen les glicofomes amb àcid siàlic α 2,6 i fucosa core. Per tant, en càncer agressiu es produeixen canvis en la glicosilació del PSA que poden servir de base pel desenvolupament de metodologies específiques per a la seva detecció.

Glicosilació diferencial de l'EGFR en línies cel·lulars de càncer de pàncrees deficientes en α 2,3- sialiltransferases

Miró L, Guerrero PE, Llop E, de Llorens R, Massaguer A, Peracaula R
Grup de Bioquímica del Càncer, Àrea de Bioquímica i Biologia Molecular, Departament de Biologia, Universitat de Girona, Girona, Espanya.

El càncer de pàncrees (PaC) presenta una alta mortalitat als països desenvolupats i un pronòstic nefast, degut al seu diagnòstic tardà i a la resistència a les teràpies existents. El receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR) participa en la regulació del creixement de les cèl·lules tumorals i està altament glicosilat. Durant el procés neoplàstic, les estructures glucídiques de l'EGFR es modifiquen, fet que pot alterar l'activitat del receptor. L'objectiu de l'estudi és analitzar el patró de glicosilació de l'EGFR en cèl·lules BxPC-3 i Capan-1, en les que s'han silenciats els enzims α 2,3-sialiltransferases (STs) ST3GAL3 i ST3GAL4, que participen en la biosíntesi d'estructures glucídiques cel·lulars, per determinar la influència d'aquests canvis en l'activació i senyalització de l'EGFR. Per això, s'ha immunoprecipitat el receptor en les línies cel·lulars control i silenciades i s'ha examinat la glicosilació de l'EGFR per WB amb lectines i anticossos contra estructures glucídiques. També s'ha estudiat l'activació del receptor en resposta a l'EGF i quines vies de senyalització intracel·lular es modifiquen, analitzant els nivells de fosforilació de residus específics de l'EGFR i de les proteïnes MAPK i AKT. S'ha determinat que no hi ha diferències en els nivells d'expressió d'EGFR en les línies cel·lulars, però que hi ha una disminució del nivell de l'epítip glucídic Sialyl-Lewis x en l'EGFR en les línies silenciades respecte les control. Després de l'estimulació amb EGF, s'ha observat un nivell més alt de fosforilació en les vies que senyalitzen per la proliferació i internalització del receptor, tant en les cèl·lules BxPC-3 com en les Capan-1 silenciades. A més, hi ha un increment del nivell de fosforilació d'AKT en les cèl·lules silenciades. En conjunt, aquests resultats mostren que el silenciament de les STs en cèl·lules de PaC modifica el patró de glicosilació i fosforilació de l'EGFR, i podria alterar la capacitat proliferativa de les cèl·lules tumorals.

Biologia animal

Creixement i procedència dels mascles de gamba vermella, *Aristeus antennatus*, al calador de Palamós

Abras A¹, García-Marín JL¹, Heras S¹, Agulló M¹, Planella L¹, Vera M², Roldán MI¹

¹Laboratori d'Ictiologia Genètica, Universitat de Girona, Campus de Montilivi, 17071, Girona

²Departamento de Zoología, Genética y Antropología Física, Campus Lugo, Universidad de Santiago de Compostela, 27002, Lugo

La gamba vermella, *Aristeus antennatus*, és un crustaci decàpode molt apreciat a la Mediterrània occidental, constituint el recurs principal a la Confraria de Palamós. *A. antennatus* té un sistema d'aparellament extern que consisteix en la col·locació de l'espermatòfor masculí, mitjançant el petasma, al telicum de la femella. Els mascles són el sexe de menor mida (longitud de cefalotòrax, Lc màxima 56 mm) i presenten dos estadis de maduresa, juvenil (absència de petasma fusionat) i adult. Aquest estudi es va centrar en l'anàlisi del creixement i la procedència dels mascles d'*A. antennatus* capturats al calador de Palamós en dos mostrejos durant l'any 2016, abans (hivern) i durant (estiu) la temporada de posta. La captures es van realitzar mitjançant pesca d'arrossegament, incorporant a la xarxa una malla d'obertura més fina, anomenada sobrecop, per l'obtenció dels juvenils. Els mascles capturats es van dividir segons l'estadi de maduresa en juvenils i adults i es van comparar les mitjanes de Lc d'ambdós grups. El DNA es va extreure a partir d'un fragment de teixit muscular de cada exemplar, prèviament preservat en etanol 95%, i la diversitat genètica es va analitzar en 10 loci microsatèl·lits. Es va comprovar si la distribució de genotips per cada mostra complia l'equilibri de Hardy-Weinberg, es va calcular el coeficient de diferenciació genètica (F_{ST}) entre parells de mostres i es va analitzar la procedència dels exemplars mitjançant tests d'assignació. En aquests últims, es van incorporar mostres de mascles adults capturats als caladors de Roses (nord) i Blanes (sud) durant l'hivern de 2016 com a font potencial d'exemplars migradors. Els resultats obtinguts van indicar creixement en el període transcorregut entre mostrejos, així com aportació d'individus d'altres àrees. El grup de mascles adults de l'estiu consistiria en una barreja de juvenils que ja han assolit la talla de maduresa, mascles adults de l'hivern i mascles adults migradors procedents d'altres caladors.

Estudi comparatiu de l'estat de salut i cicle reproductor en sardines de les costes catalanes nord i sud

Frigola-Tepe X, Sánchez A, Serrat A, Viñas J, Muñoz M
Universitat de Girona

La sardina (*Sardina pilchardus*) és una espècie de gran interès comercial que es distribueix per tot el Mediterrani i bona part de l'Atlàntic Est. En els darrers anys s'ha constatat una disminució de les captures en tota la seva distribució, acompanyada d'una reducció de la talla total, la talla de maduració sexual i de les reserves lipídiques dels individus.

En aquest context ens proposem avaluar quin és l'estat de salut de la sardina a la costa catalana comparant mostres de zones amb diferent règim termal, Blanes al nord i Tarragona al sud. Es determina en quin punt del cicle reproductor es troba cada individu, s'estima el contingut en greix dels seus teixits, i es caracteritza la parasitació per nematodes.

En aquest treball presentem resultats dels exemplars capturats entre els mesos d'octubre i gener, durant el període de desenvolupament gonadal previ a la posta. Durant aquest període s'han analitzat 110 sardines de la costa catalana nord i 148 de la sud. Els primers resultats aporten diferències significatives en el percentatge de greix de les sardines de les dues àrees analitzades, essent major a la zona nord. La condició física, mesurada mitjançant el factor de condició de Le Cren (Kn), és major a l'octubre, quan les gònades estan en fase de regeneració o en desenvolupament inicial. A mesura que s'acosta el període de posta la condició de l'individu disminueix, a causa de la demanada energètica que implica la reproducció. Pel que fa a la prevalença i la intensitat de parasitació, tan sols s'ha detectat una única espècie de nematode, *Hysterothylacium aduncum*, el qual apareix en el 36% dels individus capturats. La prevalença és similar entre les dues localitats estudiades, però la intensitat és superior a la zona més càlida del sud.

L'anàlisi mostra un millor estat de salut de les sardines a la costa nord, tant pel que fa a reserves lipídiques com a l'índex de parasitació, fet que sembla confirmar que les aigües fredes del Golf de Lleó els són més favorables.

Efectivitat de les trampes de pèl com a tècnica de seguiment de micromamífers i petits carnívors al camp

Quintana-Pujolàs M

Facultat de Ciències, Universitat de Girona, Girona, Espanya

Avui dia, els mètodes més usats per al seguiment dels petits mamífers són les trampes de captura en viu, les quals s'han vist qüestionades des de fa temps a causa de l'estrès i el risc de danys que comporten. No obstant això, es segueixen fent servir perquè no hi ha cap mètode estandarditzat que millori aquest mostreig.

Existeixen mètodes alternatius que intenten competir amb el trampeig en viu, però tots tenen les seves mancances.

En aquest estudi s'ha desenvolupat una metodologia que en resol algunes, i alhora no causa cap afectació als mamífers als quals va dirigida. És un nou format de trampa que, en lloc d'atrapar l'individu, només li captura mostres de pèl. Amb aquest pèl, es pot identificar l'individu i obtenir mostres d'ADN per poder realitzar estudis paral·lels.

Les trampes són caixes-niu de fusta amb dues entrades fetes amb tubs de PVC de diàmetres diferents (50 mm i 75 mm), els quals tenen un raspall en la part superior per atrapar el pèl sense generar patiment.

La caixa està dissenyada perquè qualsevol animal que hi pugui entrar, sigui capaç de poder sortir-ne donant la volta dins.

Primerament es va realitzar una prova pilot a Salt, per a comparar l'efectivitat de diversos mètodes de captació de pèl, mirant la quantitat de pèl que agafaven i la facilitat d'extreure'n la mostra. Un cop triat el més eficient, es va realitzar un experiment a Verges per tal de comprovar si la trampa en si era prou atractiva per als micromamífers o si era necessària la col·locació d'incentiu a dins, com ara serradures usades provinents de gàbies de ratolins.

Com a resultat es va veure que la trampa servia d'atracament per a l'entrada d'animals com el ratolí de bosc (*Apodemus sylvaticus*) o la rata (*Rattus sp.*), però l'efectivitat augmentava amb l'incentiu a dins.

L'ús de càmeres de fototrampeig com a complement del mostreig permet identificar ràpidament tant els animals que entren a la caixa com els possibles competidors o depredadors de la zona. En definitiva, aquesta metodologia podria comportar una millora en el mostreig de micromamífers actual, essent un mètode eficaç així com menys lesiu i estressant per a l'animal.

