UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

Propuesta TFG. Curso 2024/2025

GRADO: Grado en Biología

CÓDIGO DEL TFG: 200-115-2024/2025

1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Efecto de un nuevo tratamiento sobre la disfunción endotelial en modelo in vitro de diabetes mellitus tipo 2.

Descripción general (resumen y metodología):

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es reconocida como un problema sanitario grave y una epidemia del siglo XXI. A pesar de las continuas mejoras en el manejo de los pacientes diabéticos, la enfermedad cardiovascular es la principal complicación relacionada con la diabetes, y alrededor del 75% de estos pacientes mueren debido a las consecuencias cardiovasculares. La disfunción endotelial (DE) participa directamente, o indirectamente, en la aparición de diversos daños micro- y macrovasculares, y se relaciona con una mayor vasoconstricción, reactividad y, en consecuencia, la activación de las plaquetas y formación de trombos. Se ha demostrado que, entre varias vías de señalización involucradas, la activación del factor de transcripción NF-kB y del inflamasoma NLRP3, debido a un alto estrés oxidativo, juegan un papel importante en patogénesis de la DE [1] [2].
Los cambios en el estilo de vida y las terapias farmacológicas actuales solo detienen parcialmente la progresión de la DM2, y los medicamentos existentes no pueden suprimir el aumento del riesgo CVs en los pacientes con DM2. Algunas estrategias están dirigidas a inhibir NLRP3 y la autofagia cardiaca [3]. Pero el problema está en que estas terapias están dirigidas hacía uno de los aspectos de la patogenia, y no hacía la mitocondria, siendo este organelo principal fuente de especies reactivas de oxígeno (ROS). La disfunción mitocondrial producida en condiciones de hiperglucemia, a través de ROS, provoca la activación de NLRP3, liberación de citoquinas al espacio extracelular, que junto con los cambios de expresión de exo-miRNAs, promueven la expresión de moléculas de adhesión al endotelio, aumentando la actividad pro-coagulante.
Nuestro grupo tiene amplia experiencia en el estudio de la mitocondria y el papel de la melatonina y de CoQ10. Ambas moléculas disminuyen con la edad y actúan directamente sobre la mitocondria. Se ha demostrado el efecto de la melatonina en la sepsis, sarcopenia, COVID-19 [4]–[6], pero se sabe muy poco sobre la función de la melatonina en las células endoteliales en condiciones de hiperglucemia y envejecimiento. Además, no se sabe nada sobre el efecto de ambas moléculas. Por lo que nosotros planteamos evaluar el efecto del tratamiento propuesto sobre los marcadores relacionados con la inflamación (NF-kB, NLRP3, Procaspase-1, Caspase-1), y la adhesión vascular (ICAM-1, VCAM-1),
Para esto se utilizaran las células humanas endoteliales de cordón umbilical (HUVEC) (jóvenes y senescentes), que se cultivarán en condiciones de normoglucemia e hiperglucemia, tratados y sin aplicar el tratamiento propuesto. Se evaluará el efecto del tratamiento sobre algunos de los marcadores relacionados con la inflamación, los cuales se medirán mediante las técnicas que permiten medir tanto la expresión génica (qRT-PCR), como la expresión de las proteínas (Western Blott).

Tipología: Trabajos experimentales, de toma de datos de campo o de laboratorio.

Objetivos planteados:

Hito: Demostrar la eficacia del tratamiento sobre marcadores moleculares y vías de señalización en los modelos in vitro, en condiciones de hiperglucemia.
Objetivos específicos:

- En el medio de cultivo: niveles de melatonina y CoQ10, ROS; marcadores inflamatorios y pro-coagulantes (IL-1b, IL-6, IL-8/CXCL8, IL-18, MCP1/CCL2, TNF-a, NF-kB), (ICAM-1, VCAM-1).

- En las células se medirán los marcadores relacionados con la inflamación endotelial: eNOS, VEGF-A, ICAM-1, VCAM-1, NF-κB e inflamasoma NLRP3, pro-IL-1β, IL-1β, TNFα, procaspasa-1, caspasa-1; iNOS.
- Análisis y determinación de marcadores de interés.

Bibliografía básica:

[1] I. M. Gora, A. Ciechanowska, and P. Ladyzynski, "Nlrp3 inflammasome at the interface of inflammation, endothelial dysfunction, and type 2 diabetes," Cells, vol. 10, no. 2, pp. 1–29, 2021.

[2] N. M. Darwish, Y. M. Elnahas, and F. S. AlQahtany, "Diabetes induced renal complications by leukocyte activation of nuclear factor κ-B and its regulated genes expression," Saudi J. Biol. Sci., 2021.

[3] F. Wang et al., "Artemisinin suppresses myocardial ischemia–reperfusion injury via NLRP3 inflammasome mechanism," Mol. Cell. Biochem., vol. 474, no. 1–2, pp. 171–180, 2020.

[4] R. K. A. Sayed et al., "The Protective Effect of Melatonin Against Age-Associated, Sarcopenia-Dependent Tubular Aggregate Formation, Lactate Depletion, and Mitochondrial Changes," Journals Gerontol. - Ser. A Biol. Sci. Med. Sci., vol. 73, no. 10, pp. 1330–1338, 2018.

[5] M. Fernández-Ortiz et al., "Melatonin/Nrf2/NLRP3 connection in mouse heart mitochondria during aging," Antioxidants, 2020.

[6] I. Rahim et al., "Melatonin alleviates sepsis-induced heart injury through activating the Nrf2 pathway and inhibiting the NLRP3 inflammasome," Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol., 2020.

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

El estudiante tiene que comprometerse a aprender y realizar las técnicas propuestas, saber aplicar las reglas básicas de cultivo celular, y servir de apoyo en la tarea de cultivo.
Al igual que se debe aprender usar sistema Stratagene QuantStudio 7 Pro (Applied Biosystems) para las qRT-PCR, software 1D Image Analysis. La representación y el análisis de los datos se realizarán con los programas GraphPad Prism 9.

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: IRYNA RUSANOVA RUSANOVA

Ámbito de conocimiento/Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR I

Correo electrónico: irusanova@ugr.es

3. COTUTOR/A DE LA UGR (en su caso):

Nombre y apellidos:

Ámbito de conocimiento/Departamento:

Correo electrónico:

4. COTUTOR/A EXTERNO/A (en su caso):

Nombre y apellidos:

Correo electrónico:

Nombre de la empresa o institución:

Dirección postal:

Puesto del tutor en la empresa o institución:

Centro de convenio Externo:

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos: IVAN MOLINA LOPEZ

Correo electrónico: ivanmolina10@correo.ugr.es