

CIRCULAR

FARMACÈUTICA

PUBLICACIÓ CIENTÍFICA DEL COL·LEGI DE FARMACÈUTICS DE BARCELONA

VOL. 78 N° ESPECIAL · 2020

ESPECIAL PREMIS I BEQUES

MÉS FORMACIÓ
MÉS PARTICIPACIÓ
MÉS INNOVACIÓ
MÉS PRÀCTIC
MÉS CONEIXEMENT
MÉS SALUT



NOVA!

À G O R A

La formació que millora la salut

PLANIFICA LA TEVA FORMACIÓ A
www.agorasanitaria.com





Vol. 78, núm. 1 ESPECIAL BEQUES I PREMIS

Director i Director científic: J.M. Llop. **Comitè editorial:** Anna Bach Faig, Guillermo Bagaria de Casanova, Josep Manel Llop Talaverón, Cristina Roure Nuez, Roser Vallès Fernández, Maria Perelló Casadó, Laura Diego. **Coordinació editorial:** Cristina Rodríguez Caba. **Secretària del Comitè editorial:** Maribel Cortés Mor. **Correcció lingüística:** Glòria Llopart Sala. **Edició i publicitat:** Col·legi de Farmacèutics de Barcelona. c/Girona, 64-66. 08009 BARCELONA. Tel. 93 244 07 10 . Fax 93 245 44 31. Correu/e: circular@cofb.net. **Disseny i maquetació:** El Metropost S.L. www.elmetropost.com

La redacció de CIRCULAR FARMACÈUTICA no subscriu necessàriament els punts de vista que els autors reflecteixen en els treballs que signen.

Circular Farmacèutica és una revista que edita el Col·legi de Farmacèutics de Barcelona. El Col·legi és una corporació de dret públic subjecte a la Llei de col·legis professionals, amb domicili al carrer Girona núm. 64, 08009, de Barcelona, CIF Q08660021.

Qualsevol persona que accedeix a aquesta web accepta les condicions d'ús i les prohibicions que es descriuen a continuació i es compromet a no fer res que pugui produir alteració o malmetre'n el funcionament normal.

El Col·legi és propietari del software i disseny gràfic de la revista, n'exerceix els drets d'edició, i és titular dels drets d'explotació dels articles dels autors i de les gràfiques, taules, fotografies, imatges i dibuixos que aquests puguin incorporar.

Tots els drets reservats. Queden expressament prohibides totes aquelles activitats que impliquin la reproducció total o parcial dels continguts editats, la distribució, la comunicació pública, la modificació, l'alteració o la descompilació, incloent-hi la forma i l'estructura en les quals es presenten, especialment la simple reproducció i/o la comunicació en forma de resum, ressenya o reproducció en revistes de premsa amb finalitats oneroses o gratuïtes sense haver obtingut l'autorització prèvia del Col·legi. No obstant això, l'usuari pot imprimir, emmagatzemar en un disc del seu ordinador tots els elements, per fer-ne un ús particular. El Col·legi no es responsabilitza del contingut dels articles publicats i no respondrà les reclamacions que es puguin derivar de la qualitat, la fiabilitat o l'exactitud que presenten.

Tampoc garanteix que la web estigui lliure de virus informàtics i no es fa responsable dels danys i perjudicis en els sistemes informàtics per anomalies de funcionament per causes alienes a la seva voluntat, fortuïtes o de força major.

El Col·legi es reserva el dret de fer les modificacions de continguts, estructura, condicions d'accés i qualsevol altra de qualsevol índole sense avis previ.

El Col·legi instarà qualsevol reclamació i/o acció judicial pels danys i perjudicis que un ús inadequat de l'usuari provoqui a la pàgina i per qualsevol actuació il·legítima que conculqui drets de tercers persones.

L'activitat del Col·legi com a prestador de serveis de la societat de la informació es regeix per la normativa espanyola i considera els jutjats i tribunals de la ciutat de Barcelona competents per entendre dels conflictes que sorgeixin a conseqüència de la utilització d'aquesta pàgina.

Editorial

J.M. Llop

4

Beques Col·legials

EFFECTE D'UNA INTERVENCIÓ NUTRICIONAL AMB UNA BEGUDA FUNCIONAL ENRIQUIDA AMB UN EXTRACTE DE RAÏM SOBRE EL PERFIL METABÒLIC D'UNA SUBPOBLACIÓ D'INDIVIDUS AMB SÍNDROME METABÒLICA DE LA PROVÍNCIA DE BARCELONA

V. Sandoval, H. Sanz-Lamora, R. Casas, R. Estruch, R. M. Lamuela-Raventós, P. F. Marrero, D. Haro, J. Relat

5

ESTUDI DE LES INTERACCIONS HOSTE-PATOGEN EN LES INFECCIONS CAUSADES PER SOQUES HIPERVIRULENTES DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE

M. Cubero, D. Berbel, I. Grau, M.J. Iglesias-Cabezas, J. Càmar, C. Ardanuy

11

INFORMACIÓ ANIMADA PER REFORÇAR L'EDUCACIÓ SANITÀRIA

J. Martí, L. Vallance

15

Premis 2019

GUIA D'ALIMENTACIÓ PER A PERSONES AFECTADES D'ELA I RECEPTES PER A PERSONES AMB PROBLEMES DE DEGLUCIÓ (PREMI DE MILLORA DE LA QUALITAT ASSISTENCIAL)

E. Romero, P. E. Garrido, F. Juárez, M. Puig-Pey, M. Illan, X. Torrado, E. Roura, N. Virgili i M. Povedano

19

MILLORA EN LA GESTIÓ DE MEDICAMENTS EN MALALTIA RENAL CRÒNICA AMB MHEALTH: APLICACIÓ RENAL CALC (PREMI A LA MILLOR INICIATIVA EN XARXES SOCIALS I NOVES TECNOLOGIES)

M. Massot, E. Ballerino, A. Franci, J.C. Martínez, E. Ponz i J. Tondo

23

PROBIÒTICS, PREBIÒTICS I EL SISTEMA NERVIÓS (PREMI MILLOR TREBALL DE GRAU 2018)

E. Alós

29

BIOSÍNTESI D'ESTEROLS CONJUGATS EN LES PLANTES (PREMI MILLOR TREBALL DE GRAU 2018)

M. Riba

35

MONTELUKAST COM A INTERVENCIÓ FARMACOLÒGICA PER PROTEGIR EL CERVELL DE LA NEUROTOXICITAT INDUÏDA PER RADIACIONS (PREMI MILLOR TREBALL DE GRAU 2018)

A. Rodriguez

41

COMPRIMITS D'ALLIBERACIÓ PROLONGADA DE METOPROLOL SUCCINAT DE 95 MG (PREMI MILLOR TREBALL DE GRAU 2018)

I. Bordas

46

Editorial

J.M. Llop

Des de el col·legi de farmacèutics de Barcelona, amb la convocatòria de beques i premis 2019 -20, hem fet una proposta ambiciosa. L'objectiu ha estat ampliar el ventall de suport i reconeixement als diferents àmbits de la nostre professió i fent-ho amb criteris de qualitat donant valor afegit a l'activitat assistencial, docent i de recerca dels farmacèutics.

En les darreres convocatòries de les beques professionals hem vist com el nombre i la qualitat dels projectes presentats han anat creixent i guanyant en qualitat. Avui podem dir que les beques del COFB estan a l'alçada de les més prestigioses convocatòries d'ajuts a la recerca i de beques del nostre entorn sanitari, i que són cada vegada més reconegudes. Aquest fet ha provocat que s'hagi generat un efecte crida a equips de recerca consolidats que compten amb investigadors farmacèutics. Estem convençuts que aquest és un valor que cal mantenir però al mateix temps calia fer una aposta de reconeixement als farmacèutics que des de els diferents àmbits fan avançar a la professió en un entorn cada vegada més competitiu.

Per aquests motius en la convocatòria del 2019 hem creat quatre noves categories de premis: projecte de millora de la qualitat assistencial, iniciativa en xarxes socials i noves tecnologies, als millors treballs de fi de grau i al millor article publicat a la revista circular farmacèutica.

El premi a la millora de la qualitat assistencial i el premi a la millor iniciativa en xarxes socials i noves tecnologies han estan destinats a reconèixer els projectes que han contribuït a la millora de la qualitat al sector farmacèutic en la vessant organitzativa, assistencial, de promoció de la salut i prevenció de la malaltia, i tecnologies de la informació. També per primera vegada s'han concedit quatre premis al millor treball de fi de grau en farmàcia presentats durant l'any 2018. Els nostre estudiants són el futur i calia fer una aposta per la pedrera.

En aquest context hem creat el premi al millor article publicat a la Circular farmacèutica durant l'any 2018. Creiem que la nostra revista també ha de fer un pas endavant per a que sigui la veu i la paraula d'aquesta aposta.

Esperem haver-ho encertat.

BEQUES COL·LEGIALS

Efecte d'una intervenció nutricional amb una beguda funcional enriquida amb un extracte de raïm sobre el perfil metabòlic d'una subpoblació d'individus amb síndrome metabòlica de la província de Barcelona.

V. Sandoval, Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació. Universitat de Barcelona. 08921 Santa Coloma de Gramenet.

Institut de Nutrició i Seguretat Alimentària de la Universitat de Barcelona (INSA-UB). 08921 Santa Coloma de Gramenet.

H. Sanz-Lamora, Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació. Universitat de Barcelona. 08921 Santa Coloma de Gramenet.

R. Casas, Departament de Medicina interna, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). 08036 Barcelona. CIBER Fisiopatologia de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, (ISCIII), 28029 Madrid.

R. Estruch, Departament de Medicina interna, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). 08036 Barcelona. CIBER Fisiopatologia de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, (ISCIII), 28029 Madrid.

R. M. Lamuela-Raventós, Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació. Universitat de Barcelona. 08921 Santa Coloma de Gramenet.

Institut de Nutrició i Seguretat Alimentària de la Universitat de Barcelona (INSA-UB). 08921 Santa Coloma de Gramenet.

CIBER Fisiopatologia de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, (ISCIII), 28029 Madrid.

P. F. Marrero, Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació. Universitat de Barcelona. 08921 Santa Coloma de Gramenet.

CIBER Fisiopatologia de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, (ISCIII), 28029 Madrid.

Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB). 08028 Barcelona.

D. Haro, Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació. Universitat de Barcelona. 08921 Santa Coloma de Gramenet.

CIBER Fisiopatologia de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, (ISCIII), 28029 Madrid.

Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB). 08028 Barcelona.

J. Relat, Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'alimentació. Universitat de Barcelona. 08921 Santa Coloma de Gramenet.

Institut de Nutrició i Seguretat Alimentària de la Universitat de Barcelona (INSA-UB). 08921 Santa Coloma de Gramenet.

CIBER Fisiopatologia de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, (ISCIII), 28029 Madrid.

Introducció

La Síndrome Metabòlica (SM) és un dels principals problemes actuals de salut pública a nivell mundial i la seva incidència creix considerablement any darrera any, afectant a gairebé un 25% de la població adulta. A nivell mèdic, la SM és el terme per definir la comitatància en un individu de resistència a la insulina o diabetis, hipertensió arterial, dislipèmia i obesitat central o abdominal i s'acompanya d'un increment de la morbiditat d'origen arterioscleròtic. Entre les primeres manifestacions de la SM i desencadenant de moltes de les altres patologies trobem l'obesitat.

L'obesitat es produeix essencialment per un desequilibri entre la ingesta d'energia i la despesa energètica que inicialment provoca una expansió del teixit adipós blanc (TAB) que és el responsable d'emmagatzemar

l'excés de substrats energètics en forma de triglicèrids. Algunes evidències indiquen que, en un moment donat, el TAB no aconsegueix mantenir adequadament l'excés de nutrients i això, juntament amb una diferenciació insuficient de nous adipòcits, condueix a una acumulació ectòpica de lípids en òrgans perifèrics metabòlicament importants. L'acumulació de greix fora del TAB provoca una lipotoxicitat perifèrica que és l'origen de moltes de les disfuncions metabòliques relacionades amb l'obesitat^{1,2}. Segons les dades publicades sembla evident que defectes en la funcionalitat de TAB i la lipotoxicitat perifèrica són fenòmens claus en l'aparició de la SM^{3,4}. D'altra banda, l'obesitat també es caracteritza per un estat d'inflamació crònica de baix grau que provoca l'augment de grans quantitats de macròfags al teixit adipós i la comunicació creuada entre ambdós tipus

de cèl·lules^{5,6}. En global doncs, l'excessiva acumulació de greix corporal i l'estat d'inflamació crònica faciliten el desenvolupament de la resta de patologies incloses en la SM i d'altres com l'esteatosi hepàtica no alcohòlica (NAFLD), l'artritis o alguns tipus de càncer.