Biologia cel·lular i molecular

La mutació p.G357S_RYR2 associada a CPVT provoca un guany de funció en cardiomiòcits derivats de cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPS-CM)

Carreras D^{1,2}, Martínez-Moreno R^{1,2}, Selga E³, Brugada R^{1,2}, Scornik F^{1,4}, Pérez G^{1,4}

¹*Department de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona, Girona, Spain*

²*Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IDIBGI), Salt, Espanya,*

³*Facultat de Medicina, Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya, Vic, Espanya,*

⁴*Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Madrid, Spain.*

La taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica (CPVT) és una malaltia arritmogènica severa caracteritzada per la presència de taquicàrdies ventriculars, induïdes per l'alliberació de catecolamines, que causen la mort sobtada. El nostre grup va identificar, en una gran família de les Illes Canàries, una mutació al receptor de rianodina de tipus 2 (RYR2), p.G357S_RYR2, associada a CPVT. D'aquesta família hem obtingut biòpsies de pell de donants heterozigots i homozigots. El nostre objectiu és avaluar el possible efecte additiu dels al·lèles mutats en la funció de RYR2. Per aquest estudi, es van utilitzar cardiomiòcits derivats de cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPS-CM) utilitzant un protocol de diferenciació basat en l'heparina, seguit d'una selecció metabòlica i un tractament hormonal de maduració. Hem utilitzat cèl·lules derivades d'un pacient heterozigot (HT), un homozigot (HM) i, com a control, cèl·lules obtingudes a partir d'un donant no portador sa (CTRL). Per tal d'avaluar funcionalment l'activitat de RYR2, es va mesurar la seva sensibilitat a cafeïna (0.05 mM, 0.1 mM, 0.5 mM, 1 mM, 2 mM, 5 mM, 10 mM) mitjançant imatges de calci en condicions basals i en condicions d'estrès β -adrenèrgic (100 nM Isoproterenol). Els estudis de dosi-resposta duts a terme en condicions basals, mostren que les cèl·lules HT i HM presenten una major sensibilitat a cafeïna que les CTRL (KdCTRL=2.53±0.34 mM, KdHT=1.67±0.19 mM i KdHM=1.72±0.10 mM). En repetir els experiments en presència d'isoproterenol vàrem observar un augment de resposta en les cèl·lules CTRL però no en les HT i HM (KdCTRL=1.38±0.06 mM, KdHT=1.68±0.09 mM i KdHM=1.40±0.12 mM). L'amplitud màxima dels transitoris induïts per cafeïna 10mM també van resultar ser majors en les cèl·lules HT i HM respecte les CTRL (en $\Delta F/F_0$: CTRL=2.22±0.05 HT=2.67±0.04, HM=2.52±0.16). Els nostres resultats mostren un augment de funció similar en les cèl·lules dels pacients HT i HM respecte les CTRL, tot i el diferent nombre d'al·lèles mutats. Això suggereix que per la mutació p.G357S_RYR2 un sol al·lèle mutat és suficient per produir un guany de funció.

Emfisema pulmonar: quantificació histomorfomètrica i utilitat en el diagnòstic de barotraumatisme pulmonar en el busseig

Casadesús JM^{1,2,3,4}, Nieto-Moragas J^{2,4,6}, Serrando MT^{2,4,6}, Boadas-Vaello P^{2,3,4}, Carrera A^{2,3,4}, Aguirre F⁵, Reina^{2,3,4}

¹*Institut de Medicina Legal i Ciències Forenses de Catalunya, (Divisió de Girona).*

²*Grup de Recerca d'Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA). Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona.*

³*Neurofisiologia Experimental i Anatomia Clínica (NE&AC; 2017 SGR 01279), Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona.*

⁴*Departament de Ciències Mèdiques, Facultat de Medicina, Universitat de Girona.*

⁵*Grup d'Especialistes en Activitats Subaquàtiques (GEAS) de la Guardia Civil. L'Estartit (Girona).*

⁶*Laboratori Clínic ICS-IAS Girona. Salt (Girona).*

El busseig amb escafandre autònom és una activitat subaquàtica que gaudeix actualment d'una gran popularitat. Malgrat que es considera una pràctica segura, cada any es descriuen nous casos de morts relacionades amb aquesta activitat i l'ofegament es descriu com la principal causa de mort seguida del barotraumatisme pulmonar (BtP). L'objectiu d'aquest estudi ha estat demostrar i quantificar en els casos de BtP la presència d'espais d'aire patològics en el teixit pulmonar mitjançant tècniques d'histomorfometria digital.

Es van utilitzar mostres histològiques de teixit pulmonar seleccionades segons el tipus de mort, definint tres grups: 6 casos de BtP, 6 casos d'ofegament (grup de control positiu) i 6 casos de sagnat intern agut (grup de control negatiu). Per cada un dels casos es van escollir a l'atzar quatre seccions de teixit pulmonar i per cada secció es van seleccionar aleatòriament sis camps microscòpics. Es va fotografiar cada un dels 432 camps amb una càmera digital acoblada a un microscopi òptic. Les fotografies digitals obtingudes varen ser analitzades utilitzant un programa d'anàlisi d'imatges i mitjançant el software SPSS (v25.0, IBM, Armonk, NY) es va realitzar una anàlisi estadística de les dades obtingudes.

Els resultats obtinguts han permès descriure un patró emfisematós caracteritzat per una sobredistensió dels espais aeris del parènquima pulmonar i observant diferències significatives entre el grup de bussejadors diagnosticats d'un BtP i els casos controls, en relació a l'àrea ocupada pels espais aeris i el percentatge de l'àrea ocupada per aquests espais ($p < 0.01$). La mitjana de l'àrea ocupada pels espais aeris i la mitjana del percentatge dels espais aeris són els valors que han mostrat una major potència per establir un diagnòstic histològic diferencial entre un BtP i altres patologies pròpies del busseig amb escafandre autònom, especialment l'ofegament.

El trànsit polaritzat de la subunitat beta2 del canal de sodi és dependent de l'associació a subdominis de membrana rics en colesterol

Cortada E^{1,3}, Serradesanferm R^{1,3}, Brugada R^{1,2,3,4}, Verges M^{1,2,3}

¹*Universitat de Girona, Facultat de Ciències*

²*Universitat de Girona, Dept. de Ciències Mèdiques*

³*GenCardio (IDIBGI)*

⁴*CiberCV*

La subunitat beta2 (codificada pel gen SCN2B) és una peça important del complex del canal de sodi cardíac dependent de voltatge. Beta2 promou la correcta localització a la membrana plasmàtica de la subunitat alfa, NaV1.5, formadora del porus, del canal. El canal és essencial per a la conducció elèctrica cardíaca. Mutacions en beta2 resulten en menys canals a la superfície cel·lular, fenotip que es tradueix en malalties cardíques greus, i fins i tot la mort sobtada.

Beta2 és una proteïna transmembrana. Estructuralment, en destaquem un bucle del tipus immunoglobulin-like al domini extracel·lular. A la cua citoplasmàtica, just després del segment transmembrana, beta2 hi té un lloc potencial de palmitoilació.

Mitjançant microscòpia de fluorescència i tècniques bioquímiques, explorem el trànsit intracel·lular de beta2 en cèl·lules polaritzades Madin Darby Canine Kidney (MDCK). En aquestes, beta2 es localitza exclusivament a la membrana plasmàtica apical. Hem observat que aquesta localització polaritzada és dependent d'associació a bales lipídiques (lipid rafts) riques en colesterol. També hem observat que reduint el colesterol cel·lular utilitzant diverses estratègies beta2 perd la seva localització apical. A més, mostrem el paper de la palmitoilació en l'associació de beta2 a lipid rafts. També estem investigant les implicacions funcionals de la palmitoilació, que esdevé un element de regulació del clivatge de beta2 per beta secretasa.

Els senyals de trànsit apical no estan ben definits i són encara tema de controvèrsia. Per altra banda, proposem una analogia entre la superfície apical de cèl·lules epitelials amb els discs intercalars (DI) dels cardiomiòcits. Els DI són regions especialitzades de membrana per on es transmet el potencial d'acció gràcies a la correcta localització del NaV1.5. Definir el trànsit de beta2 contribueix a entendre el trànsit polaritzat en conjunt, i a com es desenvolupen arrítmies quan les subunitats del canal no es localitzen correctament.

Marcatge isotòpic seqüencial de proteïnes mitjançant trans-inteïnes ortogonals

Romero-Casañas A, Castro J, Benito A, Vilanova M, Ribó M

Laboratori d'Enginyeria de Proteïnes, Departament de Biologia, Facultat de Ciències, Universitat de Girona, Campus de Montilivi, Maria Aurèlia Capmany 40, 17003, Girona, Spain.

Institut d'Investigació Biomèdica de Girona Josep Trueta, (IdIBGi), Girona, Spain

Les inteïnes són seqüències polipeptídiques que tenen la capacitat d'escindir-se per si mateixes de les regions proteïques que les flanquegen, les exteïnes, lligant-les al mateix temps amb un enllaç peptídic canònic en un procés autocatalític anomenat tall i unió proteic. Les inteïnes presenten un especial interès com a eines moleculars en enginyeria de proteïnes. En particular, són interessants les inteïnes partides, que s'expressen en dos gens separats fusionats amb les seves respectives exteïnes i permeten lligar polipèptids en *trans*, per obtenir proteïnes complexes així com el marcatge isotòpic diferencial dels seus dominis per a diferents tipus d'estudis. Concretament, ens interessa marcar de manera independent els dominis de proteïnes d'interès per a poder estudiar-ne l'estructura tridimensional mitjançant ressonància magnètica nuclear, superant així les limitacions d'aquesta tècnica a l'hora de treballar amb proteïnes de gran massa molecular.

En primer lloc, era necessari assegurar que les inteïnes gp41-1, gp41-8, IMPDH-1 i NrdJ-1 no presentaven reactivitat creuada. Això es va fer *in vivo* co-expressant en *E. coli* les diferents subunitats I_N i I_C, i també *in vitro* un cop expressats i purificats els diferents precursors polipeptídics. A continuació, es van construir quatre proteïnes recombinants utilitzant GB1, Ub, Trx i SUMO com a exteïnes i les inteïnes gp41-1, IMPDH-1 i NrdJ-1 mitjançant tècniques de DNA recombinant. Es va estudiar l'activitat de tall i unió proteic tant *in vivo* com *in vitro* per a poder obtenir el producte de tall i unió complet, i es van analitzar aquestes reaccions mitjançant electroforesi SDS-PAGE i espectrometria de masses (MALDI-TOF). Posteriorment, s'ha començat a treballar amb els dominis de la Tar DNA Binding protein of 43kDa (TDP-43), relacionada amb diverses anomalies neurodegeneratives com l'Esclerosi Lateral Amiotròfica, i aquestes mateixes inteïnes, per obtenir variants de TDP-43 marcades isotòpicament en dominis individuals.

