# NFUMEDULA

Revista

Diciembre de 2016 N°37

# Investigando con



Parapléjicos, hospital universitario asociado



Rally fotográfico por Toledo por un turismo accesible



Entrevista a Elicio Martínez "Pinto para ser yo"



Rodando por la legendaria Ruta 66







**Fundación Vodafone** España

























## Investigando con

Por: Miguel A. Pérez Lucas Fotos: Carlos Monroy / Infografías: Pluky

> a investigación con biomateriales, electroestimulación, nanotecnología y tecnología emergentes se ha convertido en una pujante y esperanzadora aproximación para avanzar en la regeneración del Sistema Nervioso Central.

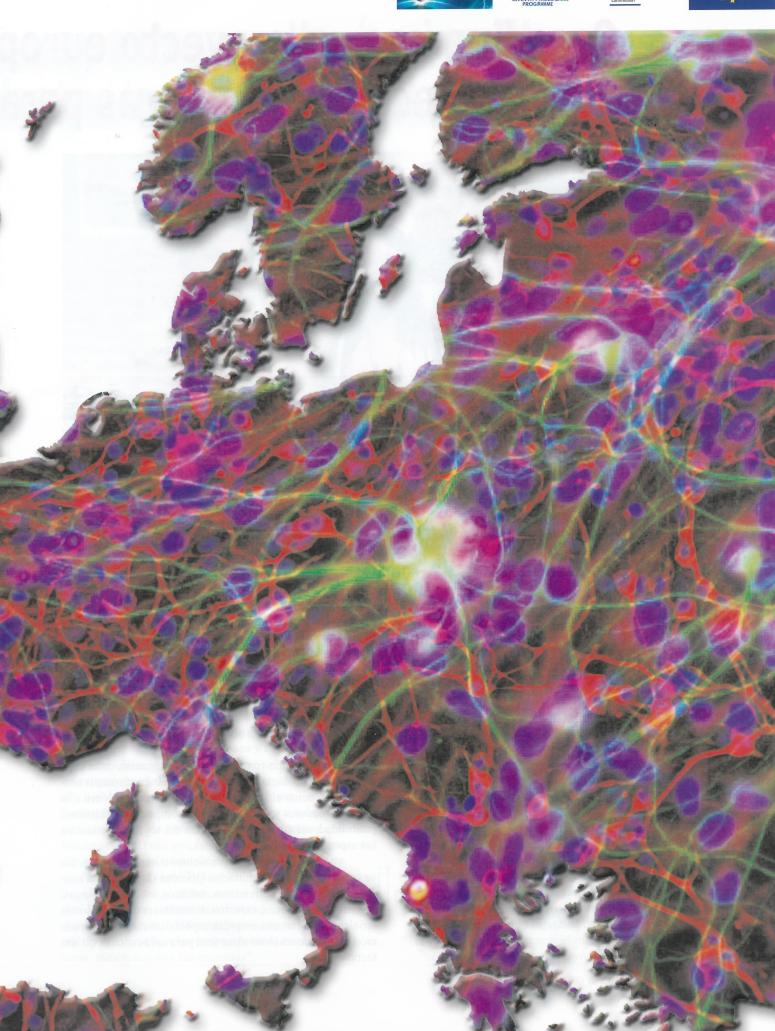
El Hospital Nacional de Parapléjicos se ha posicionado en primera línea de esta frontera científica junto con socios estratégicos en Europa, con los que lleva a cabo importantes proyectos científicos y tecnológicos.

Este año entrante lo inauguramos con los proyectos científicos de alcance llamados NEUROFIBRES y ByAxon; el proyecto NEU-RIMP ha entrado en su tercera y última fase y BioMot ha finalizado con un balance muy positivo desde el punto de vista del conocimiento acumulado.

Todos tienen en común la financiación europea conseguida en dura concurrencia competitiva.

En ese informe te acercamos los pormenores de los citados estudios, sus objetivos, protagonistas, ambiciones y lo que harán nuestros socios europeos.

Frente ala Europa de la desafección, el escepticismo y la insolidaridad se encuentra la Europa de quienes emprenden, investigan, innovan y tratan de generar conocimiento para el progreso y la mejora de la calidad de vida de todos los ciudadanos.