Un dels mecanismes per contrarestar l'obesitat i les complicacions metabòliques associades és l'estimulació del teixit adipós marró (TAM) i la inducció del "browning" en el TAB (Figura 1). El TAM i el *brown/beige*-TAB són teixits clau en el control de l'homeòstasi energètica⁷. Es tracta de teixits que oxiden àcids grassos per generar calor enlloc d'energia ja que expressen la proteïna desacoblant 1 (UCP1) que desacobla la cadena de transport electrònic de la síntesi d'ATP^{8,9}. Per tant, la inducció del TAM i la generació de *brown/beige*-TAB són mecanismes per augmentar la despesa energètica principalment mitjançant el consum d'àcids grassos¹⁰⁻¹³. A més de l'activació TAB i el TAM, la reducció de l'estat inflamatori en el teixit adipós obès també podria ser un enfocament terapèutic per millorar la funcionalitat del teixit adipós⁶. L'activació del TAM i el *browning* del TAB poden ser induïts per exposició al fred i per diferents tipus d'intervencions nutricionals que poden anar des de la reducció del contingut de proteïnes a la dieta¹⁴ fins a la suplementació de la dieta amb compostos bioactius^{15,16} (Figura 1).

d'àcids grassos i el posteriorment desacoblament de la cadena de transport electrònic de la síntesi d'ATP gràcies a la presència de la proteïna UCP1. El teixit adipós blanc (TAB) té un perfil menys consumista, és essencialment un reservori de greix en forma de triglicèrids mitjançant la formació d'una gran gota lipídica unilocular. Davant determinats perfils nutricionals o el consum de determinats compostos de la dieta com les antocianines el TAB pot adquirir certes característiques típiques del TAM com expressar UCP1, formar gotes de lípids més petites i multiloculars i convertir-se en un teixit que oxidi més àcids grassos, és el que anomenem el *brown/beige*-TAB.

Antocianines: compostos bioactius per combatre l'obesitat

La prevenció de la SM es basa inicialment en el seguiment d'un estil de vida sa, que inclou, entre altres recomanacions una alimentació saludable. Diferents estudis assenyalen que dietes saludables, com la dieta mediterrània (DietMed) eviten l'aparició i/o faciliten la regressió de la SM¹⁷. En aquest context, estudis previs han demostrat que els polifenols poden exercir un paper protector davant l'aparició de la SM, atès que disminueixen l'estrès oxidatiu, presenten propietats antiinflamatòries i alguns mostren efectes hipoglucemiant¹⁸⁻²¹.

Entre els diferents polifenols estudiats volem destacar les antocianines. Les antocianines pertanyen al grup dels flavonoides i han mostrat propietats antioxidants, hipoglucemiant i sensibilitzadores d'insulina en diferents estudis i s'ha proposat l'administració de baies riques en antocianines pel tractament i la prevenció de trastorns metabòlics relacionats amb l'obesitat^{22,23}.

En el TAB, les antocianines activen la quinasa dependent d'adenina monofosfat (AMPK) augmentant-ne la seva fosforilació i regulen l'expressió del transportador de glucosa GLUT4^{16,24}. Les antocianines també augmenten els nivells intracel·lulars d'AMP cíclic, induint així l'expressió dels reguladors transcripcionals i promotors de la diferenciació adi-

Figura 1: Perfils metabòlics del teixit adipós.

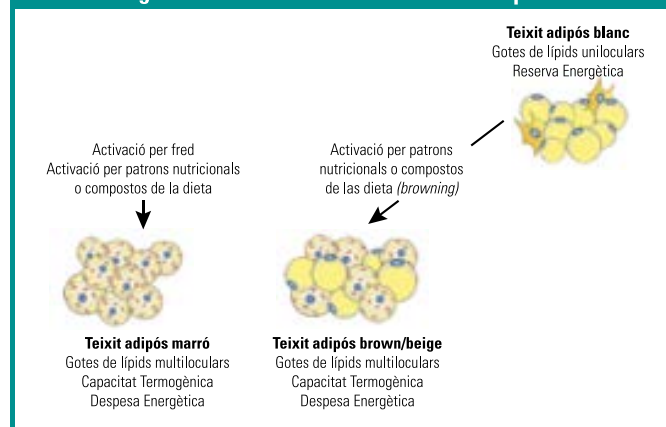


Figura 1: Perfils metabòlics del teixit adipós. El teixit adipós marró (TAM) és un teixit essencial en el manteniment de la despesa energètica i té la capacitat de generar calor (termogènesi) mitjançant l'oxidació

pocitària: PPAR γ (receptor activat per proliferadors de peroxisomes gamma) i C/EBP β (proteïna d'unió a l'enhancer CCAAT beta)^{25,26}. Paral·lelament, les antocianines indueixen l'expressió de Ucp1 en el TAB^{16,27}. Per altra banda, en el TAM, les antocianines promouen la termogènesi estimulants l'expressió de gens relacionats amb aquesta com poden ser la proteïna desacoblant UCP1 el coactivador transcripcional i inductor de la biogènesi mitocondrial PGC1 α (Coactivador alfa de PPAR γ), el citocrom c o la proteïna PRDM16 (Proteïna amb donini PR-dits de zinc 16)²⁸⁻³⁰.

L'efecte antidiabètic de les antocianines incloses en una matriu alimentària s'ha descrit entre altres utilitzant extractes d'una baia d'origen xilè anomenada maqui (*Aristotelia chilensis*). El maqui és un fruit vermell que presenta un molt alt contingut en antocianines i el seu ús ha provocat millores en els nivells de glucosa en dejú i en la tolerància a la glucosa en ratolins obesos hiperglucèmics alimentats amb una dieta alta en greixos³¹. Paral·lelament, l'ús d'un extracte de maqui estandarditzat en el seu contingut d'antocianines (Delphinol®) ha demostrat ser capaç de reduir simultàniament els nivells de glucosa i d'insulina en dejú en pacients prediabètics quan s'administra en una única dosi^{32,33}. En el mateix sentit, resultats del nostre grup de recerca han demostrat que l'administració en l'aigua de beguda d'un extracte liofilitzat de maqui durant 17 setmanes a ratolins alimentats amb una dieta rica en grasses prevé, com a mínim en part, els efectes perniciosos d'aquesta dieta. Els ratolins amb maqui mostren una menor resistència a la insulina, una reducció en el guany de pes total tot i ser hiperfàgics i un efecte de "browning" en el TAB que correlacionaria amb un augment de la despesa energètica¹⁶.

“ Estudis previs han demostrat que els polifenols poden exercir un paper protector davant l'aparició de la SM, atès que disminueixen l'estrès oxidatiu, presenten propietats antiinflamatòries i alguns mostren efectes hipoglucemiants

A partir d'aquí i en base a totes les dades prèvies de que es disposaven vam plantejar com a objectius:

I) Avaluar els efectes d'una suplementació nutricional amb vi desalcoholitzat o amb d'una beguda funcional elaborada a partir de vi desalcoholitzat enriquit amb un extracte de raïm sobre el perfil metabòlic i el pes corporal d'individus amb síndrome metabòlica; II) Definir els mecanismes moleculars a través dels quals les antocianines exerceixen els seus efectes metabòlics per tal de demostrar si els efectes i els mecanismes moleculars que havíem definit en el model animal eren traslladables a la població humana.

Materials i mètodes

Estudi Clínic

Estudi dissenyat com un assaig d'intervenció nutricional, prospectiu, aleatoritzat, paral·lel, obert i controlat per avaluar els efectes del consum diari d'un vi desalcoholitzat i d'una beguda funcional elaborada a partir de vi desalcoholitzat enriquida amb extracte de raïm durant tres mesos, en pacients afectats de síndrome metabòlica. Als individus que complien els criteris d'inclusió, i un cop signat el consentiment informat, se'ls va sol·licitar que durant els 15 dies anteriors (període de rentat) a la visita basal, no prenguessin aliments rics en polifenols com vi negre, raïm o derivats. També que portessin una dieta pobra en colesterol i greixos saturats i es va prohibir la ingesta de qualsevol tipus de beguda alcohòlica.

Els 72 participants de l'estudi van ser dividits de forma aleatòria en tres grups d'intervenció.

Intervenció

L'estudi va incloure 3 intervencions diferents de 3 mesos de durada cadascuna.

- Grup 0 (ICT): 375 ml d'aigua extra al dia durant tres mesos, amb els àpats.
- Grup 1 (IVS): 375 ml de vi desalcoholitzat al dia

durant tres mesos, amb els àpats.

- Grup 2 (IVE): 375 ml de vi desalcoholitzat enriquit amb extracte de raïm al dia durant tres mesos, amb els àpats.

Es va treballar amb vi desalcoholitzat i amb una beguda funcional elaborada a partir de vi desalcoholitzat enriquit amb un extracte de raïm pel gran contingut en polifenols, especialment antocianines, i per les dades prèvies de les que es disposa en la literatura en relació als efectes positius que té el vi negre i en concret els polifenols continguts en el raïm³⁴⁻³⁷.

Anàlisi d'expressió gènica de les cèl·lules mononuclears de sang perifèrica (PBMC):

Les PBMCs són cèl·lules que responen a la dieta adquirint un perfil metabòlic que s'ha descrit és un reflex dels canvis que es produeixen en teixits com el fetge o el TAB^{38,39}. Per tant, la caracterització metabòlica d'aquestes cèl·lules ens permet avaluar els canvis metabòlics a nivell hepàtic i de teixit adipós causats per les intervencions nutricionals plantejades. Es tracta d'un mètode de mostreig poc invasiu (extracció de sang) que permet com diem conèixer què està passant en diferents òrgans metabòlicament claus. L'expressió gènica es va avaluar mitjançant la tècnica de la PCR quantitativa (qPCR) que permet quantificar els nivells relatius de mRNA.

Anàlisi estadístic

Mitjana i desviació estàndard de les variables. "T" de Student per a mostres aparellades i ANOVA d'un factor.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

1.- Contingut polifenòlic de les begudes utilitzades:

Per tal de poder relacionar els valors obtinguts en l'anàlisi bioquímica amb els paràmetres metabòlics analitzats, es mostra el contingut de polifenols totals de les begudes utilitzades en l'estudi d'intervenció. El contingut polifenòlic (polifenols totals) es va analitzar pel mètode del Folin. Els nivells totals de polifenols s'expressen com a mEq d'àcid gàl·lic (GA)/L (Taula 1).

Taula 1.- Contingut polifenòlic de les begudes utilitzades en l'estudi.

Beguda	Promig $\pm$ SD (mEq GA/L)
Vi desalcoholitzat	1986.6 $\pm$ 43.9
Beguda funcional enriquida amb extracte de raïm	2151.3 $\pm$ 87.2

2.- Anàlisi d'expressió gènica

2.1.- Efecte d'un vi negre desalcoholitzat sobre el metabolisme lipídic. Grup IVS

Es va analitzar per PCR quantitativa l'expressió gènica de la sintasa d'àcids grassos (*Fasn*) com a gen clau en la lipogènesi de *novo*, la carnitina palmitoil transferasa alfa (*Cpt1a*) com a gen clau en l'oxidació d'àcids grassos i la lipasa de triglicèrids PlnplA2 també coneguda com a ATGL com a marcador de lipòlisi. Tal i com mostra la Figura 2 tant l'expressió de *Fasn* com de *Cpt1a* es troben incrementades de manera significativa després de la intervenció nutricional amb vi desalcoholitzat.

Figura 2.- Nivells de mRNA de gens del metabolisme lipídic en la intervenció IVS.

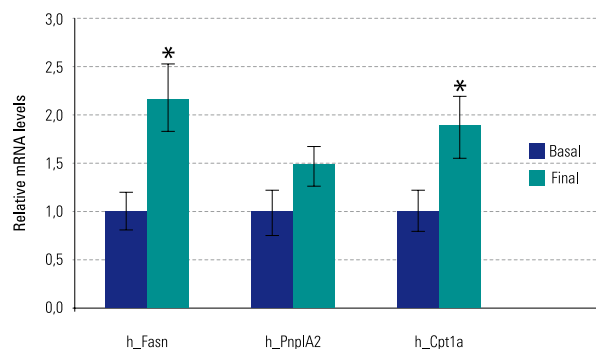


Figura 2.- Nivells de mRNA de gens del metabolisme lipídic en la intervenció amb vi desalcoholitzat (IVS). Es mostren els nivells relatius de mRNA detectats per PCR quantitativa de les mostres d'individus del grup IVS a temps basal i després de la intervenció amb vi desalcoholitzat. El gràfic representa el promig $\pm$ SEM. * $p < 0.05$.

Encara que sembli una paradoxa l'estimulació simultània de l'oxidació d'àcids grassos i la lipogènesi de *novo* s'ha descrit com a essencial perquè es doni la termogènesi. La termogènesi en el TAM és estimulada per una inducció adrenèrgica que promou la síntesi

d'AMPC, l'activació de la proteïna cinasa A (PKA) i finalment la transcripció de gens de la termogènesi, de la lipòlisi i de l'oxidació d'àcids grassos però també, tot i que menys reconeguda, de la síntesi *de novo* d'àcids grassos⁴⁰⁻⁴³. Les dades presentades apunten a que la intervenció nutricional amb vi desalcoholitzat estaria promovent un perfil metabòlic típic de quan la termogènesi està activa ja sigui per activació del propi TAM o per browning del TAB.

