

## Área de Ciencias Biológicas

### PB-001. EFECTO DEL ENVEJECIMIENTO Y DE LA RESTRICCIÓN DE METIONINA A EDADES AVANZADAS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ROS Y EL DAÑO OXIDATIVO AL ADN EN MITOCONDRIAS DE HÍGADO DE RATA

G. Barja, I. Sánchez-Román, A. Gómez y M. López-Torres  
*Universidad Complutense de Madrid.*

**Objetivos:** Se sabe que la restricción calórica en la dieta (DR) disminuye la producción mitocondrial de ROS (mitROS) y el estrés oxidativo en ratas jóvenes inmaduras. Esto parece deberse al descenso en la ingestión de metionina de los animales sometidos a DR, lo que es interesante porque la restricción isocalórica de metionina en la dieta (MetR) también aumenta, como la DR, la longevidad máxima en roedores de laboratorio. Sin embargo, no se sabe si las ratas viejas mantienen la capacidad de disminuir la generación de mitROS y el estrés oxidativo en respuesta a la MetR, como las jóvenes inmaduras, ni si la MetR implementada a edades avanzadas puede reversibilizar aumentos del estrés oxidativo asociados a la edad.

**Métodos:** En esta investigación se estudiaron los efectos del envejecimiento y de la MetR durante 7 semanas sobre la producción de mitROS y el daño oxidativo al ADN mitocondrial (ADNmt) en mitocondrias funcionales de ratas Wistar jóvenes y viejas.

**Resultados:** La MetR a edades avanzadas (24 meses) disminuyó la producción de mitROS específicamente en el complejo I, la fuga porcentual de radicales libres en la cadena respiratoria (FRL), y el daño oxidativo al ADNmt sin cambiar el consumo de oxígeno. La edad (24 frente a 6 meses) disminuyó el consumo de oxígeno mitocondrial en estado 4.

**Conclusiones:** La restricción de metionina isocalórica a corto plazo es capaz de disminuir la producción de mitROS y el daño oxidativo al ADNmt aumentando la eficiencia de la cadena respiratoria en evitar la fuga de electrones hacia radicales libres derivados del oxígeno. Los animales viejos siguen manteniendo la capacidad de disminuir la producción de ROS y el estrés oxidativo mitocondrial en respuesta a la restricción a corto plazo de una única substancia en la dieta: la metionina.

Apoyado por el Proyecto BFU2008-00335

### PB-002. RITMOS BIOLÓGICOS, ESTRÉS LABORAL Y ESTRÉS OXIDATIVO

A. Casado Moragón<sup>1</sup>, A. Castellanos Asenjo<sup>2</sup> y M.E. López-Fernández<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC). Madrid. <sup>2</sup>Hospital Gregorio Marañón. Madrid.

**Introducción:** El concepto de tiempo y la continua ritmidad presente en la naturaleza han estado desde siempre muy ligados al hombre y su evolución. Los ritmos biológicos no constituyen un fenómeno casual ni un seguimiento pasivo de las condiciones ambientales, sino que forman parte de una adaptación al entorno, que es fundamental para la supervivencia de las especies.

**Objetivos:** Analizar la influencia del turno de trabajo sobre el estrés laboral y el estrés oxidativo en profesionales de una unidad de cuidados paliativos (UCP).

**Métodos:** Se han analizado 52 profesionales de una UCP (23 varones, 29 mujeres) con edades entre 20 y 60 años. Todos los participantes en el estudio cumplimentaron un cuestionario con parámetros socio-demográficos, estilo de vida y factores laborales. El estrés laboral (burnout) se determinó con el Maslach Burnout Inventory. El estrés oxidativo se analizó en muestras de sangre entera y hemolizados mediante espectrofotometría y HPLC, e incluía la actividad de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y niveles de malondialdehído (MDA).

**Resultados:** No se han observado diferencias significativas entre varones y mujeres ni para el estrés laboral (burnout), ni para el estrés oxidativo (actividad de SOD y CAT, y niveles de MDA). Profesionales de UCP de turnos de tarde y noche presentan actividad de SOD, y niveles de MDA y burnout significativamente más altos ( $p < 0,01$ ) que los de turnos de mañana. Los niveles de MDA se incrementan con la edad, y se han obtenido diferencias significativas entre solteros y casados ( $287,22 \pm 8,31$  vs  $317,18 \pm 6,24$  nm/mg hemoglobina) pero no en divorciados ( $288,41 \pm 5,64$  nm/mg hemoglobina). Se han encontrado diferencias significativas entre fumadores y no fumadores para SOD, CAT y MDA. Los niveles de MDA eran significativamente más bajos en los que practicaban deporte que en los sedentarios ( $280,59 \pm 7,62$  vs  $299,12 \pm 8,09$  nm/mg hemoglobina), y también en los que tomaban fruta y verduras y los que no tomaban ( $291,05 \pm 8,11$  vs  $316,31 \pm 7,42$  nm/mg hemoglobina).

