



# Gemma Rosell i Romero

Premi de recerca per a estudiants

Premio de investigación para estudiantes

Students research award

<b>PROGRAMA</b> .....	<b>3</b>
<b>ABSTRACTS</b> .....	<b>8</b>
<b>SESSIÓ 1</b> .....	<b>8</b>
<b>SESSIÓ 2</b> .....	<b>23</b>
<b>TRIBUNAL</b> .....	<b>38</b>
<b>LLIURAMENT DE PREMIS</b> .....	<b>41</b>

# PROGRAMA

25 ABRIL 2006 de 15:00 a 20:00 h  
AULA 2 – FACULTAT DE MEDICINA (CAMPUS CASANOVA)  
UNIVERSITAT DE BARCELONA

15:00 RECOLLIDA D'ACREDITACIÓ

15:30 SESSIÓ INAUGURAL

- Introducció Dra. MT Estrach
- Presentació dels membres del Tribunal
- Sergi Regot Rodríguez de Mier, guanyador de l'edició 2005

16:00 PONÈNCIES

## SESSIÓ 1 Primera part

1	Diana Riba Artés	Epidemiology of common cancers.
3	Ingrid Benito Pascuet	El paper de la glucosa-6-fosfat deshidrogenasa en cèl.lules cancerígenes.
6	Joan Basset Olivé	Disseny i preparació de nous derivats heterocíclics amb potencial activitat antitumoral.

DESCANS 15 min

### SESSIÓ 1 Segona part

10	Àgia Segura Roca	Estalvi de limfadenectomia axil.lar radical en el tractament del càncer de mama.
12	Maria castanyer i Sardà	Anàlisi computacional de la regulació del procés d'splicing en llevat.
14	Nicolás Herranz Martín	Caracterització del mecanisme de repressió del factor de transcripció Snail.

COFEE BREAK 30 minuts

### SESSIÓ 1 Tercera part

15	Diana Maria González i Gironés	Estudi de l'efecte del peròxid d'hidrogen en cèl.lules humanes d'hepatoma Hep-G2 sobre les proteïnes hnRNP-C i p53.
16	Irene Bachero Prades	The role of chemokines in lung cancer progression.

26 ABRIL 2006 de 15:00 a 20:00 h  
AULA 2 – FACULTAT DE MEDICINA (CAMPUS CASANOVA)  
UNIVERSITAT DE BARCELONA

15:00 PONÈNCIES

**SESSIÓ 2 Primera part**

2	Diana Reyes Garau	Quadriceps strength predicts mortality in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease.
4	Dolors Tirado Gil	Els receptors nicotínics alfa7 com elements clau en la neurotoxicitat per derivats amfetamínics.
5	Sara García Ratés	Efecte de la metamfetamina i l'MDMA en les discinèsies induïdes per haloperidol en rata.

DESCANS 15 min

**SESSIÓ 2 Segona part**

7	Sergi Vaquer Araujo	Transportadors ABC en gravetat 0.
8	Gemma Segura Roca	Variabilitat del gen CNLAC1 Lacasa en <i>Cryptococcus gatii</i> i <i>Cryptococcus neoformans</i> .
9	Cristina Caramés Sánchez	Inducció de la sinaptogènesis en neurones del hipocampo por sobreactivació de PI3K.

COFEE BREAK 30 minuts

## SESSIÓ 2 Tercera part

11	Joan Crespí Vidal	Malaltia de Parkinson i cèl.lules mare.
13	Maite Sellart Altisent	Flora fúngica nasal en subjectes al.lèrgics i sans.

**27 ABRIL 2006 de 15:00 a 20:00 h**  
**AULA 2 – FACULTAT DE MEDICINA (CAMPUS CASANOVA)**  
**UNIVERSITAT DE BARCELONA**

15:00 Presentació de la figura del Dr. Josep Trueta. Projectió d'una entrevista filmada l'any 1976.

16:30 Parlaments:

- **Jana Kammeyer**, presidenta de la Federació Internacional d'Associacions d'Estudiants de Medicina (IFMSA).
- **Laura Comerma**, coordinadora del Grup de Recerca de l'Associació d'Estudiants de Ciències de la Salut.

**18:00 Lliurament de Premis**

- Lliurament del 3r Premi per na **Belén Caurín Saboya** – Membre de la Tresoreria i representant de la Junta General de l'Associació d'Estudiants de Ciències de la Salut
- Lliurament del 2n Premi pel **Dr. Bombí** – President de l'Acadèmia de Ciències Mèdiques i de la Salut de Catalunya i Balears
- Lliurament del 1r Premi per la **Dra. Estrach** – Degana de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona

**19:30 CLOENDA I RECOLLIDA DE CERTIFICATS**

# ABSTRACTS

## SESSIÓ 1

### EPIDEMIOLOGY OF COMMON CANCERS

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Diana Riba Artés	Universitat de Barcelona	Medical University of Hamamatsu / Japó	Departament d'Anatomia Patològica

Autor/s: Diana Riba Artés, Prof. Sugimura, Miss Tao.

Sota un títol tan genèric com "Molecular Epidemiology of human common cancer" (epidemiologia molecular de càncers comuns a humans), la recerca en la qual participava es centrava en l'estudi d'un polimorfisme del gen MYH., polimorfisme que s'havia observat amb alta freqüència a la població caucasiana afectada de càncer de colon. El nostre objectiu era veure si aquest polimorfisme també apareixia en la població japonesa afectada d'aquest càncer.

El gen MYH està implicat en un dels sistemes de reparació del DNA, el sistema BER (reparació per excisió de bases) i per tant, la seva funció consisteix a reparar les bases mal aparellades del DNA com poden ser A/G o A/OG(7,8-dihidroguanina-8-oxoguanina), guanina que ha patit dany oxidatiu i té capacitat d'unir-se a l'adenina, i que si no es reparen, tenen lloc mutacions com les transversions (de G:C a T:A). Un acúmul d'aquestes podria acabar produint un càncer, per tant, és de vital importància que aquest sistema funcioni correctament.

El polimorfisme (variant en la seqüència d'un gen) que estudiàvem era el "G382D", el qual afecta a l'activitat del gen MYH en estar localitzat en una "active site" (lloc actiu). Aquest lloc actiu és una seqüència altament conservada que es troba en un "Mut T like domain", domini responsable de eliminar les OG del pool de DNA. Com s'ha dit anteriorment, la nostra feina consistia en veure si el polimorfisme "G382D" apareixia a les mostres de població japonesa afectada per càncer de colon.



La meua part de feina en aquest projecte era encarregar-me de fer el "genotyping" del gen MYH de cada mostra de DNA de la població japonesa. Aquest consistia en fer PCRs de les

mostres per ampliar el contingut de DNA. El fragment d'interès, on estava situat el polimorfisme, es trobava entre els exons 12 i 13 del gen MYH i concretant, molt proper a l'exó 13. Un cop tenia la PCR, i per tant, l'augment de quantitat del fragment de DNA, duia a terme una RFLP (restricció enzimàtica) amb l'enzim Bgl II. Si hi havia polimorfisme, el fragment que tenia una mida de 234 pb s'havia de dividir en dos, un de 137pb i un altre de 98 bp. I això s'observava un cop fet el revelat del gel d'agarosa.

No obstant, tot i ser la feina principal que desenvolupava al laboratori, vaig realitzar altres feines amb l'ajuda de la professora Miss Tao: fer la seqüenciació del gen, on varem comprovar l'existència del polimorfisme al control i l'absència en una mostra, també varem extreure DNA d'un teixit viu, varem fer preparacions de dNTPs i vaig col·laborar amb les feines de reposició i preparació del material del laboratori.

La última setmana de la meua estància i col·laboració amb el departament, vaig haver de realitzar una exposició oral sobre el meu treball a petició del director del departament, el Professor Sugimura. Després de canviar de nom al projecte "MYH gene, its polymorphism & colon cancer in Japanese population" (El gen MYH, el seu polimorfisme i el càncer de colon a la població japonesa) i explicar-li tot el treball que havia realitzat durant el mes, vaig exposar-li les meues conclusions. Amb el "genotyping" realitzat de més de 256 mostres i veient que totes les anàlisis havien resultat negatives, una possible conclusió era que *la presència d'aquest polimorfisme (G382D) depenia del grup ètnic al que pertanyia la persona*. Tot i això, per poder estar segurs s'havia continuar amb la feina, ja que el nombre de mostres podia no ser conclouent o podíem necessitar de més quantitat de mostra de DNA.

## EL PAPER DE LA GLUCOSA-6-FOSFAT DESHIDROGENASA EN CÈL·LULES CANCERÍGENES

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Ingrid Benito Pascuet	Universitat Autònoma de Barcelona	Universiteit von Amsterdam / Holanda	Departament de Biologia Cel·lular

Autor/s: Ingrid Benito Pascuet

### Objectiu

L' objectiu d'aquest estudi és analitzar possibles diferències entre les cèl·lules cancerígenes i les no cancerígenes. Per poder així trobar mètodes de diagnòstic ràpid o alguna possible diana terapèutica.