2.2.- Efecte d'una beguda funcional enriquida amb extracte de raïm sobre el metabolisme lipídic. Grup IVE

Es va analitzar per PCR quantitativa l'expressió gènica de la *Fasn* com a gen clau en la lipogènesi de *nov*, la *Cpt1a* com a gen clau en l'oxidació d'àcids grassos. Tal i com mostra la Figura 3 aquests dos gens no van mostrar canvis significatius entre els valors relatius de mRNA basals i després de la intervenció. En aquest context, i donat que el contingut en polifenols de la beguda enriquida amb extracte de raïm és superior a la del vi desalcoholitzat vam decidir analitzar més gens per comprovar si estaven afectades altres vies metabòliques i també factors de transcripció i coactivadors transcripcionals. Vam analitzar els nivells de mRNA dels receptors nuclears *Ppara* i *Pparg*, dels coactivadors de receptors nuclears *Pgc1a*, *Pgc1b*, del factor lipogènic

Srebp1c i dels gens *Acaca* (lipogènesi), *Adrp* (proteïna de gotes lipídiques i marcador de diferenciació adipocitària) i *Slc27a2* (activació d'àcids grassos – acil-CoA sintetasa d'àcids grassos molt llargs).

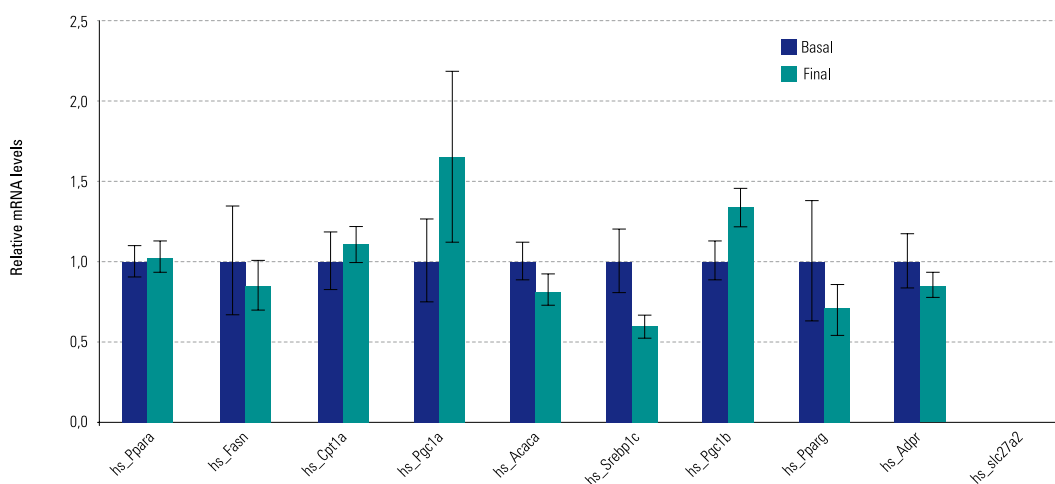
En cap cas la intervenció amb la beguda funcional enriquida amb extracte de raïm va modificar de manera significativa l'expressió d'aquests gens (Figura 3).

Figura 3.- Nivells de mRNA de gens del metabolisme lipídic en la intervenció vi desalcoholitzat enriquida amb extracte de raïm (IVE). Es mostren els nivells relatius de mRNA detectats per PCR quantitativa de les mostres d'individus del grup IVE a temps basal i després de la intervenció amb una beguda funcional enriquida amb extracte de raïm. El gràfic representa el promig $\pm$ SEM.

CONCLUSIONS

- El consum de vi desalcoholitzat (375mL/dia amb els àpats) provoca canvis en el perfil d'expressió de gens clau de la lipogènesi de *nov* i de l'oxidació d'àcids grassos que podrien ser deguts a l'activació d'un perfil més oxidatiu i termogènic i per tant, a una major mobilització de lípids.
- El consum d'una beguda funcional amb extracte de raïm (375mL/dia amb els àpats) no comporta canvis significatius en el perfil d'expressió gènica de les cèl·lules PBMCs.

Figura 3.- Nivells de mRNA de gens del metabolisme lipídic en la intervenció IVE



BIBLIOGRAFIA

- Montague, C. T. & O'Rahilly, S. The perils of portliness: Causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes* 49, 883–888 (2000).
- Peirce, V., Carobbio, S. & Vidal-Puig, A. The different shades of fat. *Nature* 510, 76–83 (2014).
- Carobbio, S., Rodriguez-Cuenca, S. & Vidal-Puig, A. Origins of metabolic complications in obesity: Ectopic fat accumulation. the importance of the qualitative aspect of lipotoxicity. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 14, 520–526 (2011).
- Virtue, S. & Vidal-Puig, A. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome - An allostatic perspective. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* 1801, 338–349 (2010).
- Engin, A. The Pathogenesis of Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 960, 221–245 (2017).
- Engin, A. B. Adipocyte-Macrophage Cross-Talk in Obesity. *Adv. Exp. Med. Biol.* 960, 327–343 (2017).
- Rosenwald, M. & Wolfrum, C. The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte* 3, 4–9 (2014).
- Fenzl, A. & Kiefer, F. W. Brown adipose tissue and thermogenesis. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* 19, 25–37 (2014).
- Cannon, B. & Nedergaard, J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.* (2004) doi:10.1152/physrev.00015.2003.
- Lshibashi, J. & Seale, P. Beige can be slimming. *Science* (2010) doi:10.1126/science.1190816.
- Bartelt, A. & Heeren, J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nature Reviews Endocrinology* (2014) doi:10.1038/nrendo.2013.204.
- Barbatelli, G. et al. The emergence of cold-induced brown adipocytes in mouse white fat depots is determined predominantly by white to brown adipocyte transdifferentiation. *AJP Endocrinol. Metab.* (2010) doi:10.1152/ajpendo.00600.2009.
- Whittle, A., Relat-Pardo, J. & Vidal-Puig, A. Pharmacological strategies for targeting BAT thermogenesis. *Trends in Pharmacological Sciences* (2013) doi:10.1016/j.tips.2013.04.004.
- Pérez-Martí, A. et al. A low-protein diet induces body weight loss and browning of subcutaneous white adipose tissue through enhanced expression of hepatic fibroblast growth factor 21 (FGF21). *Mol. Nutr. Food Res.* 61, (2017).
- Sandoval, V. et al. Mediterranean Tomato-Based Sofrito Sauce Improves Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) Signaling in White Adipose Tissue of Obese ZUCKER Rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 62, (2018).
- Sandoval, V. et al. Lyophilized Maqui (*Aristotelia chilensis*) Berry Induces Browning in the Subcutaneous White Adipose Tissue and Ameliorates the Insulin Resistance in High Fat Diet-Induced Obese Mice. *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 8, (2019).
- Serra-Majem, L., Roman, B. & Estruch, R. Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review. *Nutr. Rev.* 64, S27–47 (2006).
- Chiva-Blanch, G., Badimon, L. & Estruch, R. Latest evidence of the effects of the Mediterranean diet in prevention of cardiovascular disease. *Curr. Atheroscler. Rep.* 16, 446 (2014).
- Casas, R. et al. The effects of the mediterranean diet on biomarkers of vascular wall inflammation and plaque vulnerability in subjects with high risk for cardiovascular disease. A randomized trial. *PLoS One* 9, e100084 (2014).
- Amiot, M. J., Riva, C. & Vinet, A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. *Obes. Rev.* 17, 573–586 (2016).
- Castro-Barquero, S., Lamuela-Raventós, R. M., Doménech, M. & Estruch, R. Relationship between mediterranean dietary polyphenol intake and obesity. *Nutrients* (2018) doi:10.3390/nu10101523.
- Tsuda, T. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Molecular Nutrition and Food Research* (2012) doi:10.1002/mnfr.201100526.
- He, J. & Giusti, M. M. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* (2010) doi:10.1146/annurev.food.080708.100754.
- Takikawa, M., Inoue, S., Horio, F. & Tsuda, T. Dietary Anthocyanin-Rich Bilberry Extract Ameliorates Hyperglycemia and Insulin Sensitivity via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Diabetic Mice. *J. Nutr.* 140, 527–533 (2010).
- Matsukawa, T., Villareal, M. O., Motojima, H. & Isoda, H. Increasing cAMP levels of preadipocytes by cyanidin-3-glucoside treatment induces the formation of beige phenotypes in 3T3-L1 adipocytes. *J. Nutr. Biochem.* 40, 77–85 (2017).
- Jaqueline Vieira Piovezana, G. et al. The antiobesity effects of anthocyanins on mitochondrial biogenesis, inflammation and oxidative stress: A systematic review. *Nutrition* 66, (2019).
- Xing, T. et al. Raspberry Supplementation Improves Insulin Signaling and Promotes Brown-Like Adipocyte Development in White Adipose Tissue of Obese Mice. *Mol. Nutr. Food Res.* 62, 1–7 (2018).
- You, Y. et al. Cyanidin-3-glucoside increases whole body energy metabolism by upregulating brown adipose tissue mitochondrial function. *Mol. Nutr. Food Res.* (2017) doi:10.1002/mnfr.201700261.
- You, Y. et al. Mulberry and mulberry wine extract increase the number of mitochondria during brown adipogenesis. *Food Funct.* (2015) doi:10.1039/c4fo00719k.
- You, Y. et al. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-rutinoside, increase the quantity of mitochondria during brown adipogenesis. *J. Funct. Foods* (2017) doi:10.1016/j.jff.2017.07.007.
- Rojo, L. E. et al. In vitro and in vivo anti-diabetic effects of anthocyanins from Maqui Berry (*Aristotelia chilensis*). *Food Chem.* (2012) doi:10.1016/j.foodchem.2011.08.066.
- Alvarado, J. L. et al. Delphinidin-rich maqui berry extract (Delphinol®) lowers fasting and postprandial glycemia and insulinemia in prediabetic individuals during oral glucose tolerance tests. *Biomed Res. Int.* (2016) doi:10.1155/2016/9070537.
- Alvarado, J., Schoenlau, F., Leschot, A., Salgad, A. M. & Vigil Portales, P. Delphinol(R) standardized maqui berry extract significantly lowers blood glucose and improves blood lipid profile in prediabetic individuals in three-month clinical trial. *Panminerva Med.* 58, 1–6 (2016).
- Chiva-Blanch, G. et al. Effects of red wine polyphenols and alcohol on glucose metabolism and the lipid profile: a randomized clinical trial. *Clin. Nutr.* 32, 200–206 (2013).
- Chiva-Blanch, G., Arranz, S., Lamuela-Raventós, R. M. & Estruch, R. Effects of wine, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease risk factors: evidences from human studies. *Alcohol Alcohol* 48, 270–277 (2013).
- Chiva-Blanch, G. et al. Differential effects of polyphenols and alcohol of red wine on the expression of adhesion molecules and inflammatory cytokines related to atherosclerosis: a randomized clinical trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 95, 326–334 (2012).
- Chiva-Blanch, G. et al. Dealcoholized red wine decreases systolic and diastolic blood pressure and increases plasma nitric oxide: short communication. *Circ. Res.* 111, 1065–1068 (2012).
- Ulven, S. M., Myhrstad, M. C. & Holven, K. B. Marine n-3 Fatty Acids and Gene Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Current Cardiovascular Risk Reports* (2014) doi:10.1007/s12170-014-0412-7.
- Kolehmainen, M. et al. Influence of Nordic diet on adipose tissue and blood cell transcriptomics. *Ann. Nutr. Metab.* (2015).
- Sanchez-Gurmaches, J. et al. Brown Fat AKT2 Is a Cold-Induced Kinase that Stimulates ChREBP-Mediated De Novo Lipogenesis to Optimize Fuel Storage and Thermogenesis. *Cell Metabolism* (2018) doi:10.1016/j.cmet.2017.10.008.
- Mottillo, E. P. et al. Coupling of lipolysis and de novo lipogenesis in brown, beige, and white adipose tissues during chronic β 3-adrenergic receptor activation. *J. Lipid Res.* (2014) doi:10.1194/jlr.M050005.
- Yu, X. X., Lewin, D. A., Forrest, W. & ADAMS, S. H. Cold elicits the simultaneous induction of fatty acid synthesis and beta-oxidation in murine brown adipose tissue: prediction from differential gene expression and confirmation in vivo. *FASEB J.* 16, 155–168 (2002).
- Bartelt, A. et al. Effects of adipocyte lipoprotein lipase on de novo lipogenesis and white adipose tissue browning. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* (2013) doi:10.1016/j.bbalip.2012.11.011.

BEQUES COL·LEGIALS

Estudi de les interaccions hoste-patogen en les infeccions causades per soques hipervirulentes de *Klebsiella pneumoniae*

M. Cubero, Servei de Microbiologia, Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), CIBER, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

D. Berbel, Servei de Microbiologia, Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), CIBER, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

I. Grau, CIBER, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Hospital Universitari de Bellvitge, Servei de Malalties Infeccioses, Universitat de Barcelona-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Hospital Universitari de Bellvitge, Servei de Malalties Infeccioses, Universitat de Barcelona-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL).