Biologia de la reproducci3

Efectes del pèptid antimicrobià Pediocina PA-1 sobre la viabilitat espermàtica i la càrrega bacteriana en dosis seminals porcines

Bussalleu E, Casas I, Bonet S, Briz M

*TechnoSperm, Departament de Biologia, Institut de Tecnologia Agroalimentària,
Universitat de Girona, Girona, Espanya*

Els bacteris resistents als antibiòtics presents en les dosis seminals de porcí causen un descens de la qualitat espermàtica i dels índexs de fertilitat, provocant importants pèrdues econòmiques a la indústria porcina. Una alternativa a l'ús d'antibiòtics en els diluents són els pèptids antimicrobians. Aquest estudi ha avaluat els efectes d'un pèptid antimicrobià produït per *Pediococcus acidilactici*, la pediocina PA-1, sobre la viabilitat espermàtica i la càrrega bacteriana en dosis seminals de porcí. Els tractaments experimentals realitzats en tubs tancats van consistir en l'addició de 10 ng/ml (T1), 100 ng/ml (T2), 350 ng/ml (T3) i 0 ng/ml (T4; control negatiu) de PA-1 a 10 ml de semen; el control positiu fou amb 200 mg/ml de l'antibiòtic kanamicina (T5) (n=5). Les mostres es van avaluar després de 24 h, 48 h, 72 h i 120 h a 17 °C. La viabilitat es va determinar per microscòpia de fluorescència amb el *kit* SYBR14/Iodur de propidi, mentre que la càrrega bacteriana es va avaluar per sembra de 100µl de cada mostra en plaques de medi Luria-Bertani i, incubació de les plaques a 37 °C durant 72h en condicions aeròbiques. Els resultats van mostrar que la PA-1 no era efectiva per controlar el creixement bacterià en dosis seminals de porcí a cap de les concentracions testades. No obstant això, PA-1 a 350 ng/ml presentava valors més elevats de viabilitat espermàtica ($P < 0.05$) en comparació amb 10 ng/ml, cosa que suggereix que la PA-1 podria tenir un efecte protector sobre la viabilitat espermàtica. En futurs estudis es provaran concentracions més elevades de PA-1 per corroborar els seus possibles beneficis sobre la viabilitat espermàtica i sobre el control de la càrrega bacteriana de les dosis seminals de porcí.

La concentració d'hormona antimulleriana al plasma seminal varia entre les diferents fraccions de les ejaculacions porcines

Delgado-Bermúdez A¹, Llavanera M¹, Padilla L², S Recuero¹, Tvarijonaviciute A², Mateo-Otero Y¹, Bonet S¹, Fernández-Fuertes B¹, Yeste M¹, Barranco I¹

¹*Grup de Recerca en Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm), Departament de Biologia i Institut de Tecnologia Agroalimentària (INTEA), Universitat de Girona*

²*Departament de Medicina i Cirurgia Animals, Universitat de Múrcia*

Malgrat sigui ben coneguda la relació entre la concentració d'hormona antimulleriana (AMH) al plasma seminal humà i la qualitat espermàtica, es desconeix la seva presència i funció al plasma seminal porcí. Per aquest motiu, els objectius d'aquest estudi foren: 1) avaluar la presència d'AMH a les diferents fraccions de les ejaculacions porcines, i 2) determinar la seva possible relació amb la fertilitat. Per abordar el primer objectiu, es van recollir les ejaculacions de tres verros per fraccions: els primers 10 mL de la fracció espermàtica (F1), la resta de la fracció espermàtica (F2) i la fracció post-espermàtica (F3). Es va obtenir el plasma seminal de cada fracció per centrifugació, se'n va quantificar l'AMH per ELISA i les dades es van analitzar mitjançant els tests de Kruskal-Wallis i Mann-Whitney ($P \leq 0,05$). Pel segon objectiu, es va quantificar l'AMH al plasma seminal de 51 ejaculacions procedents de 17 verros, que es van emprar per inseminar 2.859 truges (entre 1 i 7 garrinades per truja). La fertilitat dels verros es va avaluar mitjançant la mida de la garrinada, corregida per factors externs a l'individu (relacionats amb la granja i la truja). Els verros es van classificar en dos grups segons la concentració d'AMH al plasma seminal, mitjançant una anàlisi de conglomerats en dues etapes: baixa ($n=15$; mitjana \pm desviació estàndard: $581,61 \pm 125,02$ ng/mL) i alta concentració d'AMH ($n=36$; $856,86 \pm 82,66$ ng/mL), i els dos grups es van comparar mitjançant un test t ($P \leq 0,05$). La concentració d'AMH va ser significativament ($P = 0,05$) més elevada a la F2 ($176,78 \pm 4,43$ ng/mL) i a la F3 ($190,11 \pm 12,14$ ng/mL) que a la F1 ($105,56 \pm 40,73$ ng/mL). A més, les garrinades van ser majors al grup de baixa concentració d'AMH. Aquests resultats suggereixen que la pròstata i les vesícules seminals, que contribueixen a la composició de les fraccions F2 i F3, poden participar en la síntesi d'AMH. A més, es va observar que la concentració d'AMH al plasma seminal està inversament correlacionada amb la prolificitat. *Amb el suport del MCIU (RYC-2014-15581, FJCI-2017-31689 i AGL2017-88329-R).*

Els nivells d'activitat de l'adenosina deaminasa (ADA) del plasma seminal no estan relacionats amb la capacitat fecundant de l'esperma porcina

Garcia-Bonavila E¹, Padilla L², Tvarijonaviciute A², Llavanera M¹, Mateo-Otero Y¹, Delgado-Bermúdez A¹, Recuero S¹, Yeste M¹, Fernández-Fuertes B¹, Barranco I^{1,2}

¹*Departament de Biologia, Universitat de Girona, Girona*

²*Departament de Medicina i Cirurgia Animal, Universitat de Múrcia, Múrcia*

L'adenosina deaminasa (ADA) és un enzim implicat en el metabolisme de les purines i la seva activitat en el plasma seminal humà està relacionada amb la fertilitat. Aquest estudi té com a objectiu avaluar: (1) la presència d'aquest enzim en el plasma seminal de porcí, i (2) la possible relació entre la seva activitat i la fertilitat. Durant un període de 12 mesos, es van recollir un total de 51 ejaculacions de 17 verros inclosos en programes d'inseminació artificial). Les ejaculacions es van centrifugar dues vegades per aïllar el plasma seminal. Es van inseminar un total de 2859 truges múltiples amb dosis comercials procedents de les ejaculacions dels 17 mascles. Les dades de fertilitat de cada verro es van corregir tenint en compte els paràmetres relacionats amb la granja i la truja. L'activitat de l'ADA es va mesurar en mostres de plasma seminal mitjançant un kit comercial i un espectrofotòmetre. Els 17 verros es van classificar mitjançant dues anàlisis de conglomerats jeràrquiques segons les desviacions estàndard de: (1) el percentatge de gestació (baixa: de -2,55 a -0,16%, n=8; alt: de 0,94 a 7,55%, n=9); i (2) la mida de la ventrada (baixa: de -0,36 a 0,03, n=10; alta: de 0,11 a 0,83, n=7). Els resultats van confirmar, per primera vegada en porcí, la presència de l'ADA en el plasma seminal. Els nivells d'activitat de l'ADA en el plasma seminal (mitjana \pm SEM) de les ejaculacions de verros amb percentatges alts i baixos de gestació van ser de $71,08 \pm 9,96$ UI / L i $56,43 \pm 11,67$ UI / L, respectivament. D'altra banda, els nivells d'activitat d'ADA en el plasma seminal de verros amb mides de ventrada alta i baixa van ser de $63,52 \pm 16,25$ UI/L i $64,65 \pm 7,14$ UI/L, respectivament. No obstant això, no es van observar, en cap cas, diferències significatives en els nivells d'activitat de l'ADA entre els dos grups de mascles. En conclusió, l'activitat de l'ADA en el plasma seminal porcí no està relacionada amb la capacitat fecundant de l'esperma. *Suport: AGL2017-88329-R, FJCI-2017-31689 i H2020-MSCA-IF-79212.*

Els canals de potassi SLO1 tenen un paper essencial durant la capacitació *in vitro* d'espermatozoides de porcí

Llavanera M, Yeste M, Puig-Parri J, Bonet S, Pinart E
Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm), Àrea de Biologia Cel·lular, Departament de Biologia, Facultat de Ciències, Institut de Tecnologia Agroalimentària (INTEA), Universitat de Girona, Girona, Espanya.