Tot l'estudi està basat en les propietats de l'enzim Glucosa-6-Fosfat deshidrogenasa (G6PD), enzim clau en la ruta de les pentoses fosfat per produir NADPH com a poder reductor i ribulosa-5-fosfat que passarà a formar DNA o RNA. Per tant la G6PD és un enzim de vital importància per la cèl·lula.

### Metodologia

L' estudi s' ha realitzat utilitzant dues línies cel·lulars cancerígenes (FTO2B- hepatoma de rata i HT29 càncer de colon humà.) i una línia contínua no tumoral ( 3T3- fibroblast de ratolí).

S'ha analitzat l' activitat de la Glucosa-6-Fosfat deshidrogenasa in situ sota tres variables:

- o la mida cel·lular.
- o efectes de l' inhibidor N-ethylmaleimide.
- o la seva sensibilitat a l'oxigen.

### Resultats

Pel que fa a la mida cel·lular, s'observa un augment de l' activitat de la Glucosa-6-Fosfat deshidrogenasa i sembla que en cèl·lules cancerígenes l'activitat augmenta més del doble quan es dobla la mida cel·lular, indicant que l'activitat d'aquest enzim depèn de la fase del cicle cel·lular. En línies no cancerígenes no s'observa aquest augment tan acusat.

Pel que fa als efectes de l'inhibidor N-ethylmaleimide, es pot veure que té un efecte poc inhibidor sobre les cèl·lules cancerígenes.

Els resultats sobre la insensibilitat a l'oxigen no son gaire clars ja que aquests experiments no s'han pogut quantificar en la seva totalitat, però observant imatges de les mostres sembla que les cèl·lules cancerígenes presenten major insensibilitat a l'oxigen que les no cancerígenes.

#### Conclusions.

Podríem concloure que les cèl·lules cancerígenes presenten major activitat de la Glucosa-6-Fosfat deshidrogenasa que altres línies cel·lulars no cancerígenes. També podríem observar una major insensibilitat a l'oxigen i al N-ethylmaleimide en línies tumorals.

#### Contribució personal al projecte

He realitzat personalment tota la part experimental del projecte i el manteniment de les línees cel·lulars.

## DISSENY I PREPARACIÓ DE NOUS DERIVATS HETEROCÍCLICS AMB POTENCIAL ACTIVITAT ANTITUMORAL

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Joan Basset Olivé	Universitat de Barcelona	Universitat de Barcelona / Espanya	Departament de Farmacologia i Química Terapèutica

Autor/s: J. Basset, M.D. Pujol

Es coneixen diverses famílies de fàrmacs que actuen sobre els àcids nucleics en eucariotes. En la seva aplicació clínica com a antineoplàsics, aquests fàrmacs mostren una elevada toxicitat deguda a la manca de selectivitat per les cèl·lules tumorals. La major velocitat de divisió cel·lular és el que fa les cèl·lules més sensibles a aquests fàrmacs.

Es coneixen diferents mecanismes d'acció dels quimioteràpics: agents intercalants, antimitòtics, inhibidors de la polimerasa, inhibidors de les topoisomerases, agents alquilants, antimetabolits, antiangiogènics... En la terapèutica actual, els més utilitzats són els inhibidors de les topoisomerases i els antimitòtics.

L'el·lipticina (extreta d'*Ochrosia elliptica*) és un agent antitumoral d'activitat demostrada i molt interessant per l'estudi dels mecanismes d'acció anticancerígena. La seva activitat, àmpliament estudiada, es deu a la intercalació entre els parells de bases del DNA, inhibició de la topoisomerasa II, alquilació de quinones intermèdies, generació de radicals hidroxil i oxidació dels metils de les posicions 5 i 11.

El descobriment d'anàlegs d'el·lipticina (*Datel·lipticium*, *Retel·lipticina*, *Paze·lipticina*) amb gran activitat antitumoral garanteix el manteniment d'aquesta família de fàrmacs en la teràpia anticancerosa en el futur.

Els *objectius* del treball van adreçats a la preparació d'anàlegs estructurals de l'el·lipticina. Es tracta d'estructures dissenyades raonadament a partir d'aquest alcaloide amb la finalitat d'optimitzar l'activitat anticancerígena.

El nostre grup de recerca ha sintetitzat diversos derivats de l'el·lipticina, seguint la *metodologia* convencional d'un laboratori de Química Fina dedicat a la síntesi de fàrmacs, amb la finalitat d'estudiar-ne l'activitat. Els compostos preparats s'han sotmès a les proves farmacològiques adients a fi i efecte de conèixer el perfil d'activitat que presenten. Posteriorment, amb els resultats i després d'establir les relacions estructura-activitat, s'estudiaran els canvis estructurals que es creguin més convenients per a millorar el perfil farmacològic d'una nova família de compostos.

Els *resultats* obtinguts amb el treball desenvolupat permeten establir importants conclusions. A) La gran activitat citotòxica dels derivats benzodioxínics confirma el bioisosterisme existent entre els nuclis d'indole i benzodioxina. B) Compostos amb una cadena lateral de 5-6 C han mostrat selectivitat per les cèl·lules de càncer de colon HT-29 ( $IC_{50} = 6.5 \cdot 10^{-8}M$ ,  $IC_{50} = 9.8 \cdot 10^{-7}M$ ). C) La introducció d'un grup nitril a la cadena lateral augmenta 4 vegades l'activitat antileucèmica, mentre que grups àcids o bàsics produeixen una disminució de la citotoxicitat en comparació amb els seus anàlegs lineals. D) Molts dels agents antitumorals preparats presenten, a més a més d'una elevada citotoxicitat, una marcada especificitat per la fase G<sub>2</sub>M, 8N (85% a 5  $\mu$ M) del cycle cel·lular.

Així mateix s'ha demostrat que petites modificacions sobre la posició 9 condueixen a una pèrdua total de l'activitat antitumoral. Així doncs, l'oxidació metabòlica d'aquesta posició pel citocrom P450, generant una quinona, és necessària per a l'activitat.

També es va constatar que la modificació de l'anell D per imines donava activitats del mateix ordre que la pròpia el·lipticina i, a més, conferia activitat antiangiogènica. El mateix s'observa en els azaderivats estudiats.

La diversitat de les variacions estructurals i les substitucions en aquestes molècules continuen essent un repte per als químics sintètics, mentre que les activitats farmacològiques que han revelat les el·lipticines mantenen l'atracció de bioquímics i farmacòlegs.

Nota: L'avaluació de l'activitat biològica s'ha dut a terme en el NCI (National Cancer Institute, Maryland, USA), en els Laboratoris Servier (Paris, França) i en els Laboratoris Merck Farma (Barcelona).

Participació personal: la meua contribució personal al projecte ha estat la posada a punt de les últimes etapes de la síntesi de dos isòmers furoindòlics, i la seva preparació, purificació i caracterització. El grup ja feia aproximadament uns 3 anys que treballava en la síntesi d'aquests compostos.

#### Referències.

1. C. Auclair, A. Pierre, E. Viosin, O. Pépin, S. Cros, C. Colas, J. Saucier, B. Verschuere, P. Gros, C. Paoletti. *Cancer. Res.* **1987**, *47*, 6254-6261.
- C. Ducrocq, F. Wendling, M. Tourbez-Perrin, C. Rivalle, P. Tambourin, F. Pochon, E. Bisagni. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 1212-1216.

## ESTALVI DE LIMFADENECTOMIA AXIL·LAR RADICAL EN EL TRACTAMENT DEL CÀNCER DE MAMA

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Àgia Segura Roca	Universitat Autònoma de Barcelona	Universitat Autònoma de Barcelona / Espanya	Departament de Cirurgia

Autor/s: A. Segura, M. Segura, V. Juncà, J. Solsona, A. Piqueras, S. Puig, J. Jimeno, J.A. Pereira, M. Ortega, A. Fernández, M. Fraile, S. Vidal-Sicart, F. Ferrer, Ll. Grande.

### Introducció:

La realització de la tècnica de biòpsia selectiva del gangli centinella (BSGC) en el tractament del càncer de mama permet estalviar de fer la limfadenectomia axil·lar radical (LAR) amb les complicacions que comporta però requereix un Servei de Medicina Nuclear (SMN) i la validació de la tècnica. L'objectiu de l'estudi va ser analitzar la possibilitat de iniciar aquesta tècnica amb un SMN extern ja validat, i estudiar el seu impacte en l'estalvi de les LAR i de les estàncies post-operatòries.

