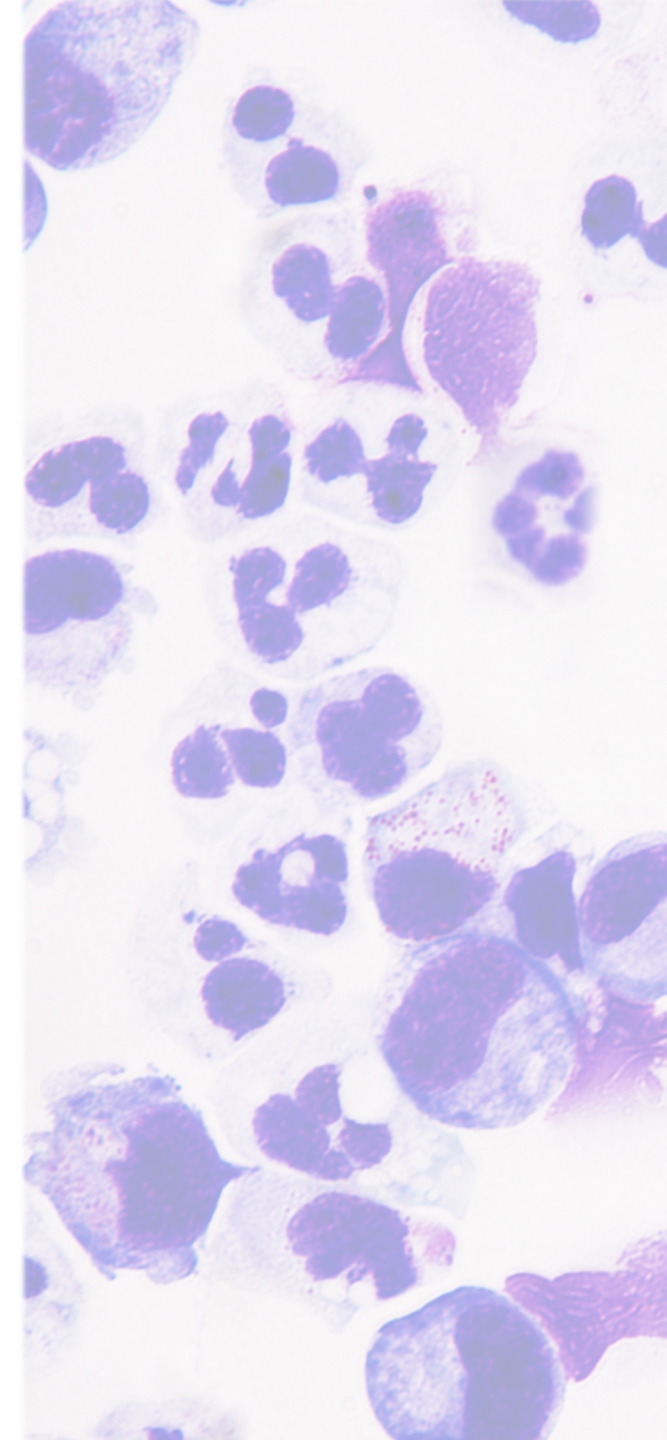


Modelo BBB-on-a-chip para estudiar la interacción neutrófilo–endotelio cerebral y la integridad de la BBB en ictus isquémico: comparación de neutrófilos sanguíneos e iNeutrófilos

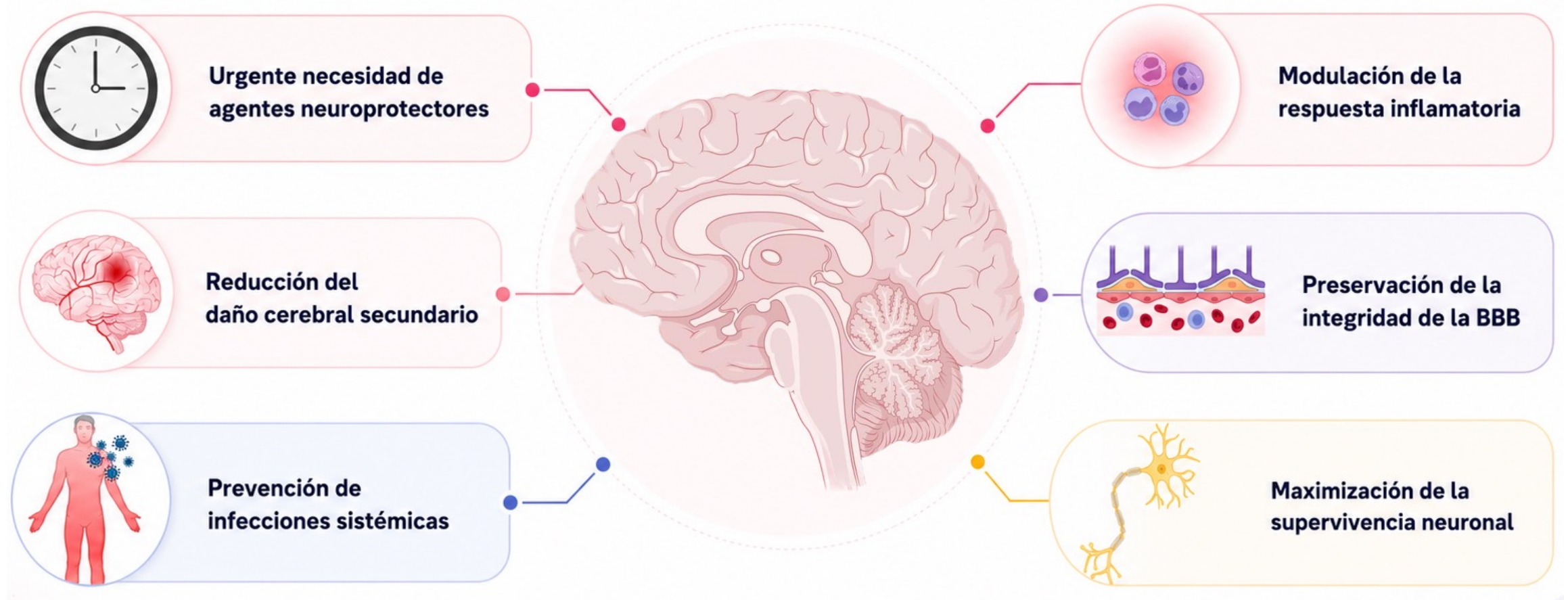
Proyectos colaborativos para investigadores emergentes

**Alba Fernández Bustelo,
Investigadora Predoctoral**

Unidad de Investigación Neurovascular
(UCM, i+12), Dr. Ignacio Lizasoain y Dra.
Ana Moraga



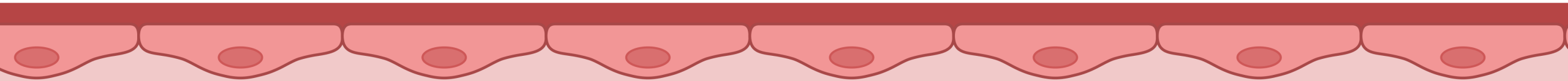
Neuroprotección en el ictus isquémico agudo



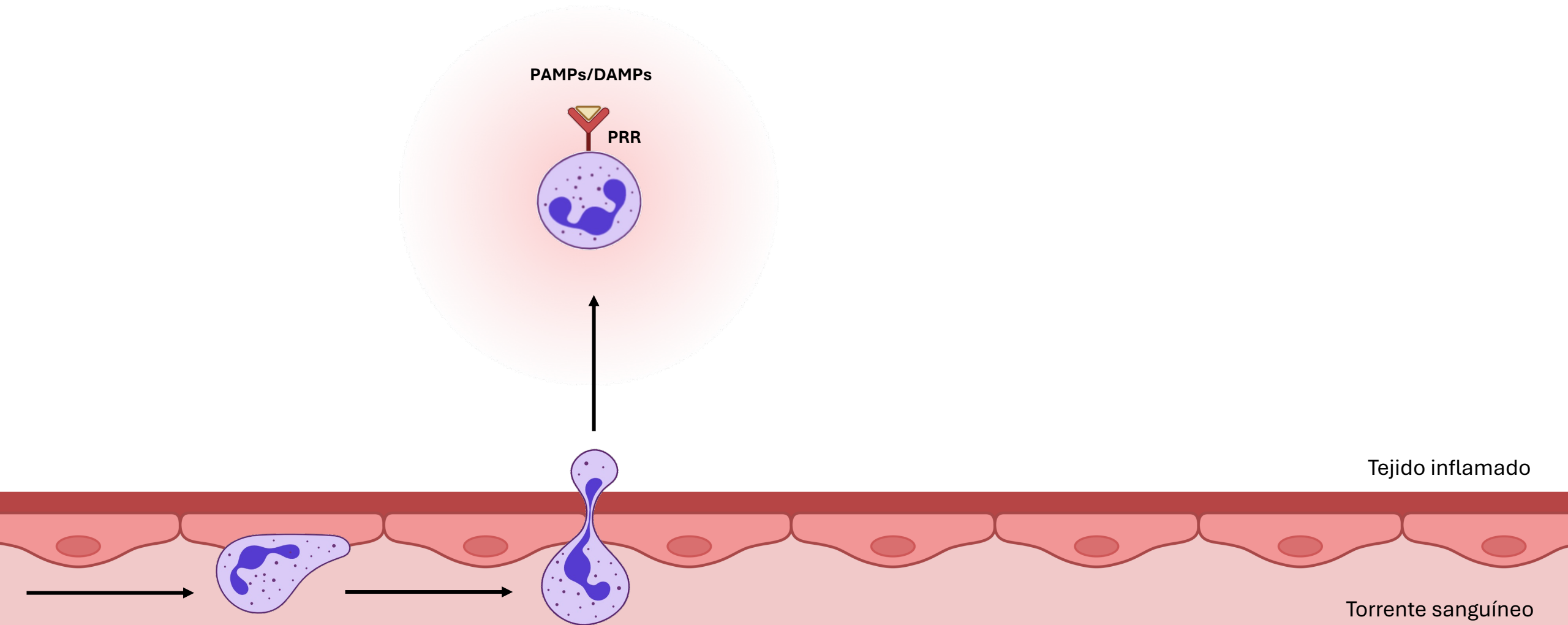
Neutrófilos: agentes decisivos en la salud y la enfermedad