La capacitació espermàtica és el conjunt de canvis fisiològics que pateix l'espermatozoide per adquirir la capacitat de fecundar l'òcit. Estudis recents en humans han demostrat que hi ha una estreta relació funcional entre els canals de potassi (K^+) i calci (Ca^{2+}) en la regulació de la motilitat dels espermatozoides de mamífer. L'objectiu d'aquest estudi és determinar la presència i localització dels canals de potassi (SLO1) en espermatozoides de porcí mitjançant Western blot i immunofluorescència, i el seu paper fisiològic durant la capacitació *in vitro*. Les mostres d'esperma de 14 animals es van incubar en medi de capacitació durant 300 minuts en presència de paxilina (PAX), un inhibidor específic del canal SLO1, afegit als 0 i 240 minuts d'incubació. Com a control positiu es va utilitzar el tetraetilamoni (TEA), un inhibidor general de canals de K^+ , que també es va afegir als 0 i 240 minuts d'incubació. En totes les mostres, la reacció acrosòmica es va induir amb progesterona (P_4) després de 240 minuts d'incubació. La motilitat i cinemàtica espermàtiques, la integritat de les membranes plasmàtica i acrosòmica, el grau d'empaquetament dels fosfolípids de la membrana plasmàtica, els nivells de Ca^{2+} intracel·lular i l'activitat de l'acrosina es van avaluar després de 0, 60, 120, 180, 240, 250, 270 i 300 minuts d'incubació. En els espermatozoides de porcí els canals SLO1 tenien una massa molecular de 80 kDa i es localitzaven a la regió postacrosòmica anterior i a les peces mitocondrial i principal del flagel. El bloqueig específic dels canals SLO1 mitjançant PAX va resultar en nivells alterats de Ca^{2+} , principalment a la regió cefàlica, i la inducció de la reacció acrosòmica. Com era d'esperar, el bloqueig general dels canals de K^+ mitjançant TEA va alterar la capacitació espermàtica *in vitro*, que es va manifestar en anomalies en la motilitat espermàtica i els nivells de Ca^{2+} intracel·lular, tant de la regió cefàlica com del flagel. En conclusió, els canals SLO1 són crucials per a la homeòstasi del Ca^{2+} i la reacció acrosòmica induïda per la P_4 en espermatozoides de porcí capacitats *in vitro*.

Efectes de la fotoestimulació amb llum vermella sobre la criotolerància dels espermatozoides porcins

Mateo-Otero Y¹, Fernández-Fuertes B¹, Recuero S¹, Delgado-Bermúdez A¹, Llavanera M¹, Rodríguez-Gil JE², Bonet S¹, Barranco I¹, Yeste M¹

¹*Grup de Recerca de Biotecnologia de la Reproducció Animal i Humana (TechnoSperm), Departament de Biologia i Institut de Tecnologia Agroalimentària (INTEA), Universitat de Girona, Girona, Espanya.*

²*Unitat de Reproducció Animal, Departament de Medicina i Cirurgia Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Espanya.*

La fotoestimulació dels espermatozoides porcins augmenta la seva resposta a la capacitat induïda *in vitro* i la seva fertilitat. Tot i això, encara no s'ha estudiat el potencial d'aquesta tecnologia en espermatozoides criopreservats. Per aquest motiu, l'objectiu d'aquest estudi fou determinar si la fotoestimulació mitjançant un díode emissor de llum (LED; longitud d'ona: 620-630 nm) prèvia a la criopreservació tenia algun efecte en la motilitat i viabilitat dels espermatozoides porcins descongelats en l'espècie porcina. Amb aquest propòsit, es van fotoestimar un total de 20 ejaculacions porcines amb un patró de 10 min de llum, 10 min de fosc i 10 min de llum, que es van criopreservar. El control va consistir en mostres no fotoestimulades. Després de la descongelació, els espermatozoides es van incubar a 38 °C durant 30 i 180 min, i se'n va avaluar la motilitat a través del sistema CASA i la viabilitat amb el marcatge SYBR14/PI. Les ejaculacions es van classificar en dos grups (bona, GFE, o mala congelabilitat, PFE) segons els seus valors de motilitat i viabilitat a la post-descongelació. Es va observar que la fotoestimulació millorava la supervivència dels espermatozoides del grup PFE, atès que el percentatge d'espermatozoides SYBR14⁺/PI⁻ als 180 min post-descongelació fou significativament superior que en el control (control: 10.7 ± 0.7 vs. fotoestimat: 21.2 ± 1.3 ; $P < 0.05$). En el cas dels GFE, la fotoestimulació no va produir cap efecte en la qualitat espermàtica post-descongelació. Aquests resultats indiquen que la fotoestimulació amb llum vermella incrementa la criotolerància de les ejaculacions de mala congelabilitat, la qual cosa pot ser útil per aquells verros que, malgrat tenir un elevat interès genètic, presenten una baixa resistència a la criopreservació. Tanmateix, calen més estudis per esclarir quin mecanisme cel·lular es troba al darrera d'aquest increment de la criotolerància espermàtica. *Amb el suport del MCIU (RYC-2014-15581 i AGL2017-88329-R).*

Efecte de la còpula amb toros intactes o vasectomitzats en l'expressió gènica del tracte reproductor femení

Recuero S¹, Sánchez JM², Mateo-Otero Y¹, Bages-Arnal S², McDonald M², Behura SK³, Spencer TE³, Yeste M¹, Lonergan P², Fernández-Fuertes B¹

¹ *Departament de Biologia, Facultat de Ciències, Institut de Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, Girona, Espanya*

² *School of Agriculture and Food Science, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland*

³ *Division of Animal Sciences, University of Missouri, Columbia, Missouri, 65211, USA*

En ratolí i porcí s'ha demostrat que el plasma seminal (PS) té un paper immunoregulator a l'úter. Tanmateix, en aquestes espècies l'ejaculació té lloc a l'úter, mentre que en boví l'ejaculació és vaginal. La hipòtesi d'aquest estudi és que, en el boví, el PS indueix una resposta immunitària a la vagina que es propaga a les regions distals del tracte femení. Per testar-la, es va sincronitzar l'estre en vaques que: 1) es van muntar amb toros intactes (esperma + PS, n=7); 2) amb toros vasectomitzats (només PS, n=8), o 3) no es van muntar (control, n=7). Les vaques es van sacrificar 24 ± 6 h després de la còpula i es van recollir mostres de vagina, i de la banya uterina i l'oviducte ipsilaterals. Les mostres uterines es van processar per RNAseq, mentre que les de vagina i oviducte es van analitzar mitjançant RT-qPCR. No es van observar gens diferencialment expressats (GDE) entre el grup vasectomitzat i el control. Per altra banda, la còpula amb toro intacte resultà en 22 i 24 GDE comparats amb els grups control i vasectomitzat, respectivament. En vagina i oviducte, es va analitzar l'expressió de 6 GDE implicats en la implantació i la regulació immunitària (*CX3CL1*, *C4BPA*, *PLA2G10*, *BLA-DQB*, *PRSS2* i *CEBPD*), així com la d'una selecció de citoquines (*IL6*, *IL1A*, *TNF* i *IL8*) regulades pel plasma seminal en altres espècies. No es van observar diferències en l'expressió d'aquests gens entre tractaments. Això no obstant, es va observar que l'expressió de *IL8* i *TNF* era significativament superior a la vagina que a l'oviducte després de la còpula amb toro intacte ($P < 0,05$). D'acord amb aquests resultats, l'espermatozoide, però no el plasma seminal per sí sol, indueix canvis en el transcriptoma del tracte reproductor femení. Tanmateix, cal determinar si aquests canvis són produïts per les proteïnes intrínseques d'aquesta cèl·lula o bé per les proteïnes del plasma seminal que s'adhereixen a l'espermatozoide. Aquests resultats no recolzen un efecte directe del plasma seminal en la regulació de la gestació en el boví. *Finançat per EU-H2020-MSCA-792212.*

Factors que afecten el patró de col·lapse/expansió previ a l'eclosió de blastocists humans: estudi preliminar

Sarquella-Ventura J¹, Hugas M¹, Fernández-Reig M¹, Julià L¹, Ferrer-Guixeras M¹, Pinart E²

¹*Unitat de Reproducció Humana i Diagnòstic Genètic. Clínica Girona, S.L., Girona, Espanya*

²*Departament de Biologia, Facultat de Ciències, Institut de Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, Girona, Espanya*

Abans de l'eclosió del blastocist té lloc un procés de col·lapse o contracció seguit de l'expansió del blastocel; el patró de col·lapse/expansió podria afectar la capacitat d'implantació del blastocist eclosionat. L'objectiu d'aquest estudi va ser determinar l'efecte de l'origen dels oòcits i la fragmentació del DNA espermàtic sobre el patró de col·lapse/expansió. Pel que fa a l'origen dels oòcits, l'estudi inclou embrions obtinguts a partir d'oòcits de parella ($n=85$) i embrions obtinguts d'oòcits de donant ($n=33$) del programa de Fecundació *in vitro* de GIROFIV entre 2016 i 2018. Els embrions van ser incubats en un incubador time-lapse Embryoscope a 37 °C, 5,5% de CO₂ i 7% d'O₂ en medi LifeGlobal® fins a l'estadi de blastocist (dia +6). La mesura de l'àrea dels blastocists (μm^2), mitjançant la funció DrowEllipse, al començament i al final del procés de col·lapse/expansió va permetre establir dos patrons: 1) col·lapse/expansió no visible i 2) col·lapse/expansió pulsatiu, que es caracteritzava per una reducció de fins el 40% del volum embrionari. La fragmentació del DNA espermàtic de doble cadena (dsDNA) es va determinar mitjançant l'assaig COMET, diferenciant entre DNA no fragmentat (<60%) i DNA fragmentat ($\geq 60\%$). Els resultats van mostrar diferències en el patró de col·lapse/expansió dels blastocists en funció de l'origen dels oòcits. Així doncs, en els blastocists obtinguts a partir d'oòcits de la parella el patró de col·lapse/expansió no estava afectat per la fragmentació del dsDNA, essent no visible en un 40% i pulsatiu en un 60% dels embrions. La fragmentació del dsDNA espermàtic va afectar el patró de col·lapse/expansió dels blastocists obtinguts a partir d'oòcits de donant; si el dsDNA no estava fragmentat un 85% dels blastocists tenien un patró no visible, mentre que amb DNA fragmentat un 53% dels embrions van mostrar un patró pulsatiu.