### Pacients i mètodes:

Estudi clínic prospectiu des de la iniciació de la tècnica mitjançant un SMN extern que va realitzar la limfogammagrafia i la detecció del gangli centinella (GC), identificant-se en l'acte operatori mitjançant sonda portàtil. Es va realitzar estudi anatomo-patològic de la tumorectomia (TC) i del GC. I, si aquest era metastàsic, es realitzava la LAR.

### Resultats:

S'ha tractat 482 pacients, amb 496 carcinomes de mama. Les intervencions majoritàries han estat la TC amb BSGC en 310 casos (62,1%), i la TC amb BSGC i LAR en 119 casos (23,8%). La visualització del GC amb la limfogammagrafia es va obtenir en 472 casos (95,2%), i es va detectar el GC durnat la intervenció en 465/472 casos (98,5%). La detecció del GC en la cadena mamària interna s'ha produït en 56 casos (11,3%). S'ha estalviat la LAR en 331 casos (66,7%). La diferència de dies d'ingrés post-operatori amb o sense LAR ha estat una mitjana de 2,13 dies (3,27 vs 1,14;  $p < 0.001$ ).

### Conclusions:

La tècnica de BSGC ha estat possible iniciar-la mitjançant un SMN extern estalviant-se el 66,7% de les LAR, i disminuint la mitjana d'estàncies en 2,13 dies.

Contribució personal al projecte:

Col·laboració en l'estructuració de l'estudi.

Col·laboració en la realització de la base de dades amb el programa SPSS, amb aportació de variables.

Ajudant en diverses intervencions quirúrgiques.

Recollida de les dades i introducció de les mateixes a la base de dades.

Realització de l'anàlisi estadístic amb supervisió.

Aquesta contribució personal ha estat possible gràcies a l'obtenció d'una Beca per Estudiants de l'Institut Municipal d'Investigació Mèdica, amb integració al Servei de Cirurgia General de l'Hospital del Mar.

## ANÀLISI COMPUTACIONAL DE LA REGULACIÓ DEL PROCÉS D'SPLICING EN LLEVAT

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Maria Castanyer i Sardà	Universitat Pompeu Fabra	Universitat Pompeu Fabra / Espanya	Unitat de Recerca en Informàtica Biomèdica

Autor/s: M. Castanyer, E. Eyra.

L'eliminació dels introns dels pre-mRNAs inclou mecanismes moleculars similars en tots els eucariotes. En la majoria dels casos, aquest procés està mitjançat per l'spliceosoma U2, una ribonucleoproteïna composta per RNAs petits nuclears i per un conjunt de proteïnes associades (factors d'splicing, etc.). S'ha observat en estudis recents que l'estructura secundària de l'RNA -la manera en què es disposa la molècula en l'espai- pot afectar el procés d'splicing. De fet, s'ha trobat una estructura secundària en el gen RPL30 de *S. cerevisiae* que està involucrada en la regulació negativa del seu propi splicing. El lloc d'splicing 5' està plegat formant una estructura d'RNA que interacciona amb la maquinària d'splicing i en facilita el procés. D'altra banda, el propi producte proteic del gen RPL30 -la proteïna ribosomal L30- també interacciona amb l'estructura secundària de l'RNA i en pot inhibir l'splicing. Aquest model proporciona un nou paradigma en la regulació de l'splicing, ja que no s'havia observat la regulació d'splicing mitjançant l'estructura secundària del propi pre-mRNA.

Cal dir que la distribució genòmica particular dels introns dels llevats ofereix un sistema molt valuós per a l'estudi dels efectes biològics de la regulació de l'splicing a nivell genòmic, ja que més del 40% dels gens amb introns codifiquen per proteïnes ribosomals. En aquest projecte, proposem la cerca *in silico* de mecanismes de regulació de l'splicing similars en altres gens de llevat.

Emprant la seqüència genòmica de quatre espècies de *Saccharomyces* (*cerevisiae*, *bayanus*, *mikatae* i *paradoxus*) i *Kluyveromyces lactis*, hem fet alineaments múltiples de les seqüències genòmiques, centrant-nos en la regió aliniada del primer exó i el primer intró per a tots els gens que contenen introns. Aquests alineaments múltiples han servit per predir estructures secundàries potencials que poden estar involucrades en la regulació de l'splicing d'una manera similar al cas descrit per RPL30. Estem treballant amb eines computacionals que utilitzen una combinació de genòmica comparativa i mètodes d'optimització energètica per predir les estructures secundàries de la molècula de RNA. Algunes de les estructures



predites ja estan essent sotmeses a tests *in vitro* en col·laboració amb el laboratori experimental del Dr. Josep Vilardell al Centre de Regulació Genòmica. L'estudi experimental dels resultats és molt rellevant, ja que permet contrastar i verificar les dades obtingudes computacionalment; aquestes dades computacionals permeten obtenir informació a nivell de tot el genoma dels organismes, i seran la base del posterior estudi experimental més concret.

## CARACTERITZACIÓ DEL MECANISME DE REPRESSIÓ DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓ SNAIL

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Nicolás Herranz Martín	Universitat Pompeu Fabra	Universitat Pompeu Fabra / Espanya	Unitat de Recerca en Biologia Cel·lular i Molecular – IMIM, Institut Municipal d'investigacions Biomèdiques

Autor/s: N. Herranz, S. Peiró, A. García de Herreros.

El factor transcripcional Snail1 és essencial per l'inici dels processos de Transició Epiteli-Mesènquima que tenen lloc durant el desenvolupament i els últims passos de la progressió tumoral, concretament durant l'adquisició de característiques invasives. Tot i exercir una funció tan rellevant, encara no es coneixen amb detall els factors que controlen l'expressió de Snail . Durant els últims 10 anys s'ha posat de manifest la importància que tenen les modificacions posttraduccionals de les histones sobre l'estructura de la cromatina i l'activació o repressió de gens implicats en certs processos biològics. Concretament s'ha demostrat que membres del complexe Polycomb (Pc), actuen metilant la lisina 27 de la histona H3 i silenciant gens. El **principal objectiu** d'aquest projecte ha estat caracteritzar si l'expressió de Snail1 està controlada per un mecanisme que implica la metilació de la Histona H3. Els nostres resultats han evidenciat que l'activitat del promotor de Snail1 està controlada per Pc, ja que la utilització d'un dominant negatiu d'aquest complexe, o l'eliminació de la subunitat amb activitat metiltransferasa, EZH2, incrementa l'activitat del promotor de Snail1 i la síntesi d'aquest mRNA. Mitjançant assajos d'Immunoprecipitació de Cromatina (ChIP) hem determinat també que EZH2 s'associa al promotor de Snail1 i indueix l'aparició en aquest promotor de Histona H3 metilada en la lisina 27. Els nostres resultats evidencien també que aquesta regulació de Snail1 es dinàmica i l'associació de Histona H3 metilada amb el promotor de Snail es modula per l'addició de sèrum. El nostre objectiu futur consisteix en 1) identificar els factors transcripcionals responsables del reclutament de Pc al promotor de Snail i 2) determinar la implicació del complex Pc en el control de l'expressió de Snail in vivo i en els processos patològics en els que Snail1 juga un paper fonamental com la invasió dels tumors epitelials.

És un projecte científicament interessant per què ens permetrà determinar com Snail és capaç de silenciar gens implicats en migració i apoptosi, que confereixen molta més agressivitat al tumor.

## ESTUDI DE L'EFECTE DEL PERÒXID D'HIDROGEN EN CÈL·LULES HUMANES D'HEPATOMA HEP-G2 SOBRE LES PROTEÏNES HNRNP-C I P53.

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Diana Maria González i Gironés	Universitat de Barcelona	Uppsala Universitet / Suècia	Department of Pharmaceutical Biosciences (Division of Pharmaceutical Biochemistry)

Autor/s: D.M. González.

Introduction:

Oxidative stress caused by reactive oxygen species can damage DNA, lipids, and proteins, resulting in chronic cellular dysfunction, playing a critical role in the pathogenesis of several diseases. Low concentrations of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) appears to be required for numerous survival signal transduction pathways. However, high levels of  $H_2O_2$  can react with partially reduced transition metals, resulting in the generation of the extremely reactive species to such an extent that the cell is injured. This DNA damage provokes a robust p53 response that lead arrest of the cell cycle and rapid DNA repair, preventing mutagenesis.

It has been determined that heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP) C1/C2 is structurally altered by low concentrations of  $H_2O_2$ . HnRNP-C has been implicated in RNA biogenesis, binding to all newly synthesized pre-mRNA transcripts and further dissociating to allow their export to the cytosol. In addition, hnRNP-C has been involved in responses to double strand breaks of chromosomal DNA, translation, DNA metabolism and in the mediation of antiapoptosis.

Objectives:

In this report we show the effects on the binding activity of hnRNP-C1/C2 to the mRNA of p53 when treating human hepatoma Hep-G2 cells with physiological and oxidative stress concentrations of  $H_2O_2$ . In addition, we examine the consequences of this exposure on the levels of the earlier proteins in the nucleus and cytoplasm.