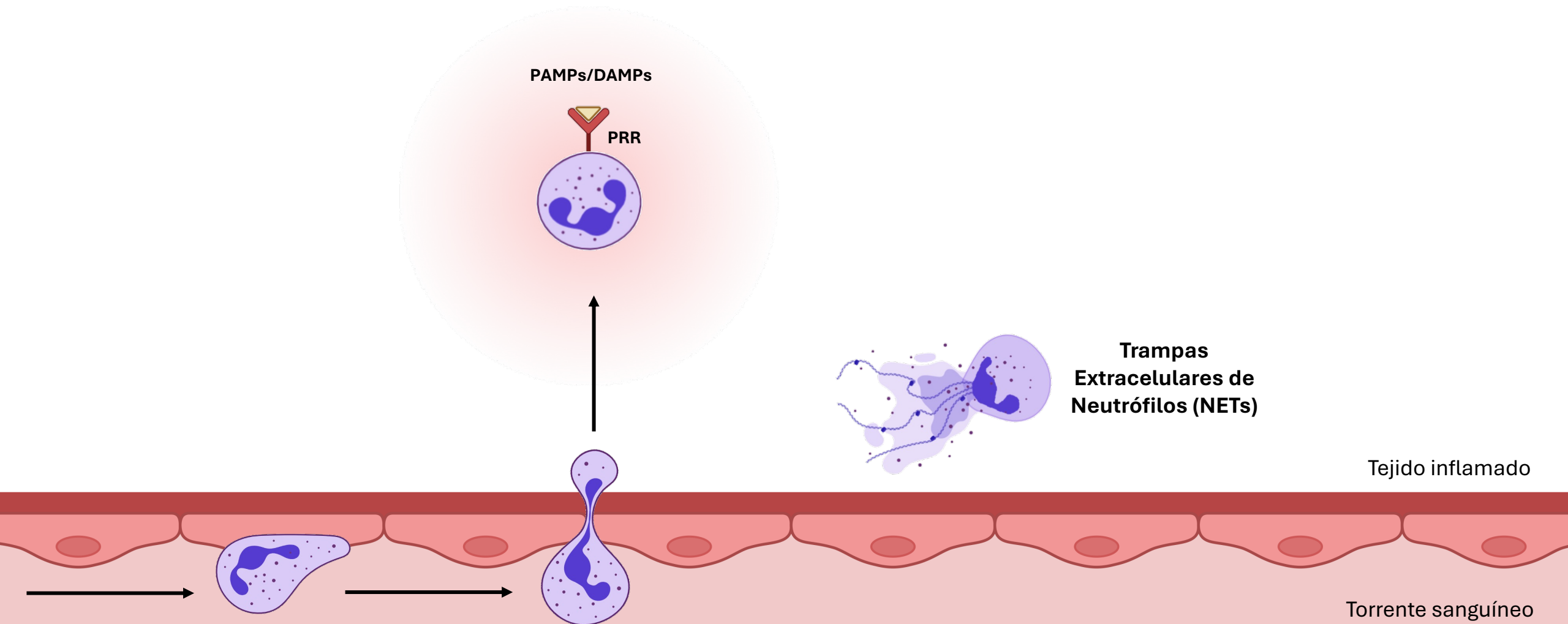
- **50-70%** de leucocitos
- Vida media de **6-12 horas**
- Producción diaria de $1-2 \times 10^{11}$ neutrófilos en la médula ósea → **GRANULOPOYESIS**



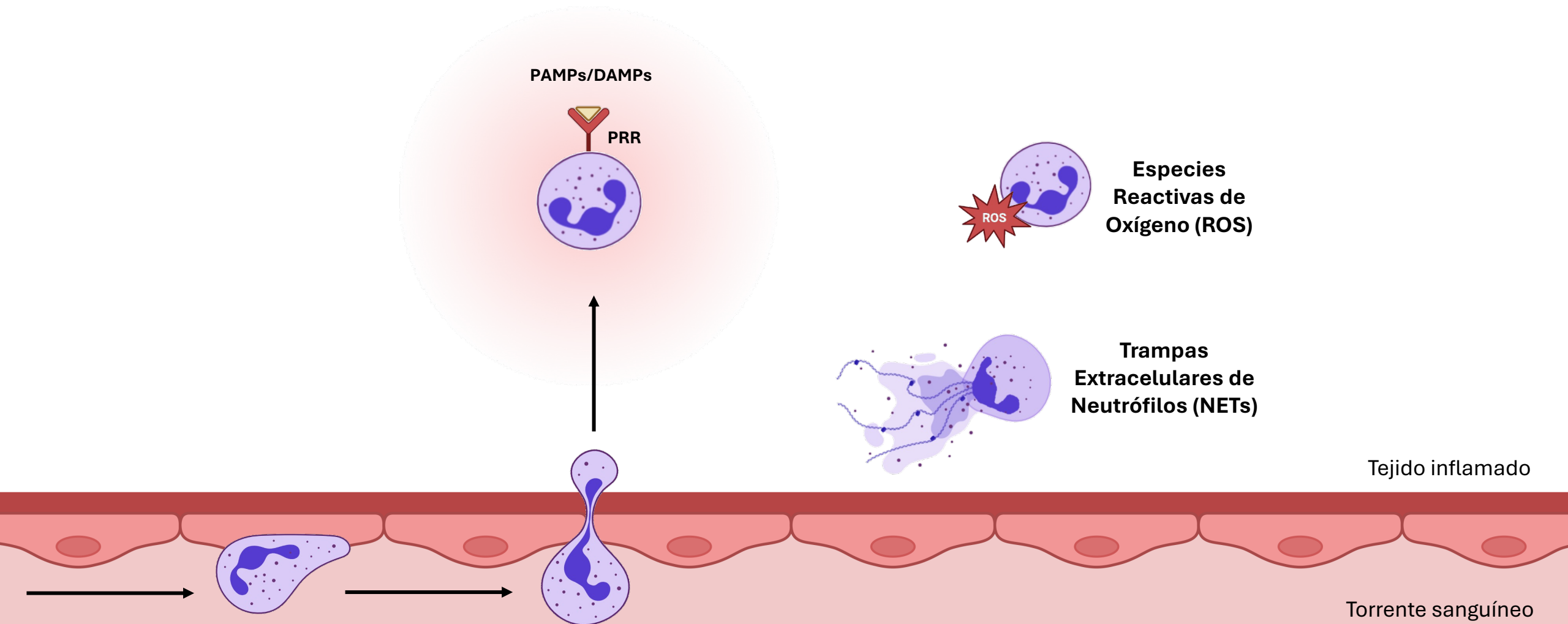
Neutrófilos: agentes decisivos en la salud y la enfermedad



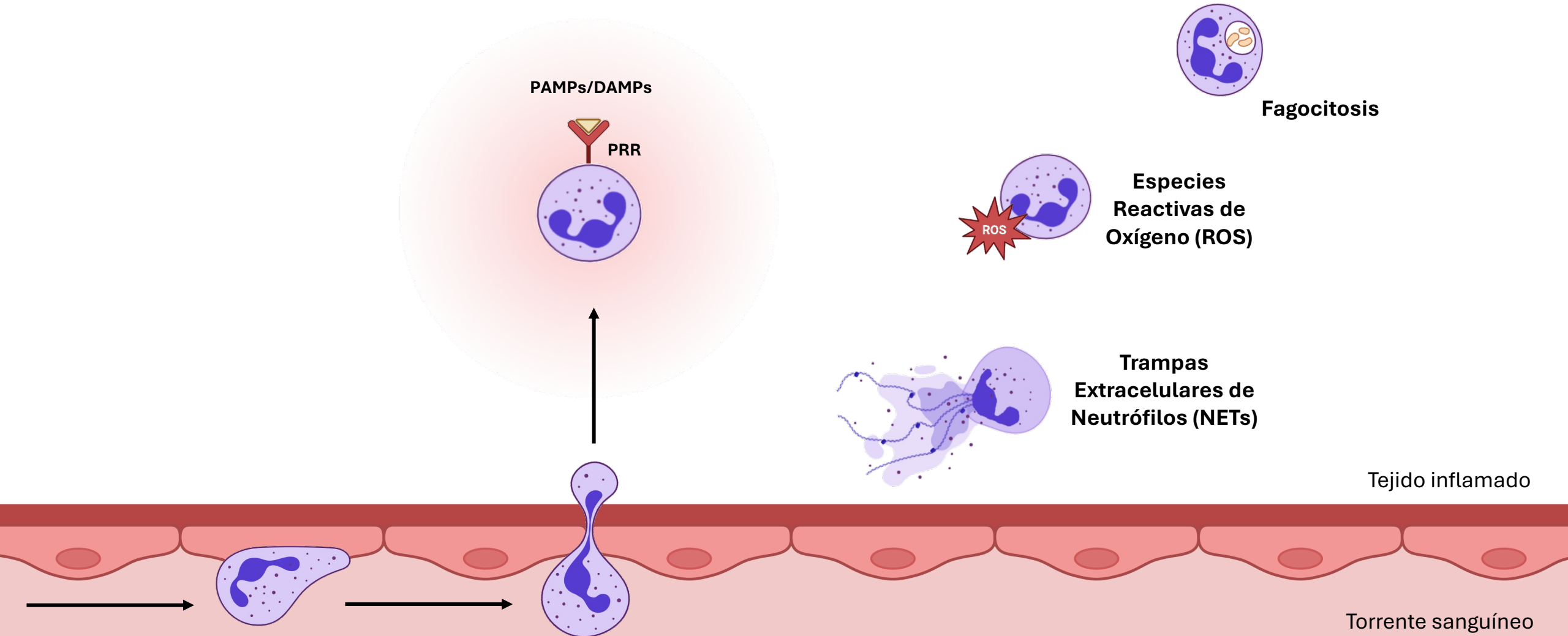
Neutrófilos: agentes decisivos en la salud y la enfermedad