Biologia vegetal

Transcrits i miRNAs que diferencien el suro d'altres escorces tipus ritidoma

Armendariz I¹, López de Heredia U², Soto A², Serra O¹, Figueras M¹

¹Laboratori del Suro, Universitat de Girona, Campus Montilivi, Girona, Espanya

²Sistemas Naturales e Historia Forestal, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid,
Espanya

Les tiges i arrels que presenten creixement radial desenvolupen una estructura anomenada periderma generada per l'activitat del fel·logen. El primer fel·logen de la tija es forma subepidèrmicament com a resposta al trencament de l'epidermis protectora degut al creixement radial intern de l'òrgan i a través de la seva activitat genera un teixit extern protector anomenat fel·lema, també part de la periderma. L'alzina surera o *Quercus suber* presenta excepcionalment un fel·logen que és permanent i circumferencial, el que li permet a través d'activacions estacionals generar noves capes donant lloc al suro com a escorça externa. En la majoria d'altres llenyoses, com l'alzina o *Quercus ilex*, el fel·logen és discontinu i es crea de nou i més internament en cada activació estacional, el que genera una escorça externa tipus ritidoma, que correspon a una barreja de teixits majoritàriament morts (periderma i floema). L'alzina i l'alzina surera són espècies filogenèticament properes, capaces d'hibridar i donar lloc a una progènie amb una escorça externa de fenotip variable. Per tal d'estudiar els processos moleculars que diferencien aquestes escorces, es va analitzar el transcriptoma i el miRNoma de l'escorça externa de sureres, alzines i híbrids de fenotip variable. L'anàlisi va permetre identificar 8336 gens i 23 miRNAs amb expressió diferencial. Els transcrits es van agrupar en 8 clústers segons els seus patrons d'expressió en les diferents mostres. Els gens induïts en escorces tipus suro s'han relacionat amb la síntesi de suberina (polímer protector) i amb l'activitat meristemàtica del fel·logen així com amb les propietats mecàniques de la paret cel·lular, processos que podrien explicar el comportament circumferencial i permanent del fel·logen de la surera. L'anàlisi concomitant del miRNoma i el transcriptoma ha permès identificar les dianes potencials dels miRNAs, fet que ens acostava als mecanismes epigenètics que regulen i diferencien la formació d'aquestes escorces.

Diferències fisiològiques i de creixement entre plantes de fulla caduca i perenne en resposta a un augment de la radiació UV i a una reducció de la disponibilitat hídrica

Díaz-Guerra L¹, Llorens L¹, Font J^{1,2}, González JA³, Verdaguer D¹

¹*Departament de Ciències Ambientals, Facultat de Ciències, Universitat de Girona, Espanya.*

²*Facultat de Ciència i Tecnologia, Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya, Espanya.*

³*Departament de Física, Escola Politècnica, Universitat de Girona, Espanya.*

En els pròxims anys, com a conseqüència del canvi climàtic, s'espera un increment dels nivells de radiació UV ambiental que arriba a la conca del Mediterrani, juntament amb sequeres més prolongades. En aquest context, el nostre objectiu és examinar els efectes d'un augment de la radiació UV (UV-A i UV-B) i una disminució de la disponibilitat hídrica sobre la morfologia i fisiologia foliar i el creixement de sis espècies vegetals, tres caducifòlies (*Crataegus monogyna*, *Pistacia terebinthus* i *Robinia pseudoacacia*) i tres perennifòlies (*Arbutus unedo*, *Pittosporum tobira* i *Quercus suber*), de gran importància ecològica a la península Ibèrica. Així, el juny de 2012, vam començar un experiment a l'aire lliure amb plàntules d'aquestes sis espècies, les quals vam fer créixer durant 5 mesos sota tres nivells de radiació UV (UV ambiental o control, augment d'UV-A i augment d'UV-A+UV-B) en combinació amb dos nivells de reg (ben regat i sequera). Pel que fa als resultats principals, les espècies perennifòlies van incrementar l'eficiència fotosintètica màxima quan van créixer sota un increment d'UV-A i UV-B. A més, en condicions de reg òptim, les plàntules d'aquestes espècies exposades a nivells més alts de radiació UV (especialment UV-A) van mostrar una menor biomassa de fulles en comparació amb les exposades a UV ambiental. Per contra, les espècies de fulla caduca van ser més sensibles a la radiació UV sota condicions de baixa disponibilitat d'aigua. Així, en aquestes espècies, l'augment en la radiació UV (especialment UV-A) va incrementar la biomassa aèria i el gruix foliar només en condicions de reg baix. Per tant, les respostes presentades pels dos tipus d'espècies per a fer front a l'augment en la radiació UV i a una reducció en la disponibilitat hídrica van ser marcadament diferents, tot i que aparentment van ser efectives ja que no vam detectar efectes negatius rellevants a nivell fisiològic, com a mínim a curt termini.

Genètica inversa en *Arabidopsis* usant un sistema CRISPR-Cas9 multiplex per estudiar la formació del fel·lema

Sánchez-Guirado C¹, Ursache R², Figueras M¹, Geldner N², Serra O¹

¹Laboratori del Suro, Universitat de Girona, Spain

²Department of Plant Molecular Biology, University of Lausanne, Switzerland

En els òrgans que presenten creixement secundari tals com tiges i arrels, la funció protectora la confereix el fel·lema, les cèl·lules del qual, una vegada formades, s'elonguen radialment i acumulen lignina i suberina seguint un patró espacio-temporal concret. Varis estudis transcriptòmics del fel·lema o suro de *Quercus suber* ens van permetre identificar un grup de proteïnes d'una mateixa família multigènica candidates per a la modificació espacio-temporal de les cèl·lules del fel·lema. Es van identificar els ortòlegs d'aquests gens en *Arabidopsis thaliana*, i el fet que s'activés la seva transcripció en el fel·lema demostrava la seva importància en aquest teixit. Per tal de demostrar la seva funció, possiblement redundant, ens vam proposar una estratègia de mutació múltiple en *Arabidopsis* basada en el sistema CRISPR-Cas9, pensada per generar pèrdua de funció en els 4 gens a la vegada (quàdruple) per augmentar la probabilitat de poder observar un fenotip associat amb el fel·lema. Per cada gen, es van dissenyar 2-3 RNA guies (gRNA) específiques per produir almenys dos talls en el DNA (DSBs) i generar, així, delecions de centenars de parells de bases pel sistema de reparació *Non-Homologous End Joining* (NHEJ). Aquestes delecions són fàcils de detectar mitjançant l'amplificació per PCR i posterior anàlisi de la mida dels fragments en gel d'agarosa. Les gRNAs es van clonar conjuntament amb la nucleasa Cas9 i es van introduir en el genoma d'*Arabidopsis* a l'atzar mitjançant el mètode del *floral dip*. Es van seleccionar aquells individus que havien incorporat el transgen i se'n va analitzar el DNA per cada gen per obtenir la freqüència de delecions al·lèliques i avaluar, així, l'eficiència de mutació de cada una de les gRNAs. Una vegada identificats els individus *knock-out* quàdruples homozigots, aquests s'auto-pollinitzaran per segregar la nucleasa Cas9 i aconseguir línies estables, les quals podran ser utilitzades com a eina per avaluar la funció que tenen el grup de proteïnes candidates en la formació del fel·lema.

Genètica molecular

Una potencial mutació *de novo* a *ACTC1* podria induir cardiomiopatia dilatada en un dels membres d'una família mexicana

Alvarado-Cervantes YA¹, Balderrabano N², Hu D³, Acuña-Ochoa J, Pfeiffer R³, Wu Y³, Carrier T³ i Barajas-Martinez H⁴

¹*Institut d'Investigació Biomèdica de Girona Dr. Josep Trueta.*

²*Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Ciudad de México, México.*

³*Molecular Genetics Department, Masonic Medical Research Laboratory, Utica, New York.*

⁴*Lankenau Institute for Medical Research, Wynnewood, Pennsylvania, United States.*

Introducció. Les cardiomiopaties són malalties que comprometen l'estructura normal del cor. Això té conseqüències en la contracció i el flux sanguini, el que predisposa a patir mort sobtada cardíaca. El "National Heart Lung and Blood Institute" classifica les cardiomiopaties en 3 principals tipus: la cardiomiopatia dilatada, en la qual es presenta una dilatació i allargament dels ventricles, amb la conseqüent debilitació de l'ejecció sanguínia; la hipertròfica, on hi ha un augment sever en el gruix del miocardi, bloquejant el flux sanguini; i la displàsia aritmogènica, on hi ha un reemplaçament del miocardi amb teixit gras o fibrós. **Objectiu.** Determinar l'associació entre la presència de mutacions en gens estructurals cardíacs i l'aparició de cardiopaties. **Metodologia.** Es van analitzar 2 panells de gens mitjançant seqüenciació massiva de nova generació, un conformat per 63 gens estructurals i l'altre amb 87 gens funcionals. Les variants trobades tant en pacients com en familiars van ser confirmades per Sanger. L'anàlisi es va realitzar mitjançant eines bioinformàtiques. Tots els pacients participants en l'estudi van ser abans diagnosticats per un cardiòleg mitjançant exploració diagnòstica, complementada amb estudis electro i eco- cardiogràfics. **Resultats.** Es va trobar una variant potencialment patogènica en el gen *ACTC1*, que es mostra com una mutació *de novo* al revisar el pedigrí familiar. A més, el pacient era portador d'altres variants en els gens *TTN* i *PCSK9*, les quals van ser heretades del pare. **Discussió.** El gen *ACTC1*, altament conservat entre espècies, codifica per la isoforma α -actina present en el múscul cardíac. Aquesta proteïna té un paper crucial en la contracció del múscul cardíac a l'ancorar-se a la banda z del sarcòmer i els caps de miosina. D'altra banda el gen *TTN* codifica per la titina, una de les principals proteïnes implicades en la contracció cardíaca. **Conclusions.** El nostre grup de recerca proposa una mutació *de novo* en el gen *ACTC1* que podria estar associada a cardiomiopatia dilatada. Aquesta no ha estat reportada i presenta un potencial efecte perjudicial que podria estar induint el fenotip de cardiomiopatia dilatada en el nostre pacient.

Estudi comparatiu dels efectes d'una mutació a *SCN5A* en una família diagnosticada amb Síndrome de Brugada utilitzant iPS-CM

Martinez-Moreno R, Carreras D, Selga E, Sarquella-Brugada G, Brugada R, Perez GJ, Scornik FS.

Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona. Institut d'Investigació Biomèdica de Girona.