**Conclusiones:** Trabajar en turnos de tarde y noche incrementa el estrés laboral y el estrés oxidativo. Estrés laboral y estrés oxidativo son similares en varones y mujeres. El estilo de vida influye en estrés laboral y estrés oxidativo

### PB-003. ESTRÉS OXIDATIVO Y DIABETES EN EL ANCIANO

A. Casado Moragón y M.E. López-Fernández

Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC). Madrid.

**Introducción:** La diabetes es una enfermedad hereditaria compleja de elevada incidencia y prevalencia a nivel mundial. El síntoma primario es la hiperglucemia. Entre los mecanismos moleculares propuestos para explicar los daños causados por la hiperglucemia se incluye, entre otros, el incremento del estrés oxidativo. La hiperglucemia puede dañar los sistemas antioxidantes permitiendo que las ROS dañen otras moléculas o incluso proteínas estructurales.

**Objetivos:** Determinar el papel de los enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) en la diabetes del anciano.

**Métodos:** Se han analizado 250 individuos con diabetes mellitus (tipo II), 135 mujeres y 115 varones con edades comprendidas entre 60 y 93 años. También se han analizado, como grupo control, 255 individuos sanos, sin diabetes mellitus, 143 mujeres y 112 varones y edades similares a las de los pacientes con diabetes. En todos los individuos incluidos en el estudio se determinó la actividad de dos enzimas antioxidantes: 1) superóxido dismutasa (SOD) que se determinó en sangre entera mediante el método de Minami y Yoshikawa, y 2) catalasa (CAT) que se valoró en hemolizados utilizando el método de Aebi. En los individuos con diabetes mellitus se determinó, además, el porcentaje de hemoglobina glicosilada.

**Resultados:** Los resultados obtenidos muestran: a) no existen diferencias significativas en la actividad de SOD y CAT entre varones y mujeres ni en el grupo control ni entre los pacientes con diabetes. b) la actividad de SOD es más elevada en pacientes con diabetes que en controles siendo las diferencias significativas. c) la actividad de CAT es menor en pacientes con diabetes que en controles, siendo las diferencias significativas.

**Conclusiones:** Nuestros hallazgos sugieren que la implicación del estrés oxidativo en la diabetes del anciano podría deberse a que la actividad de los enzimas antioxidantes analizados está alterada en pacientes diabéticos. Esto pudiera estar causado porque la hiperglucemia crónica mantiene también un estrés oxidativo crónico capaz

de dañar múltiples moléculas de importancia biológica entre las que se pueden encontrar las enzimas antioxidantes analizadas.

### PB-004. PERFIL METABÓLICO POR RMN PARA LA DETECCIÓN DE LA ISQUEMIA CORONARIA

D. Monleón Salvador<sup>1</sup>, J.M. Morales Tatay<sup>2</sup>, V. González Marracchelli<sup>1</sup>, R. Segura Sabater<sup>1</sup>, M.J. Fortea Reyes<sup>1</sup> y V. Bodi Peris<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fundación Investigación Hospital Clínico. Valencia. <sup>2</sup>Universidad de Valencia.

**Objetivos:** La enfermedad coronaria es probablemente la patología cardiovascular más frecuente en el anciano. En este contexto, el diagnóstico fiable de la isquemia miocárdica constituye aún un problema frecuente en los servicios de cardiología. El objetivo de este trabajo es identificar nuevos marcadores metabólicos en sangre periférica de isquemia coronaria mediante espectroscopía de RMN de plasma sanguíneo de pacientes pre y post angioplastia primaria.