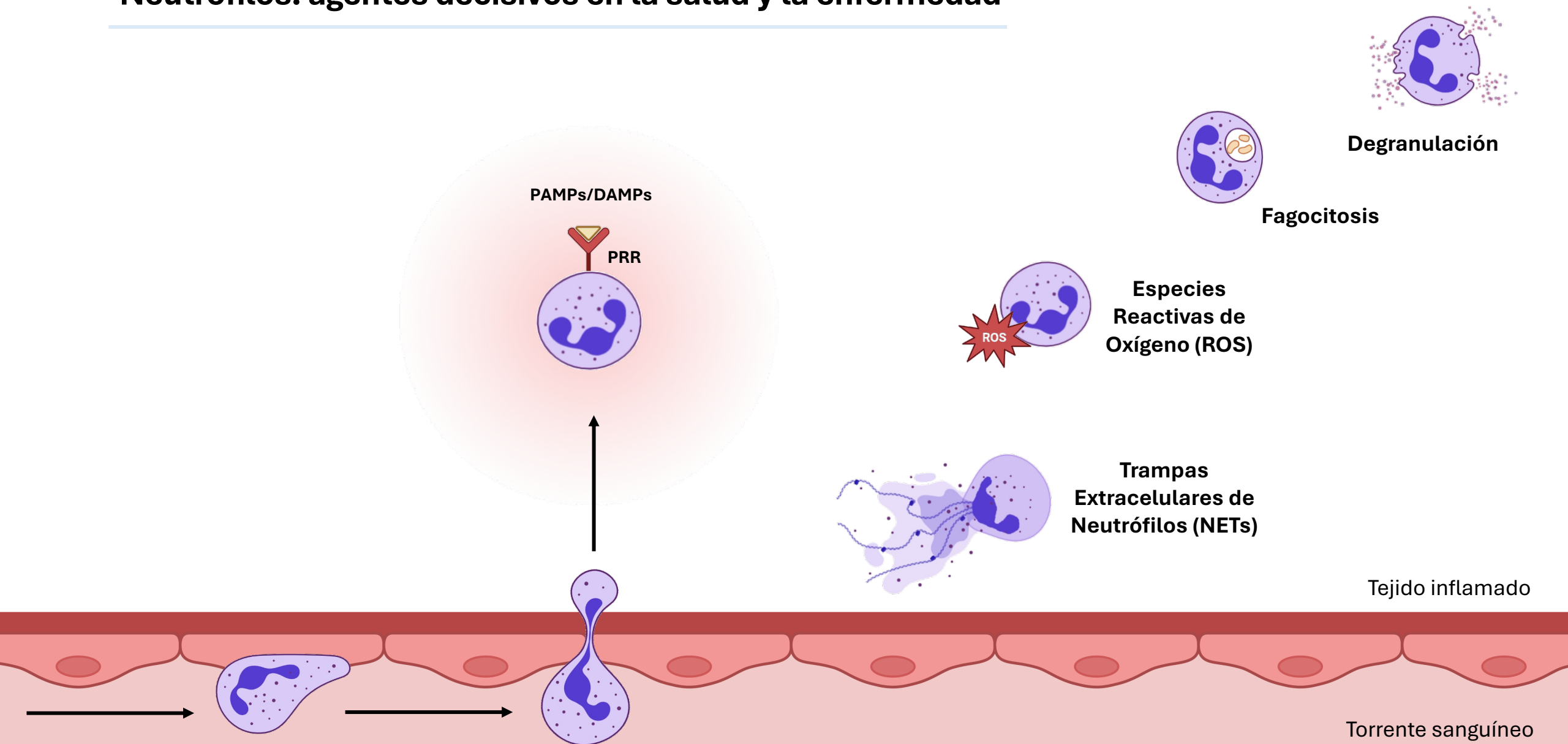
Neutrófilos: agentes decisivos en la salud y la enfermedad



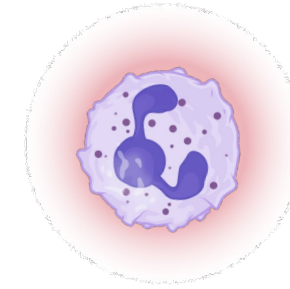
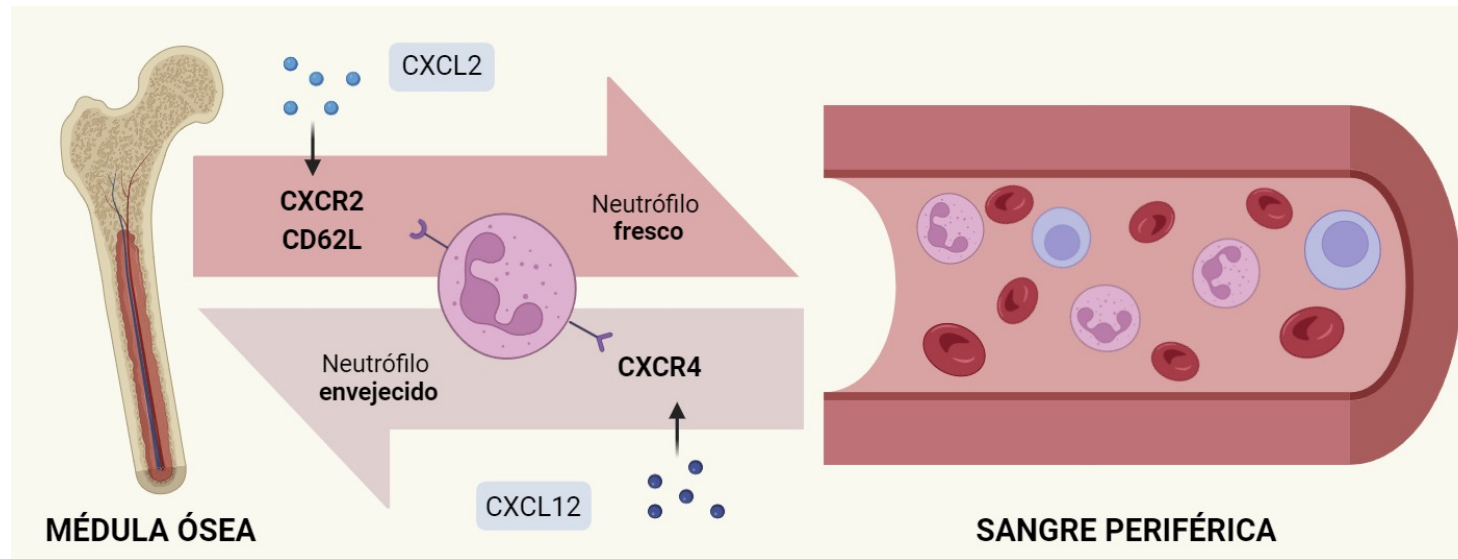
Neutrófilos: agentes decisivos en la salud y la enfermedad



Neutrófilos: agentes decisivos en la salud y la enfermedad

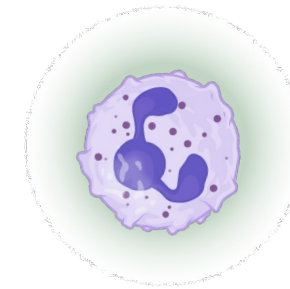


Diferentes fenotipos con heterogeneidad funcional



NEUTRÓFILOS N1

- Proinflamatorios
- Citotóxicos

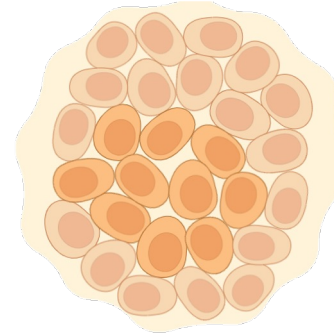


NEUTRÓFILOS N2

- Neuroprotección
- Resolución de la inflamación

Limitaciones del trabajo con neutrófilos sanguíneos

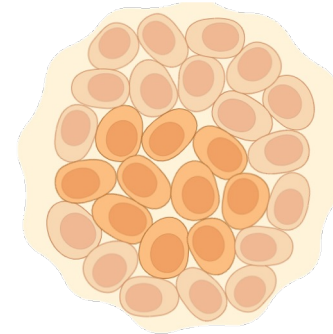
- No proliferan
- Vida media corta
- Sensibilidad
- Criopreservación fallida



