

## LINEAS DE INVESTIGACIÓN TFM-CURSO 2019-2020

**1.-Título:** Efectos de ambiente sobre la herencia epigenética: dietas y recombinación meiótica.

**Tutora:** Dra. Elena de la Casa.

**2.-Título:** Uso de PROTACs para revertir la resistencia intrínseca y adquirida a fármacos antitumorales en cáncer de mama y ovario.

**Tutora:** Dra. Eva M<sup>a</sup> Galán Moya (EvaMaria.Galan@uclm.es)

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Los tumores se encuentran alojados en nichos específicos, que se denomina microambiente tumoral, que proporcionan un colchón protector contra las agresiones externas, y, por tanto, los protegen ante el tratamiento con compuestos quimioterápicos. Romper la comunicación entre las células tumorales y el microambiente que las rodea, es crucial para sensibilizar los tumores. Para ello, usaremos un modelo de microambiente tumoral generado a partir de células de pacientes de cáncer de mama y ovario.

Por otro lado, los pacientes oncológicos tienden a desarrollar resistencias a los tratamientos quimioterápicos. En este estudio se evaluarán diversos compuestos con capacidad potencial para revertir esta resistencia adquirida a los tratamientos quimioterápicos actuales. Para ello, mediante cultivo continuado se han generado líneas de cáncer de mama y ovario resistentes a varios quimioterápicos de uso habitual en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama triple negativo.

Tanto sobre el modelo de microambiente como sobre los modelos con resistencia adquirida, se testará el efecto de nuevos fármacos e inhibidores de rutas de señalización. Su efecto sobre las células tumorales se evaluará mediante ensayos de proliferación, citometría de flujo, supervivencia, formación de colonias en 2D y 3D y el estudio de rutas de señalización mediante la técnica del Western Blot.

**3.-Título:** Interacciones sinérgicas de inhibidores de quinasas contra proteínas de señalización.

**Tutores:** Dr. Alberto Ocaña Fernández ([Alberto.Ocana@uclm.es](mailto:Alberto.Ocana@uclm.es)) y Dra. Eva Galán Moya (EvaMaria.Galan@uclm.es)

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Los pacientes oncológicos tienden a desarrollar resistencias a los tratamientos quimioterápicos, lo que hace necesario buscar nuevas estrategias para tratar los tumores. En este estudio se evaluarán combinaciones de diversos compuestos quimioterápicos actuales para buscar efectos sinérgicos que puedan potenciar su función. El efecto de las combinaciones sobre las células tumorales se

evaluará mediante ensayos de proliferación, supervivencia, formación de colonias en 2D y 3D y el estudio de rutas de señalización mediante la técnica del Western Blot.

**4.-Título:** Estudio del papel de los receptores Notch en la respuesta inflamatoria.

**Tutores:** Dr. José Javier García Ramírez y Dra. Eva M<sup>a</sup> Monsalve Argandoña.

**5.-Título:** Estudios sobre el papel de proteínas de la pared celular en el establecimiento de infecciones causadas por hongos patógeno humano del género *Candida*.