Methods:

To investigate protein binding activity, UV cross-linking experiments were performed using protein extracts from untreated and treated Hep-G2 cells, which were incubated with the radiolabeled RNA probe spanning the coding region of p53 and then, the binding was made irreversible by UV

irradiation. A Western Blot approach was used to further study the changes on the amount of hnRNP-C and p53. A specific amount of protein was blotted with monoclonal hnRNP-C antibody and, simultaneously, with the control antibodies, anti-HSP-90 and anti-PARP. Afterwards, the same membrane was stripped and blotted with monoclonal anti-p53.

#### Results and conclusions:

Oxidative stress can induce the expression of numerous genes, including those encoding heat shock proteins (hsps), which explains the clear increase of HSP-90 seen in our results, and confirms oxidative stress conditions. The increase of the binding activity of hnRNP-C to p53 mRNA seen upon these conditions may be explained with a transient phosphorylation of hnRNP-C, since this effect has been shown with lower concentrations. Furthermore, the decrease in the amount of the nuclear hnRNP-C is possibly due to its cleavage, earlier demonstrated in apoptotic cells induced to undergo apoptosis. On the other hand, upon oxidative stress, p53 diminished in the cytoplasm whereas slightly increased in the nuclei, which suggests its translocation from the cytosol to the nucleus.

Finally, after different treatments with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, the results showed a constant decrease of a cytoplasmic protein with ~43 kDa, which is recognized by the same antibody as p53. It may be beneficial to further investigate this unknown protein in order to evaluate its role in the cell.

#### My contribution:

I developed this research project at Uppsala University as an Erasmus student, with the supervision of Kyle Christian (PhD student) and Matti Lang (professor).

## EL PAPER DE LES CITOQUINES EN LA PROGRESSIÓ DEL CÀNCER DE PULMÓ

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Irene Bachero Prades	Universitat de Barcelona	Universitat Ospedale di Cisanello (Pisa) / Itàlia	Departament Cardioràdic (Medicina Interna – Pneumologia)

Autor/s: I. Bachero, I. Conti.

### Objectius

En aquest projecte, la principal finalitat dels experiments realitzats era investigar qualsevol possible diferència entre la producció de citoquines en les cèl·lules canceroses i en les cèl·lules epitel·lials normals del bronqui.

De fet, s'ha observat la presència de citoquines en gairebé tots els tipus de càncer i la seva producció per part de les cèl·lules tumorals sembla estar directament relacionada amb paràmetres com el creixement tumoral, l'infiltrat de leucòcits en el teixit tumoral, l'angiogènesi, i la metastasi. Per tant, la investigació del patró de les citoquines en les cèl·lules normals i tumorals pot proporcionar algunes "revelacions" sobre la biologia dels tumors.

Les dues citoquines en les quals es va centrar l'atenció foren la MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1, considerada la principal responsable de l'infiltrat leucocític en els tumors) i IL-8 (Interleukin-8, que suposadament exerceix un important paper en l'angiogènesi).

Per a l'experimentació s'utilitzaren principalment dues línies cel·lulars: la línia alveolar neoplàsica A549 i la línia de cèl·lules immortalitzades de l'epitel·li bronquial Beas-2B, tot i que també poden ser emprades per aquests experiments altres cèl·lules tals com les HBEC (normal Human Bronchial Epithelial Cells o cèl·lules primàries).

Es van realitzar cultius de les dues línies cel·lulars per tal d'aconseguir-ne la proliferació i, finalment, obtenir-ne els diferents sobrenedants que s'emprarien en diferents proves. És en aquesta fase del procés en què es va requerir principalment la meua participació (realitzant el control dels diferents cultius, als quals s'han d'aplicar diferents tècniques de neteja i renovació del medi, obtenint els diferents sobrenedants, etc.) tot i que també vaig col·laborar en l'aplicació de les proves als sobrenedants obtinguts.

Aquestes darreres tenien la finalitat de detectar la presència de dues proteïnes (citoquines), IL-8 i MCP-1, que suposadament juguen un paper en la progressió del càncer. Alguns dels procediments utilitzats van ésser: test

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), extracció de l'RNA + retrotranscripció i PCR (Polymerase Chain Reaction).

### **Resultats**

-No hi ha una diferència significativa entre els nivells de MCP-1 en els sobrenedants dels cultius de les cèl·lules Beas-2B i A549.

-En contrast, la concentració de IL-8 sembla ser notablement més elevada en el sobrenedant del cultiu de Beas-2B que en el d'A549.

### **Conclusions**

La producció d'algunes citoquines sembla tenir relació amb la natura neoplàsica d'algunes cèl·lules, relació que, en cas d'ésser confirmada, ens pot dirigir cap a un diagnòstic precoç del càncer i, per tant, a la seva prevenció. En l'experiment es va intentar comprovar aquesta relació explicada amb les proteïnes IL-8 i MCP-1.

-Tot i que la producció de MCP-1 sembla no mostrar diferència entre les cèl·lules "normals" epitel·lials (Beas-2B) i les cèl·lules tumorals (A549), la quantitat d'IL-8 obtingut en els cultius de cèl·lules "normals" assoleix un nivell superior que en les cèl·lules tumorals.

-La interpretació dels resultats ens podria conduir a la confirmació d'una relació entre la disminució en la producció d'IL-8 i la formació d'un tumor en un teixit.

## SESSIÓ 2

### QUADRICEPS STRENGTH PREDICTS MORTALITY IN PATIENTS WITH MODERATE TO SEVERE CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Diana Reyes Garau	Universitat Pompeu Fabra	Royal Brompton Hospital. Londres / Regne Unit	Respiratory Muscle Laboratory

Autor/s: D. Reyes, EB Swallow, NS Hopkinson, W. Man, R. Porcher, E. Cetti, A.J. Moore, J. Moxham, MI Polkey.

L'estudi es va realitzar amb pacients afectats de Malaltia Pulmonar Obstructiva Crònica (MPOC).

L'objectiu era demostrar que una reducció de la força muscular, mesurada durant la realització d'una contracció voluntària podia constituir un bon paràmetre per tal de predir l'evolució de la malaltia.

Aquest paràmetre va ser plantejat com a possible predictor degut a què fins al moment, cap altre paràmetre dels suggerits (BMI, FEV<sub>1</sub>, capacitat de resistència a l'exercici) donava resultats prou significatius com per poder realitzar un prognòstic de la evolució de la malaltia.

En aquest estudi (iniciat a l'any 2001), hi van participar 171 pacients amb MPOC diagnosticada.

Per tal de dur-lo a terme, es varen mesurar (desde l'inici de l'experiment fins al Juny del 2005) els següents paràmetres a cada pacient:

- Pes
- BMI
- Fat Free Mass
- Alçada
- FEV<sub>1</sub>
- Força màxima realitzada per el múscul quàdriceps durant una contracció voluntària (a partir d'aquest paràmetre, es calculava el percentatge que aquest valor representava respecte a la

força que el pacient hauria de presentar en funció del seu pes).

La meua contribució al projecte, va consistir en crear una base de dades amb tots els resultats obtinguts a cadascun dels paràmetres mesurats.

Posteriorment, vaig haver-me de posar en contacte amb els metges que portaven el seguiment de cada pacient, per tal d'averiguar sobre la supervivència de l'afectat (en cas de defunció, preguntava per la dada).

També estava interessada en saber si el pacient havia estat intervingut de transplantament de pulmó, i/o si havia ingressat a un hospital presentant complicacions relacionades amb la seva patologia a posteriori de la seva col·laboració a l'estudi.

Al finalitzar aquesta etapa, gràcies a la col·laboració dels metges, havia aconseguit reunir dades referents a 140 pacients (un 76% del total dels pacients que havien iniciat l'estudi).

Un cop obtingudes les respostes dels metges, vaig passar a intentar relacionar la supervivència dels pacients, la presència de complicacions la realització de transplantaments de pulmó amb els valors obtinguts en els paràmetres anteriorment mencionats (els quals restaven emmagatzemats a la base de dades), per tal de veure si existia alguna associació significativa entre un determinat rang de valors en un paràmetre concret, i una baixa supervivència o la presència de complicacions relacionades amb la MPOC.

L'anàlisi estadístic va demostrar que una disminució de un 1% en la força estimada en el quàdriceps estava relacionada amb un augment del 3% en el risc de mortalitat en pacients amb MPOC.

Si comparàvem el model que fins ara es seguia per tal de predir l'evolució de la malaltia (en el qual només es tenia en compte l'edat del pacient i la  $FEV_1$ ), amb el nostre model (és a dir, tenint també en compte la força muscular), el valor predictiu millorava significativament.

Per tant, es va poder concloure que la força muscular és un paràmetre amb un poder predictiu significatiu per tal de pronosticar l'evolució de la MPOC.