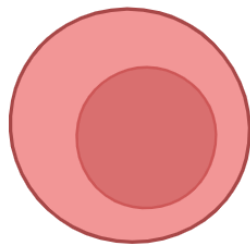
iPSCs

Limitaciones del trabajo con neutrófilos sanguíneos

- No proliferan
- Vida media corta
- Sensibilidad
- Criopreservación fallida



iPSCs

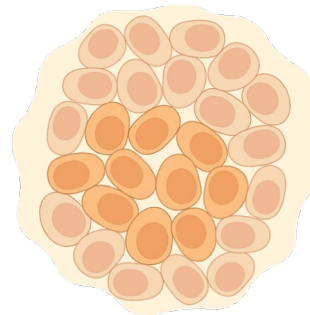


Célula somática

*OCT4, SOX2,
C-MYC, KLF4*



REPROGRAMACIÓN

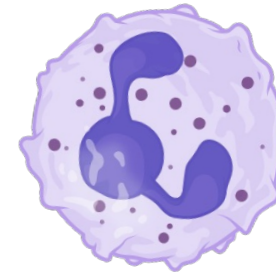


iPSCs

*Citoquinas y
suplementos*

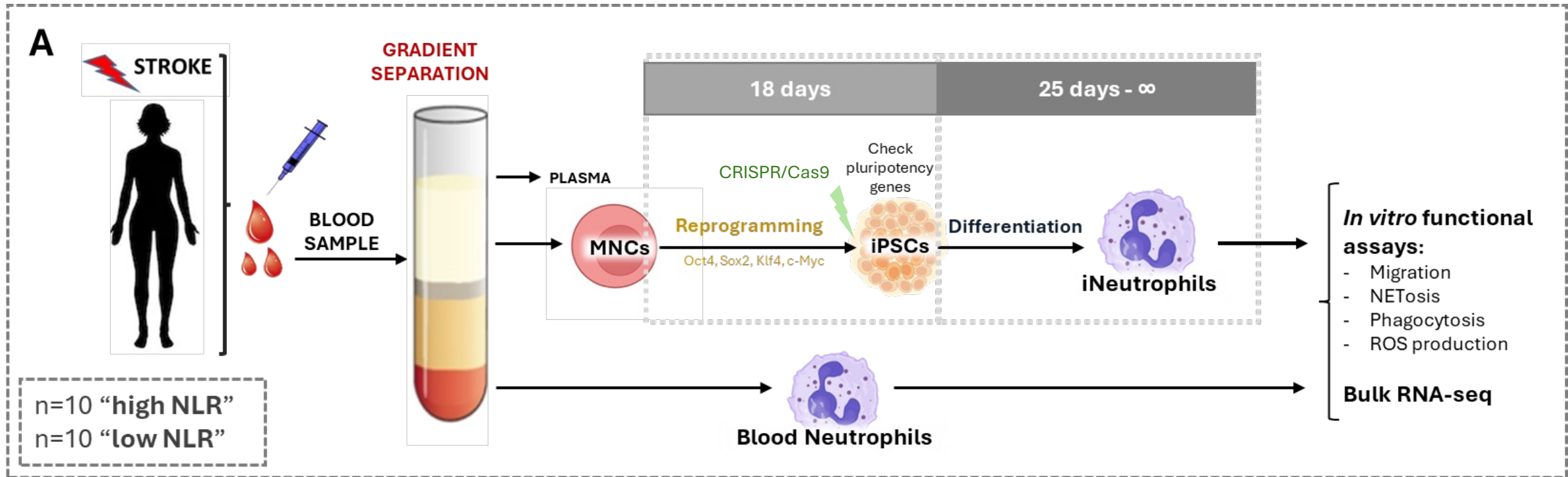


DIFERENCIACIÓN

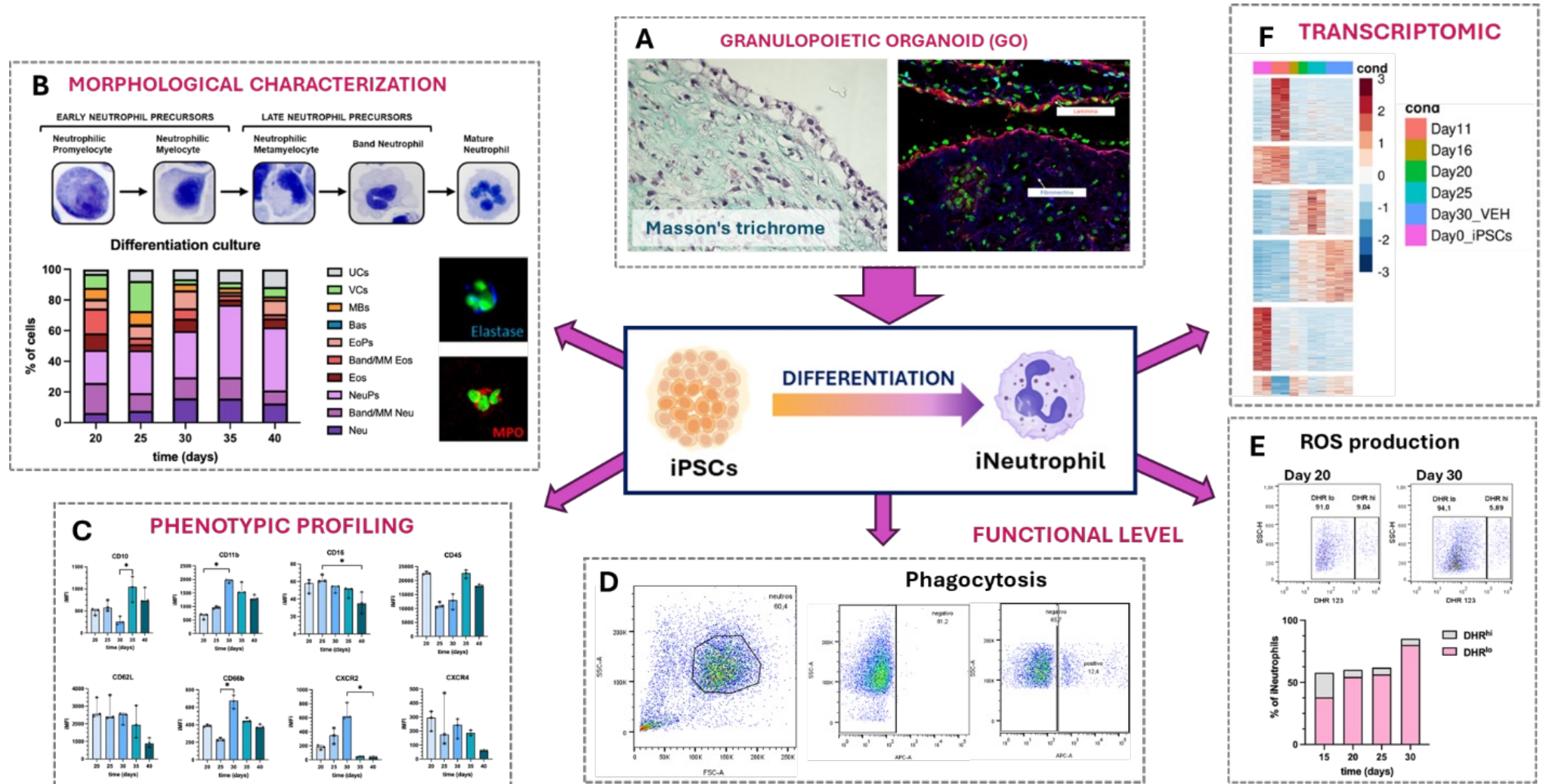


iNeutrófilo maduro

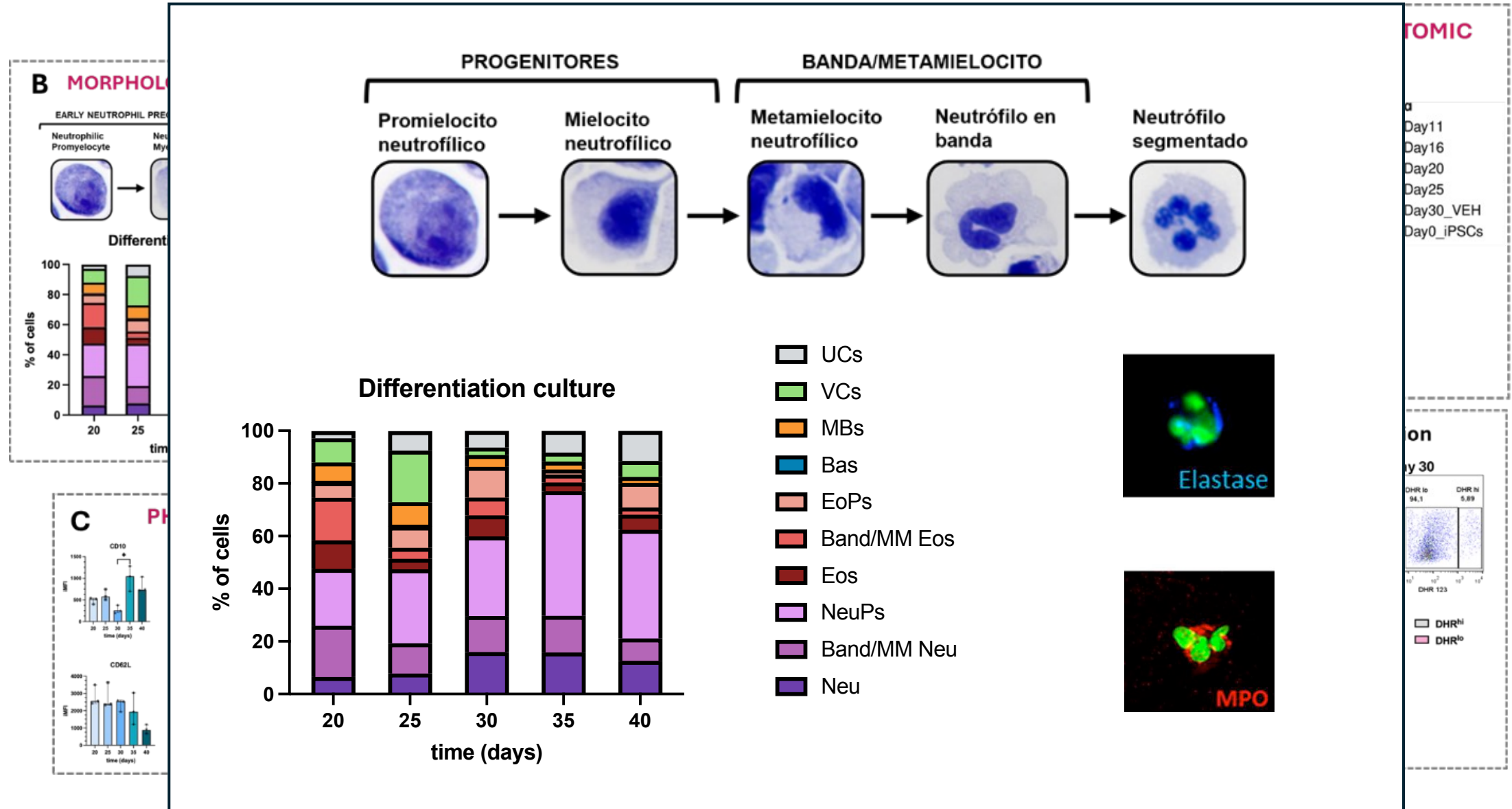
Proyecto iNeuroStroke



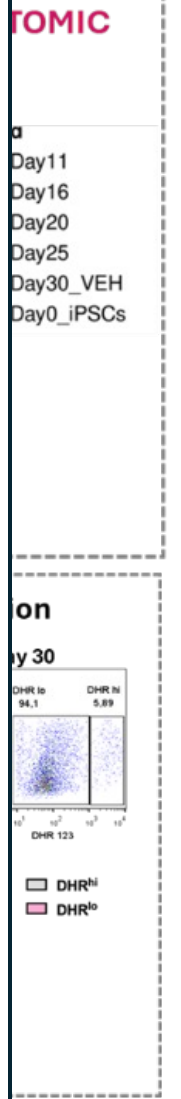
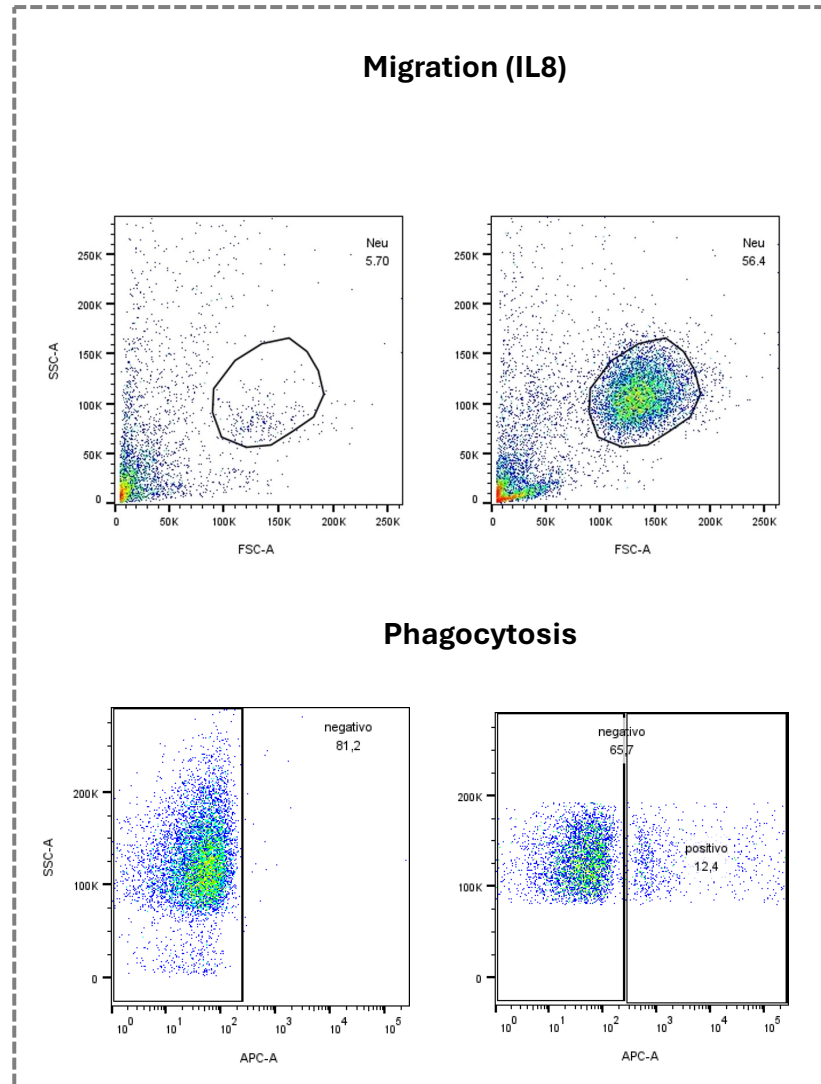