M. J. Iglesias-Cabezas, Servei de Microbiologia, Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL).

J. Càmar, Servei de Microbiologia, Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), CIBER, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

C. Ardanuy, Servei de Microbiologia, Hospital Universitari de Bellvitge. Servei de Microbiologia, Universitat de Barcelona-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), CIBER, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Departament de Patologia i Terapèutica Experimental, Universitat de Barcelona.

INTRODUCCIÓ

Klebsiella pneumoniae és un important patogen humà de la família dels Enterobacteris. Les infeccions per *K. pneumoniae* es poden classificar en tres tipus: i) clàssiques, ii) causades per soques multiresistents, iii) causades per soques hipervirulentes.

Les infeccions clàssiques per *K. pneumoniae* són les més corrents. Es tracta d'infeccions oportunistes majoritàriament adquirides en la comunitat i causades per soques endògenes que formen part de la microbiota digestiva normal de l'ésser humà. Entre les bacterièmies comunitàries per *K. pneumoniae*, els focus d'infecció més importants són l'urinari (43,3%) i l'intraabdominal (43,3%)¹. En aquestes soques la resistència antibiòtica és poc comuna i quan la trobem acostuma a anar associada a allò que coneixem com a infeccions de malalts relacionats amb l'assistència sanitària.

D'altra banda, hi ha les infeccions causades per *K. pneumoniae* multiresistents que sovint es produeixen en l'entorn hospitalari. Els malalts a l'hospital són colonitzats per una soca multiresistent que posteriorment pot causar infecció i és causa freqüent de brots d'infeccions intrahospitalaris que comporten problemes de tractament¹⁻³. Per combatre aquestes infeccions, els hospitals apliquen diferents mesures. La disminució de la pressió antibiòtica en l'entorn és una de les més importants. En aquest sentit, la instauració de programes d'optimització de l'ús d'antimicrobians (PROA) són eines essencials. Aquest grups PROA són grups mul-

tidisciplinaris que s'encarreguen de revisar els tractaments antibiòtics en els malalts dels hospitals. En els darrers anys, aquests programes també s'han implantat en l'atenció primària per fer disminuir l'ús global d'antimicrobians⁴.

Finalment, tenim les infeccions causades per soques hipervirulentes. Aquestes van ser descrites per primera vegada a mitjan anys 80, a Taiwan i altres països del sud-est asiàtic i presentaven com a característica un fenotip hipermucoviscós (*string* test positiu)⁵. La definició d'hipervirulència es basa en tres característiques: i) la presència d'una càpsula tipus K1 o K2, ii) soques d'altres tipus capsulars amb el gen d'hipermucoviscositat *rmpA*, iii) la presència dels sideròfors aerobactina (*iuc*) o de salmochelina (*iroN*)⁶⁻⁸.

Les soques hipervirulentes del serotip capsular K1 presenten dos gens que regulen el fenotip hipermucoviscós: *magA* (*mucoviscosity-associated gene A*) i *rmpA* (*regulator of the mucoid phenotype A*). Les soques del serotip K2 i algunes d'altres serotips tenen només el gen *rmpA* que es localitza en un plasmidi sovint amb altres gens de virulència^{6,8}. La presència d'alguns sideròfors (salmochelina i aerobactina) és freqüent en les soques de *K. pneumoniae* hipervirulentes que els confereix més capacitat invasiva⁷.

Entre altres, aquestes soques hipervirulentes causen abscessos hepàtics primaris o pneumònia i són capaces de desenvolupar infecció metastàtica amb formació d'abscessos cerebrals o de desenvolupar endoftalmitis^{2,9}.

En el nostre medi, els estudis de les soques hipervirulen-

tes de *K. pneumoniae* són molt poc freqüents ja que tenen una incidència molt baixa i es limiten principalment a *case-reports*. El nostre grup va publicar la primera sèrie europea de bacterièmia (2009-2015) per soques hipervirulentes de *K. pneumoniae* (freqüència <3%)¹⁰. Vam poder descriure les característiques microbiològiques de les soques i les característiques clíniques (focus de la bacterièmia, adquisició).

Des d'aleshores hem estudiat de forma prospectiva la presència d'aquestes soques en altres tipus de mostres mitjançant el cribratge de la soques hipermucoviscoses pel *string-test*.

OBJECTIU

Conèixer la prevalença de soques hipervirulentes de *K. pneumoniae* i dels llinatges respectius entre aquelles que causen infeccions en pacients adults.

MATERIAL I MÈTODES

1. Disseny de l'estudi i definicions

Estudi prospectiu a partir de la recollida de soques de *K. pneumoniae* aïllades de pacients adults atesos a l'Hospital Universitari de Bellvitge des de gener del 2005 fins a desembre del 2018. Vam incloure un aïllament per pacient i episodi. Van considerar diferents dos episodis quan estaven separats més de 30 dies.

Els aïllaments els vam identificar per MALDI-TOF (MALDI-Biotyper, Bruker®). La detecció d'hipercàpsula va ser cribrada amb *string-test*. La detecció d'hipermucoviscositat la vam utilitzar com a cribratge ja que les soques hipervirulentes tenen aquesta característica. Vam revisar les històries clíniques dels pacients amb aïllament de soques hipervirulentes per establir la implicació que tenien en les infeccions. D'aquesta manera vam saber la freqüència de soques hipervirulentes, global i per focus d'infecció.

El estudi va ser aprovat pel Comitè d'Ètica i Investigació Clínica de l'Hospital Universitari de Bellvitge (PR090/19).

2. Caracterització molecular

Les soques hipermucoviscoses (*string-test* positiu) van ser processades per detectar per PCR els gens de *magA*, *mpaA*, aerobactina (*iuc*) i salmochelina (*iroN*) i els serotips capsulars K1 i K2 utilitzant metodologies descrites prèviament¹¹⁻¹⁴. Les soques amb algun d'aquests gens van ser considerades hipervirulentes.

Els llinatges genètics els vam definir mitjançant la se-

qüenciació de set gens metabòlics (*Multi Locus Sequence Typing*, MLST) seguint l'esquema de l'Institut Pasteur <https://bigsd.bpasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>.

Finalment, vam fer la seqüenciació del genoma a una selecció de soques hipervirulentes. Les seqüències les vam analitzar *in silico* per detectar factors de virulència i mecanismes de resistència antibiòtica^{15,16}.

PLA DE TREBALL

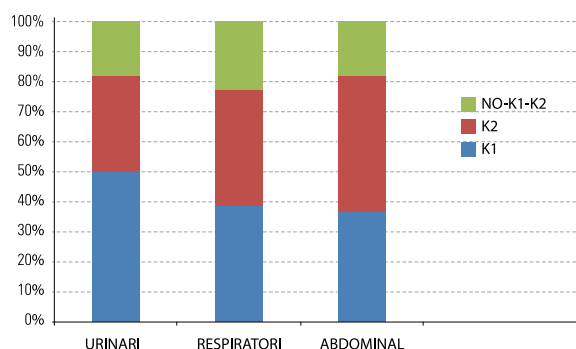
L'estudi va estar dividit en cinc tasques principals: 1) detectar soques hipermucoviscoses (2015-2018), 2) caracteritzar-les molecularment per PCR (2018-2019). 3), definir els llinatges genètics i la seqüenciació del genoma (2019), 4) revisar històries clíniques (2019) i 5) analitzar resultats.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Aquest projecte estudia per primera vegada la freqüència de soques hipervirulentes de *K. pneumoniae* en el nostre medi. Aquesta dada és coneguda principalment en països del Sud-est asiàtic². De totes les *K. pneumoniae* aïllades en el període d'estudi (2015-2018), el 5,7% (n=380) van ser hipermucoviscoses (*String-test* positiu). Però, després de la caracterització molecular, només 66 van presentar qualsevol dels gens associats a hipervirulència (*magA*, *mpaA*, *iuc* i/o *iroN*). Aquesta xifra representa l'1% de les soques estudiades. Aquesta baixa prevalença detectada a la nostra àrea geogràfica és similar a la publicada en altres països europeus⁸.

Entre les soques hipervirulentes, el serotip més freqüent va ser el K1 (39%), seguit del K2 (37%). La resta d'aïllaments (24%) van ser d'altres serotips (no-K1/K2). Aquesta distribució de serotips va ser molt semblant en tots els focus d'infecció (figura 1). Altres estudis europeus van trobar més aïllaments del serotip K2, però el baix nombre d'aïllaments

Figura 1. Distribució dels serotips de les soques hipervirulentes segons el focus d'infecció



en tots el casos fa que aquestes diferències no fossin significatives^{17,18}. En qualsevol cas, la freqüència d'aquestes soques hipervirulentes és molt més baixa a Europa que als països asiàtics. Per exemple, un estudi fet a Taiwan revela que el 18,2% (41/225) dels aïllaments de bacterièmia de *K. pneumoniae* corresponen al serotip K1 i el 16,4% (37/225) al serotip K2¹⁹. En el nostre estudi, les bacterièmies per aquest dos serotips van ser de l'1% (9/929).

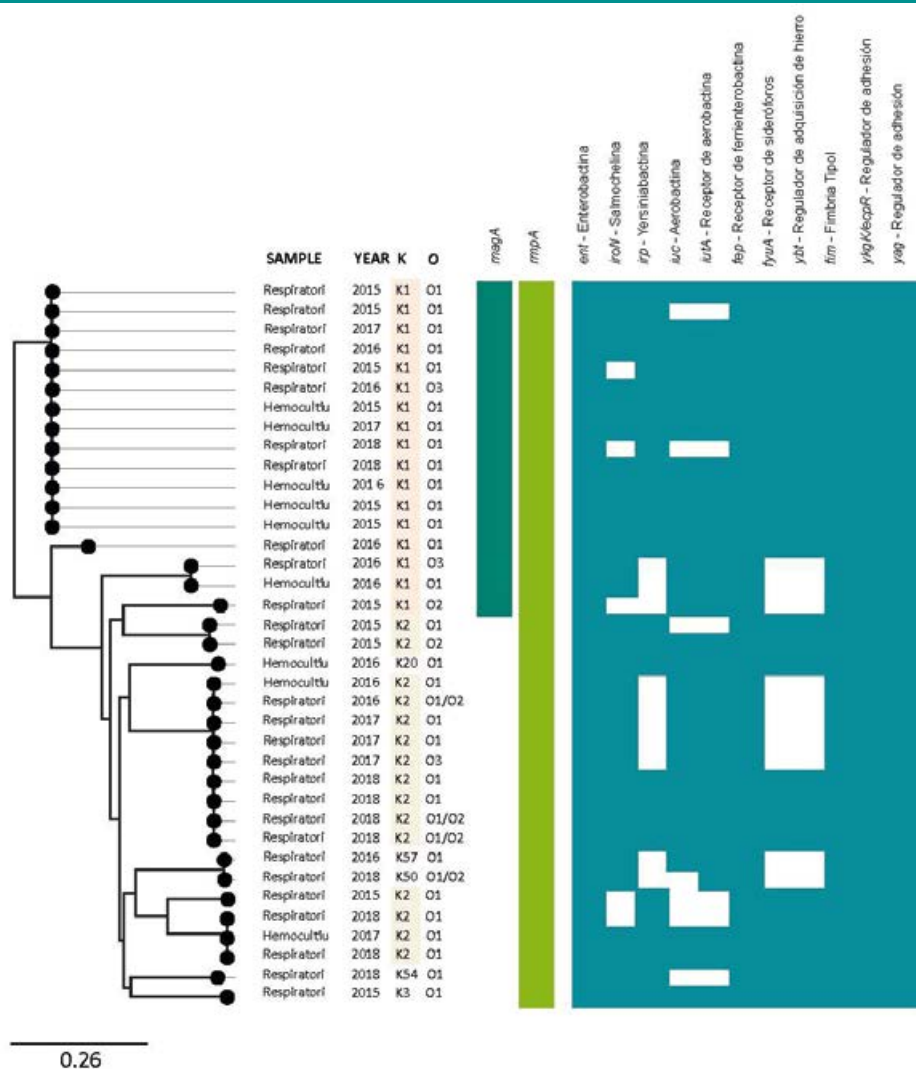
La majoria de soques del serotip K1 (un 85%) van ser del MLST 23 (linatge ST23-K1). Entre les soques del serotip K2 la diversitat genètica va ser més alta, però dos llinatges ST380 i ST66 van sumar el 75% dels aïllaments. Les soques dels serotips K1 i K2 són més virulentes que les que corresponen a altres serotips a causa de la resistència a la fagocito-

si que els confereix aquesta càpsula²⁰.

El caràcter d'hipervirulència de les soques d'altres serotips es deu a la hipercàpsula (gen *mpaA*) o a la presència d'elements que capten el ferro del medi (el sideròfors). Més de la meitat de les soques (un 56%) tenien els dos sideròfors (*iuc* i *iroN*), el 26% només la salmochelina (*iroN*) i en la resta no se'n va detectar cap. La majoria de les soques del serotip K1 portaven els dos sideròfors (70%), i això només va passar en la meitat (50%) de les del serotip K2 i en el 44% de les d'altres serotips.