**Tutor:** Dr. Piet de Groot (piet.degroot@uclm.es). Laboratorio de Micología Molecular.

**Tipo de trabajo:** Experimental.

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Las infecciones fúngicas son una causa frecuente de infección en humanos, especialmente las causadas por levaduras del género *Candida*, como *Candida albicans*, *Candida glabrata* y *Candida auris*. En pacientes inmunocomprometidos, *Candida* puede causar infecciones sistémicas que ponen en riesgo la vida del paciente y son difíciles de diagnosticar y tratar. Por tanto, el desarrollo de antifúngicos más efectivos y de nuevas estrategias terapéuticas es urgente y necesario. El grupo de Micología Molecular pretende obtener un mayor conocimiento de los procesos moleculares que permiten el establecimiento de infecciones fúngicas en humanos. La pared celular de *Candida* es una diana importante en el desarrollo de nuevos antifúngicos por ser la superficie de contacto entre hongo y hospedador. En este proyecto, nos centraremos en el papel que juegan las proteínas de la pared en las interacciones entre huésped y patógeno que preceden al establecimiento de la infección. Objetivo: Hemos identificado proteínas de la pared celular en estudios proteómicos de *Candida glabrata* y *Candida auris*. El objetivo en este proyecto es estudiar la función de esas proteínas en el proceso de infección mediante la creación y caracterización de mutantes, y/o clonaje, expresión y purificación de dominios importantes de estas proteínas para su posterior caracterización funcional y estructural. Metodología: En este proyecto estudiaremos la función de proteínas de la pared celular de *Candida* mediante la creación y caracterización de mutantes de delección. Los mutantes se obtienen mediante PCR, clonajes y transformaciones en *Candida* utilizando el nuevo método CRISPR-Cas9. La caracterización de los mutantes se realiza con ensayos bioquímicos, por ejemplo, pruebas de adhesividad, formación de biopelículas y sensibilidad a antifúngicos. Por otro lado, por medio de clonajes se expresarán en *E. coli* los dominios importantes de estas proteínas, para realizar experimentos de purificación con el objetivo de obtener suficiente proteína pura para poder realizar pruebas de caracterización funcional y estudios estructurales avanzados. Otro objetivo en nuestro estudio es la identificación de más proteínas relevantes, clínicamente hablando, mediante estudios proteómicos. Dependiendo de los intereses del estudiante, el proyecto puede enfocarse desde el punto de vista de la biología celular, biología molecular o de la bioquímica. Este proyecto puede incluir trabajos de clonación, ensayos fenotípicos (adhesividad, biopelículas, sensibilidad

a antifúngicos) y bioquímicos (ensayos de pared celular), expresión y purificación de proteínas y/o estudios proteómicos de la pared celular. Las técnicas utilizadas en este proyecto incluyen PCR, técnicas de clonaje, cultivos de *Candida*, transformación de *E. coli* y *Candida* (con CRISPR-Cas9), pruebas de adhesividad, SDS-PAGE, Western e inmunoblotting, aislamiento de pared celular, técnicas de microscopía y purificación de proteínas.

**6.-Título:** Caracterización funcional de genes candidatos de glaucoma congénito en un modelo de pez cebra.

**Tutor:** Dr. José Daniel Aroca Aguilar ([JoseDaniel.Aroca@uclm.es](mailto:JoseDaniel.Aroca@uclm.es)). Laboratorio de Genética Molecular Humana, IDINE (Facultad de Medicina de Albacete)

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Mutaciones en diversos genes como *CYP11B1*, *GPATCH3* y *FOXC1* participan en la aparición de glaucoma congénito primario, aunque dos tercios de la base genética de esta patología es aún desconocida. Las tecnologías de secuenciación masiva permiten la identificación de nuevos genes candidatos en las familias afectadas. El pez cebra es un modelo animal ampliamente utilizado en la caracterización funcional de genes mediante el análisis del patrón de expresión y la inhibición selectiva de expresión génica mediante el establecimiento de líneas knock-out. El alumno participará en el establecimiento de líneas knock-out y en el análisis funcional de genes candidatos de glaucoma congénito en larvas y adultos de pez cebra mediante: i) el análisis de su expresión en peces silvestres utilizando técnicas inmunohistoquímicas y microscopía confocal; y ii) la caracterización de los fenotipos resultantes de la inhibición de su expresión utilizando las líneas *knock-out* obtenidas mediante la tecnología CRISPR/Cas9. Para este último objetivo se utilizarán también líneas *reporter* fluorescentes de genes relacionados con el desarrollo ocular como *sox10*, *vsx2* y *atoh10*. La obtención de líneas dobles knock-out con otros genes de glaucoma como *cyp11b1* y *gpatch3* permitirá el análisis del papel de este gen en herencias digénicas.

**7.-Título:** ¿Existe algún efecto de la administración oral de suplementos enriquecidos con vitamina E sobre las enfermedades neurodegenerativas?