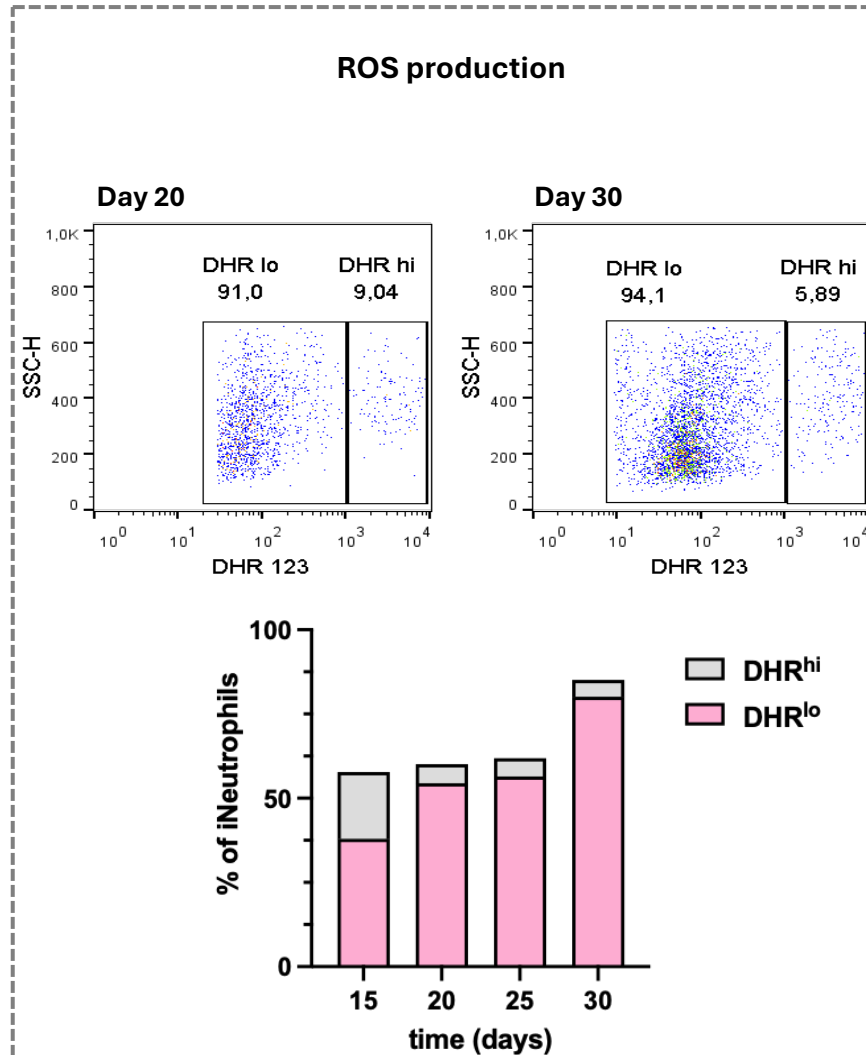
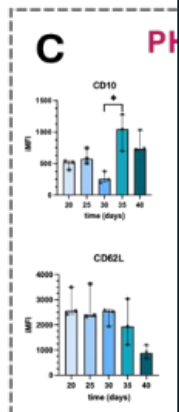
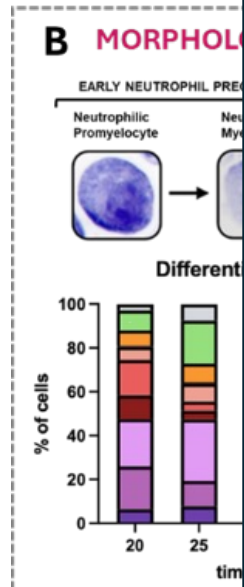
Resultados preliminares diferenciación neutrofílica



Resultados preliminares diferenciación neutrofílica



Resultados preliminares diferenciación neutrofílica



Proyectos colaborativos para investigadores emergentes



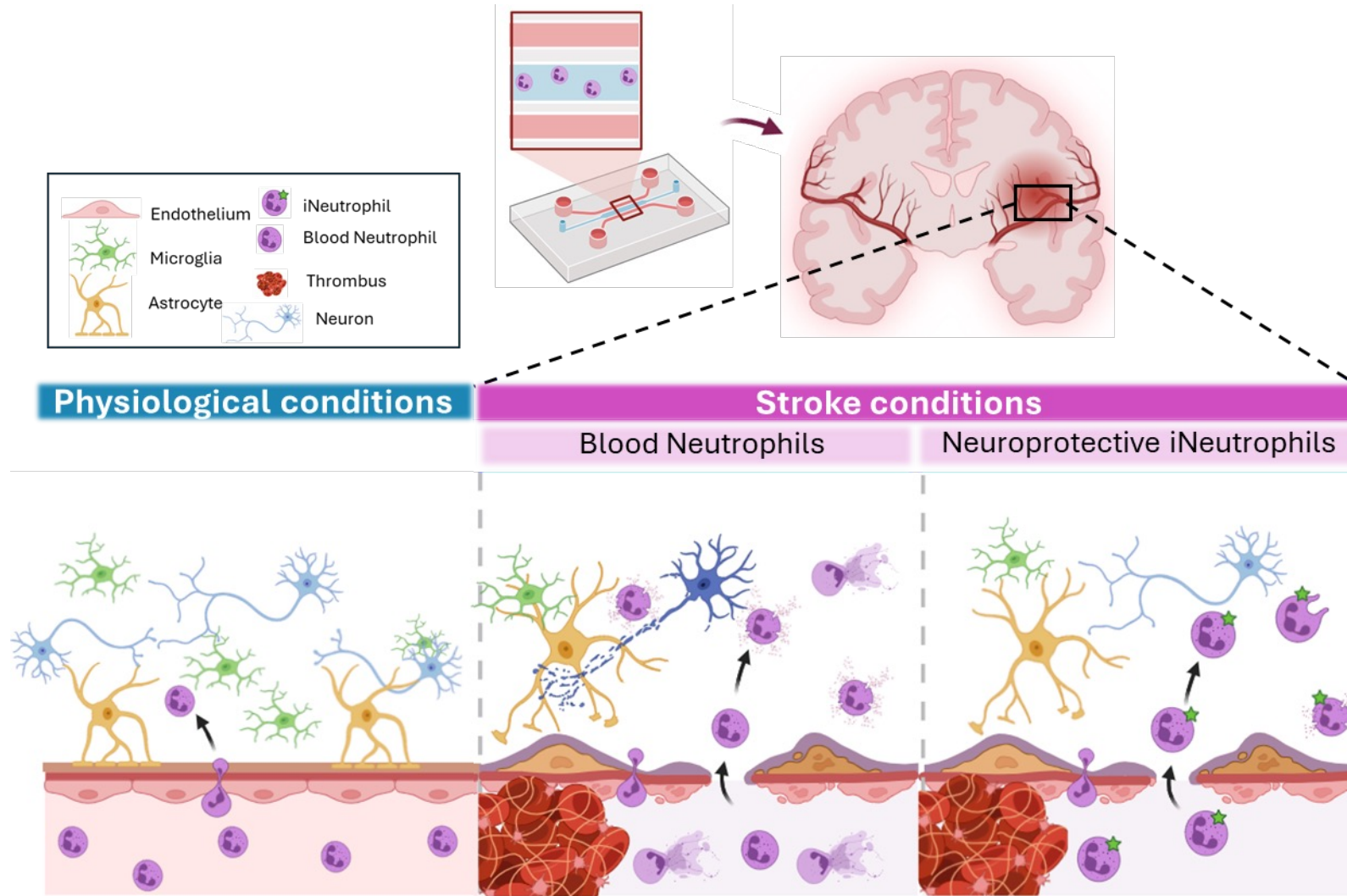
Hipótesis

Los neutrófilos derivados de iPSCs mantienen una capacidad fagocítica, migratoria y efectora comparable a la de los neutrófilos sanguíneos, incluyendo la liberación de ROS, proteasas y NETs, en un modelo de BBB-on-a-chip.