La seqüenciació del genoma d'una selecció de 37 soques de focus respiratori i de bacterièmies va permetre saber quin era l'antigen capsular de les soques no-K1/K2 (figura 2). En aquests casos les cinc soques seqüenciades van ser de cinc

Figura 2. Arbre de probabilitat filogenètica que inclou 37 soques de *K. pneumoniae* hipervirulentes. Sample (mostra); year (any); K (serotip capsular); O (antigen somàtic). Els blocs de colors representen la presència de gens de hipermucoviscositat (*magA*, *mpaA*; verds) i virulència (blaus) o absència (blanc).



serotips diferents. (K20, K57, K50, K54 i K3). D'altra banda, també vam veure la diversitat del antigen somàtic, amb el tipus O1 com a més prevalent (81%). Mitjançant la construcció d'un arbre filogenètic vam veure que la majoria de les soques del serotip K1 són molt pròximes genèticament i comparteixen determinants de virulència (figura 2). Així, la majoria són O1, tenen el gen de la regulació de la hipercàpsula (*rmrA*), operons que codifiquen per diferents sideròfors (enterobactina, yersiniabactina, salmochelina, aerobactina) i fimbries (*fim*). D'altra banda, com podem veure en el mapa genètic, les soques del serotip K2 tenen més diversitat en el perfil de virulència i més varietat en l'antigen O. Aquestes troballes concorden amb els resultats que prèviament ja havia obtingut el nostre grup i altres. Aquests determinats de virulència en la majoria de les nostres soques (un 92%) els vam associar a la presència d'un plasmidi de virulència IncFIB_K que conté els gens dels sideròfors aerobactina (*iuc*) i salmochelina (*iroN*) i també al gen regulador del fenotip hipermucoviscós (*rmrA*)⁸.

La convergència de resistència antibiòtica adquirida i hipervirulència és un fenomen poc freqüent i últimament

descriu en *K. pneumoniae* en aïllaments d'Àsia^{8,20}. Entre les soques seqüenciades, vam detectar els gens de resistència SHV-1 (resistència a penicil·lines) i *fosA* (resistència a fosfomicina) que són característics de l'espècie *K. pneumoniae*. A més, vam trobar altres gens de resistència adquirits en dues soques. Una portava un plasmidi amb gens de resistència a penicil·lines, cotrimoxazole i aminoglicòsids. L'altra va adquirir un integró de classe I amb gens de resistència a aminoglicòsids, sulfametoxazole i tetraciclina.

CONCLUSIONS

Aquest estudi demostra que la freqüència de soques hipervirulentes és baixa en el nostre medi. Si bé la major part d'aquestes soques són dels serotips K1 i K2, se n'han detectat d'altres serotips. Els gens de sideròfors (*iroN* i *iuc*) s'associen a la presència de *rmrA* a causa de la seva colocalització en el mateix plasmidi. La convergència en dos aïllaments de gens d'hipervirulència i de resistència antibiòtica és un fet preocupant que demana vigilància. Serà necessari augmentar el nombre de soques seqüenciades per determinar factors que permetin associar els llinatges genètics amb focus d'infecció.

BIBLIOGRAFIA

1. Cubero, M. et al. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* strains causing bloodstream infections in adults. *Microb. Drug Resist.* 24, 949–957 (2018).
2. Shon, A. S., Bajwa, R. P. S. & Russo, T. A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: A new and dangerous breed. *Virulence* 4, 107–118 (2013).
3. Shah RK, Ni ZH, Sun XY, Wang GQ, L. F. The Determination and Correlation of Various Virulence Genes, ESBL, Serum Bactericidal Effect and Biofilm Formation of Clinical Isolated Classical *Klebsiella pneumoniae* and Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Respiratory Tract Infected. *Pol J Microbiol* 66(4), 501–508 (2017).
4. Horcajada, J. P. et al. Antimicrobial stewardship in Spain: Programs for Optimizing the use of Antibiotics (PROA) in Spanish hospitals. *www.germs.ro • GERMS* 8, (2018).
5. Catalán-Nájera, J. C., Garza-Ramos, U. & Barrios-Camacho, H. Hypervirulence and hypermucoviscosity: Two different but complementary *Klebsiella* spp. phenotypes? *Virulence* 8, 1111–1123 (2017).
6. Brisse, S. et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: Identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS One* 4, (2009).
7. Paczosa, M. K. & Mecsas, J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80, 629–661 (2016).
8. Wyres, K. L. et al. Distinct evolutionary dynamics of horizontal gene transfer in drug resistant and virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*. *PLoS Genet.* 15, e1008114 (2019).
9. Rossi, B. et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in cryptogenic liver abscesses, Paris, France. *Emerg. Infect. Dis.* 24, 221–229 (2018).
10. Cubero, M. et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clones causing bacteraemia in adults in a teaching hospital in Barcelona, Spain (2007–2013). *Clin. Microbiol. Infect.* 22, 154–160 (2016).
11. Fang, C., Lai, S., Yi, W., Hsueh, P. & Liu, K. The Function of *wzy_K1* (*magA*), the Serotype K1 Polymerase Gene in *Klebsiella pneumoniae* *cps* Gene Cluster. *J. Infect. Dis.* 201, 1268–1269 (2010).
12. Fang, C. T., Chuang, Y. P., Shun, C. T., Chang, S. C. & Wang, J. T. A Novel Virulence Gene in *Klebsiella pneumoniae* Strains Causing Primary Liver Abscess and Septic Metastatic Complications. *J. Exp. Med.* 199, 697–705 (2004).
13. Turton, J. F., Baklan, H., Siu, L. K., Kaufmann, M. E. & Pitt, T. L. Evaluation of a multiplex PCR for detection of serotypes K1, K2 and K5 in *Klebsiella* sp. and comparison of isolates within these serotypes. *FEMS Microbiol. Lett.* 284, 247–252 (2008).
14. Bachman, M. A. et al. *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. *Infect. Immun.* 79, 3309–3316 (2011).
15. Jia, B. et al. CARD 2017: Expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Res.* 45, D566–D573 (2017).
16. Zankari, E. et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 67, 2640–2644 (2012).
17. Turton, J. F. et al. Genetically similar isolates of *Klebsiella pneumoniae* serotype K1 causing liver abscesses in three continents. *J. Med. Microbiol.* 56, 593–597 (2007).
18. Maatallah, M. et al. *Klebsiella variicola* is a frequent cause of bloodstream infection in the Stockholm area, and associated with higher mortality compared to *K. pneumoniae*. *PLoS One* 9, (2014).
19. Liao, C. H. et al. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia and capsular serotypes, Taiwan. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1113–1115 (2011).
20. Li, W. et al. Increasing occurrence of antimicrobial-resistant hypervirulent (Hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* isolates in China. *Clin. Infect. Dis.* 58, 225–232 (2014).

BEQUES COL·LEGIALS

Informació animada per reforçar l'educació sanitària

J. Martí, farmacèutica.

L. Vallance, il·lustrador.

El projecte que presentem va obtenir el Premi a la innovació 2018, del Col·legi de Farmacèutics de Barcelona, per fer-ne una prova pilot.

Introducció

La legislació obliga a fer que tots els medicaments continguin informació detallada d'indicacions, posologia, efectes adversos, interaccions, etc. L'objectiu d'aquesta mesura és ben clar i senzill: que els pacients tinguin la informació que necessiten per poder fer un ús correcte dels medicaments i evitar els riscos que se'n puguin derivar. Tal com diu l'estudi dels doctors Enrique Mirón i Molina-García¹, la comunicació

que trobem en els prospectes no té l'efectivitat que seria desitjable. L'excés d'informació, la mida de la lletra, la falta d'atractiu del format i els tecnicismes són aspectes que no afavoreixen l'atenció que requereix la possibilitat de fer un bon ús dels medicaments.

Aquest projecte està orientat a buscar un format atractiu i accessible que faciliti l'educació sanitària del pacient per mitjà d'un dels vehicles comunicatius més habituals i entenedors com és l'audiovisual. La informació del prospecte quedarà traslladada, doncs, a un vídeo dinàmic, amb il·lustracions clares, explicacions senzilles i un vocabulari planer.

Il·lustració 1. Mostra d'algunes de les imatges utilitzades en l'animació dels prospectes



El software

La consulta dels vídeos tindrà dues vies d'accés: d'una banda, un portal web i, de l'altra, una aplicació per a mòbils i tauletes.

Només amb una fotografia de l'envàs, l'app identifica de quin medicament es tracta, quina forma farmacèutica té i a quina dosi. I a partir d'aquí, mostra el vídeo del prospecte animat corresponent.

Com demostra un estudi d'una universitat de Hong Kong² no hi ha una preferència clara per l'ús d'aplicacions per damunt de les pàgines web a l'hora de consultar material audiovisual. Tenint en compte això, per arribar al màxim de públic, hem volgut desenvolupar una eina complementària que permeti un accés alternatiu als vídeos: un portal web. Aquest portal és una base de dades que incorpora els prospectes animats. Mitjançant un cercador instal·lat a la mateixa pàgina accedim als vídeos. Permet buscar-los segons el nom comercial o el nom del principi actiu i redirigeix automàticament al vídeo corresponent.

Així, doncs, si a un pacient li prescriuen un medicament que no coneix o del qual té algun dubte, tindrà la possibilitat de descarregar-se l'aplicació, fer una fotografia a l'envàs i veure el vídeo o, si ho prefereix, accedir a una pàgina web on, escrivint el nom del medicament, visualitzarà el prospecte animat.

Tant l'aplicació com el portal web ja estan desenvolupats i són funcionals. En la mesura que el projecte està en fase de prova pilot, encara no està disponible per al públic.

Els vídeos

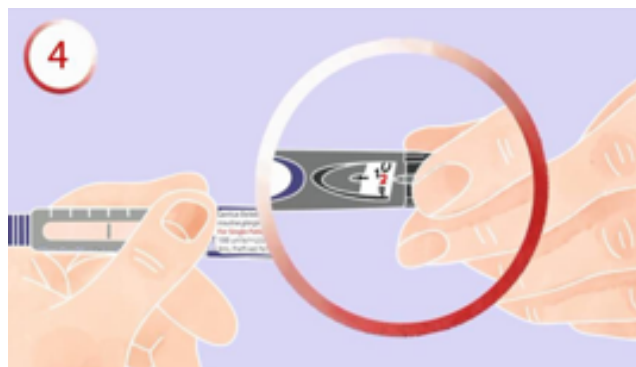
Per fer una prova pilot vam seleccionar uns medicaments que conformen la mostra inicial de prospectes animats. Vam escollir medicaments de consum elevat, en formes farmacèutiques diferents: paracetamol en comprimits, Ventolin® (salbutamol inhalat), Lantus Solostar® (insulina injectable), simvastatina en comprimits, Tobrex® (tobramicina en col·liri), amoxicil·lina amb àcid clavulànic en suspensió oral i fentanil en pegats transdèrmics.

L'animació dels prospectes representa un canvi de format, però amb això sol no n'hi ha prou per millorar

Taula 1. Resultats de la pregunta de l'enquesta, de resposta múltiple "Quines millores creus que aporta aquest vídeo amb relació al prospecte en paper?"

Respostes possibles	Percentatge de la resposta
És més fàcil d'entendre	75
És més fàcil de consultar	29
És apte per a persones cegues	40
És més ràpid veure el vídeo que llegir el prospecte sencer	43
Altres. És més divertit	2
Altres. Permet una bona comprensió	1
Altres. És més agradable	1
Font: elaboració pròpia	

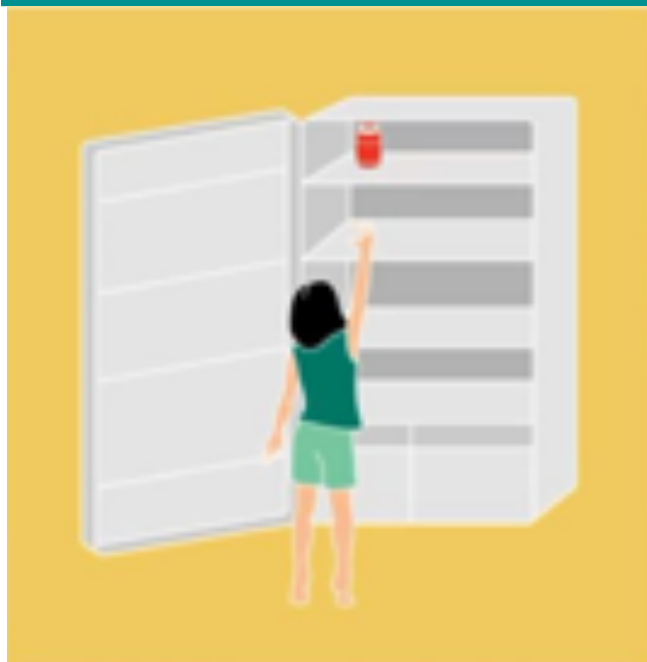
Il·lustració 2. Inclosa al prospecte animat de Lantus Solostar®. Representa una de les fases de l'aplicació, la prova de seguretat.



tots els inconvenients que presenten els prospectes en paper. Per superar-los és necessari adaptar la informació. El projecte que defensem pretén sintetitzar-la, evitar repeticions innecessàries (freqüents en els prospectes en paper), utilitzar un vocabulari comprensible al públic general, evitar tecnicismes, endreçar la informació (reordenar-la, en alguns casos) i diferenciar els continguts imprescindibles d'aquells menys rellevants.