Facultat de Medicina, Universitat de Vic. Ciències Mèdiques, Universitat de Barcelona. Unitat d'Arítmies de l'Hospital Sant Joan de Déu. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV).

La síndrome de Brugada (SBr) és una malaltia cardíaca aritmogènica que predisposa a la mort sobtada cardíaca. Està associada amb mutacions al gen *SCN5A*, que codifica per la subunitat alfa del canal de sodi cardíac ($I_{NaV1.5}$). En aquest projecte, vam investigar una mutació al gen *SCN5A* (c. 4573 G>A; $NaV1.5_p.V1525M$), trobada en una família amb un cas de mort sobtada. El nostre objectiu era analitzar les diferències en les propietats de la corrent de sodi (I_{Na}) en els cardiomiòcits derivats de cèl·lules pluripotents induïdes (iPS-CM) de tres membres de la família. Dos eren portadors heterozigots i un no portador. Els fibroblasts dels pacients van ser reprogramats a cèl·lules iPS i posteriorment diferenciats a monocapes de iPS-CM. La I_{Na} va ser estudiada amb la tècnica Patch Clamp whole cell. Es va observar una pèrdua total de I_{Na} en un alt percentatge de cèl·lules dels dos portadors (62% $n=53$, 54% $n=37$). En les cèl·lules que tenien I_{Na} vam observar una dràstica disminució de la seva densitat (77% $n=19$, 82% $n=13$), comparat amb el no portador ($n=13$). La constant de temps de la recuperació de la inactivació de la corrent estava incrementada només en un dels dos portadors. A més, vam estudiar cèl·lules tsA201 transfectades amb la mutació ($NaV1.5^{WT/V1525M}$). La reducció en I_{Na} va ser del 24% comparat amb el Wild Type ($NaV1.5^{WT/WT}$). Les cèl·lules tsA201 transfectades no recapitulen la pèrdua total de I_{Na} . Els nostres resultats suggereixen que la mutació estudiada pot causar SBr en la família. També, demostra la importància d'utilitzar mdels fisiològicament rellevants per entendre el rol de les mutacions en malalties aritmogèniques.

Un haplotip comú en una regió “enhancer” està fortament associat amb un augment de la susceptibilitat a arrítmia cardíaca.

Pinsach-Abuin M^{1,2,3,4}, del Olmo B^{1,2,3,4}, Mates J^{1,2,3}, Pérez-Agustín A^{1,2,3}, Allegue C^{2,3,4}, Ma Q⁴, Merkurjev D⁴ Konovalov, S⁴, Telenti A⁷, Duran M⁵, Brugada R^{1,2,3,6}, di Iulio J⁷, Garcia-Bassets I⁴, Pagans S^{1,2,3}

¹*Department of Medical Sciences, School of Medicine, University of Girona, Girona, Spain*

²*Cardiovascular Genetics Center, Institut d'Investigació Biomèdica de Girona, Salt, Spain*

³*Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Madrid, Spain*

⁴*Department of Medicine, School of Medicine, University of California, San Diego (UCSD), La Jolla, CA, USA.*

⁵*Institut de Química Computacional i Catàlisi (IQCC) and Departament de Química, Universitat de Girona, Girona, Spain.*

⁶*Cardiology Service, Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Girona, Spain*

⁷*Department of Integrative Structural and Computational Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA.*

La síndrome de Brugada (SBr) és una malaltia elèctrica cardíaca amb una elevada susceptibilitat a arrítmies ventriculars i mort sobtada cardíaca. Variants genètiques en regions codificants del gen *SCN5A*, que codifica per la subunitat formadora de porus del canal de sodi cardíac, s'han relacionat amb la SBr en un 25% dels casos. De manera similar, variants genètiques en regions codificants d'altres gens com l'*SCN2B*, *SCN3B*, *CACNA1C*, *CACNB2* i *CACNA2D1* s'han identificat en pacients amb SBr, però el seu paper en la patologia encara no és del tot clar. Així doncs, existeix una elevada proporció de pacients diagnosticats amb SBr en els quals l'etiologia de la malaltia és encara desconeguda.

Per tal d'estudiar el paper de les variants en regions no-codificants en SBr, vam anotar 1,293 regions no-codificants candidates a actuar com a regions reguladores en *cis* de l'*SCN5A*, *SCN2B*, *SCN3B*, *CACNA1C*, *CACNB2* i *CACNA2D1*. Vam capturar i seqüenciar aquestes regions reguladores en 86 pacients diagnosticats amb SBr, i vam comparar el catàleg de variants d'un sol nucleòtid (SNVs) identificats amb la variació present en individus d'origen Europeu. Aquesta comparativa ens ha permès identificar cinc SNVs comunes en una regió “enhancer” (regió reguladora en *cis* estimuladora de la transcripció) a 5' del gen *SCN5A*, que formen nou combinacions al·lèliques diferents (haplotips Hap1-Hap9) en població Europea. Els nostres anàlisis indiquen que l'Hap1 en homozigosi està associat a un elevat risc de SBr, mentre que els haplotips Hap3 i Hap6 estan associats a una reducció de risc de SBr. Actualment estem analitzant l'expressió de característiques quantitatives (eQTL) utilitzant dades d'expressió gènica en ventricle esquerre del Genotype-Tissue Expression (GTEx). Aquest anàlisi ens donarà informació sobre la correlació entre Hap1/Hap1 i l'expressió de *SCN5A*. Els nostres resultats podrien suggerir que Hap1/Hap1 és un genotip comú amb un elevat risc de mort sobtada cardíaca en població Europea.

Un codó stop prematur en la Placofilina-2 causa una disminució en l'expressió de gens relacionats amb la Cardiomiopatia Arritmogènica en el model cel·lular HL1

Vallverdú-Prats M¹, Alcalde M¹, Brugada R^{1,2}

¹*Centre de Genètica Cardiovascular, Institut d'Investigació Biomèdica de Girona Dr. J. Trueta, Girona.*

²*Departament de Ciències Mèdiques. Facultat de Medicina, Universitat de Girona.*

Introducció: La Cardiomiopatia Arritmogènica (CMA) és una malaltia hereditària rara caracteritzada per la substitució progressiva del miocardi per teixit fibroadipós. La CMA pot donar lloc a mort sobtada cardíaca en adults joves, especialment atletes. El principal gen causal de la CMA és la placofilina-2 (*PKP2*) (40% dels pacients) i les variants genètiques més comunes són les que generen els Codons Stop Prematurs (CSP). S'ha descrit que mutacions a *PKP2* podrien afectar la via de senyalització de Wnt/ β -catenin promovent l'adipogènesis. Aquests mecanismes moleculars encara són parcialment desconeguts. **Objectiu:** Estudiar els mecanismes moleculars que es desencadenen quan hi ha un CSP a *PKP2* i les seves implicacions funcionals. **Metodologia:** S'ha editat la línia cel·lular HL1 mitjançant CRISPR-Cas9 per generar línies isogèniques portadores de CSP *PKP2* (92 aa) en homozigosis. S'han analitzat varis clons per RT-PCR i Western Blot per estudiar els nivells d'expressió de gens relacionats amb la CMA: desmosomes, cicle de calci i connexoma. Mitjançant un assaig luciferasa del promotor TCF/LEF, s'ha avaluat el paper de *PKP2* en la via Wnt/ β -catenin. **Resultats:** Els clons HL1 amb CSP-*PKP2* han mostrat una disminució d'expressió a nivell d'mRNA de *SCN5A*, *CX43*, *RyR2*, *Atp2a2*, *Slc8a1* i *Casq2*, i absència total en els gens *DSC2* i *ANK2*. A nivell de proteïna, s'observa una absència total de *PKP2* i *ANK2*. Els clons editats CSP-*PKP2* d'HL1 no presenten diferències significatives en l'activitat del promotor TCF/LEF en l'assaig luciferasa. **Conclusions:** Els resultats suggereixen que l'mRNA portador de CSP a *PKP2* és degradat pel sistema *nonsense mediated decay* causant l'absència completa de *PKP2*. CSP-*PKP2* provoca molts canvis a nivell d'expressió gènica en gens relacionats amb la CMA així com l'absència completa de *DSC2* i *ANK2* a nivell d'RNA, cosa que suggereix un possible rol com a regulador transcripcional.

Microbiologia

Transcriptòmica comparativa per identificar diferències en l'expressió gènica entre soques AIEC i no-AIEC durant la infecció in vitro de cultius cel·lulars

Bonet-Rossinyol Q, Camprubí-Font C, Martínez-Medina M
*Grup de Recerca Microbiologia de la Malaltia Intestinal, Departament de Biologia,
Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

La identificació de les soques *Escherichia coli* adherent invasives (AIEC), les quals s'han associat a la malaltia de Crohn, és laboriosa i no estandarditzable. Estudis genètics han demostrat l'absència d'una seqüència comuna que permeti la seva identificació molecular. El nostre objectiu és detectar gens diferencialment expressats (DEGs) entre aïllats clínics de AIEC i no-AIEC per tal de determinar si aquestes diferències d'expressió estan implicades en el fenotip AIEC.

En la transcriptòmica comparativa es van seleccionar dues parelles de soques AIEC/no-AIEC amb pulsotip idèntic, que pertanyen als filogrupos B1 i D. L'expressió diferencial d'aquestes soques es va analitzar durant la infecció de cèl·lules I-407 i es va separar la fracció de sobrenedant (SN) de la fracció adherent i/o invasiva de cèl·lules epitelials intestinals (A/I). Les diferències d'expressió observades van ser validades per RT-qPCR (Fluidigm) utilitzant les mateixes parelles de soques. A més, els DEGs van ser estudiats en un socari de 14 AIEC i 26 no-AIEC.

Es van detectar 67 DEGs, dels quals 19 estaven sobreexpressats i 48 infraexpressats en AIEC. Un 79% dels DEGs que van ser analitzats a les dues parelles de soques utilitzant Fluidigm, es van confirmar. A l'estudi amb el socari, es van detectar 6 gens amb una prevalença major en AIEC (71-97 %) respecte a les no-AIEC (44-82 %) (p-valor < 0,047). A més, es van observar 6 gens amb una expressió significativament més elevada en AIEC ($2,64 \pm 1,63$) respecte a les no-AIEC ($0,42 \pm 0,95$) (p-valor < 0,048), dels quals 5 d'ells van ser detectats a la fracció de SN.