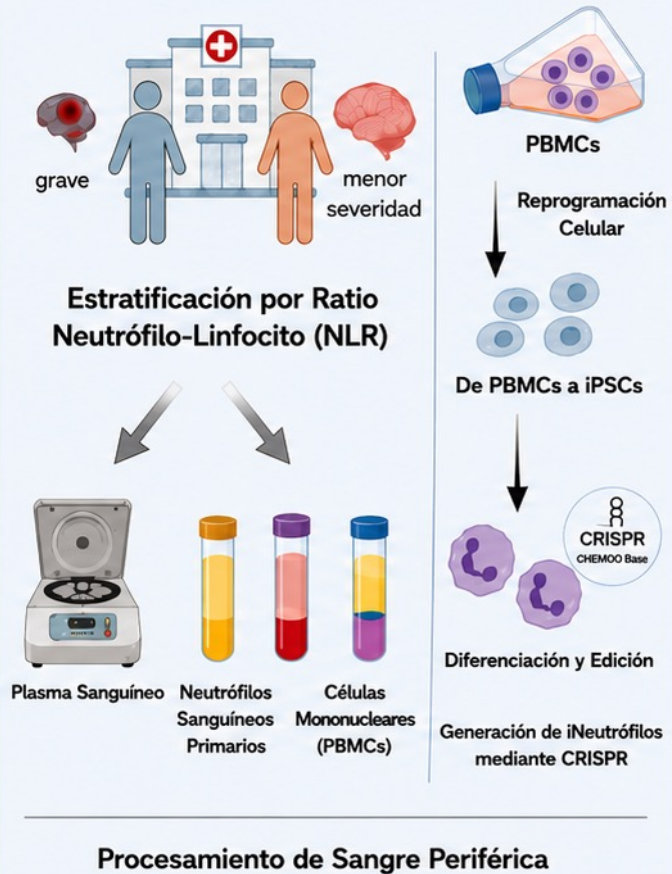
Objetivos

1. Reclutar y estratificar pacientes según NLR y generar biobanco de muestras
2. Establecer y caracterizar un modelo humano BBB-on-a-chip estable y reproducible
3. Modelar condiciones isquémicas e inflamatorias mediante hipoxia y plasma de pacientes
4. Comparar el efecto de neutrófilos sanguíneos e iNeutrófilos sobre la integridad y función de la unidad neurovascular

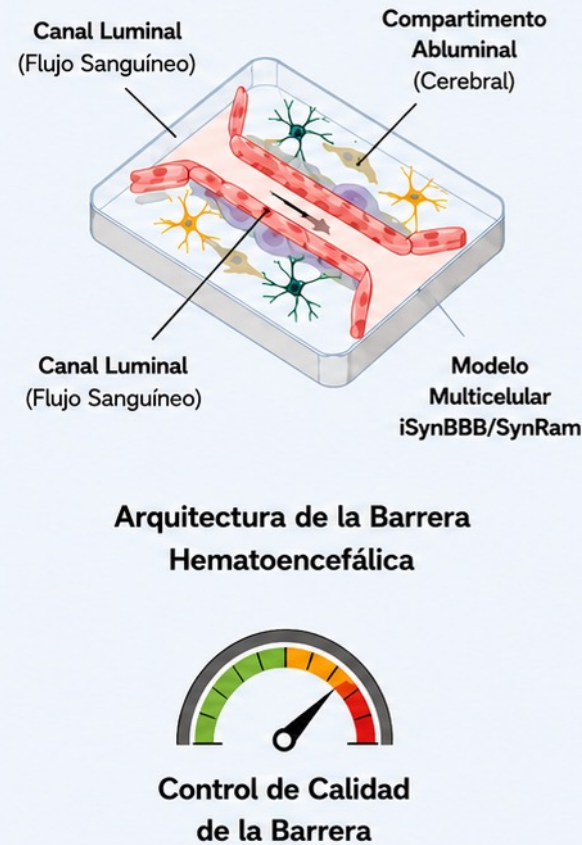
Necesidad de modelos avanzados



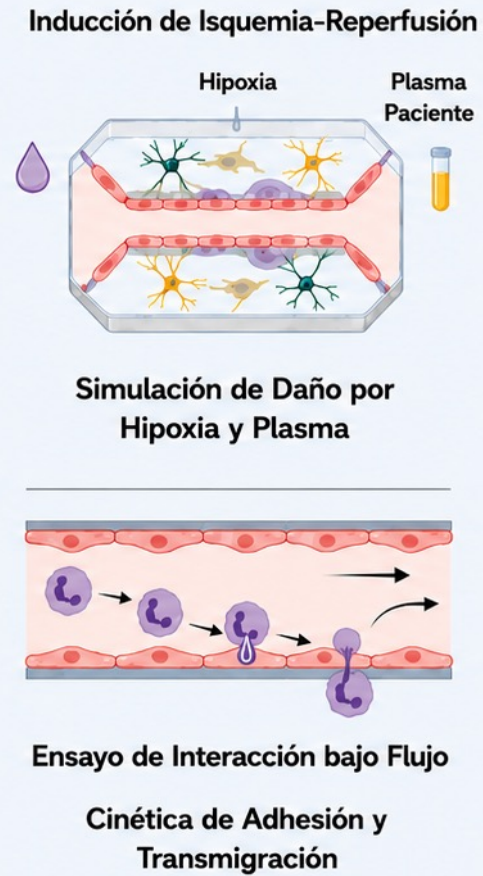
Fase 1: Estratificación de Pacientes, Biobanco, Ingeniería Celular y Generación de iNeutrófilos.



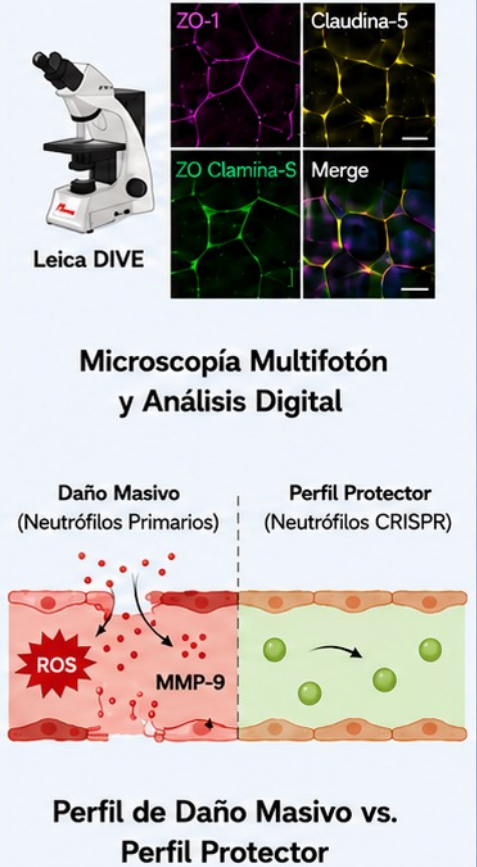
Fase 2: Montaje del Modelo BBB-on-a-chip.