Per tots aquests motius, els guions dels prospectes animats no són idèntics als prospectes en paper. Aquesta adaptació s'ha fet tot respectant rigorosament la informació del prospecte sense alterar-ne el contingut ni ometre cap apartat. Tot i així, alguns apartats com les interaccions i les contraindicacions

Il·lustració 3. Il·lustració del prospecte animat de l'amoxicil·lina amb àcid clavulànic en suspensió. Representa la necessitat de conservar-la a la nevera, un cop reconstituïda, lluny de l'abast dels infants.



els hem reduït a missatges de tipus "si preneu més medicació, consulteu el personal sanitari abans de començar el tractament" o "si teniu altres malalties, consulteu el personal sanitari abans de començar el tractament". Aquesta ha estat una mesura imprescindible per mantenir els vídeos en una durada d'entre 2 i 5 minuts que, com va comprovar el Pew Research Center, el 2012³, és el temps dels vídeos més visualitzats a Youtube, la principal plataforma de vídeos on-line d'abast mundial.

L'enquesta

La culminació de la prova pilot ha estat l'enquesta en línia a 100 persones de perfils diferents. Les preguntes referents als prospectes animats eren diferents en funció de si l'enquestat era personal sanitari o no. En el cas del personal sanitari, se'ls preguntava l'àmbit professional i l'opinió dels vídeos: la claredat

de la informació, la utilitat del format audiovisual, els avantatges comparats amb els prospectes en paper, els destinataris potencials, els suggeriments... En cas de no formar part del col·lectiu sanitari, a més de les preguntes d'opinió, vam incloure unes preguntes de comprensió d'alguns dels vídeos, per deixar constància que sí que havien captat la informació correctament.

Resultats

Els resultats de l'enquesta demostren que el projecte desperta un interès absolut, tant entre personal sanitari com entre els pacients. L'adaptació al format audiovisual és molt més atractiva que els prospectes en paper. Les 100 persones enquestades van trobar avantatges amb relació al format paper, principalment en la facilitat de comprensió, pel fet de ser accessible a persones invidents i per la rapidesa en la transmissió d'informació, com mostra la taula 1.

El grau de comprensió de la informació dels prospectes ha resultat ser elevadíssim, independentment de l'edat i de la formació acadèmica. El prospecte de la simvastatina va obtenir un 96,5% d'encerts a la pregunta de comprensió, el Ventolin® un 94% i el paracetamol un 88%.

Tant el públic general com el personal sanitari, principalment en l'àmbit de farmàcia comunitària, valoren molt positivament els prospectes animats. És indiscutible que el projecte té recorregut en l'educació sanitària del pacient i més tenint en compte que el món avança frenèticament i irreversible cap a la digitalització en la qual el format audiovisual, les apps i Internet imperen.

El resultat obtingut de la prova pilot, molt positiu, és un indicador del recorregut que té el projecte, a partir del qual basar-se per desenvolupar -amb finançament públic o privat- la totalitat del vademècum.

BIBLIOGRAFIA

1. Enrique Mirón C, Molina-García M. Los Prospectos: Uso y Comprensión. Una Investigación con Ciudadanos Universitarios y no Universitarios. Porta Linguarum. 2017;Monográfico:201-29.
2. Wong SHR. Which platform do our users prefer: Website or mobile app? Ref Serv Rev. 2012;40(1):103-15.

3. Rosenstiel T, Mitchell A. YouTube & News: A New Kind of Visual News. Pew Res Center's Proj Excell Journal [Internet]. 2012;202:25-7. [Accés 5 setembre 2019] Disponible a : <https://www.pewresearch.org/wp-content/uploads/sites/8/2012/07/Y>

AQUÍ RECOLLIM ALIMENTS



COL-LABORA DONANT ALIMENTS A
www.bancdelsaliments.org

**EL BANC DELS ALIMENTS DE BARCELONA AJUDA QUE
LES PERSONES QUE HO NECESSITIN PUGUIN ACCEDIR A
UNA ALIMENTACIÓ SUFICIENT, SEGURA I SALUDABLE.**



Premi de millora de la qualitat assistencial

Guia d'alimentació per a persones afectades d'ELA i receptes per a persones amb problemes de deglució

E. Romero, farmacèutica, dietista-nutricionista, Servei d'Endocrinologia i Nutrició Clínica, Unitat Funcional de Motoneurona, Hospital Universitari de Bellvitge. IDIBELL [Institut d'Investigació Biomèdica Bellvitge].

P.E. Garrido, dietista-nutricionista, grup de recerca GRAFIS, Campus Alimentació Torribera, Universitat de Barcelona.

F. Juárez, enginyera indústria alimentària, dietista-nutricionista, àrea de salut i hàbits alimentaris, Fundació Alicia.

M. Puig-Pey, xef, responsable cuina Fundació Alicia.

M. Illan, dietista-nutricionista, professora Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia, grup de recerca GRAFIS, Campus Alimentació Torribera, Universitat de Barcelona.

X. Torrado, cuiner, professor Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia, grup de recerca GRAFIS, Campus Alimentació Torribera, Universitat de Barcelona.

E. Roura, dietista-nutricionista, doctora Ciència i Tecnologia dels Aliments, responsable de l'Àrea de salut i hàbits alimentaris, Fundació Alicia.

N. Virgili, doctora en Medicina, especialista en Endocrinologia i Nutrició, Servei d'Endocrinologia i Nutrició Clínica, Unitat Funcional de Motoneurona, Hospital Universitari de Bellvitge. IDIBELL [Institut d'Investigació Biomèdica Bellvitge].

M. Povedano, especialista en neurofisiologia, Servei de Neurologia, Unitat Funcional de Motoneurona, Hospital Universitari de Bellvitge. IDIBELL [Institut d'Investigació Biomèdica Bellvitge].

INTRODUCCIÓ

L'esclerosi lateral amiotròfica (ELA) és el fenotip més conegut de la malaltia de la neurona motora¹. És una malaltia que debuta en l'edat adulta, és neurodegenerativa, ràpidament progressiva, caracteritzada per la pèrdua de les neurones motores de l'escorça cerebral (superiors), tronc de l'encèfal i medul·la espinal (inferiors), que porta a l'atròfia muscular i a la paràlisi de la musculatura². En la majoria de casos, acaba evolucionant a mort per fallada/insuficiència respiratòria en 2-5 anys. Les formes d'evolució lenta poden sobreviure 10 anys o més. És una malaltia minoritària, amb una proporció home:dona d'1,5: 1 amb una incidència d'1-2 persones cada 100.000/any i una prevalença de 2-5 casos/100.000 habitants³. No té tractament, però una atenció multidisciplinària millora l'estat de salut i la qualitat de vida del pacient a més d'incrementar-ne la supervivència^{4,5}.

Els professionals del grup clínic són especialistes en neurologia, pneumologia, rehabilitació, inferme-

ria, fisioteràpia respiratòria i dietètica i nutrició. Per la complexitat de la malaltia, un equip de psicòlegs i treballadors socials que formen part d'una fundació de malalts (Fundació Miquel Valls), dona suport a la tasca assistencial.

Un dels aspectes rellevants del tractament de la malaltia és evitar la pèrdua de pes perquè s'ha descrit com un factor de mal pronòstic^{6,7}. Aquelles persones

La intervenció dietètica està enfocada a prevenir la pèrdua de pes i detectar de manera precoç la disfàgia, present en un 80% de pacients¹¹, per reduir el risc que comporta: malnutrició i complicacions respiratòries originades per pneumònia per aspiració. ”

que perden pes es predisposen a una davallada funcional més ràpida. És inherent a la malaltia un estat d'hipermetabolisme descrit en el 80% dels pacients^{8,9}, que els fa perdre pes de manera natural. A més, l'aparició de disfàgia en diferents moments evolutius de la malaltia també contribueix a una pèrdua de pes i a un estat de malnutrició¹⁰.

Així, doncs, la intervenció dietètica està enfocada a prevenir la pèrdua de pes i detectar de manera precoç la disfàgia, present en un 80% de pacients¹¹, per reduir el risc que comporta: malnutrició i complicacions respiratòries ori-

ginades per pneumònia per aspiració. La disfàgia suposa limitacions funcionals i socials importants per a les persones afectades. Cal tenir en compte que l'ELA és una malaltia que debuta en edat adulta, al voltant dels 55 anys (45 en ELA familiar), en un moment en què la vida social encara és molt activa i que quedarà truncada per la progressió i els trastorns de deglució entre altres pèrdues funcionals. Vivim en un entorn de cultura gastronòmica i bona part de la vida gira al voltant de l'alimentació. La literatura diu que, en casos de disfàgia, seguir una dieta suficient, variada, equilibrada i de textura adequada a les necessitats individuals és pràcticament impossible¹². Cal un entrenament i una pràctica culinària a més d'un cert coneixement nutricional per elaborar diàriament una dieta de textura modificada, amb les adequacions nutricionals i les adaptacions que requereix el pacient.

La pràctica clínica va fer veure la necessitat de crear una guia d'alimentació pensada per al pacient amb malaltia de neurona motora on es tinguessin en compte els requeriments nutricionals augmentats que la malaltia exigeix. Un treball enfocat a assessorar familiars, cuidadors i fins i tot professionals sani-

taris que han d'atendre pacients afectats d'ELA i no tenen un dietista-nutricionista de referència.

OBJECTIU

Millorar la qualitat de vida dels afectats de la malaltia de neurona motora, facilitar-los la tasca diària i fer-los capaços de trobar elaboracions culinàries adequades als requeriments augmentats que tenen.

MATERIAL I MÈTODE

Continguts de la guia (imatge 1)

La primera part té un capítol de contingut teòric en el qual vam incloure els aspectes més rellevants d'una alimentació equilibrada i els requeriments dietètics que la patologia fa aparèixer. El segon i el tercer capítol se centren en els trastorns de deglució i conformen una explicació sobre la importància de modificar la textura dels aliments i com fer perquè les elaboracions triturades siguin més ben acceptades organolèpticament parlant. El quart capítol de la guia és la posada en pràctica de les recomanacions dels capítols anteriors, amb les propostes del receptari adjunt, un exemple d'ús. Aquest capítol té per objectiu habilitar el pacient o el cuidador responsable de l'alimentació. Per això, vam crear un sistema visual a partir del recompte de quilocalories i la valoració dels grups d'aliments continguts en cada recepta, que facilités la gestió d'una alimentació correcta en termes nutricionals.

Sistema innovador, il·lustració

del contingut calòric del receptari

El sistema visual de puntuació del receptari se centra en l'aspecte quantitatiu, les quilocalories (kcal) i en l'aspecte qualitatiu, els macronutrients (hidrats de carboni, proteïnes i lípids) de cada recepta. Per aconseguir això vam representar gràficament el contingut nutricional de cada una de les 38 receptes en forma de punts de colors.

Vam desenvolupar una tècnica sistematitzada per fer el recompte de kcal i macronutrients continguts en cada ració que va anar de la manera següent: vam valorar totes les receptes amb un programa de càlcul nutricional i a partir del recompte kcal/ració vam assignar una puntuació. Les kcal totals les vam

Imatge 1. Portada de la guia.



arrodonir a l'alça, en nombres enters i es els vam convertir en punts (1 punt cada 100 kcal). A continuació, aquests punts els distribuïrem en colors (verd, lila o groc/taronja), amb una valoració qualitativa de l'aportació en forma de nutrients de cada recepta. Teníem en compte, en primer lloc, les racions de fruita/verdura com a aportació de fibra, vitamines i minerals (1 ració = 1 punt de color verd), en segon lloc les racions d'aliment proteic (1 ració = 1 punt de color lila) i, per acabar, valoràvem les racions de carbohidrats o greixos que aportava la preparació i ajustàvem de manera que la resta de punts quedessin de color groc/taronja com a testimoni de greixos i carbohidrats, font principal d'energia. Amb aquest sistema vam il·lustrar totes les receptes publicades a la guia per aportar informació a una malaltia en la qual cal evitar la pèrdua ponderal i fer que el pacient pugui tinguir el poder de decidir amb coneixement com seguir una dieta més ajustada a les seves necessitats a partir de les recomanacions de l'especialista (imatge 2).

Suport gràfic de la guia com a eina de divulgació

Un cop estandarditzades les receptes les vam elaborar i les vam fotografiar per reforçar la importància de la presentació per millorar l'apetència de les persones que han de menjar elaboracions triturades. A més, vam seleccionar-ne un total de set que vam considerar interessants per originalitat, facilitat d'elaboració o interès gastronòmic. Vam filmar la preparació completa amb una explicació guiada dels passos a seguir per fer-la accessible a més persones.