## ELS RECEPTORS NICOTÍNICS ALFA7, COM ELEMENTS CLAU EN LA NEUROTOXICITAT PER DERIVATS AMFETAMÍNICS

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Dolors C. Tirado Gil	Universitat de Barcelona	Universitat de Barcelona / Espanya	Farmacologia i Química Terapèutica

Autor/s: DC Tirado, C. Chipana, J Camarasa, J. Escubedo, D. Pubill.

En el present projecte s'ha realitzat un estudi sobre l'efecte protector de la Metillicaconitina (MLA, un antagonista específic dels receptors nicotínics alfa-7) utilitzant un model in vitro de neurotoxicitat per derivats amfetamínics, tals com la metamfetamina (METH) i la metilendioximetanfetamina (MDMA) en sinaptosomes d'estriat de ratolí. En aquesta preparació, la METH augmenta la fluorescència de la diclorofluoresceïna per citometria de flux, el que ens indica la producció de radicals lliures d'oxigen (ROS) en els terminals sinàptics ( $156,3 \pm 6,7\%$  \*METH 2 mM,  $164,3 \pm 5,4\%$  METH 5mM,  $202,4 \pm 6,2\%$  METH 10mM). L'ús dels ratolins, en lloc de rates, ha servit per a confirmar la validesa del mètode experimental ja que la MDMA provoca un efecte de neurotoxicitat dopaminèrgica evident en el ratolí però no en la rata. Així, la MDMA va produir un efecte oxidant a concentracions més baixes que la METH en sinaptosomes d'estriat de ratolí (100 $\mu$ M, 300 $\mu$ M i 500  $\mu$ M). La producció de ROS induïda per METH i MDMA en sinaptosomes de ratolí és previnguda per la vitamina E, per EGTA, i per MLA ( $161,4 \pm 3,3\%$  METH vs  $89,9 \pm 2,2\%$  MLA METH;  $204,3 \pm 6,8\%$  MDMA vs  $106,1 \pm 2,5\%$  MLA MDMA) així com provocant un esgotament de les reserves vesiculars de dopamina mitjançant el pretractament in vivo (i també in vitro) amb reserpina. L'MLA, a les concentracions utilitzades no presenta per si un efecte antioxidant ( $240,7 \pm 2,9\%$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 200 $\mu$ M vs.  $249,5 \pm 15,1\%$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 200 $\mu$ M MLA50  $\mu$ M) i no va inhibir la captació vesicular de [<sup>3</sup>H]dopamina en vesícules aïllades dels sinaptosomes d'estriat de ratolins ( $100 \pm 7\%$  control,  $0 \pm 4,6\%$  reserpina i  $92 \pm 12,4\%$  MLA 50  $\mu$ M, n.s. vs control). El paper dels transportadors de dopamina i serotonina, la proteincinasa C i l'òxid nítric sintasa van tenir diferents efectes sobre la neurotoxicitat induïda per derivats amfetamínics el que ens permet formular una hipòtesi sobre un paper addicional de \*MDMA en l'estriat de ratolí. A la concentració utilitzada (50  $\mu$ M), l'MLA podria bloquejar també els receptors nicotínics que contenen les subunitats  $\alpha 4\beta 2$  i  $\alpha 6\beta 2$ . Per tant, vam provar DBE, un antagonista que bloqueja els receptors que contenen les subunitats  $\beta 2$ . La DBE per si sola ja va augmentar la producció basal de ROS, fet aquest que exclou que els efectes de l'MLA siguin deguts a la interacció amb altre tipus de receptors

nicotínics . Finalment, els resultats obtinguts demostren que l'activació dels receptors nicotínics alfa-7 és un pas clau en el model in vitro de neurotoxicitat induïda per METH/MDMA i permeten postular així mateix una interacció dels derivats amfetamínics amb aquest tipus de receptor.

Participació personal de D.C. Tirado Gil

La meva participació en aquest projecte ha estat l'obtenció dels sinaptosomes d'estriat de ratolí així com l'elaboració de les corbes concentració-resposta dels derivats amfetamínics.

## EFFECTE DE LA METAMFETAMINA I L'MDMA EN LES DISCINÈSIES INDUÏDES PER HALOPERIDOL EN RATA

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Sara García Ratés	Universitat de Barcelona	Universitat de Barcelona / Espanya	Farmacologia i Química Terapèutica

Autor/s: S. García Ratés, A. Hernández, J. Camarasa, C. Chipana, C. Garcia-Ribera, D. Pubill, E. Escubedo.

L'esquizofrènia és una greu alteració del funcionalisme cerebral. Hi ha indicis que apunten que, en aquesta malaltia, podria coexistir un dèficit de la resposta antioxidant. L'Haloperidol (HAL), un fàrmac antipsicòtic clàssic, té diferents efectes adversos i el més important és l'anomenada discinèsia tardana que apareix després del tractament crònic amb aquest fàrmac.

La metamfetamina (MET) i la metilendioximetametfetamina (MDMA) són substàncies d'abús que poden donar lloc a quadres psicòtics i alhora indueixen la producció de radicals lliures d'oxigen (RLO).

La hipòtesi del treball va ser que l'administració de MET o MDMA podria potenciar les alteracions discinètiques induïdes per l'administració crònica d'HAL. Si això fos així, es podria establir una relació d'aquest efecte advers del neurolèptic amb l'alteració del sistema oxidatiu.

Es van utilitzar rates Sprague-Dawley mascles que es van sacrificar als 22 dies d'iniciat el tractament. Es van establir 6 grups de tractament:

1. Control (Sèrum Fisiològic (SF) 1ml/kg i.p., durant 21 dies)
2. HAL (1 mg/kg i.p., durant 21 dies seguits)
3. MET (SF durant 19 dies i MET 10 mg/kg x 4, s.c., a intervals de 2h, durant el dia 20) (simulació de tractament crònic)
4. MDMA (SF durant 16 dies i MDMA 20 mg/kg x 2, s.c., durant 4 dies seguits) (simulació de tractament crònic)
5. MET + HAL (HAL durant 19 dies i MET 10 mg/kg x 4, s.c., a intervals de 2h, durant el dia 20)
6. MDMA + HAL (HAL durant 16 dies i MDMA 20 mg/kg x 2, s.c., més HAL durant els dies 17, 18, 19 i 20)

El tractament amb HAL va potenciar ( $P < 0.001$ ) l'efecte anorexígen que provoca la MET i l'MDMA. A més, l'HAL sol va induir l'aparició de discinèsia oro-facial, mesurada amb la presència de moviments repetitius de mastegament i protrusió de la llengua (VCM vacuum chewing movements

11±1 HAL vs 1±0.3 control, mesurat durant 5 min). La MET i l'MDMA no van produir per si soles efectes discinèsics (valors no significatius de VCM respecte control), però van potenciar ( $P<0.01$ ) les discinèsies induïdes per l'HAL (19 ± 2 i 22 ± 3 respectivament).

L'estat del sistema antioxidant dels animals es va determinar mesurant les nivells de catalasa (CAT) i Cu/Zn superòxid dismutasa (SOD) en els seus eritròcits, just abans de començar el tractament i abans del sacrifici. El tractament amb HAL sol no va alterar l'activitat CAT ni SOD, però en canvi va antagonitzar ( $P<0.05$ ) l'efecte induït per la MET i l'MDMA en aquestes activitats enzimàtiques (CAT:U/mg prot.: 438±19 grup MET vs 344±21 grup MET+HAL; o SOD:U/ml: 132±8 grup MET vs 104±7 grup MET+HAL; CAT: 419±15 grup MDMA vs 359±3 grup MDMA+HAL; o SOD: 140±16 grup MDMA vs 86±7 grup MDMA+HAL).

Així doncs, en un tractament crònic, les discinèsies induïdes per HAL en rata es potencien per la co-administració de derivats amfetamínics, però en canvi les alteracions dels enzims oxidatius es normalitzen, el que permet concloure que les discinèsies no són degudes a la alteració dels enzims oxidatius en sang circulant.

#### Participació:

La meva tasca en aquest estudi ha consistit en realitzar el processament de la sang extreta de les rates a fi d'obtenir la fracció soluble citosòlica, mitjançant un procés de lisat dels eritròcits. A partir d'aquesta fracció citosòlica, vaig dur a terme la mesura de les activitats enzimàtiques.

## TRANSPORTADORS ABC EN GRAVETAT O

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Sergi Vaquer Araujo	Universitat Autònoma de Barcelona	Universitat Autònoma de Barcelona / Espanya	UDIMAS, Facultat de Medicina.

Autor/s: S. Vaquer, S. Ascoeta, A. Casajoana.