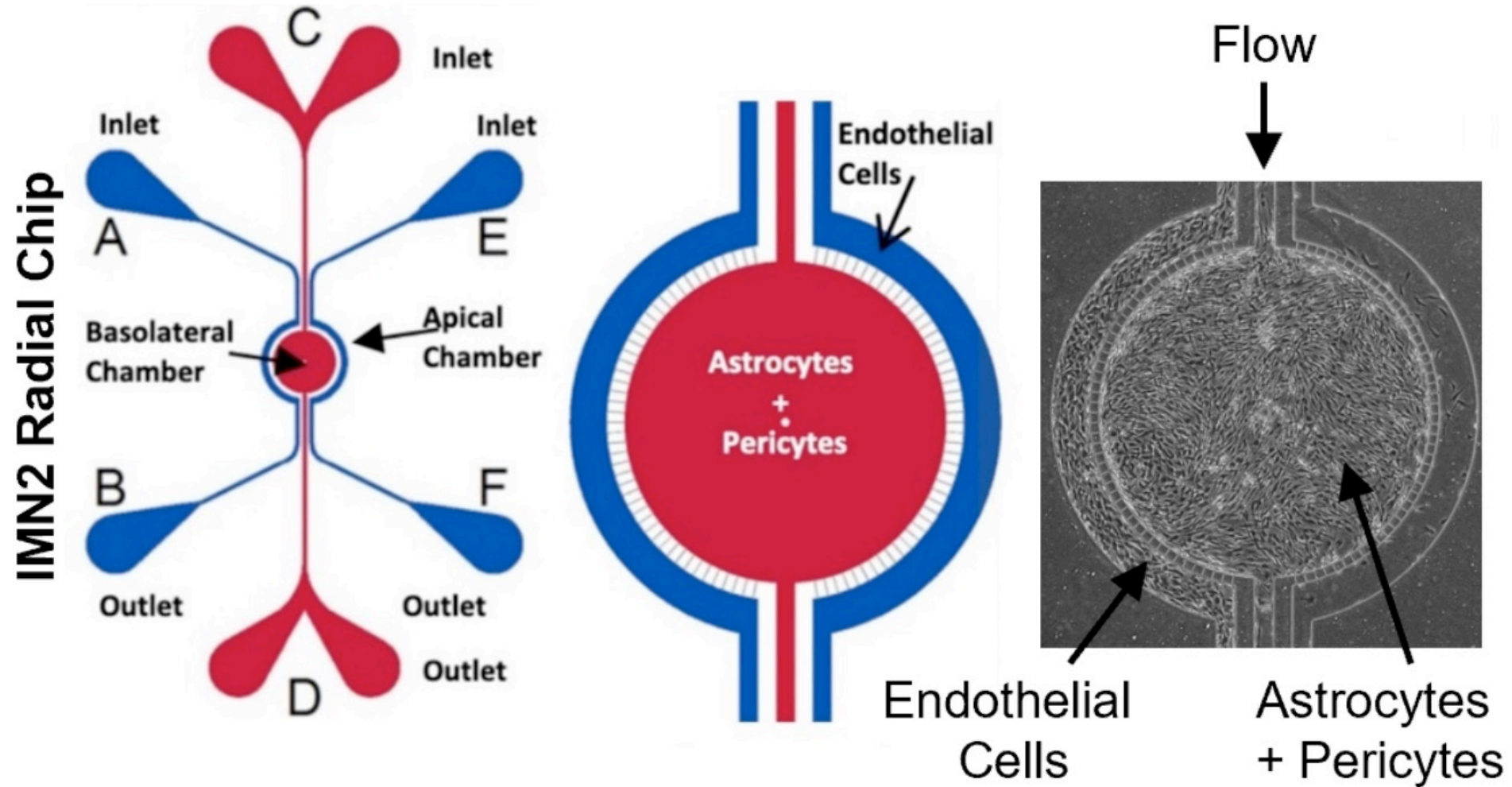
Fase 3: Simulación del Ictus e Interacción Celular.



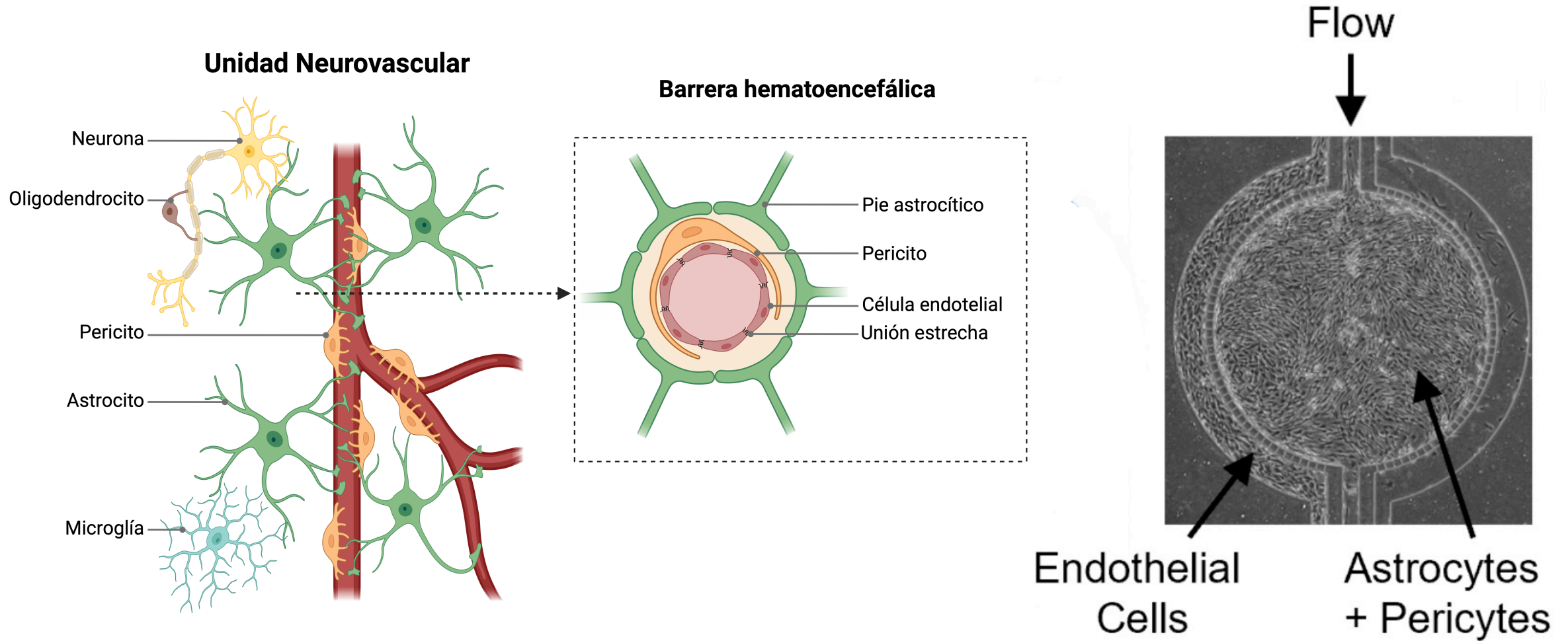
Fase 4: Validación y Resultados Esperados.



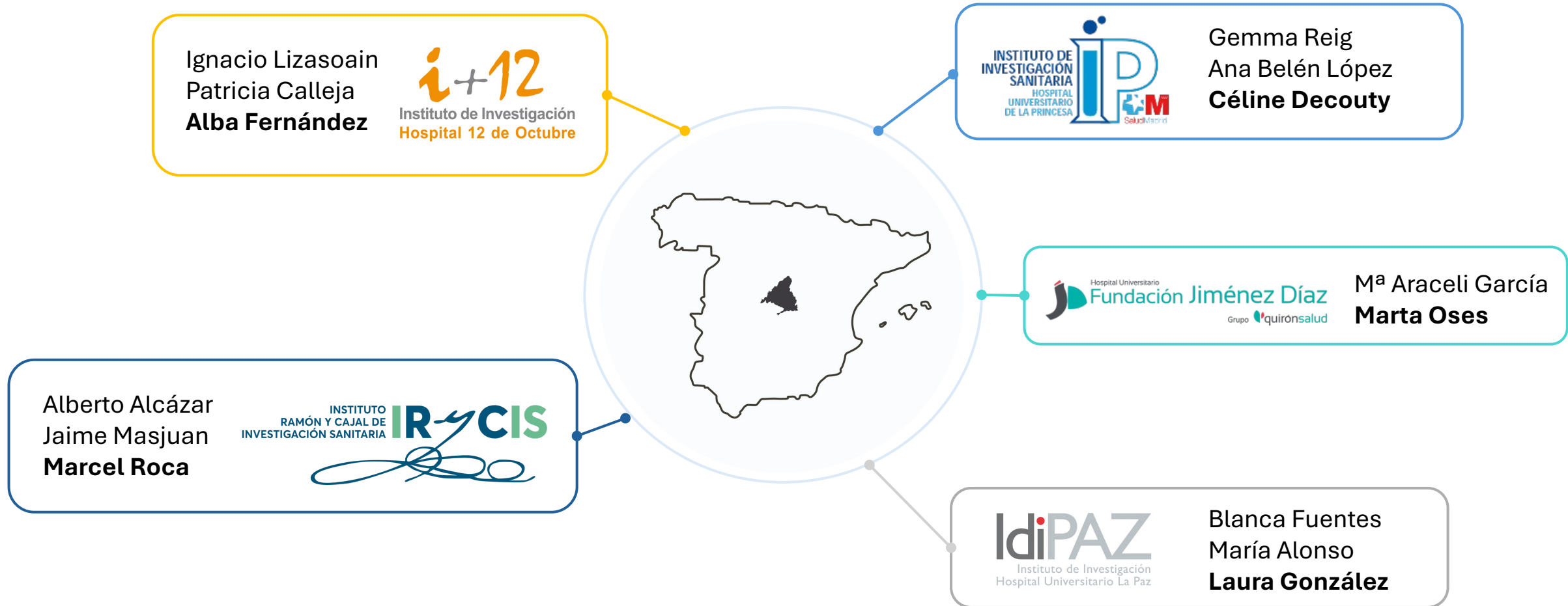
Establecimiento y caracterización del modelo humano BBB-on-a-chip: SynRAM



Establecimiento y caracterización del modelo humano BBB-on-a-chip: SynRAM



Reclutamiento, estratificación de pacientes y biobanco de muestras



Reclutamiento, estratificación de pacientes y biobanco de muestras

Criterios de inclusión (CEIm 20/607)

- Edad comprendida entre los **65 y 79 años**
- Ictus isquémico de **≤ 9 horas de evolución**
- Oclusión del primer segmento de la ACM
- Tratados con **trombectomía**
- Obtención de **consentimiento informado**

Criterios de exclusión (CEIm 20/607)

- **Enfermedad sistémica grave:** cáncer, insuficiencia renal o hepática grave
- Tratamiento **inmunosupresor**
- **Enfermedad neurovascular secundaria** a una lesión subyacente, traumática o hemorragia subaracnoidea

 CENTRO	 MUESTRAS	 NLR ALTO	 NLR BAJO	 GRUPO INVESTIGACIÓN
 IMAS12	 5	 n= 2-3	 n= 2-3	 RED
 IDIPAZ	 5	 n= 2-3	 n= 2-3	 RED
 IIS LA PRINCESA	 5	 n= 2-3	 n= 2-3	 RED
 IRYCIS	 5	 n= 2-3	 n= 2-3	 RED
 HU FJD	 5	 n= 2-3	 n= 2-3	 COLABORADOR

TAREAS	Meses 1-3	Meses 4-6	Meses 7-9	Meses 10-12
Recogida muestras de pacientes/voluntarios	  	  		
Puesta a punto chips neutrófilos sanguíneos	  			
Modelar condiciones basal/ischemia		  		
Ensayos con iNeutrófilos y comparativa			  	  
Ensayo piloto en ratones NSG				  

¡Gracias por su atención!