No hi ha assajos previs de transcriptòmica comparativa en AIEC que utilitzin cultius cel·lulars infectats. S'han detectat varis DEGs que podrien estar involucrats en la patogenicitat de les AIEC i són possibles candidats per la identificació molecular. Tot i això, es necessiten altres estudis per determinar el paper d'aquests DEGs en el fenotip AIEC i validar la capacitat predictiva d'aquest mètode.

Efectes colaterals de l'addició de nitrat sobre el resistoma dels col·lectors d'aigua residual

Gionchetta G¹, Kassotaki E¹, Fillol M¹, Sanchez A¹, Balcazar JL¹ i Borrego CM^{1,2}

¹*Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA), Girona.*

²*Grup d'Ecologia Microbiana Molecular, Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Girona*

Les companyies que gestionen el clavegueram sovint utilitzen tractaments químics com l'addició de nitrat per mitigar les emissions de gasos nocius (metà o sulfhídric) en els col·lectors d'aigua residual. El nitrat és un potent oxidant que redueix significativament la producció de metà i sulfhídric derivada de l'activitat microbiana (metanogènesi i sulfato-reducció, respectivament) dominant en les condicions anòxiques dels col·lectors. Aquests són una xarxa de canonades i estacions de bombeig que recullen les excretes urbanes per conduir-les fins les estacions depuradores. Lluny de ser un sistema de transport passiu, els col·lectors són punts calents de diversitat i activitat microbiana i un hàbitat singular on s'acumulen una gran diversitat de bacteris resistents als antibiòtics, ja sigui per deposició directa a partir dels residus urbans o com a resultat de la pressió selectiva dels residus farmacèutics sobre la microbiota del sistema.

Si bé es coneix que el clavegueram és un reservori de microorganismes, molt d'ells ja resistents als antibiòtics, és menys conegut si l'estrès oxidatiu provocat per l'addició de nitrat té algun efecte sobre la seva abundància i, encara menys, si causa un estrès que estimuli la disseminació dels gens de resistència. Per resoldre aquests interrogants es van pendre mostres d'un col·lector d'aigua residual abans i després de l'addició de nitrat i es van analitzar els canvis en la diversitat i abundància del resistoma i del moviloma (tots els gens implicats en la transferència de gens entre bacteris) a partir de dades de metagenòmica (Shotgun Metagenomic Sequencing utilitzant Illumina). Els resultats confirmen que tant els gens de resistència a antibiòtics com els relacionats amb la transferència horitzontal de gens augmenten després de l'addició de nitrat. A més, la quantificació per qPCR de transcrits de diferents gens de resistència (*sull*, *bla*_{TEM}, *tetW*, *ermB*, *qnrS*) confirma que l'addició de nitrat causa un augment significatiu en l'expressió de la majoria d'aquests gens. Els resultats confirmen que l'aplicació rutinària d'aquests tractaments químics per a mitigar les emissions de gasos nocius també causen uns efectes colaterals sobre la microbiota de l'aigua residual, estimulants la transferència horitzontal de gens i, per tant, possibilitant la disseminació dels gens de resistència a antibiòtics.

Bio-càtodes per a la producció *in-situ* d'hidrogen

Perona-Vico E¹, Feliu-Paradedà L¹, Rovira-Alsina L², Balaguer MD², Puig S², Bañeras LL¹

¹*Grup d'Ecologia Microbiana Molecular. Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Girona.*

²*LEQUiA, Institut de Medi Ambient, Universitat de Girona, Girona*

L'electrosíntesi microbiana, entesa com l'ús del corrent elèctric i el CO₂ com a úniques fonts d'energia i carboni per a la biosíntesi, es proposa com una tecnologia prometedora en l'obtenció des de bio-combustibles fins a proteïnes per a la indústria alimentària. Els reactors dissenyats per promoure l'electrosíntesi es coneixen com a sistemes bioelectroquímics (en anglès BES) i aprofiten la capacitat que tenen un grup reduït de microorganismes per captar electrons i transformar-los en compostos solubles. Aquests electrons deriven d'una superfície conductora (càtode) connectada a un potenciostat. Per tant, l'estudi de les funcions dels microorganismes en aquest entorn així com, entendre la capacitat d'interacció d'aquests microorganismes amb el càtode, ha de permetre incrementar l'eficiència dels processos electroquímics. La producció d'hidrogen (H₂) com a element intermediari per transformar el corrent elèctric al producte final, sembla ser un dels mecanismes més rellevants per a la producció dels compostos d'interès, ja que pot mitjançar molts processos biològics catalitzats pels microorganismes. D'aquesta manera, en aquest estudi hem avaluat la capacitat de deu soques bacterianes amb l'objectiu de determinar la seva capacitat de producció d'hidrogen. Els resultats han estat positius en set de les espècies testades, suggerint la seva capacitat electrotròfica. No obstant, la presència dels microorganismes no ha demostrat un augment significatiu de les taxes de producció d'hidrogen en comparació a un control sense cèl·lules. En conclusió, els resultats suggereixen que, tot i que aparentment els microorganismes són capaços d'acceptar electrons, podrien estar-los usant per a altres processos metabòlics i no per la producció neta d'hidrogen. Conseqüentment, és necessari ampliar el coneixement sobre els microorganismes electroactius i les seves funcions, per millorar els processos d'electrosíntesi.

Neurobiologia

Estudi dels efectes preventius d'un extracte polifenòlic d'origen vegetal sobre el desenvolupament del dolor neuropàtic induït per una lesió medul·lar en ratolí

Bagó-Mas A¹, Deulofeu M¹, Homs J^{1,2}, Verdú E¹, Fiol N³, Boadas-Vaello P¹

¹*Grup de recerca en Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA), Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

²*Departament de Fisioteràpia, EUSES – Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

³*Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

La lesió de la medul·la espinal (LME) provoca dolor neuropàtic central (DNC) en aproximadament el 65% dels lesionats. En gran mesura són refractaris als tractaments actuals i per tant és necessari desenvolupar nous enfocaments terapèutics. D'entre aquests, es pot destacar l'ús de compostos polifenòlics, ja que estudis preclínics indiquen que poden exercir efectes antinociceptius. Així, l'objectiu d'aquest treball va ser estudiar els efectes preventius d'un extracte vegetal polifenòlic (CE1720) sobre el desenvolupament del DNC induït per una LME en ratolins.

Ratolins femella *Swiss* van ser sotmesos a una LME lleu i tractats diàriament amb CE1720 (10 i 15 mg/kg; i.p) durant la primera setmana. Es van avaluar la hiperalgèsia tèrmica (test de Hargreaves), l'algodínia mecànica (filaments Von Frey) i l'activitat locomotora (escala de Basso, BMS) setmanalment i fins a 21 dies post-lesió (dpl). Al final de l'experiment, es va estudiar la reactivitat glial (GFAP i Iba1) de la medul·la espinal amb tècniques d'immunohistoquímica i western blot. Es van analitzar també els nivells sèrics de biomarcadors d'hepatotoxicitat (ALT i AST) i nefrotoxicitat (Urea) per avaluar la seguretat farmacològica del tractament. La concentració de polifenols de CE1720 es va determinar mitjançant el mètode Folin-Ciocalteu.

El desenvolupament del DNC es va atenuar significativament fins a 21 dpl en els animals tractats, arribant a la prevenció completa amb la dosi de 10mg/kg. Els resultats BMS indicaren absència significativa de disfunció locomotora en els animals. Les dues dosis van reduir la gliosi a la medul·la espinal però la dosi de 10 mg/kg va presentar un millor efecte atenuador. No s'observaren increments significatius d'ALT, AST o urea en sèrum.

Es pot concloure que el tractament amb CE1720 podria ser una bona estratègia farmacològica per prevenir el desenvolupament del DNC després de la LME.

Agraïments: Vicerektorat de Recerca UdG (MPCUdG2016/087) i Fundació La MARATÓ de TV3 (201705.30.31).

Referències

- Monereo, C. (2001). *La enseñanza estratégica: enseñar para la autonomía*. A C. Monereo (coord), Ser estratégico y autónomo aprendiendo. Barcelona: Ed: Graó.
- Pearson, P.D. (2009). *The roots of reading comprehension instruction*, in Israel, S.E. Duffy, G.G. (eds). Handbook of research on reading comprehension. New York. Routledge

Un mètode innovador basat en la combinació de MALDI-TOF i de xarxes neurals artificials per classificar diferents tipus de dolor patològic en models animals.

Deulofeu M^{1,2,3}, Peña-Méndez EM⁴, Vañhara P^{3,5}, Havel J^{2,5}, Verdú E¹, Salvadó V⁶, Boadas-Vaello P¹

¹*Grup de recerca en anatomia clínica, embriologia i neurociència (NEOMA), Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

²*Departament de Química, Facultat de Ciències, Universitat de Masaryk, Brno, República Txeca*

³*Departament d'Histologia i Embriologia, Facultat de Medicina, Universitat de Masaryk, Brno, República Txeca*

⁴*Departament de Química, Divisió de Química Analítica, Facultat de Ciències, Universitat de la Laguna, San Cristóbal de La Laguna, Tenerife, Espanya*

⁵*Centre de Recerca Clínica Internacional, Hospital Universitari de Santa Anna, Brno, República Txeca*

⁶*Departament de Química, Facultat de Ciències, Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

Un gran nombre de molècules participen en la fisiopatologia del dolor nociplàstic i del dolor neuropàtic central. No obstant, determinar biomarcadors específics per a cada condició mitjançant les tècniques bioquímiques actuals pot ser una tasca complexa. Per això, l'ús de tècniques d'espectrometria de masses, com el MALDI-TOF MS, combinades amb intel·ligència artificial pot permetre obtenir empremtes espectrals específiques que poden ser útils per diagnosticar dolors de diferent naturalesa, així com per determinar possibles dianes terapèutiques en el futur.