**Métodos:** El estudio incluyó 20 pacientes citados para ser intervenidos de angioplastia primaria a causa de angina de pecho estable y 10 controles sometidos a angiografía coronaria diagnóstica. Se tomaron 0,5 mililitros de plasma sanguíneo inmediatamente antes, 10 minutos después y 2 horas después de la intervención (o de la angiografía en controles) para su análisis por espectroscopía de RMN. Los resultados se analizaron mediante macros y programas de análisis multivariable desarrollados en el laboratorio y mediante la librería PLSToolbox para MatLab. Las componentes principales escogidas para el análisis explicaron al menos un 70% de la varianza del sistema.

**Resultados:** El análisis multivariable y el análisis univariante mostraron diferencias estadísticamente significativas entre muestras provenientes de pacientes y controles. Las señales de RMN más relevantes incluyeron cuerpos cetónicos, ácidos grasos y creatina total. Además de mostrar diferencias entre controles y pacientes, estos metabolitos se vieron alterados en el proceso de angioplastia mostrando diferencias entre muestras pre y post angioplastia. El modelo de discriminación basado en proyección a estructuras latentes (PLS-DA) de los espectros obtenidos mostró un rendimiento den la validación cruzada de más del 90% con tan sólo un falso negativo entre las 30 muestras testadas.

**Conclusiones:** El perfil metabólico y el modelo de discriminación desarrollados en este estudio permite distinguir con precisión pacientes isquémicos y no isquémicos. Las diferencias metabólicas encontradas responden tanto a las alteraciones del metabolismo cardíaco como a una respuesta global a estrés del organismo.

### PB-005. CAMBIOS AL ENVEJECER EN EL RITMO CIRCADIANO DE SECRECIÓN DE CITOQUINAS POR LEUCOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA DE RATONES

M. de la Fuente<sup>1</sup>, I. Maté<sup>1</sup>, E. Fernandez-Malavé<sup>1</sup>, J.A. Madrid<sup>2</sup> y R. Manasssa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Complutense. Madrid. <sup>2</sup>Universidad de Murcia.

Los ritmos circadianos, las oscilaciones que a lo largo de un día experimentan las funciones fisiológicas de cada individuo, son un componente clave del sistema neuro-endocrino-inmunitario y son fundamentales para el mantenimiento de una adecuada homeostasis. Hemos comprobado recientemente que algunas funciones de las células inmunitarias peritoneales cambian a lo largo del día y que en el caso de los ratones hay un ritmo circadiano diferente en animales viejos en comparación con los adultos. Puesto que al envejecer hay una inmunosenescencia que parece incidir en la inflamación que subyace en el envejecimiento, en la que participa el desequilibrio entre citoquinas pro- y anti-inflamatorias producidas por las células inmunitarias, el objetivo del presente trabajo fue comprobar el ritmo circadiano en la secreción de dichas citoquinas por leucocitos de sangre periférica de ratones adultos y viejos. Se estudiaron ratones ICR-

CD1 hembras, estabulados con un ciclo invertido de 12 horas luz/oscuridad (luz de las 20:00 a las 8:00 horas), adultos ( $28 \pm 2$  semanas de edad) y viejos ( $72 \pm 2$  semanas). A las 8:00, 13:00 y 18:00 horas se obtuvo sangre periférica por punción ocular. La sangre fue incubada en presencia de lipopolisacárido de *E. coli* durante 4 horas y el plasma obtenido tras la centrifugación fue conservado en congelación hasta la valoración de las citoquinas anti-inflamatorias (IL-10) y proinflamatorias (IL-1b y TNF- $\alpha$ ) por luminometría. Los resultados indican que hay un ritmo circadiano diferente para la secreción de las citoquinas estudiadas en ratones adultos y viejos. Comparando los valores de dichas citoquinas en cada momento del día las mayores diferencias tienen lugar en la IL-10, con menores valores en viejos (por ejemplo los valores (pg/ml) de viejos versus adultos son:  $48 \pm 7$  y  $88 \pm 7$  ( $p < 0,01$ ) a las 8:00 horas y de  $29 \pm 4$  y  $82 \pm 11$  ( $p < 0,01$ ) a las 18:00 horas). Podemos concluir que el momento del día en el que se realizan los estudios de inmunosenescencia es importante, y que el estado de inflamación que acompaña a la vejez parece deberse fundamentalmente a una menor capacidad de secreción de citoquinas anti-inflamatorias, al menos en leucocitos sanguíneos.

Financiación: MICINN (BFU2008-04336; BFU2011-30336), Grupo Investigación UCM (910379ENEROINN); RETICEF (RD06/0013/0003); (RD06/0013/0019).