**Tutoras:** Dra. M<sup>a</sup> del Mar Arroyo Jiménez y Dra. M<sup>a</sup> del Pilar Marcos Rabal

**Tipo de trabajo:** Bibliográfico.

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Recientemente se está enfatizando la influencia de una buena alimentación en la salud en general, y, dado el importante aumento de la población envejecida, en la calidad de vida a lo largo de la edad. Existe una preocupación creciente acerca del envejecimiento cerebral, puesto que un aumento de la esperanza de vida trae consigo a menudo un incremento de las enfermedades neurodegenerativas. Se ha propuesto que determinadas sustancias presentes en la dieta ejercen un papel

neuroprotector, como los ácidos grasos omega 3 o determinadas vitaminas, entre las cuales destaca la vitamina E. Se han realizado numerosos estudios en determinados grupos de población que ponen de manifiesto este papel neuroprotector y la conveniencia o no de tomar suplementos alimenticios enriquecidos con vitamina E. Ante la controversia existente, proponemos elaborar una revisión bibliográfica acerca de este tema en la que se valore la situación actual de los estudios realizados hasta la fecha y las principales conclusiones que se derivan de los mismos.

**8.- Título:** Papel de los receptores NOTCH en la diferenciación osteogénica de la línea celular MC3T3-E1.

**Tutores:** Dra. María Luisa Nueda Sanz y Dr. Victoriano Baladrón García.

**Tipo de Trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Se evaluará el papel que tiene cada uno de los cuatro receptores NOTCH en el proceso de diferenciación osteogénica de la línea celular preosteoblástica MC3T3-E1. Se analizará el efecto de la sobre-expresión y de la disminución de la expresión de estas proteínas sobre este proceso de diferenciación celular mediante una tinción específica de los cultivos y el análisis de marcadores de diferenciación osteogénica, así como el efecto sobre las rutas de señalización celular implicadas en este proceso. El alumno aprenderá a manejar: A) Cultivo de líneas celulares. B) Tinción celular de la actividad fosfatasa alcalina y de Alizarin Red. C) Uso de vectores de expresión proteica y shRNAs. D) Extracción de ácidos nucleicos y proteínas. E) Técnica de Western blot, anticuerpos. F) PCR cuantitativa.

**9.-Título:** Estudio de la MAPKERK5 en cáncer y su terapia.

**Tutores:** Dr. Ricardo Sánchez Prieto y Dra. Olga Roche Losada

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** En este trabajo el alumno se centrará en evaluar los efectos que puede tener la ausencia o hiperactividad de la MAPK ERK5 en modelos celulares tumorales. Para ello, mediante el uso de abordajes genéticos y químicos, evaluará los efectos de ERK5 en cáncer y en la respuesta a distintos tratamientos. Durante el TFM el alumno se familiarizará con las siguientes técnicas de laboratorio: cultivo celular, transfecciones, medidas de viabilidad (MTT y cristal violeta), citometría (ciclo celular por Ioduro de propidio, apoptosis), uso de vectores lentivirales, técnicas de bioquímica de proteínas (western blot e inmuno-citoquímica) y RT-PCR cuantitativa.

**10.-Título:** Bases Moleculares de la radiosensibilidad.

**Tutores:** Dr. Ricardo Sánchez Prieto y Dra. María José Ruiz Hidalgo

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Nuestro grupo tiene una amplia experiencia en el estudio de los efectos radiosensibilizantes de distintos compuestos químicos, como sorafenib o gemcitabina, y cómo el uso de estos compuestos mejora los actuales tratamientos basados en la radioterapia. Mediante abordajes genéticos y químicos el alumno estudiará el papel de distintos genes en la combinación de tratamientos de radiación con fármacos antitumorales. Para ello, el alumno se familiarizará con las siguientes técnicas de laboratorio: cultivo celular, transfecciones, medidas de viabilidad (MTT y cristal violeta), citometría (ciclo celular por Ioduro de propidio, apoptosis) uso de vectores lentivirales, técnicas de bioquímica de proteínas (western blot e inmunocitoquímica) y RT-PCR cuantitativa.

**11.-Título:** Caracterización de la exposición personal a ondas electromagnéticas de radiofrecuencia, efectos sobre la salud, hipersensibilidad o percepción de la salud.