### () Suropeon

### Coordinamos un proyecto europeo que desarrollará microfibras electroconductoras paratratar la lesión medular



l Hospital Nacional de Parapléjicos coordinará el proyecto europeo Neurofibres destinado al desarrollo de microfibras electroconductoras biofuncionalizadas para el tratamiento de la lesión de la médula espinal.

Dotado con más de cinco millones de euros por la Comisión Europea, Neurofibres es uno de los doce proyectos de gran relevancia estratégica elegidos entre más de doscientos presentados al programa europeo que promueve Tecnologías Emergentes de Futuro (FET) en el apartado Proactive, dedicado a medicamentos y terapias bioeléctricas

El Laboratorio de Reparación Neural y Biomateriales del HNP, que dirige el Dr. Jorge Eduardo Collazos Castro, coordinará el proyecto Neurofibres en el que participa un consorcio de siete grupos de investigación de seis países europeos: Suecia, Reino Unido, Italia, Alemania, Francia y España. El proyecto Neurofibres, cuya duración será de cuatro años (enero de 2017 - diciembre de 2020), pretende consolidar las potencialidades neurorregenerativas de la Bioelectrónica, desarrollando dispositivos de doble función que sirvan como un andamio electroactivo biológicamente seguro y eficaz para la regeneración del SNC y la activación de circuitos neuronales en la médula espinal.

Partiendo de lo que se ha conseguido hasta ahora, el trabajo se centrará en dos frentes de trabajo. En primer lugar, en la mejora de las propiedades de las microfibras, incluyendo su conductividad eléctrica, propiedades mecánicas, estabilidad química y capacidad de interacción con las células neurales. Entre otros aspectos novedosos, se desarrollarán proteínas de unión electro-sensibles (aficuerpos) para aumentar la funcionalidad de lasmicrofibras, así como una tecnología que permita el montaje y la interconexión de las microfibras en un sistema implantable en el sistema nervioso.

El segundo frente será la investigación de la utilidad de esta tecnología puntera para inducir crecimiento neural. Lógicamente el sistema hay que probarlo, in vitro e in vivo (en roedores y en cerdos), para comprobar su biocompatibilidad, así como las respuestas del tejido nervioso en los aspectos motores y sensoriales.

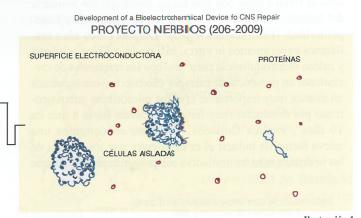
Para acometer este ambicioso e innovador estudio se contará con grupos multidisciplinares de expertos: neurocientíficos, físicos, químicos, médicos, electrofisiólogos, ingenieros mecánicos, expertos en nanotecnología y biomateriales, así como una empresa especializada en la fabricación de interconexiones eléctricas para aplicaciones de alta tecnología.

### Antecedentes y estado de la cuestión

Reparar una lesión medular significa restablecer la estructura y los circuitos neurales que existían antes de la misma para recuperar la conexión y la transmisión de mensajes de ida y vuelta entre el cerebro y el resto del cuerpo. "El trauma destroza macroscópicamente la médula espinal y produce cavidades y cicatrices que abocan al frácaso todos los tratamientos y estrategias de neuroregeneración (trasplantes, estrategias moleculares, neuroprotección, etc.)", afirma Jorge Collazos

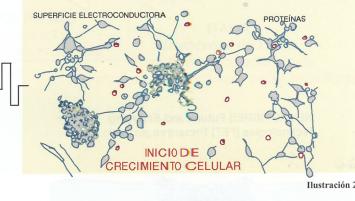
Las estrategias para inducir el crecimiento y la reconexión neuronal después de la lesión que provienen de la Bioingeniería van a abrir nuevos horizontes. En primer lugar se necesita obtener un sustrato implantable que, a modo de andamio, permita el crecimiento orientado del tejido neural, posibilitando así que los tratamientos celulares y moleculares puedan actuar. "Hasta ahora se había ensayado con diversas estructuras para promover el crecimiento celular: materiales inertes y no degradables, que podían producir inflamación; tubos de diferente naturaleza, en los que puede haber compresión del tejido ylimitarse la llegada de nutrientes; materiales interesantes, como el óxido de grafeno o los nanotubos de carbono, quebradizos desde el punto de vista mecánico y que no pueden convertirse en microestructuras implantables con buena conductividad eléctrica, no es fácil hacerlo", asegura el coordinador del proyecto.