#### PB-006. VALORES DE QUIMIOTAXIS DE NEUTRÓFILOS Y NIVELES DE INTERLEUQUINA-8 EN UNA POBLACIÓN DE NONAGENARIOS

I. Mate Otaño<sup>1</sup>, M. Antón<sup>1</sup>, P. Alonso Fernández<sup>2</sup>

y M. de la Fuente del Rey<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Complutense. Facultad de Ciencias Biológicas. Madrid.

<sup>2</sup>Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

**Objetivos:** En el envejecimiento tiene lugar un deterioro del sistema inmunológico conocido como inmunosenescencia. En estudios previos, nuestro grupo ha comprobado que los centenarios mantienen un sistema inmunitario preservado, similar a la de los adultos, siendo los hombres centenarios poseedores de una función más óptima que las mujeres. Por ello, el propósito del presente estudio ha sido valorar una función de neutrófilos (quimiotaxis) parámetro relacionado con la longevidad, y los niveles de la quimioquina interleuquina-8 (IL-8) con el fin de conocer si los nonagenarios muestran el envejecimiento saludable que presentan los centenarios, así como comprobar si existen diferencias de género.

**Métodos:** Se obtuvieron muestras sanguíneas de un total de 89 individuos, hombres y mujeres, divididos en tres grupos de edad: adultos (30-49 años; 20 hombres y 20 mujeres), septuagenarios (18 hombres y 12 mujeres) y nonagenarios (9 hombres y 20 mujeres). Tras la separación de neutrófilos, se procedió a la valoración de su movilidad hacia un foco infeccioso (quimiotaxis) por un quimioatraventante (péptido formilado). Además se valoraron los niveles de IL-8 en plasma y en el plasma de sangre periférica estimulada previamente con el mitógeno lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli*.

**Resultados:** Los septuagenarios muestran una disminución de los niveles de quimiotaxis ( $347 \pm 18$ ) en relación a los adultos ( $564 \pm 16$ ,  $p < 0,001$ ), mientras que los nonagenarios ( $478 \pm 20$ ) mantienen valores similares a éstos últimos, especialmente los hombres ( $525 \pm 46$ ). Los niveles plasmáticos de IL-8 se encuentran aumentados en nonagenarios con respecto a adultos ( $p < 0,01$ ) y a septuagenarios ( $p < 0,05$ ). Por el contrario, en el plasma estimulado con LPS los hombres nonagenarios muestran unos niveles de IL-8 similares a la de adultos.

**Conclusiones:** La capacidad de quimiotaxis de los neutrófilos se encuentra preservada en nonagenarios, especialmente en hombres. Estos resultados, así como el hecho de que ante un estímulo infeccioso (LPS) los niveles de IL-8 de adultos y hombres nonagenarios son similares, ratifican el mantenimiento de un mejor estado inmunológico en aquellos individuos que han llegado a esa longevidad.

Además, se destaca la necesidad de diferenciar entre géneros en las valoraciones de función inmunitaria.

Financiación: MICINN (BFU2011-30336); Grupo de investigación UCM (910379ENEROINN); RETICEF (RD06/0013/0003).

#### PB-007. MICROPET PARA ANIMALES PEQUEÑOS EN UN MODELO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

J. Gambini<sup>1</sup>, V. Bonet-Costa<sup>1</sup>, R. López-Grueso<sup>2</sup>, M. Inglés<sup>1</sup>,

K. Abdelaziz<sup>1</sup>, M. El Alami<sup>1</sup> y J. Viña<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitat de València. <sup>2</sup>Universidad Miguel Hernández. Elche. Alicante.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa que provoca la pérdida gradual de las funciones cognitivas, y que está ligada al envejecimiento y al estrés oxidativo. La aparición de placas del péptido  $\beta$ A y los ovillos neurofibriliares de la proteína TAU inducen una degradación del cerebro. Esto provoca que el consumo de glucosa disminuya en pacientes con EA respecto a individuos sanos de edad equivalente, y durante la evolución de la enfermedad. La comprobación de este hecho en un modelo animal puede ayudar a valorar posibles tratamientos y líneas de investigación que, por evidentes razones éticas, no es posible realizar en humanos. El elegido por nuestro grupo es el ratón doble transgénico para la EA APPswe/PSEN1, que desarrolla placas de  $\beta$ A. Trabajamos con machos y hembras wild type y transgénicos de diferentes edades, 3-5 meses, 10-13 meses y más de 20 meses, para ver la evolución de la patología asociada. El consumo de glucosa se ha medido como la captación de glucosa por tomografía por emisión de positrones, con un prototipo de micropet para animales pequeños, usando 2-[<sup>18</sup>F]-fluoro-2-desoxi-D-glucosa (FDG) como marcador, que permite ver la captación de glucosa por los órganos, en cerebro y cerebelo. Los resultados obtenidos muestran como el consumo de glucosa no solo no disminuye como ocurre en humanos, sino que aumenta con la edad en hembras transgénicas, tanto en cerebro como en cerebelo, en las wild type no vemos cambios, mientras que en los machos transgénicos y wild type la captación tampoco disminuye con la edad, solo se ven cambios en el grupo de 3-5 meses, en que el transgénico capta más glucosa que el wild type, para los 2 órganos. En conclusión podemos decir que el modelo para la EA APPswe/PSEN1 no se corresponde con la realidad en humanos para el consumo de glucosa.