UCM - i+12

Ignacio Lizasoain

Ana Moraga

Jesús Pradillo

Macarena Hernández

Manuel Navarro

Alicia García

Maribel Cuartero

Alba Fernández

Nuria Alfageme

Mónica Amarilla

Víctor Mora

Débora Gutiérrez

Alicia Sánchez

Lidia García

CNIC

María Ángeles Moro

Andrea Rubio

Carmen Nieto

Javier de Castro

Carlos Parra

Aurora Semerano

Eneko Merino

Francisco José Cantero

Tania Jareño

Virginia García

Laura Martínez

URJC

Carolina Peña

RICORS-ICTUS

Laura González (Blanca Fuentes)

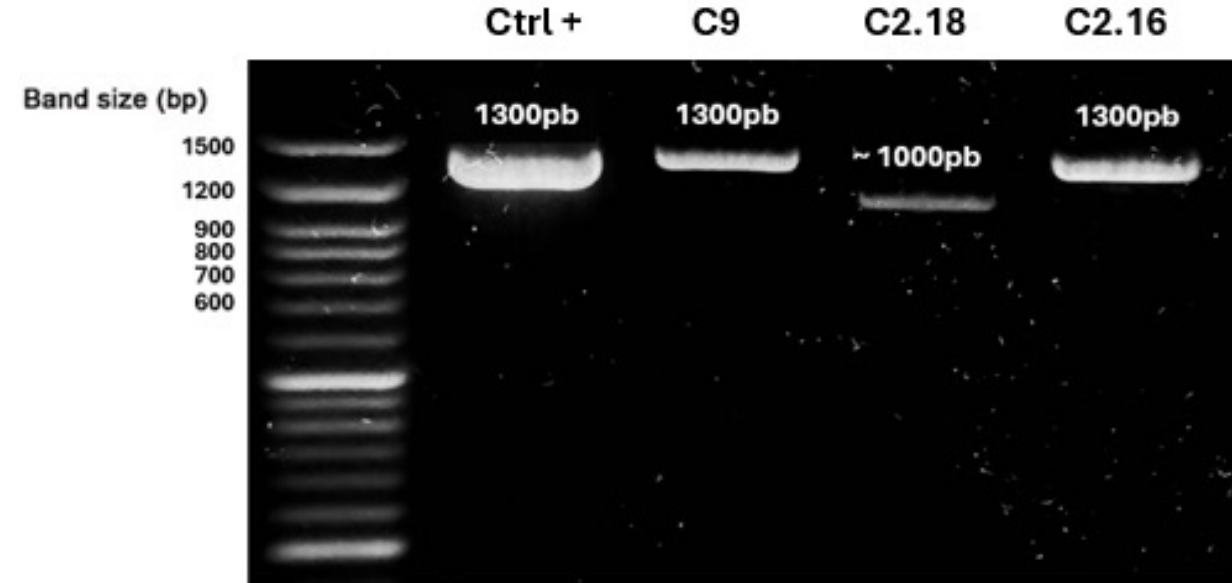
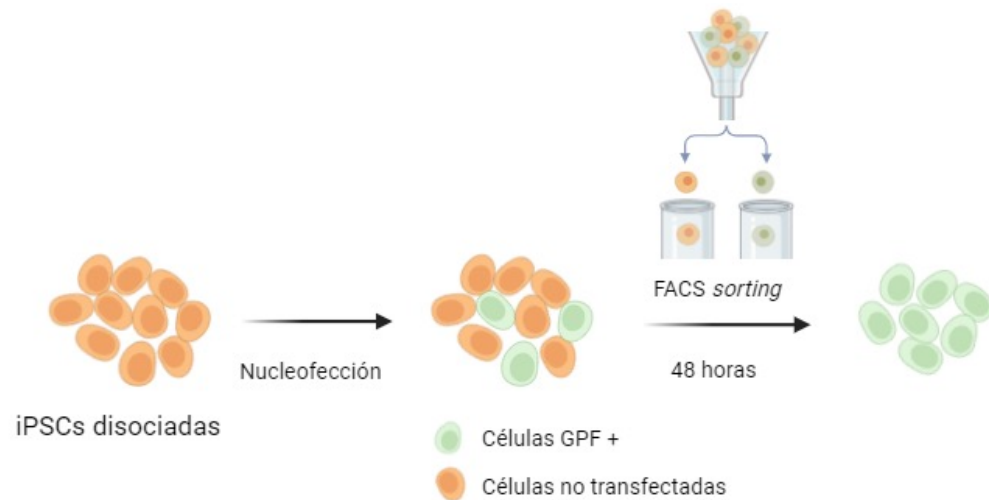
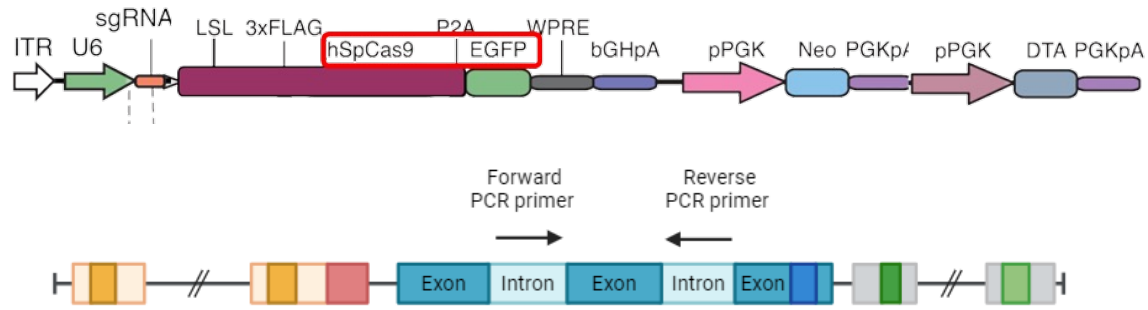
Céline Decouty (Gemma Reig)

Marcel Roca (Alberto Alcázar)

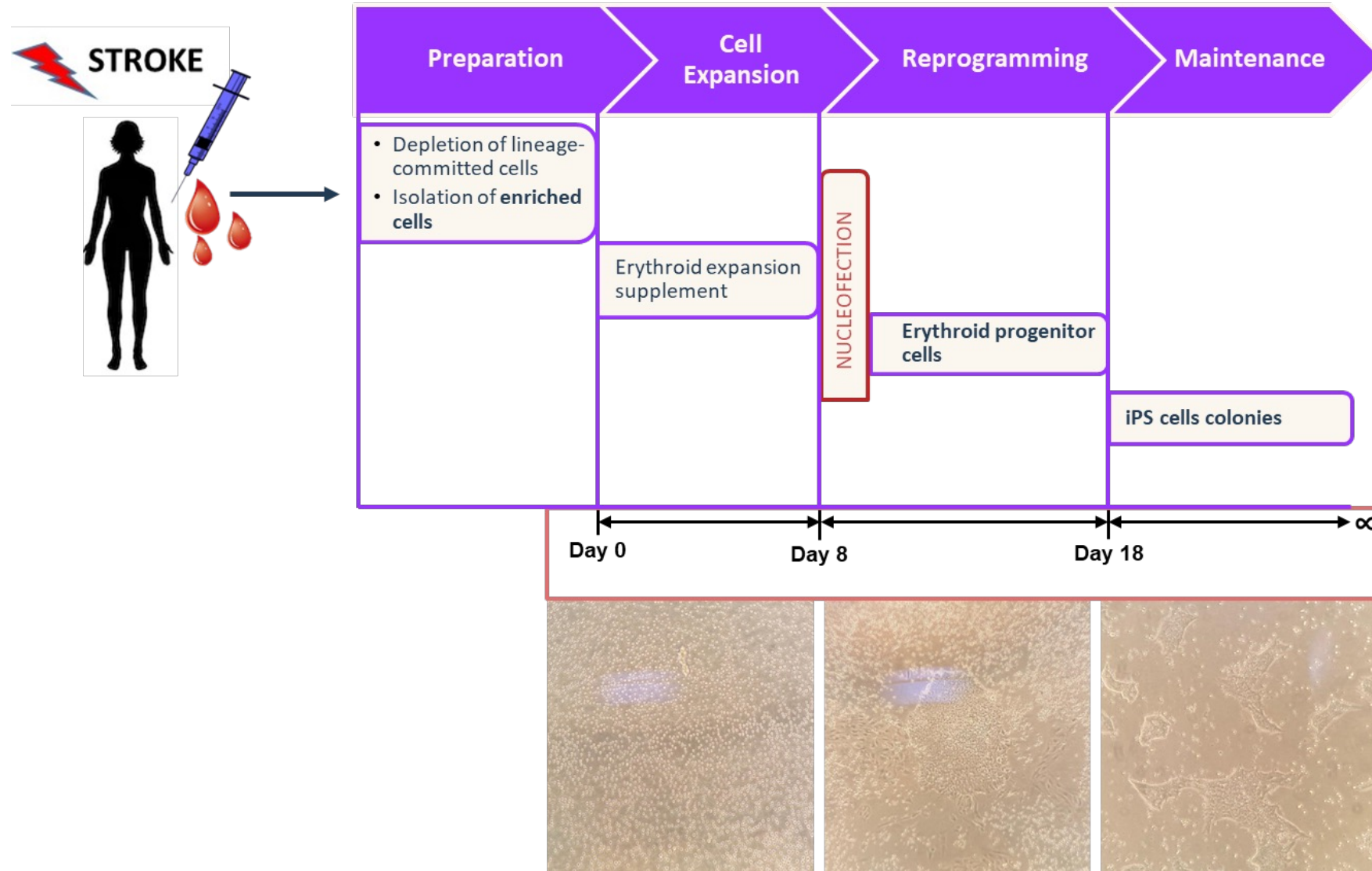
Marta Oses (María Araceli García)

ANEXO

Resultados preliminares edición genética



ANEXO



ANEXO