**Tutor:** Dr. Alberto Nájera López (Alberto.Najera@uclm.es). Laboratorio: CRIB (Facultad de Medicina de Albacete).

**Tipo de trabajo:** Experimental o bibliográfico.

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Se proponen diferentes opciones: la realización de medidas con exposímetros personales de ondas de radiofrecuencia (de FM a WiFi Max, un total de 14 bandas de frecuencia) en zonas donde la presencia de una antena de telefonía móvil haya generado alarma social, utilizar encuestas/test de percepción de riesgo y estado de salud con el fin de determinar diferencias significativas y factores que puedan influir en cambios en la percepción de la Salud, también se ofrece la posibilidad de realizar diferentes enfoques del problema: geoestadística (análisis de patrones espaciales, estadística en 2D), hipersensibilidad electromagnética, efectos sobre la salud, etc.

**12.- Título:** Relación entre la implantación de prótesis de caderas, la composición mineral del hueso retirado, y enfermedades neurológicas degenerativas en pacientes del hospital de Hellín.

**Tutor:** Dr. Andrés José García Díaz

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Habría que hacer una base de datos con los resultados obtenidos de los análisis minerales de las muestras óseas, y a partir de ella realizar el análisis estadístico, elaboración de resultados y discusión, extraer conclusiones, y redactar todo esto según la normativa de TFM.

**13.-Título:** Efecto de la edad, el peso y la condición corporal sobre la anestesia de ciervas a lo largo de 18 años de su vida

**Tutor:** Dr. Andrés José García Díaz

**Tipo de trabajo:** Los datos ya están tomados, y existe una base de datos, hay que realizar los análisis estadísticos y elaborar los resultados.

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Terminar de elaborar la base de datos con los datos ya introducidos en Excel, analizar estadísticamente y escribir resultados, con su correspondiente discusión (se puede colaborar en la anestesia de ciervas durante el curso, aunque no es necesario).

**14.-Título:** Estudio funcional de variantes de significado incierto detectadas mediante secuenciación masiva en pacientes con Enfermedades Genéticas Minoritarias

**Tutor:** Dr. Francisco Sánchez

**Tipo de trabajo:** Experimental.

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Las Enfermedades Raras son un grupo heterogéneo de patologías graves que tienen una baja frecuencia en la población. Sin embargo, en su conjunto, representan el 7% de la población mundial. En España están afectados 3 millones de personas, la mayoría en edad pediátrica. Normalmente se trata de enfermedades monogénicas donde en la mayor parte de los casos es necesario un laborioso estudio genético que identifique el gen causante de la enfermedad, ya que clínicamente son pacientes de difícil diagnóstico. En estos últimos años, las nuevas técnicas de secuenciación masiva (next-generation sequencing) se están implantando a nivel asistencial. La secuenciación de exomas y de paneles de genes está permitiendo resolver casos clínicos de manera rápida y eficaz. Sin embargo, el nuevo reto al que nos enfrentamos al utilizar este tipo de técnicas, es el de los hallazgos accidentales, es decir, variantes genéticas potencialmente patogénicas que *a priori* no correlacionan con la clínica del cuadro familiar. Por tanto, es necesario averiguar el papel que desempeñan estas variantes de significado incierto para ofrecer un adecuado diagnóstico y asesoramiento genético a las familias afectadas. Para ello, se llevarán a cabo una serie de análisis (segregación familiar, análisis funcional de proteínas mutantes, relación genotipo-fenotipo...) mediante técnicas de genética y biología molecular para determinar el grado de patogenicidad de las variantes encontradas y establecer su relación con los casos familiares.

**15.-Título:** Efecto de compuestos bioactivos derivados del azafrán en el proceso de adipogénesis

**Tutora:** Dra. Silvia Llorens

**16.- Título:** Mecanismos que subyacen a la hiperexcitabilidad neural en la enfermedad de Alzheimer (*hasta 2 alumnos en esta línea*)

**Director/es:** Dra. Lydia Jiménez Díaz y Dr. Juan de Dios Navarro López (Tutor: Dr. Alberto Nájera López) Laboratorio de Neurofisiología y Comportamiento. Centro Regional de Investigaciones Biomédicas (CRIB). Facultad de Medicina de Ciudad Real. Universidad de Castilla La -Mancha.