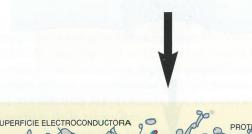
Los intentos de utilizar materiales electroactivos como soporte para el crecimiento neuronal comenzaron hace una década con el proyecto NER-BIOS(Development of a Bioelectrochemical Device for CNS Repair, 2006-2009) (ilustraciones 1, 2 y 3) que también obtuvo ayuda europea y fue coordinado por Jorge Collazos, y en el que también participaron investigadores del CSIC y de la Universidad de Castilla La Mancha, así como del Reino Unido, Grecia y Portugal. "En ese proyecto aprendimos a hacer superficies planas de materiales electroconductores que fueran compatibles con las neuronas. Sin embargo, dar el paso de una superficie plana a una estructura implantable para la médula espinal nos costó otro lustro. Hace unos años se me ocurrió el uso de microfibras hechas con carbono y polímeros conductores y que era una buena idea modificar su superficie con múltiples biomoléculas para mejorar la relación de estos materiales con las neuronas".



Hustracion







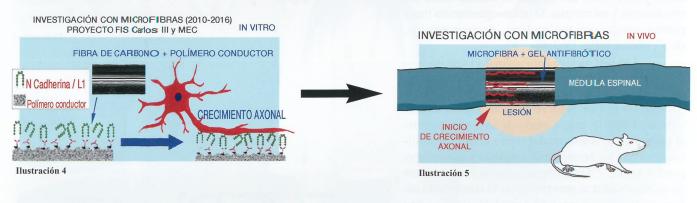


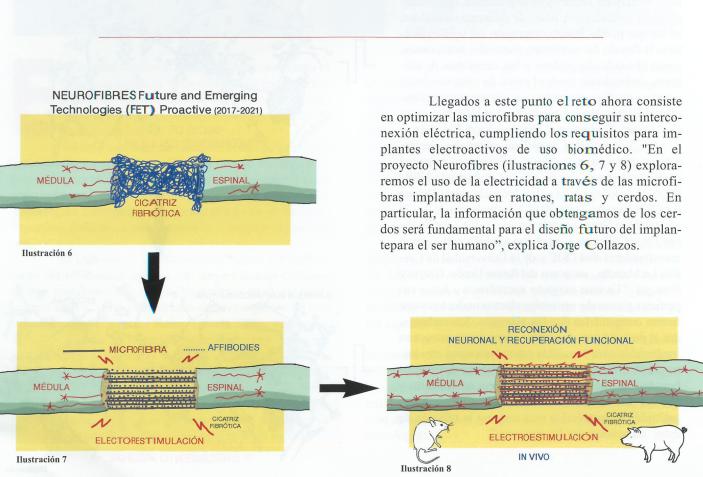
ustración 3

Desde los años 2010 a 2016, en el Laboratorio de Reparación Neural y Biomateriales se dedicaron al desarrollo de tales microfibras funcionalizadas para el crecimiento neural con la incorporación de moléculas de adherencia neuronal, como la N-Cadherina y la L1, así como con factores tróficos unidos a proteínas de la matriz extracelular. Esto se llevó a cabo con fondos de Investigación Sanitaria del Instituto Carlos III y el Ministerio de Economía y Competitividad. (Ilustraciones 4 y 5) "Durante cinco años realizamos experimentos in vitro, utilizando cultivos celulares y celdas electroquímicas para analizar las respuestas de crecimiento en presencia de campos eléctricos y conseguimos un avance muy importante: que las microfibras guíen neuronas por distancias muy largas creciendo hasta 8 mm en 10 días", explica Collazos."Además, encontramos una nueva forma de inducir el crecimiento: que los axones de las neuronas sean estimulados por progenitores gliales que