Agradecimientos: este trabajo fue apoyado por la beca SAF2010-19498; BFU2007-65803/BFI del Ministerio Español de Educación y Ciencia (MEC), ISCI2006-RED13-027 de la Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF), PROMETEO2010/074 y financiado por EU COSTB35, y una cofinanciación por FEDER de la Unión Europea.

#### PB-008. BIOMARCADORES DE FRAGILIDAD: PROTEÍNAS CARBONILADAS, MALONDIALDEHÍDO Y FACTOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DEL CEREBRO

J. Gambini, M. Inglés, K.M. Abdelaziz, V. Bonet, M. El Alami,

M. Dromant y J. Viña

Universidad de Valencia. Facultad de Medicina. Valencia.

**Introducción:** La fragilidad es un término geriátrico empleado como marcador de vulnerabilidad, permitiendo así identificar individuos con una capacidad disminuida para responder a elementos estresantes externos. Los individuos frágiles tienen mayor riesgo de muerte, institucionalización y discapacidad. Con el fenotipo aparentemente bien descrito, la atención se ha centrado en la fisiopatología, intentando identificar posibles biomarcadores de fragilidad.

**Objetivos:** El propósito del presente estudio fue encontrar posibles biomarcadores de fragilidad en plasma relacionados con el daño oxidativo (malondialdehído o MDA y carbonilación proteica) y con el

deterioro cognitivo (factor neurotrófico derivado del cerebro o BDNF), y su relación con la edad.

**Métodos:** En 150 pacientes (de 65 a 95 años de edad), clasificados como frágiles (50), prefrágiles (50) y no frágiles (50), según los criterios de Fried, medimos los niveles de malondialdehído (MDA), carbonilación de proteínas y BDNF en plasma. El MDA fue medido por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), la carbonilación de proteínas mediante western blotting, y el BDNF mediante la técnica ELISA, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante SPSS.

**Resultados:** Los sujetos frágiles mostraron niveles de MDA y proteínas oxidadas significativamente superiores a los no frágiles. Con respecto a los niveles de BDNF en plasma, estos fueron significativamente inferiores en los individuos frágiles, en comparación con los no frágiles. No se encontró correlación alguna entre ningún parámetro de los mencionados anteriormente y la edad o el sexo del sujeto.

**Conclusiones:** Los marcadores de daño oxidativo en plasma MDA y carbonilación proteica, así como el marcador de deterioro cognitivo BDNF, están relacionados con la fragilidad, y no con el sexo ni la edad del sujeto. Tales parámetros pueden ser considerados como biomarcadores que pueden predecir la condición de fragilidad, en el contexto del análisis multidimensional del paciente geriátrico.

#### PB-009. LA SOJA INDUCE LA SOBREEXPRESIÓN DE GENES ANTIOXIDANTES PERO NO ALARGA LA VIDA

C. Borrás Blasco, K. Mohamed Abdelaziz, V. Bonet Costa, M. Ahmed El Alami, M. Inglés de la Torre, M. Dromant y J. Viña Ribes  
Universidad de Valencia.

**Introducción:** Multitud de estudios científicos llevados a cabo en diferentes organismos, desde levadura hasta ratones, han observado una relación positiva entre la resistencia al estrés oxidativo y la longevidad. También se sabe que el sistema enzimático antioxidante juega un papel importante en la defensa de la célula contra el daño oxidativo. En este mismo sentido, son muchas las investigaciones que han demostrado las propiedades antioxidantes de las isoflavonas de la soja.