El projecte Outreach és una iniciativa de l'Agència Europea de l'Espai (ESA) que té com a objectiu la participació d'estudiants universitaris d'arreu d'Europa en vols parabòlics. Els millors projectes presentats són finançats i tenen l'oportunitat de portar-se a terme en condicions de microgravetat. La nostra intenció és presentar-nos en la propera campanya 2006-2007.

Aquest projecte pretén estudiar el funcionament dels transportadors ABC (*ATP Binding Cassette*) en condicions de microgravetat. A les cèl·lules humanes els ABC s'encarreguen de la depuració de tòxics del citoplasma mitjançant un sistema de transport actiu emprant ATP. Aquestes proteïnes es troben en gran nombre de teixits com l'epiteli intestinal, els ronyons i el fetge, entre altres. Els principals exponents d'aquesta família són la Glicoproteïna-P (ABCB1), MRP1 (ABCC1), MRP2 (ABCC2) i BCRP (ABCG2).

A l'epiteli intestinal els ABC funcionen com a transportadors d'eflux de la membrana apical. Aquests limiten l'absorció de fàrmacs, evitant l'acumulació intracel·lular de productes i afecten, per tant a la seva biodisponibilitat oral. S'han documentat moltes interaccions farmacològiques i alimentàries sobre els transportadors intestinals que determinen variacions en la biodisponibilitat i toxicitat. Paral·lelament, en el ronyó, els transportadors ABC participen en la secreció de fàrmacs i també presenten nombroses interaccions. En el fetge, els transportadors ABC es troben en diferents localitzacions de la membrana cel·lular, essent determinants en la regió canalicular. Es reconeixen com els principals transportadors de sals biliars i expulsen gran nombre de compostos del metabolisme, incloent fàrmacs i moltes altres substàncies.

En la lluita contra el càncer, la resistència als fàrmacs per part de les cèl·lules neoplàsiques és un dels principals factors determinants de la poca efectivitat dels tractaments. S'ha descobert que els ABC contribueixen a aquesta resistència. El coneixement profund d'aquests transportadors i de la seva possible inhibició farmacològica podria determinar l'ús de nous quimioteràpics molt més específics i eficaços.

Per últim, estudis recents han confirmat la participació activa dels ABC en la depuració cel·lular de fàrmacs antirretrovirals emprats en el tractament de la SIDA.

En la conquesta de l'espai cal que els metges adquirim un paper actiu i aprenguem a tractar l'home en aquest nou entorn. Tot just comencen a publicar-se investigacions sobre l'estudi de fàrmacs a gravetat 0 i encara no hi ha cap publicació sobre el funcionament dels ABC en microgravetat. Recentment s'ha pogut observar que el metabolisme dels fàrmacs es veu disminuït a l'espai (projecte StelSys realitzat a la ISS). La nostra proposta busca aprofundir sobre aquesta dada intentant esbrinar si els ABC hi tenen alguna implicació. Però l'interès de les dades que en puguin derivar pot ampliar-se, com hem volgut fer evident, a molts altres àmbits. Un major coneixement dels ABC a l'espai podria afectar a investigacions sobre noves teràpies contra el càncer, nous tractaments contra la SIDA i malalties hereditàries.

Per a realitzar el nostre experiment hem de conèixer prèviament el funcionament dels transportadors en condicions de gravetat normal per a comparar els resultats amb els que s'obtinguin en gravetat 0. Necessitem fons per obtenir el material necessari: concentrats de transportadors en vesícules sintètiques, comercialitzats únicament per Solvo a Hongria en forma de *kits* d'alta fiabilitat i d'ús senzill. Nosaltres aportem experiència en el laboratori així com l'ajuda de l'Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM). Estem en contacte amb un tutor que ens ha assessorat en tot el procés de recerca bibliogràfica i que continuarà recolzant-nos fins a la presentació del projecte a la ESA.

## VARIABILITAT DEL GEN CNLAC1 LACASA EN CRYPTOCOCCUS GATTII I CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Gemma Segura Roca	Universitat Autònoma de Barcelona	Universitat Autònoma de Barcelona / Espanya	Unitat Docent de l'IMAS, Hospital del Mar i Unitat de Recerca en Malalties Infeccioses i Micologia (URMIM)

Autor/s: G. Segura, E. Alvarado-Ramírez, M.F. Murciano, S. Gómez, J.M. Torres.

### INTRODUCCIÓ

*Cryptococcus gattii* és una nova espècie segregada de *Cryptococcus neoformans* per les seves característiques fenotípiques, epidemiològiques i genètiques. En els darrers anys s'han comunicat casos autòctons de criptococosi humana i animal a Espanya produïts per *C. gattii*.

Els factors de patogenicitat han estat estudiats pràcticament sempre en *C. neoformans* i es desconeix si són similars a la d'aquesta nova espècie.

El gen CNLAC1 és fonamental en la regulació de la síntesi de l'enzim lacasa, aquest gen s'ha estudiat només en *C. neoformans*. Per aquest motiu s'ha analitzat la seva seqüència en aïllats d'ambdós serotips de *C. gattii*, comparant-lo amb *C. neoformans*.

### MATERIALS I MÈTODES

**Aïllats:** s'han utilitzat 8 soques *C. gattii* serotip B. Sis d'elles aïllades de cabres immunocompetents mortes de criptococosi pulmonar disseminada. S'han inclòs 2 soques del serotip C i 4 de *C. neoformans* serotips A i D aïllades de pacients HIV+ amb criptococosi meníngia.

**Procediments:** Un fragment del gen de la lacasa (≈450pb) va ser amplificat a partir de DNA genòmic de cada soca utilitzant PCR convencional. Els iniciadors (*primers*) utilitzats van ser dissenyats a partir de les seqüències principals del gen CNLAC1 procedent de 16 soques incloses en la base de dades del GenBank. El primer iniciador (*forward*) estava localitzat en 88è-106è i el seu complementari (*reverse*) en 528è-547è.

El producte amplificat va ser seqüenciat amb el programa *ABI PRISM 310NT Genomic Analyser* (Applied Biosystems, Calif. USA) utilitzant *BigDye Terminator Cycle-Sequencing kit*. La seqüència de nucleòtids va ser analitzada comparativament mitjançant el *Blast Program of NCBI*.

## RESULTATS

Amb la PCR s'obtingué un fragment de 418-422 pb que es va trobar exclusivament en les soques de *C. gattii* en ambdós serotips B i C.

El *Blast Program* va demostrar que la seqüència del fragment obtingut presentava 98% d'homologia en seqüències parcials del CNLAC1 de *C. bacillisporus* (que és un sinònim de l'actual *C. gattii*).

## DISCUSSIÓ

Aquests resultats, demostren que *C. gattii*, en les condicions d'aquest estudi, presenta una regió amplificada d'aproximadament 450pb, que és pròpia d'aquesta espècie i independent del seus dos serotips, que no es troba en *C. neoformans*.

Aquestes diferències donen suport a la segregació d'ambdues espècies indicant que poden haver-hi diferències qualitatives en els seus factors de virulència.

**Contribució Personal al Projecte:** Treball realitzat gràcies a una Beca de Recerca per a Estudiants de Medicina de la UAB i Institut Municipal d'Assistència Sanitària, (període octubre 2005 - setembre 2006), integrada a l'URMIM, dins del projecte: "**Factors de patogenicitat en *Cryptococcus gattii* i *Cryptococcus neoformans***".

Treball fet amb la tutorització del Coordinador del grup, Professor Dr. Josep M. Torres Rodríguez, (assignatura de Microbiologia de la UDIMAS) i l'assessorament en biologia molecular d'Eidi Alvarado.

Tasques realitzades seguint el Protocol *Michigan-Urmec* :

- a. Sembrar i incubació 72h a 30°C en medi de Saboraud líquid
  - b. extracció de l'ADN de les soques de *Cryptococcus*
  - c. electroforesi per confirmar la presència del material genètic
  - d. visualització i registre d'imatges ( programa *Gel-Doc 2000*)
  - e. eliminació de l'ARN, nova electroforesi i registre.
- Amplificació per PCR del fragment desitjat ( $\approx 450$ pb), electroforesi i registre corresponents.
  - Purificació dels productes utilitzant columnes de precipitació *Applied Biosystems*.
  - seqüenciació del fragment (servei de genòmica)
  - Anàlisi i discussió dels resultats amb l'equip de treball.



## INDUCCIÓN DE LA SINAPTOGÉNESIS EN NEURONAS DEL HIPOCAMPO POR SOBREACTIVACIÓN DE PI3K

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Cristina Caramés Sánchez	Universitat de Barcelona	Universitat de Barcelona / Espanya	Laboratori de Neurofisiologia. Departament Ciències Fisiològiques I.

Autor/s: C. Caramés, M. Cantarero.