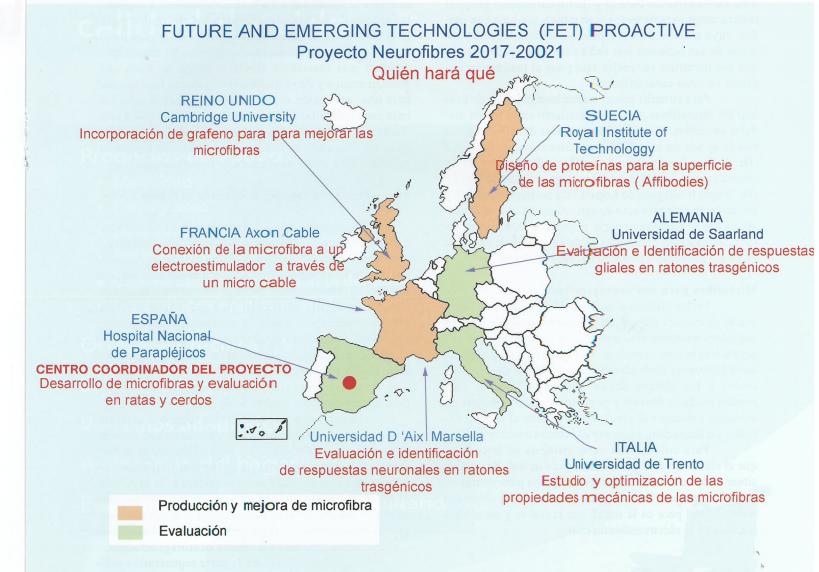
migran sobre las microfibras".

Los buenos resultados en placas de cultivo dieron paso a estudiosin vivo, en los que se implantaron las microfibras en ratas. Los resultados fueron muy estimulantes y se publicaron este año en la revista "Biomaterials", que ocupa el primer puesto en este campo científico. El experimento consistió en colocar implantes de microfibras con gel antifibrótico en lesiones medulares completas. "Comprobamos que al implantarlas en el sistema nervioso poniéndole proteínas en la superficie, las fibras se integraban excelentemente enel tejido nervioso con un daño y una respuesta inflamatoria mínima; además, los axones crecían orientados sobre ellas, aunque todavía no se conectaban ni se producía recuperación funcional evidente. Sin duda, la electroestimulación a través de las microfibras podría mejorar mucho su utilidad para reparar la médula, pero conectarlas eléctricamente no es sencillo".





### ¿Quién hace qué?



Los siete equipos de investigación europeos tienen cuatro años para desarrollar tecnología nueva en dos núcleos de actividad científica:

1- Los que se dedicarán producir y a mejorar las microfibras,tanto desde el punto de vista mecánico y eléctrico, así como las proteínas modificadas que se colocarán sobre la superficie de la microfibra. Para ello hay que conseguir conectar la microfibra a un electro estimulador a través de un microcable que permita aplicar estímulos eléctricos y que, además, sea biocompatible. En esto se empleará la empresa francesa Axón' Cable. La parte mecánica y la modificación química se realizará en el Hospital de Parapléjicos junto con la universidad de Cambridge y un equipo de la Universidad italiana de Trento.

El equipo de Suecia se encargará de diseñar una proteína con gran potencial llamada Affibody, una molécula muy especial en la que los suecos han sido pioneros. Se trata de un péptido pequeñito al que se pueden adherir unos amino ácidos que puedenmodular por vía eléctrica las proteínas que se colocaran en la superficie de la microfibra.

2- En segundo lugar están los tres grupos que realizarán la evaluaciónde esta tecnologíadesde diferentes puntos de vista para tener una visión integral de su eficacia. En esta fase los equipos de Alemania y de Francia realizarán observaciones in vitro y, sobre todo, in vivo en ratones transgénicos. Gracias a las células fluorescentes del roedor, a la microscopía de dos fotones y a un dispositivo especial para ver los axones den-

ESPECIAL Investigando con Europa

nfomédula 36

tro de la médula espinal, se podrá identificar muy bien las respuestas celulares tras el implante. "En elLaboratorio de Reparación Neural y Biomaterialesdel hospital realizaremos experimentos con ratas y también con cerdos, cuyo metabolismo, respuestas inmunológicas y tamaño de las lesiones son más parecidas alhumano, lo que nos permitirá ver mejor qué pasa al realizar un implante de estas características".