Ratolins CD1 femella van ser sotmeses a miàlgia induïda per reserpina (grup RIM) o a lesió medul·lar per contusió (grup SCI). Setmanalment es van avaluar diferents respostes evocades de dolor i al final del període experimental es van obtenir mostres de sèrum que van ser analitzades mitjançant MALDI-TOF MS. Els espectres de masses es van avaluar mitjançant l'anàlisi de components principals (PCA) i xarxes neuronals artificials (ANNs).

Les proves funcionals van revelar que tant els animals administrats amb reserpina com els lesionats medul·lars presentaven hiperalgèsia tèrmica i al·lodínia mecànica. A més, l'anàlisi del sèrum mitjançant MALDI-TOF va revelar que els espectres de masses eren diferents no només respecte els animals control sinó que també eren diferents entre els dos grups de dolor (RIM i SCI) suggerint que les molècules presents en sèrum eren diferents. Per tant, l'anàlisi dels espectres de masses mitjançant les ANNs permet distingir animals amb diferents tipus de dolor sense necessitat d'identificar els biomarcadors.

En resum, s'ha desenvolupat un mètode innovador, senzill i ràpid, basat en l'anàlisi del sèrum amb MALDI TOF MS en combinació amb ANNs, per a la detecció i classificació del dolor patològic.

Agraïments: Universitat de Girona (MPCUdG2016/087) i Fundació La MARATÓ de TV3 (201705.30.31) de Catalunya; i Departament de Química, Facultat de Ciències, Universitat Masaryk, Brno, República Txeca.

L'autoestimulació elèctrica intracranial modula els nivells de la proteïna SIRT1 i de microRNAs relacionats amb la malaltia d'Alzheimer

Puig-Parnau I¹, Garcia-Brito S², Faghihi N¹, Gubern C^{1,3}, Aldavert-Vera L², Segura-Torres P², Huguet G¹, Kádár E¹

¹*Departament de Biologia, Grup de Neurobiologia Cel·lular i Molecular, Universitat de Girona, Girona, Espanya*

²*Unitat de Psicobiologia, Institut de Neurociències, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, Espanya*

³*Servei de Neurologia, Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IdIBGi), Hospital Universitari de Girona Dr. Josep Trueta, Girona, Espanya*

L'autoestimulació elèctrica intracranial aplicada al feix prosencefàlic medial (AEIC-FPM) ha demostrat facilitar l'aprenentatge i la memòria en rates i potenciar la plasticitat neural en àrees relacionades amb aquestes funcions. Tot i això, els mecanismes moleculars implicats no són del tot coneguts. Diferents microRNAs (miRNAs) i la deacetilasa SIRT1 intervenen en la regulació de la plasticitat neural. Amb l'objectiu d'aprofundir en els mecanismes moleculars induïts per l'AEIC-FPM, s'ha analitzat l'efecte del tractament sobre els nivells d'aquestes molècules en les regions de l'hipocamp i en sèrum.

Mitjançant OpenArray, s'ha analitzat l'expressió diferencial de miRNAs en el DG de rates tractades amb AEIC-FPM (3 sessions de 45'/sessió/dia). Els miRNAs candidats, juntament amb miR-132, miR-134, miR-146a i miR-181c, prèviament associats amb cognició, han estat quantificats per qRT-PCR en DG, CA1, CA3 i sèrum. Els nivells de SIRT1 en teixit i sèrum s'han determinat mitjançant western blot i ELISA, respectivament. miR-132, miR-181c, miR-495 i SIRT1 s'han trobat sobreexpressats en el DG de les rates tractades ($P < 0.05$). miR-132 també s'ha trobat significativament augmentat en CA1 i en sèrum post-AEIC-FPM, mostrant en l'últim una correlació positiva amb els nivells sèrics de SIRT1.

Aquest treball mostra, per primera vegada, que un tractament d'estimulació cerebral profunda (DBS), específicament l'AEIC-FPM, modula els nivells de miRNAs i SIRT1 en les regions de l'hipocamp. Aquests resultats són especialment interessants atenent que la DBS de diferents dianes cerebrals s'ha plantejat com una opció terapèutica per contrarestar els dèficits de memòria en malalts d'Alzheimer (AD). En aquest sentit, la implicació en AD de les molècules estudiades encoratja a seguir investigant l'aplicabilitat de l'estimulació del FPM com a tractament per potenciar la memòria en models animals d'aquesta malaltia. A més, miR-132 en sèrum se suggereix com a biomarcador potencial del tractament.

El Polipèptid Activador de l'Adenilat Ciclasa de la Pituitària (PACAP) millora els símptomes motors i promou la supervivència de cèl·lules estriatals a la malaltia de Huntington

Solés-Tarrés I¹, Cabezas-Llobet N¹, Fournier A², Alberch A^{3,4,5}, Vaudry D⁶, Xifró X^{1,5}

¹*Grup de recerca en Noves Dianes Terapèutiques (TargetsLab), Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona, Girona, España*

²*Institut National de la Recherche Scientifique (INRS) - Institut Armand-Frappier, Laval, Québec, Canada*

³*Institut de Neurociències, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona, España*

⁴*Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España*

⁵*Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Madrid, España*

⁶*Université de Normandie, UNIROUEN, Institut National de la Santé et la Recherche Médicale (INSERM), Rouen, Normandie, France*

La malaltia de Huntington (HD) és una malaltia neurodegenerativa hereditària causada per una mutació en el gen de la huntingtina, donant lloc a l'expressió de la huntingtina mutada (mhtt). La simptomatologia més característica de la HD és la pèrdua del control motor, causada en gran part per la degeneració progressiva de les neurones espinoses mitjanes del nucli estriat. És per això que s'ha suggerit que la protecció d'aquestes neurones seria un factor clau per millorar la funció motora. El Polipèptid Activador de l'Adenilat Ciclasa de la Pituitària (PACAP) és un neuropèptid multifuncional amb capacitat neuroprotectora especialment a través d'un dels seus receptors, el PAC1. No obstant, no existeixen dades de l'efecte del PACAP en la disfunció motora i la mort neuronal que es dona en la HD. Per tal de saber-ho, en primer lloc es van analitzar els nivells proteics del receptor PAC1 en l'estriat del ratolí R6/1, un model transgènic de la HD. Els ratolins R6/1 presentaven una reducció de PAC1 respecte els seus controls des de l'inici de la simptomatologia motora. A més, l'administració intranasal de PACAP (30ug/Kg/dia; 7dies) reduïa de manera significativa els dèficits motors que pateixen els ratolins R6/1. Per tal de conèixer si la recuperació observada estava associada a mecanismes neuroprotectors, vam utilitzar les cèl·lules d'origen estriatal STHdh^{Q111/Q111} que expressen la mhtt. Vam observar que el tractament amb PACAP (10⁻⁷M; 24hores) protegeix les STHdh^{Q111/Q111} de la mort induïda per la mhtt inhibint l'activació de la caspasa-3. Finalment, vam trobar que aquest efecte està associat als següents mecanismes moleculars: i) restauració dels nivells proteics de PAC1; ii) activació de les proteïnes ERK i AKT; iii) augment dels nivells proteics del *Brain derived neurotrophic factor*. Amb tot, els nostres resultats suggereixen que el PACAP té capacitat terapèutica en la HD a través de l'activació de la senyalització dependent del receptor PAC1.

Efectes antinociceptius d'un extracte polifenòlic natural en un model experimental de dolor nociplàstic induït per reserpina

Toledano-Martos R¹, Deulofeu M¹, Bagó-Mas A¹, Homs J^{1,2}, Fiol N³, Verdú E¹, Boadas-Vaello P¹

¹*Grup de recerca en Anatomia Clínica, Embriologia i Neurociència (NEOMA), Departament de Ciències Mèdiques, Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

²*Departament de Fisioteràpia, EUSES – Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

³*Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, Girona, Catalunya*

El dolor nociplàstic (DNPL) és un dolor patològic que deriva d'una nocicepció alterada sense evidències clares de danys tissulars ni lesions del sistema somatosensorial. És el principal símptoma de la Fibromiàlgia (FM), per a la qual no existeixen tractaments adequats. En aquest context, els polifenols poden ser candidats terapèutics potencials, ja que s'ha demostrat que alleugen les respostes reflexes en models de dolor patològic, però els seus efectes sobre el DNPL són desconeguts. Així, aquest treball es dissenyà per estudiar els efectes antinociceptius d'un extracte natural polifenòlic (CE1720) en un model experimental de dolor nociplàstic induït per reserpina (model ratolí RIM6) que mimetitzava respostes reflexes i no reflexes del dolor característiques de la FM. A tal fi, es van administrar diàriament i durant una setmana 10 o 15mg/Kg de CE1720 a ratolins femella *Swiss-CD1* RIM6, per via intraperitoneal. Durant tot el període experimental es van avaluar setmanalment respostes reflexes mitjançant les proves de *Hargreaves* i Von Frey. Al final del període experimental, es va realitzar la prova de natació forçada per avaluar l'estat depressiu com a resposta no reflexa del dolor. Posteriorment, es recolliren mostres de medul·la espinal per a estudiar gliosi mitjançant anàlisis immunohistoquímiques, i sèrum per a estudiar la seguretat farmacològica de l'extracte. Els resultats mostraren que l'administració de CE1720 atenuava la hiperalgèsia tèrmica, l'allo-dínia mecànica, el comportament depressiu i la microgliosi medul·lar presents en ratolins RIM6, fins a tres setmanes després de la primera administració del tractament, essent 10 mg/kg la dosi més efectiva. A més, l'administració de CE1720 no va provocar ni hepatotoxicitat ni nefrotoxicitat. En global, es pot concloure que l'extracte polifenòlic CE1720 podria ser un tractament farmacològic adequat per alleujar respostes reflexes i no reflexes de dolor, que són símptomes característics de la FM.

Agraïments: Vicerectorat de Recerca UdG (MPCUdG2016 / 087).

Amb el suport de:


Universitat de Girona
Facultat de Ciències