**Objetivos:** Recientemente se ha demostrado que los niveles de activación de phosphatidil inositol 3-kinasa (PI3K) regulan el número de sinapsis en neuronas de *Drosophila* y en neuroblastomas humanos. Estos resultados sugieren que la vía sinaptogénica de PI3K se conserva en mamíferos. El objetivo del proyecto ha sido la caracterización en detalle del efectos de la sobreactivación de PI3K sobre la sinaptogéneis en el sistema nervioso de mamíferos.

**Metodología:** Para estudiar los efectos de la sobreactivación de PI3K sobre la sinaptogénesis se emplearon neuronas de hipocampo de rata en cultivo. Las neuronas se obtuvieron por disección de hipocampos de ratas postnatales (P0 y P1), las células se sembraron a una densidad aproximada de 176 células/mm<sup>2</sup> sobre un sustrato de Poli-D-lisina + laminina. Las neuronas en cultivo fueron tratadas crónicamente, a partir del primer día en cultivo, con una concentración de 50 µg/ml del péptido 740 YP (activador de PI3K comercializado por Calbiochem), reemplazándose la concentración de péptido cada 2 días. A los días de cultivo 2, 4, 6, 8 y 10 las células se fijaron y se procesaron para inmunocitoquímica. Se usaron cultivos creciendo en condiciones control y en presencia del péptido activador.

**Inmunocitoquímica:** Brevemente el protocolo es el siguiente: los coverslips con el cultivo se sumergieron en PBS y a continuación se fijaron en paraformaldehído al 4% durante 30 minutos. Posteriormente se lavaron tres veces con PBS y se incubaron con una solución de bloqueo conteniendo durante 30 minutos. Posteriormente, las neuronas se incubaron con anticuerpos contra dos proteínas sinápticas; Bassoon (proteína presináptica) y Sinapsina (proteína vesicular) durante una hora a temperatura ambiente. A continuación los cubres se lavaron 3 veces en PBS y se incubaron en PBS con los anticuerpos secundarios correspondientes conjugados con FITIC (fluorescencia en verde-520 nm) y Rodamina (fluorescencia en rojo-590 nm).

**Obtención y análisis de imágenes:** Usando un microscopio de fluorescencia acoplado a una cámara digital CCD, se tomaron fotografías de neuronas representativas del cultivo. Se obtuvieron dos fotografías de cada neurona, una de la fluorescencia en rojo (Sinapsina) y una segunda de la

fluorescencia en verde (Bassoon). Solo se consideraron sinapsis maduras aquellas que presentaban marcaje para los dos anticuerpos. Las imágenes se procesaron mediante el programa informático Adobe Photoshop<sup>®</sup>, obteniéndose una imagen derivada de la conjunción de los dos marcadores, de tal manera que las sinapsis que presentaban doble marcaje, adultas, aparecían de color amarillo. Tras cuantificar la cantidad de sinapsis en cada dendrita, los resultados se expresaron como densidad sináptica cada 100  $\mu\text{m}$ . Solo se usaron para la cuantificación las dendritas claramente identificables y que surgieran directamente del soma neuronal.

**Resultados y conclusión.** Los resultados muestran un aumento de la densidad sináptica de casi un 100 % durante los días de cultivo 4 y 6. A partir de los días 8 y 10, las diferencias entre control y tratamiento disminuyen. Podemos concluir de éstos resultados que la sobreactivación de la PI3K es un potente inductor de la sinaptogénesis, siendo sus efectos más pronunciados durante las primeras etapas del desarrollo neuronal. Un mejor conocimiento de los mecanismos por los cuales PI3K ejerce su efecto abre la puerta al descubrimiento de nuevas terapias neuroprotectoras en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer.

## MALALTIA DE PARKINSON I CÈL·LULES MARE

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Joan Crespí Vidal	Universitat de Barcelona	University of Edinburgh / Regne Unit	Department of Stem Cell Sciences

Autor/s: J. Crespí, R. Laguna.

La Malaltia de Parkinson és la malaltia neurodegenerativa més freqüent després de l'Alzheimer. Tot i la gran ajuda de les teràpies farmacològiques i quirúrgiques, encara no existeix cap tractament que aconseguixi guarir la malaltia.

### Objectius:

L'estudi de la biologia de les cèl·lules mare (CM) permetrà varies aplicacions:

1. Entendre millor el desenvolupament del sistema nerviós.
2. Establir cultius estables de cèl·lules d'estirp neuronal que permetin testar de forma segura i fiable nous fàrmacs.
3. Crear models de diferents malalties a través de la modificació de les CM.
4. Ús de les cèl·lules per a reparar teixits danyats.

### Part1: Diferenciació de CM embrionàries de tres línies cel·lulars diferents a neurones, en co-cultiu amb cèl·lules estromals PA6

1. Estudiar quina és la quantitat més adient de cèl·lules per pou per a una eficaç diferenciació de les cèl·lules. Provarem quantitats de 200, 400 i 800 cèl·lules.
2. Comparar els medis de cultiu N2B27 i RHBA.
3. Observar com influeix cultivar les cèl·lules amb 2 ml de medi al pou, respecte a usar 0.5 ml. (Abocant 2ml de medi les condicions d'oxigenació de les cèl·lules seran pitjor).

### Metodologia i resultats:

- Emprarem 3 plaques, formades per 2 files i 6 columnes. A les 3 plaques sembrarem cèl·lules PA6 i a cada placa hi afegirem una línia de CM diferent. A la primera fila de cada placa posarem medi RHBA i a la segona, medi N2B27. A les columnes 1 i 2 de cada placa la quantitat de CM era de 200, a les columnes 3 i 4 de 400 cèl·lules i a les columnes 5 i 6 de 800. A les

columnes imparells abocarem 0.5 ml de medi (RHBA o N2B27) i a les parells 2 ml.

- Canviarem el medi cada 3 dies en una campana de flux laminar en condicions estèrils.

- El 14è dia fixarem les cèl·lules en paraformaldehid 4% i procedirem a realitzar la tinció immunohistoquímica.

Els pous on les cèl·lules es diferenciaren millor foren aquells on abocarem 400 CM i 0.5 ml de medi RHBA.

### Part 2: Generació d'un sistema d'expressió gènica induïble

El sistema està format per un vector d'expressió (*Vector pExp*) al qual introduïm una seqüència de DNA composta per un promotor timidina quinasa induïble, un lloc de clonació múltiple i un lloc de poliadenilació (denominem fragment "*IndProm*" - de "*inducible promoter*" - a aquesta seqüència). La utilitat d'aquesta construcció és transformar les cèl·lules mare embrionàries i poder decidir quan s'expressa el gen clonat, simplement afegint la molècula inductora al medi. Si pensem que un gen és decisiu en un determinat dia del desenvolupament, per a la diferenciació cap a neurones dopaminèrgiques, afegirem la molècula inductora al cultiu el dia en qüestió. El gen es sobreexpressa i tindrem una major proporció de cèl·lules mare diferenciant-se a neurones.

### **Metodologia i resultats:**

1. Obtenir del plàsmid pIndProm-pA el fragment IndProm, per digestió amb els enzims ApaI i NotI.
2. Amplificar el fragment per PCR, amb *primers* que creen una diana de restricció AgeI en cada extrem.
3. Per altra banda, digerir el plàsmid pExp amb SapI i en aquest punt clonar l'oligo SapI-AgeI-SapI.
4. Digerir el plàsmid resultant amb AgeI i clonar en ell el fragment IndProm que haurem amplificat per PCR.

### **Conclusions:**

L'establiment de línies de CM amb sistemes d'expressió gènica induïble, permetrà entendre millor els mecanismes de la diferenciació cel·lular i, per tant, avançar en les aplicacions terapèutiques de les CM.

## FLORA FÚNGICA NASAL EN SUBJECTES AL·LÈRGICS I SANS

Nom i Cognoms	Universitat de procedència	Universitat de recerca / País	Departament
Maite Sellart Altisent	Universitat Autònoma de Barcelona	Universitat Autònoma de Barcelona / Espanya	IRMIM- Micologia

Autor/s: M. Sellart, J.M. Torres.

**Objectius:** Els fongs ambientals penetren juntament amb l'aire a la cavitat nasal i poden desencadenar al·lèrgies respiratòries en subjectes atòpics, no obstant, la flora fúngica de les fosses nasals ha estat poc estudiada. La porta d'entrada nasal per les espores fúngiques, hauria de reflexar la flora atmosfèrica dominant; els fongs que es troben a la mucosa nasal alliberen productes antigènics que en pacients atòpics poden causar sensibilització i determinar l'aparició de rinitis i fins i tot asma al·lèrgica. D'aquí l'interès per conèixer la flora fúngica nasal en subjectes al·lèrgics i sans.

**Metodologia:** En aquest estudi s'han cultivat mostres de la mucosa nasal de 135 subjectes dels quals 48 eren al·lèrgics a fongs i/o àcars i epitelis. Tots ells residents de l'àrea metropolitana de Barcelona i amb una edat entre 18 i 35 anys. Els fongs aïllats van ser identificats a nivell d'espècies i les dades van ser analitzades mitjançant els programes estadístics SPSS.