Para cumplir con el ambicioso objetivo de evaluar las microfibras para el tratamiento de la lesión medular en cerdos, el equipo investigador del HNP contará con la ayuda de los cirujanos traumatólogos del HNP (Dr. Andrés Barriga, Dr. Luis María Romero) y de un neurocirujano del Hospital Virgen de la Salud de Toledo (Dr. Ángel Rodríguez de Lope). "La participación de los cirujanos en este proyecto de investigación es fundamental, ya que se requiere poner a punto nuevas técnicas quirúrgicas bastante complejas y de las cuales depende el éxito del proyecto", puntualiza Jorge Collazos.

### Microfibra para uso neuroprotésico

En los últimos años la neuroprotésicaestá avanzando de manera importante, si bien a fecha de hoy los implantes neuroprotésicos son invasivos y requieren una neurocirugía muy compleja. Aunque efectivos, hay factores limitantes derivados de la estabilidad de los electrodos y los riesgos de su biocompatibilidad, pues pueden producir fibrosis y pérdida de efectividad por reacciones celulares al electrodo, rechazo al cuerpo extraño, einflamación, entre otros efectos adversos.

Para colocar una neuroprótesis no hace falta que el electrodo esté dentro del tejido neural. Se pueden situar sobre el cráneo o sobre la espalda para estimular el tejido neural peor es la señal que registras y menos específica es la electroestimulación.



"Con las microfibras se podrían fabricar neuroprótesis más eficaces. Nuestros experimentos muestran
sumayor sensibilidad a la hora de estimular y registrar
las señales de las neuronas frente a los electrodos metálicos usados en la actualidad y producen menos daño.
Por el contrario, en un ambiente agresivo las microfibras
resultan más inestables desde el punto de vista químico, mecánico y de su durabilidad, aspecto fundamental
para una aplicación clínica. Aquí tenemos mucho trabajo por desarrollar. Asegura el Dr. Collazos, quien considera que "cuando se supere el escollo de la estabilidad
de la interfaz entre la neurona y el electrodo las neuroprótesis van a sufrir un desarrollo impresionante".

### Microfibra para regenerar el tejido nervioso

La neurona puede crecer por dos vías: directamente una vez que colocamos moléculas de adhesión celular específicas (N Cadherina L1) o como consecuencia del uso de un complejo multimolecular situado sobre la microfibra (fibronectina, factores de crecimiento, heparina, una molécula adherente, etc.) que induce la migración de precursores gliales y estimulan el crecimiento del axón. Este modo de hacerlo es fundamental, más fácil de conseguir sobre tejido embrionario y muy difícil en tejido adulto, porque en él las respuestas celulares son muy diversas limitadas en cuanto a regeneración y muy potentes en cuanto a cicatrización.

Si usamos la microfibra para regenerar el tejido, es decir, conseguir activar la glía y las neuronas, sin considerar la perdurabilidad, las microfibras se muestran como una herramienta con gran potencial. El implante de la microfibra en el tejido sano se integra muy bien, y en el tejido lesionado, en el que ya se ha producido daño axonal y muerte celular con necrosis y apoptosis, sangrado, etc.estamos consiguiendo cambiar el balance de

cicatrización a neuroregeneración.

En la parte regenerativa utilizamos la microfibra para que sobre ella crezca el axón, la señal eléctrica de la propia neurona viajará por el axón que regenere y, al llegar a la parte caudal de la médula espinal, se transmitirá al conectarse con otro axón. Aquí la electroestimulación a través de la microfibra podría aumentar el crecimiento y la conexión de las neuronas.

Por último Jorge collazos se muestra optimista. "El resultado en ratas ha sido esperanzador y llegar a usar esta tecnología y conocimiento con fines clínicos en humanos con garantías de eficacia y seguridad va a suponer un arduo trabajo".