[https://previa.uclm.es/cr/medicina/grupo\\_de\\_fisiologia.html](https://previa.uclm.es/cr/medicina/grupo_de_fisiologia.html)

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Nuestro laboratorio se centra en la comprensión de los procesos neuronales subyacentes a la disfunción cognitiva en la enfermedad de Alzheimer (AD). Basándonos en el hallazgo de que la hiperexcitabilidad está presente en los estadios asintomáticos de la enfermedad, pretendemos explorar manipulaciones farmacológicas para actuar sobre declive cognitivo en la AD. Para ello estudiamos el hipocampo (estructura fundamental para llevar a cabo procesos de aprendizaje y memoria, y una de las primeras regiones afectadas por las enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer) y otras regiones corticales, a distintos niveles de complejidad, en concreto a nivel molecular, celular, de circuito, redes neuronales y de comportamiento. Nuestro abordaje multidisciplinar incluye manipulaciones *in vivo*, pruebas de comportamiento dependientes de aprendizaje, registros electroencefalográficos (EEG) a largo plazo, fisiología en rodajas de tejido nervioso *in vitro*, inmunohistoquímica, PCR cuantitativa y western blots.

**17.-Título:** Análisis de señales bioeléctricas en modelos murinos *in vivo e in vitro* (*hasta 1 alumno en esta línea*)

**Tutores:** Dr. Alberto Nájera López, Dr. Juan de Dios Navarro López, Dra. Lydia Jiménez Díaz. Laboratorio de Neurofisiología y Comportamiento, CRIB, Facultad de Medicina de Ciudad Real.

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** Nuestro laboratorio se centra en la comprensión de los procesos neuronales subyacentes a la disfunción cognitiva en la enfermedad de Alzheimer (AD). Basándonos en el hallazgo de que la hiperexcitabilidad está presente en los estadios asintomáticos de la enfermedad, pretendemos explorar manipulaciones farmacológicas para actuar sobre declive cognitivo en la AD. Para ello estudiamos el hipocampo (estructura fundamental para llevar a cabo procesos de aprendizaje y memoria, y una de las primeras regiones afectadas por las enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer) y otras regiones corticales, a distintos niveles de complejidad, en concreto a nivel molecular, celular, de circuito, redes

neuronales y de comportamiento. Nuestro abordaje multidisciplinar incluye manipulaciones in vivo, pruebas de comportamiento dependientes de aprendizaje, registros electroencefalográficos (EEG) a largo plazo, fisiología en rodajas de tejido nervioso in vitro, inmunohistoquímica, PCR cuantitativa y western blots.

**18.-Título:** Generación de nuevas neuronas en cerebros humanos adultos.

**Tutor:** Dr. Carlos de la Rosa Prieto (Carlos.delarosa@uclm.es)

**Tipo de trabajo:** Experimental

**Breve resumen del trabajo a realizar:** En mamíferos inferiores, la neurogénesis adulta es un hecho constatado que tiene lugar en determinadas zonas del cerebro, como la zona subventricular/bulbo olfativo y la zona subgranular del giro dentado del hipocampo. Se trata de un proceso que ayuda a mantener ciertas funciones del cerebro implicadas en la memoria y en el sentido del olfato, debido en parte a la alta tasa de generación de nuevas neuronas. No obstante, en el ser humano, el estudio de este proceso está generando cierta controversia. Los últimos estudios sugieren que hay generación de células en el hipocampo, implicado en procesos como la memoria, pero que decaen drásticamente durante la infancia. Otros estudios recientes apoyan la teoría de que la generación neuronal en esta zona es importante cuantitativamente y además está presente durante toda la edad adulta. Sin embargo, la zona subventricular parece no arrojar muchos datos en nuestra especie. La presente propuesta de Trabajo Fin de Máster pretende estudiar la zona cercana a los ventrículos cerebrales laterales procedentes de casos de diferentes edades, durante diferentes etapas del desarrollo y la edad adulta. El material se seccionará en microtomo de congelación y se realizarán técnicas de inmunofluorescencia para marcar las diferentes poblaciones neuronales, células madre, neuroblastos en migración...etc. Con ello se pretende identificar y estimar el número de nuevas neuronas generadas en la zona subventricular humana. Los resultados serán susceptibles de constituir una comunicación a congreso y/o una publicación.