RESULTATS

Com ja hem dit, *Con Gusto: Guia d'alimentació per afectats d'ELA i receptes per a persones amb problemes de deglució* consta de quatre apartats: a) recomanacions dietètiques, b) modificació de la textura dels aliments, c) preparació d'un bon triturat, d) utilització del receptari. Aquest últim introdueix el receptari que inclou un total de 38 receptes que compleixen els criteris establerts inicialment: plats representatius de diferents regions de l'Estat, d'ela-

boració fàcil, amb aliments i utilitatge econòmicament assequibles, gustosos i nutricionalment adequats. Agrupades de la següent manera: set receptes de primer plat, nou receptes de segon, deu receptes de plat únic complet i dotze receptes de postres. Els plats únics complets els vam desenvolupar pensant en aquells pacients a qui els costa acabar-se un àpat compost de primer plat, segon plat i postres. Majoritàriament, aquests casos es donen en pacients que per patologia tenen una afectació respiratòria o una afectació de la musculatura masticatòria que

Imatge 2. Exemple de menú d'un dia que compleix els requeriments nutricionals proposats per al pacient.

DESAYUNO	ALMUERZO	MERIENDA	CENA	TENTEMPRÉ ANTES DE ACOSTARSE
Muffins de cuajada con miel	Plato completo: Arroz a la cubana y postres: Batido de naranja y avellanas	Pan con tomate con queso y aceite de oliva	Ensalada verde Triturado base de pescado con salsa al gusto Fruta fresca	Batido de manzana
				
Número total de puntos: 21				
Naranja: 11				
Verde: 6				
Violeta: 4				

Els punts dels diferents colors reflecteixen de què són font les receptes:
groc = energia
liles = racions proteiques
verds = racions de fruita/verdura.

Imatge 3. Exemple de recepta de plat complet amb representació gràfica de la valoració nutricional

GARBANZOS ESTOFADOS CON VERDURA Y BACALAO



INGREDIENTES PARA DOS RACIONES

- 260 g de garbanzos cocidos
- 120 g de bacalao remojado
- 160 g de cebolla
- 40 g de pimiento verde
- 160 g de salsa de tomate colada
- 4 c/s de aceite de oliva virgen
- 1 diente de ajo
- Un chorrito de vino blanco (20 ml)
- 145 g de agua
- Pimentón dulce
- 1 hoja de laurel
- Sal y pimienta

APORTE NUTRICIONAL



origina fatiga en l'àpat i impedeix una alimentació correcta. D'aquesta manera, un plat únic complet fa més fàcil que els pacients més inapetents s'acabin els aliments més fàcilment (imatge 3). L'apartat de receptes de col·lacions, proposades per incrementar la ingesta calòrica en volums petits, vol captar l'interès de tots els pacients ja que els requeriments energètics augmentats apareixen des del principi de la malaltia.

Totes les receptes publicades inclouen la valoració nutricional de forma il·lustrativa i divulgativa tal com hem explicat en l'apartat de material i mètodes.

La publicació de la *Guia* es va fer el dia 21 de juny de 2017, coincidint amb el dia mundial de l'ELA, al web de la Fundación Luzón. És de [consulta i descàrrega gratuïta](#), per fer-la accessible a més persones i aconseguir una divulgació extensiva.

La difusió s'ha fet mitjançant les consultes de neurologia i dietètica de la Unitat Funcional de Motoneurona de l'Hospital Universitari de Bellvitge, les associacions de malalts de totes les regions d'Espanya se n'han fet ressò i moltes han inserit un accés directe a la seva pàgina web. Aquesta guia també ha interes-

sat altres professionals que tracten la malaltia i que per problemes d'organització dels centres no poden comptar amb un especialista en nutrició i dietètica. Ha estat citada com a primera font d'informació a la "Guía de soporte nutricional en el paciente con enfermedad neurológica", avalat per SENPE i publicat per Persan Pharma. La guia ha despertat l'interès perquè facilita l'abordatge d'altres patologies que cursen amb disfàgia. Des de gener del 2019 hi ha un accés directe a la descàrrega a *Con Gusto* en l'apartat [d'enllaços d'interès](#) al web de Portalfarma i la infografia de difusió en la nova iniciativa impulsada pel Consejo: "La ELA, una realidad ignorada".

CONCLUSIONS

Tenir una guia d'alimentació específica de la malaltia de motoneurona i centrada en disfàgia és de gran interès, no només per a l'abordatge de la malaltia de motoneurona sinó per altres patologies que cursen amb disfàgia com són l'ictus, el Parkinson, l'Alzheimer, o senzillament l'envelliment, totes altament prevalents en la nostra societat. Aquesta guia contribueix millorar la qualitat assistencial dels professionals de la salut i la qualitat de vida dels malalts.

BIBLIOGRAFIA

1. Al-Chalabi A, Hardiman O, Kiernan MC, Chiò A, Rix-Brooks B, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis: moving towards a new classification system [Internet]. Vol. 15, The Lancet Neurology. Elsevier Ltd; 2016. p. 1182–94. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30199-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30199-5)
2. Hillel AD, Miller R. Bulbar amyotrophic lateral sclerosis: patterns of progression and clinical management. Head Neck [Internet]. 1989 [cited 2017 Apr 28];11(1):51–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2921111>
3. A van Es M, Hardiman O, Chio A, Al-Chalabi A. Amyotrophic lateral sclerosis. Lancet [Internet]. 2017;390:2084–98. Available from: <http://www.hlisd.org/AtoZBrowse.aspx?browsetype=library>
4. Andersen PM, Borasio GD, Dengler R, Hardiman O, Kollwe K, Leigh PN, et al. Good practice in the management of amyotrophic lateral sclerosis: clinical guidelines. An evidence-based review with good practice points. EALSC Working Group. Amyotroph Lateral Scler. 2007;8(4):195–213.
5. Galvin M, Ryan P, Maguire S, Heverin M, Madden C, Vajda A, et al. The path to specialist multidisciplinary care in amyotrophic lateral sclerosis: A population-based study of consultations, interventions and costs. PLoS One. 2017;12(6).
6. Chiò A, Logroscino G, Hardiman O, Swingler R, Mitchell D, Beghi E, et al. Prognostic factors in ALS: A critical review. Amyotroph Lateral Scler. 2012;10(5–6):310–23.
7. Greenwood DJ. Nutrition management of amyotrophic lateral sclerosis. Nutr Clin Pract. 2013 Jun;28(3):392–9.
8. Dupuis L, Pradat P-F, Ludolph AC, Loeffler J-P. Energy metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. Lancet Neurol. 2011 Jan 1;10(1):75–82.
9. Bouteloup C, Desport JC, Clavelou P, Guy N, Derumeaux-Burel H, Ferrier a., et al. Hypermetabolism in ALS patients: An early and persistent phenomenon. J Neurol. 2009;256(8):1236–42.
10. Kühnlein P, Gdynia H-J, Sperfeld A-D, Lindner-Pfleggar B, Ludolph AC, Prosiel M, et al. Diagnosis and treatment of bulbar symptoms in amyotrophic lateral sclerosis. Nat Clin Pract Neurol. 2008;4(7):366–74.
11. Andrenelli E, Galli FL, Gesuita R, Skrami E, Logullo FO, Provinciali L, et al. Swallowing impairments in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Myotonic Dystrophy type 1: Looking for the portrait of dysphagic patient in neuromuscular diseases. NeuroRehabilitation. 2018;42(1):93–102.
12. de Luis DA, Aller R, Izaola O. Menú de textura modificada y su utilidad en pacientes con situaciones de riesgo nutricional. Nutr Hosp. 2014;29(4):751–9.

Premi a la millor iniciativa en xarxes socials i noves tecnologies

Millora de la gestió de medicaments en la insuficiència renal crònica amb mHealth. Aplicació RenalCalc

M. Massot, farmacèutica d'atenció primària, Servei d'Atenció Primària Vallès Occidental (SAP VOCC), Institut Català de la Salut.

A. Franzi, farmacèutica atenció primària, Servei d'Atenció Primària Vallès Occidental, Institut Català de la Salut.

E. Bellerino, metgessa especialista en medicina familiar i comunitària, equip d'Atenció Primària Sabadell 7- La Serra.

J.C. Martínez-Ocaña, metge, Servei de Nefrologia, Corporació Sanitària Parc Taulí, Sabadell.

E. Ponz, metgessa, Servei de Nefrologia, Corporació Sanitària Parc Taulí, Sabadell.

J. Tondo, diplomad en Informàtica de Sistemes i tècnic mitjà informàtic de gestió. Sabadell.

Introducció

La insuficiència renal crònica (IRC)¹ definida com un filtrat glomerular estimat (FGe) inferior a 60 ml/min/1,73 m² és un problema sanitari freqüent en el nostre mitjà i comporta una morbidimortalitat elevada. A Espanya la prevalença calculada de la IRC se situa en el 6,8% de la població adulta, segons l'estudi epidemiològic EPIR-CE², augmenta amb l'edat fins a arribar al 21% en els malalts de més de 64 anys i supera el 35% en hipertensos i diabètics. Molts medicaments d'ús habitual són metabolitzats o eliminats per via renal. L'alteració de la funció renal modifica la farmacocinètica³ dels medicaments, en canvia potencialment l'eficàcia i augmenta la probabilitat d'acumulació i d'efectes adversos⁵ incloent-hi la toxicitat renal. Sovint, tot això es veu complicat pel fet que aquests malalts acostumen a ser d'edat avançada i polimedicats⁴. Per aquest motiu, els malalts amb IRC haurien de ser objecte d'una revisió de la farmacoteràpia per ajustar les dosis o l'interval d'administració dels fàrmacs excretats pel ronyó a fi d'evitar-ne l'acumulació o la nefrotoxicitat i retirar-lo quan hi ha una contraindicació.

Hi ha diverses fonts que informen de la manera d'ajustar les dosis dels fàrmacs al grau d'insuficiència renal¹ però a vegades no són fàcilment accessibles⁶ al professional sanitari o no coincideixen en les recomanacions que fan⁷. En alguns casos, aquest últim fet es deu a la manca d'assaigs clínics o de dades de seguretat en la utilització dels fàrmacs en la població amb IRC, que correspon a la malaltia renal crò-

nica (MRC) en estadis G3a-5 i en pacients en diàlisi (MRC G5D). Pel que fa que a la fitxa tècnica del fàrmac, s'arriba a la recomanació de "contraindicació" del fàrmac en la IRC, a diferència d'altres fonts que també tenen en compte la pràctica clínica habitual o el consens d'experts basats en l'existència d'estudis observacionals que suggereixen la utilització del fàrmac en aquests pacients. La manca d'accessibilitat,

Imatge 1. Disseny de l'App RenalCalc



Imatge 2. Canvis duts a terme en el disseny després del pilotatge de l'App i previs a la difusió a tots els professionals del SAP VOCC



Pantalla creada a l'inici del desenvolupament de l'App	Pantalla final del desenvolupament de l'App
- El color vermell utilitzat per ressaltar algun camp de text amb el fons blau no aconseguia aquest efecte - La resposta a la cerca quedava concentrada en la part superior de la pantalla i deixava espai de pantalla en blanc que podia ser utilitzat per expandir el text. - El botonatge era de petites dimensions i feia difícil clicar l'opció desitjada. El color vermell utilitzat per ressaltar algun camp de text amb el fons blau no aconseguia aquest efecte.	- Ara, el color vermell utilitzat per ressaltar algun camp de text amb el fons blanc queda molt visible. - La resposta a la cerca ocupa tota la pantalla i facilita la lectura del text. - El botonatge s'ha fet més gran i és més fàcil escollir l'opció desitjada. - En general, el disseny és molt més intuïtiu i permet consultar l'App d'una forma fàcil i ràpida.

de concordança o l'ambigüitat de les recomanacions (exemple: quan fa la recomanació de precaució en IR moderada-greu) sobre la gestió dels medicaments en la IRC, dificulta la feina diària del professional sanitari i afavoreix la utilització inadequada o a dosis excessives d'alguns fàrmacs en aquests pacients^{8,9}. Així, un estudi poblacional fet darrerament a Itàlia¹⁰ en més de 150.000 pacients d'atenció primària va mostrar que pràcticament la meitat dels malalts amb IRC rebien algun fàrmac nefrotòxic, per exemple un AINE. En el cas de malalts renals crònics també s'ha publicat un ús inadequat d'altres grups de fàrmacs com hipoglucèmians^{11,12} o antibiòtics¹³.

Tot i que alguns treballs mostren que el simple fet d'indicar l'FGe en els informes de laboratori (com fem habitualment en el nostre mitjà) pot millorar la prescripció¹⁴, s'haurien d'implantar més mesures per minimitzar els errors freqüents associats a un ús inadequat de certs medicaments en IRC com l'accés a

una informació fiable i contrastada sobre la gestió dels fàrmacs en la IRC.