**Objetivos:** Nuestro objetivo principal es determinar mecanismos que modulen la actividad de genes antioxidantes y asociados al envejecimiento, mediante manipulaciones nutricionales como la administración de soja. Determinar también, si las modulaciones de los "genes antioxidantes" se asocian a cambios reales en la longevidad.

**Métodos:** Realizamos una curva de longevidad en ratones OF-1 machos, divididos en dos grupos experimentales, 76 alimentados con dieta rica en soja y 81 pobre en soja. Los animales se controlaron diariamente, y se registró su consumo diario de alimento y su peso semanal. Se sacrificaron 5 ratones de cada grupo experimental al 100, 80, 50 y 10% de supervivencia. Extrajimos el hígado para determinar la expresión de los genes de longevidad, manganeso superóxido dismutasa (Mn-SOD) y glutatón peroxidasa (GPx), mediante PCR en tiempo real; sus niveles proteicos se determinaron mediante western blotting y su actividad enzimática por espectrofotometría.

**Resultados:** El consumo de soja no alarga ni la vida media ni la máxima de los ratones OF-1 machos. En cuanto a los genes de longevidad, la soja aumentó la expresión de ARNm y los niveles de proteína MnSOD, al 10% de supervivencia. Su actividad enzimática, al 80% fue mayor en los animales alimentados con soja. La GPx aumentó su expresión de ARNm y niveles de proteínas al 80, 50 y 10% de supervivencia con la soja. Al 10% encontramos mayor actividad enzimática en el grupo soja.

**Conclusiones:** El consumo de soja induce la sobreexpresión de genes asociados a la longevidad e incrementa su actividad, sin embargo, no alarga ni la vida media ni la máxima.

#### PB-010. ESTUDIO DE LA VULNERABILIDAD NEURONAL SELECTIVA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL HUMANO

A. Naudí<sup>1</sup>, M. Jové<sup>1</sup>, V. Ayala<sup>1</sup>, R. Cabré<sup>1</sup>, I. Ferrer<sup>2</sup> y R. Pamplona<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Universitat de Lleida-IRBLleida. Lleida. <sup>2</sup>Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

**Objetivos:** El sistema nervioso central (SNC) humano posee una amplia multiplicidad funcional la cual se debe a la gran diversidad de poblaciones neuronales y no-neuronales. El hecho que regiones específicas del SNC exhiban diferentes vulnerabilidades a diversas enfermedades neurodegenerativas es un reflejo de la especificidad en la etiología de cada enfermedad y de la heterogeneidad en la respuesta neuronal respecto a los diferentes procesos de daño celular asociados con cada patología. Dado que el estrés oxidativo juega un papel crucial en el proceso fisiológico de envejecimiento y este se invoca como un mecanismo etiopatogénico y/o fisiopatológico de la neurodegeneración, en el presente trabajo se propone realizar un estudio comparativo inter-regional para estudiar las adaptaciones celulares al estrés oxidativo las cuales se hipotetiza que están relacionadas con la vulnerabilidad neuronal selectiva.

**Métodos:** Se han analizado muestras humanas obtenidas del Banco de Cerebros del Instituto de Neuropatología del Hospital de Bellvitge, siguiendo las normas establecidas por el comité ético local. Se han estudiado siete regiones cerebrales: corteza frontal y occipital, hipocampo, amígdala, substancia negra, bulbo raquídeo y medula espinal, con una n = 3-7 por región del SNC en humanos adultos con una edad media de 58 años, obtenidos entre 1-13 h post-mortem. A partir de los homogenados de las muestras se ha procedido a analizar la composición en ácidos grasos de las membranas celulares mediante técnicas cromatográficas y el posterior cálculo de diferentes parámetros como los índices de dobles enlaces e índice de peroxidabilidad, y la estimación de la actividad de las enzimas desaturasas Δ5 y Δ6.

**Resultados:** Los resultados de este estudio comparativo muestran diferencias que confirman la idea de vulnerabilidad neuronal selectiva destacando las diferencias en el grado de insaturación de la membrana celular dependiendo de la región del sistema nervioso que se asocia a una regulación región-específica de las actividades desaturadoras.

**Conclusiones:** Las bases moleculares de la vulnerabilidad neuronal selectiva se pueden relacionar con diferentes adaptaciones frente al estrés oxidativo. Las diferencias en la insaturación de membrana y, por tanto, en la susceptibilidad a la lipoxidación evidenciada en este trabajo confirma esta idea.