**Resultats:** Els resultats obtinguts demostren que el 41.5% dels subjectes normals eren portadors d'una o més espècies fúngiques en la flora nasal mentre que només el 14.8% dels al·lèrgics presentaven fongs ( $p=0.011$ ). El 50.4% dels fongs aïllats corresponen a 4 dels gèneres fúngics més al·lèrgics: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* i *Aspergillus*. Les espècies fúngiques més comunes van ser: *Cladosporium herbarum* i *C. cladosporioides* (23.6%); *Alternaria alternata*, *A. Infectoria* y *A. Chlamydospora* s'aïllaren tan sols en el 8.5% de les mostres (malgrat que 23 pacients eren al·lèrgics preferentment a *Alternaria*). Els llevats es van aïllar predominantment en cultius de subjectes sans. No es van observar diferències significatives entre sexes ni pel fet de fumar.

**Conclusions:** Destaca la menor prevalença de fongs nasals en subjectes al·lèrgics, que podria ser deguda a la insuficiència nasal, rinorrea i/o major ús de mocadors.

## TRIBUNAL

### **Dr. Oriol Bachs Valldeneu**



Enginyer Tècnic Químic a l' Escola d'Enginyeria Tècnica de Barcelona l'any 1969 i Llicenciat en Biologia a la Universitat de Barcelona l'any 1978. Doctor en Biologia a la mateixa Universitat el 1983. Catedràtic de Biologia Cel.lular des de 1991.

Temes de Recerca: Regulació del cicle cel·lular i càncer. Proteómic del Cicle Cel·lular.

Docència: Professor de Biologia Cel.lular a la Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona.

És Catedràtic del Departament de Biologia Cel.lular i Anatomia Patològica (Facultat de Medicina, UB) on actualment desenvolupa una intensa activitat investigadora i dirigeix un gran nombre de tesis doctorals.

### **Dr. Cristóbal Mezquita**



Llicenciat en Medicina a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona el 1968 i Doctor en Medicina en la mateixa Universitat el 1974. Formació postdoctoral al Baylor College of Medicine, Houston, TX. USA. 1974-1978. Catedràtic de Fisiologia des de 1984. Degà de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona des del 1990 al 1995. Distinció al mèrit docent de la Generalitat de Catalunya "Jaume Vicens Vives" 1997.

Temes de recerca: Angiogènesi i Regressió Vascular. Expressió gènica

Docència: Fisiologia dels Sistemes Cardiocirculatori i Respiratori

### **Dr. Àngel Messeguer**



Llicenciat en Química per la Universitat de Barcelona el 1969 i Doctor en Química per la mateixa Universitat el 1974. Formació postdoctoral a la Universitat de Cornell (USA) durant 1978-1979. És Professor d'Investigació del Consell Superior d'Investigacions Científiques des del 1991 i està adscrit a l'Institut d'investigacions Químiques i Ambientals de Barcelona, on dirigeix la Unitat de Química Bioorgànica. En l'actualitat és també Director del dit Institut i President de la Societat Catalana de Química (filial de l'Institut d'Estudis Catalans)

Temes de recerca: química mèdica, química combinatòria, antioxidants, mecanismes d'acció a nivell molecular de composts citotòxics.

Docència: ha participat com a professor de diversos cursos de tercer cicle a la Facultat de Química de la Universitat de Barcelona.

### **Dra. Cristina Minguillón Llombart**



Llicenciada en Farmàcia per la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona el 1981 i Doctora en Farmàcia per la mateixa universitat el 1987. Formació postdoctoral al Conservatoire National des Arts et Metiers a París, França (1990). Professora titular de Química Orgànica de la Universitat de Barcelona adscrita al Departament de Farmacologia i Química Terapèutica, unitat de Química Farmacèutica, des de 1991.

Actualment desenvolupa la seva activitat investigadora a l'Institut de Recerca Biomèdica del Parc Científic de Barcelona.

Temes de recerca: Separació d'enantiòmers: estudi fonamental del mecanisme de reconeixement enantioselectiu i la seva aplicació a la separació de fàrmacs o els seus intermedis sintètics.

Docència: Química Farmacèutica, disseny de fàrmacs i síntesi de fàrmacs.

## **Dr. Francisco J. Muñoz López**



Llicenciat en Biología per la Universitat Complutense de Madrid el 1990 i doctorat en Fisiologia per la mateixa universitat l'any 1995. Formació postdoctoral a l'Hospital de la Princesa ( Universitat Autònoma de Madrid) i a P. Universidad Católica de Xile. És professor associat de Fisiologia Cel·lular de la Universitat Pompeu Fabra.

Temes de recerca: Processament cel·lular del pèptid beta-amiloide, patofisiologia de la malaltia d'Alzheimer, agregació bioquímica del pèptid beta-amiloide, estrès oxidatiu i citotoxicitat induïts pel pèptid beta-amiloide.

Docència: Fisiologia Cel·lular.



## LLIURAMENT DE PREMIS

### **Dra. Maria Teresa Estrach Panella**



Catedràtica de Dermatologia Mèdico-Quirúrgica i Venereologia de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona. Degana de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona.

Va néixer a Girona el 4 de setembre de 1950, va cursar els estudis de la Llicenciatura de Medicina i Cirurgia a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona (1967-1973) i va obtenir Premi Extraordinari de Llicenciatura. Grau de Doctor en Medicina en 1978. Metge Especialista en Dermatologia i Venereologia des de 1976.

Ha participat en nombrosos congressos i reunions nacionals i internacionals i ha participat com a ponent en congressos d'Educació Mèdica. També ha organitzat simposiums i cursos. Ha publicat més de 100 treballs en revistes nacionals i internacionals sent la seva línia d'investigació l'oncologia cutànea, especialment les neoplasies linfoides cutànies i els carcinomes cutanis, i ha participat en més de 15 projectes d'investigació.

Membre de diverses societats científiques: Membre de l'Acadèmia de Ciències Mèdiques i de la Salut de Catalunya i Balears; Membre de l'Acadèmia Espanyola de Dermatologia i Venereologia (AEDV); Membre fundador del grup espanyol de Dermatologia Pediàtrica; Membre del Col·legi Ibero Latino Americano de Dermatologia; Membre del ESDR (European Society for Dermatological Research); Membre del grup de Cutaneous Lymphoma de la EORTC; Coordinadora de la Xarxa Temàtica de Limfomes Cutanis; Representant espanyola en Cutaneous Lymphoma EORTC; Membre de ISCL (The International Society for Cutaneous Lymphomas); Membre de la AMSE (Associació de Facultats de Medicina d'Europa) i membre de la AMEE (Associació Internacional d'Educació Mèdica).

### **Dr. Josep Antoni Bombí Latorre**



Llicenciat en Medicina i Cirurgia a la UB en 1971. Doctor en Medicina per la UB en 1973. Especialista en Anatomia Patològica en 1974. Diplomant en Gestió Hospitalaria. Expert en microscopia electrònica i patologia digestiva, camps on desenvolupa fonamentalment la seva activitat professional i de recerca en la actualitat.

Catedràtic d'Anatomia Patològica de la Facultat de Medicina de la Univ. de Barcelona. Metge Consultor d'Anatomia Patològica del Hospital Clinic, responsable de la Unitat de Microscopia Electronica.

President de l'Acadèmia de Ciències Mèdiques i de la Salut de Catalunya i de Balears . Degà de la Facultat de Medicina de la UB (1995-2001). President de la Conferència Nacional de Degans de Facultats de Medicina d'Espanya ( 2000 - 2001). Membre corresponent de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya.

### **Belén Caurín Saboya**



Estudiant de 4t de medicina al Campus Casanova de la Universitat de Barcelona. Des del curs 2003-2004 ha estat un dels membres més actius de l'AECS, passant a dirigir l'equip de treball de Salut Reproductiva i SIDA des del 2004. Actualment és membre de la Junta General de l'Associació formant part de l'equip de tresoreria.

L'any 2004 va organitzar les primeres Jornades sobre Anorèxia i Bulímia a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona. La seva tasca ha estat molt important per a l'establiment del Dia Mundial de la SIDA a les diferents facultats de les Ciències de la Salut, des d'on cada any es recullen diners destinats a associacions professionals que treballen amb afectats pel VIH. Durant el Dia Mundial de la SIDA també ha intentat conscienciar i informar els joves sobre una realitat que sovint es veu massa allunyada.

# COMITÉ ORGANITZADOR

**Encarna Romero Buiza**

**Elisabet Esteve Manasanch**

**Dra. Maria Teresa Estrach**

**Dr. Oriol Bachs**

**Dr. Cristóbal Mezquita**

**Laura Comerma**

**Equip de Recerca de l'Associació d'Estudiants de Ciències de la Salut**