#### PB-011. CRECIMIENTO DE LAS CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DENTAL AL 3 Y AL 21% DE O<sub>2</sub>

C. Borrás, M. El Alami, J. Viña Almunia, V. Bonet-Costa, K. Abdelaziz, M. Inglés y J. Viña  
Universitat de València.

Es una práctica común las células madre en presencia de oxígeno ambiental (~21% O<sub>2</sub>), mientras el nivel de oxígeno observado en el entorno fisiológico es a menudo inferior (3-7% O<sub>2</sub>). Además, está demostrado que altos niveles de oxígeno pueden causar estrés oxidativo, lo que conlleva a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), radicales libres que pueden dañar a los lípidos, las proteínas y el DNA de las células alterando su metabolismo. El objetivo del presente estudio es comparar el crecimiento de las células madre mesenquimales de la pulpa dental al 3% O<sub>2</sub> o 21% de O<sub>2</sub> y estudiar el posible mecanismo que controla el ciclo celular en ambas condiciones. Las células madre de la pulpa dental fueron aisladas y caracterizadas por microscopía confocal. Posteriormente, estas células fueron cultivadas al 3% y 21% de O<sub>2</sub>. A las 6 horas, 1, 3, 5 y 7 días, se hizo el conteo de las células junto con la viabilidad en cada condición de oxígeno. Las muestras fueron recogidas en cada punto de la curva

de crecimiento para su posterior análisis por western blotting. Las células madre mesenquimales de la pulpa dental fueron positivas para los marcadores STRO1, OCT4, CD133, NESTIN, CD34 y negativas para CD45. A las 6 horas hubo un 30% menos de adhesión en las células al 21% respecto al 3% de O<sub>2</sub>, además el crecimiento de las células fue menor al 21% con respecto al 3% de O<sub>2</sub>, incluso cuando igualamos la adhesión celular desde el punto de partida (6h). La expresión de la proteína p21<sup>cip11/waf1</sup>, regulador negativo del ciclo celular, fue significativamente más alta en las células cultivadas al 21% O<sub>2</sub>. La proliferación de las células madre de la pulpa dental disminuye al cultivar en condiciones de oxígeno ambiental y la proteína p21<sup>cip11/waf1</sup> es el posible mecanismo que controla su crecimiento.

#### PB-012. LA RESTRICCIÓN CALÓRICA A LARGO PLAZO INDUCE UN PATRÓN LIPIDÓMICO Y METABOLÓMICO ESPECÍFICO EN HÍGADO DE RATÓN

M. Jové, A. Naudí, O. Ramírez y M. Portero-Otín  
Institut de Recerca Biomèdica de Lleida. Lleida.

**Objetivos:** Estudios previos relacionan la composición lipídica de las membranas celulares con el proceso de envejecimiento y la longevidad animal. Ya que se conoce que la restricción calórica (RC) es la mejor intervención experimental capaz de incrementar la longevidad

en distintas especies animales, el objetivo de éste trabajo es estudiar cómo un 30% de RC mantenida durante 6 meses puede afectar el lipidoma y el metaboloma del hígado de ratón.

**Métodos:** Se han utilizado ratones C57BL/6 machos de 4 semanas de edad a los que se les ha administrado dieta estándar *ad libitum* (grupo control) o con una restricción del 30% respecto al grupo control (grupo RC) durante 6 meses. Para el análisis lipidómico y metabólico se ha utilizado cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (UPLC-ESI-QTOF) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para el análisis de composición en ácidos grasos.

**Resultados:** En este trabajo se demuestra que en hígado de ratón una RC del 30% induce cambios importantes en el lipidoma afectando los niveles de fosfolípidos y glicerolípidos, reduciendo la insaturación de las membranas y disminuyendo productos de lipoxidación lipídica. La RC también afecta el metaboloma de éstas células induciendo cambios en vías clave para la bioenergética celular como la glicólisis y la beta-oxidación, así como la vía del triptófano.

**Conclusiones:** Una RC del 30% induce en hígado de ratón un patrón lipidómico y metabólico específico resultado de una reprogramación metabólica que da lugar a una mejora de sistemas antioxidantes celulares. Estos cambios metabólicos inducen una menor lesión oxidativa celular y pueden contribuir al incremento de la longevidad animal descrita en esta intervención.