Les tecnologies de la informació en salut poden ajudar a millorar el tractament dels malalts amb IRC^{15,16}. Erler et al.¹⁷ van obtenir resultats positius quan van posar a disposició d'un grup de metges de família alemanys un programa informàtic que calculava el FGe i feia recomanacions amb relació al grau d'IRC sobre l'ús i les dosis dels fàrmacs d'ús més freqüent en atenció primària. A Espanya, hi ha alguna experiència hospitalària de sistemes de suport clínic amb alertes automàtiques de funció renal i recomanacions automàtiques d'ajust de dosi de fàrmacs en les ordres mèdiques que implicaven els fàrmacs en què més sovint es produïen incidències en la IRC¹⁸. Una revisió sistemàtica sobre sistemes d'ajuda a la decisió clínica per a l'ús de fàrmacs en IRC va mostrar resultats prometedors¹⁹, però l'experiència amb la utilització d'aquests sistemes en atenció primària és encara escassa²⁰. La història clínica informatitzada (ECAP) de l'Institut Català de la Salut (ICS) alerta dels fàrmacs contraindicats en insuficiència renal, però no en cas que es requereixi un ajustament de la dosi o la pauta.

En l'elaboració de la ruta assistencial de la MRC del territori del Vallès Occidental Est^{21, 22}, emmarcada en el Pla de Salut 2011-2015, el grup motor de la ruta format per nefròlegs, farmacèutics i metges de família, va considerar necessari incorporar una guia pràctica per ajustar els fàrmacs d'ús més freqüent en la IRC en atenció primària, atesa la diversitat i manca d'accessibilitat de les recomanacions de la gestió de fàrmacs en la IRC. No obstant això, pensem que el format en què es presenta la guia no és el més adequat per accedir a la informació d'una manera ràpida i integrada en la immediatesa de la consulta i també vam detectar la necessitat dels metges de tenir una eina informàtica senzilla per consultar aquesta guia de forma fàcil i en qualsevol moment i lloc. Així va sorgir el projecte de dissenyar una App per smartphones perquè en tot moment el metge pogués consultar les recomanacions d'ús dels fàrmacs segons el grau de FGe del pacient.

Objectiu principal

Millorar la dosificació dels fàrmacs en la IRC mitjançant d'una App per smartphones d'ajuda als professionals sanitaris a l'atenció primària.

Objectius específics

1. Fer una revisió bibliogràfica de la gestió dels fàrmacs segons els valors del FGe i de les recomanacions específiques d'ús dels fàrmacs en la IRC.
2. Buscar un consens en les recomanacions entre la Unitat de Nefrologia i l'atenció primària
3. Avaluar la utilitat i la utilització de l'eina

Material i mètode

En el disseny de l'App RenalCalc s'hi van incloure els medicaments d'utilització en l'àmbit de l'Atenció Primària que es poden prescriure amb recepta mèdica i van quedar exclosos, entre altres, els fàrmacs d'aplicació tòpica per tractar patologies oculars, òtiques, ginecològiques o dermatològiques. També vam excloure els medicaments d'ús hospitalari o medicaments que corresponien a patologies de gestió hospitalària com els citostàtics (codi ATC: L01), els immunosupressors (codi ATC: L04AD) i els fàrmacs d'administració parenteral.

La metodologia va constar de quatre parts diferents.

FASE 1. Creació del grup de treball multidisciplinari format per metges de família, nefròlegs i farmacèutics d'atenció primària per fer una revisió bibliogràfica i una elaboració de les recomanacions finals de la gestió de fàrmacs en la IRC. A causa de la manca de concordància entre les diferents fonts d'informació

consultades²³⁻²⁵, en cas de discrepància, la recomanació final, es va decidir per consens del grup de treball. La informació inclosa finalment va ser: identificació del fàrmac (principi actiu, dosi habitual, forma farmacèutica), nefrotoxicitat (sí/no) i la recomanació en cas d'ús en IRC (ajust de dosi o de l'interval d'administració) diferenciat en funció dels intervals del FGe següents: 1) FGe > 60 ml/min, 2) FGe entre 30 i 60 ml/min, 3) FGe entre 10-29 ml/min i 4) FGe < 10 ml/min), no obstant això en els casos en què les recomanacions no coincidien amb l'interval prefixat s'hi va afegir la recomanació específica. Vàrem incloure recomanacions generals i la informació complementària considerada rellevant i necessària per ajudar a la presa de decisions clíniques. Si la recomanació era per a un grup farmacològic concret també ho fèiem constar.

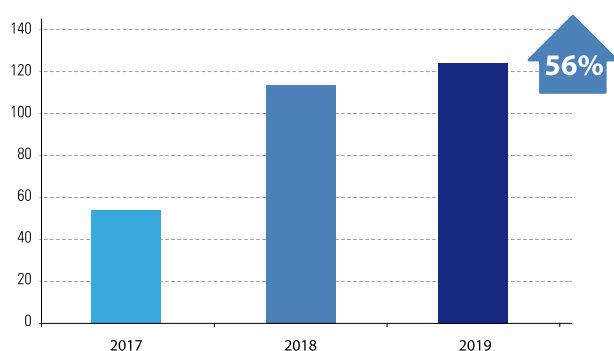
FASE 2. Metodologia del desenvolupament tecnològic i disseny de l'App RenalCalc per smartphones sistema Android.

Per a tots els continguts de recomanacions elaborats, vam crear la documentació base en format de taules. Vam uniformar la informació amb les notes dependents per a poder gestionar-les des d'un algoritme de cerca basat en l'entitat principal del fàrmac. Previ l'ús dels professionals, vam dur a terme un pilotatge de l'App a fi d'avaluar-ne la usabilitat.

L'aplicació detecta l'idioma del dispositiu i ofereix els textos en català, castellà i anglès. L'App RenalCalc consta d'una interfície amb quatre apartats (dos de selecció i dos de resultats) i un menú d'opcions (imatge 1). L'App va ser dissenyat per utilitzar-la encara que no hi hagués cobertura mòbil, ja que els continguts de l'App es descarreguen en el mòbil i no cal accés a la xarxa per consultar-los. Per aquest motiu pensem que l'App RenalCalc pot ser una eina de gran utilitat en visites domiciliàries.

FASE 3. Difusió de l'App RenalCalc. Aquesta App només està disponible per als professionals del SAP VOCC (Servei d'Atenció Primària del Vallès Occidental) prèvia sol·licitud. L'App RenalCalc, va ser presentada en el marc de la Jornada de Formació de la Ruta As-

Gràfic 1. Nombre acumulat de professionals donats d'alta de l'App des del juny del 2017



sistencial de la MRC, organitzada per l'Hospital Universitari Parc Taulí de Sabadell i el SAP VOCC. També la vam presentar en les diferents reunions amb directors, líders clínics i professionals dels equips d'Atenció Primària. Actualment també s'ha penjat a la Intranet corporativa un enllaç per demanar accés a l'aplicació.

FASE4. Avaluació. Vam definir diferents indicadors per avaluar el grau d'utilització de l'App: nombre de descàrregues en el període d'estudi, % d'usuaris actius de l'eina (definits com aquells que han entrat en l'aplicació més de dues vegades) sobre el total d'usuaris registrats, la mitjana de consultes per usuari i els fàrmacs més consultats per grup terapèutic.

Resultats

Un cop completat el desenvolupament i el disseny de l'App RenalCalc, el juny de 2017, va començar un període de prova pilot per avaluar-ne la usabilitat. En aquest període pilot vam detectar aspectes generals millorables com la visualització de l'App i en particular, la mida i els colors dels camps de visualització dels resultats o de la lletra utilitzada. Així, per exemple, vam millorar la combinació de colors text-fons de pantalla per millorar-ne la legibilitat, la mida dels camps d'introducció de dades o la funcionalitat dels botons (imatge 2). Abans d'obrir l'App vam introduir aquests canvis al disseny.

El nombre total d'usuaris que han descarregat l'App és de 129 sobre un total de 232 metges de família que treballen al SAP VOCC, dada que representa el 56%. Al gràfic 1 podem veure el nombre de professionals acumulats que s'han donat d'alta a l'aplicació des del

juny del 2017 fins a abril 2019.

El 34% d'usuaris havien utilitzat l'eina més de dues vegades per fer una consulta i el nombre mitjà de consultes per usuari era del 13,8.

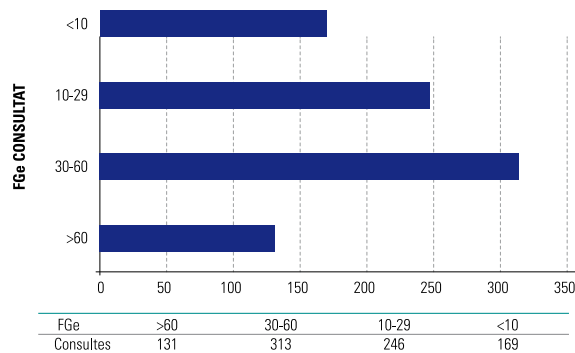
S'havien fet un total de 859 consultes de 92 fàrmacs diferents. La llista de consultes fetes per grup terapèutic és descrita a la taula 1. Els cinc grups terapèutics més consultats havien estat el antiagregants plaquetaris i anticoagulants, antigotosos, antibiòtics, hipoglucemians i antihipertensius, que en total representen el 65% de les consultes.

El 84,75% de les consultes havien estat per consultar diferents dosificacions en FGe < 60 ml/min. A la gràfica 2 podem veure el nombre de consultes per FGe. Un 15,25% de les consultes s'ha fet en FGe > 60 ml/min, dada que indica que l'App també s'ha utilitzat per consultar la dosificació habitual d'un fàrmac.

Taula 1. Nombre de medicaments consultats per grup terapèutic

Grup terapèutic	consultes
Antiagregants i anticoagulants	158
Antigotosos	106
Antibiòtics	105
Hipoglucemians	103
Antihipertensius	87
Hipolipemians	71
AINE	37
Antidepressius	34
Analgèsics	31
Antipsicòtics	17
Antihistamínics	15
Antiàcids i antiulcerosos	14
Fàrmacs contra la dependència a alcohol	14
Ansiolítics i hipnòtics	13
Antivirals	12
Antiepilèptics	10
Fàrmacs per a l'osteoporosi	9
Fàrmacs per a l'Alzheimer	7
Antipalúdics	6
Fàrmacs per a la HBP	5
Altres cariològics	4
Corticoides	1
TOTAL	859

Gràfic 2. Consultes per filtrat glomerular estimat



Conclusions

Sovint, les recomanacions sobre la gestió de fàrmacs en IRC són diferents segons la font d'informació i poc accessibles en una visita mèdica.

La creació de l'App RenalCalc pot ajudar a evitar errors de medicació i problemes de seguretat relacionats amb la utilització de fàrmacs a dosis no adequades, excessi-

ves o contraindicades en la IRC ja que conté la informació rellevant per dosificar fàrmacs en cas d'alteracions de la funció renal i consultar si el fàrmac que és vol prescriure és segur quan la funció renal està alterada. Per tot això considerem que l'App RenalCalc és una eina molt útil per prendre decisions clíniques d'una manera ràpida i senzilla en qualsevol lloc i moment.

BIBLIOGRAFIA

- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3(1):1-150. doi:10.1038/kisup.2012.76.
- Otero A, de Francisco A, Gayoso P, García F. Prevalencia de la enfermedad renal crónica en España: resultados del estudio EPIRCE. *Nefrología.* 2010;30(1):78-86. doi:10.3265/Nefrologia.pre2009.Dic.5732.
- Matzke GR, Aronoff GR, Atkinson AJ, et al. Drug dosing consideration in patients with acute and chronic kidney disease—a clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2011;80(11):1122-1137. doi:10.1038/ki.2011.322.
- Munar MY, Singh H. Drug dosing adjustments in patients with chronic kidney disease. *Am Fam Physician.* 2007;75:1487-1496.
- Ponticelli C, Sala G, Glasscock RJ. Drug management in the elderly adult with chronic kidney disease: A review for the primary care physician. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(5):633-645. doi:10.1016/j.mayocp.2015.01.016.
- Martin-Facklam M, Rengelshausen J, Tayrouz Y, et al. Dose individualisation in patients with renal insufficiency: Does drug labelling support optimal management? *Eur J Clin Pharmacol.* 2005;60(11):807-811. doi:10.1007/s00228-004-0852-y.
- Khanal A, Castelino RL, Peterson GM, Jose MD. Dose adjustment guidelines for medications in patients with renal impairment: How consistent are drug information sources? *Intern Med J.* 2014;44(1):77-85. doi:10.1111/imj.12291.
- Blix HS, Viktil KK, Moger TA, Reikvam A. Use of renal risk drugs in hospitalized patients with impaired renal function—an underestimated problem? *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21(11):3164-3171. doi:10.1093/ndt/gfl399.
- Van Pottelbergh G, Mertens A, Azermi M, et al. Drug prescriptions unadapted to the renal function in patients aged 80 years and older. *Eur J Gen Pract.* 2014;20(3):190-195. doi:10.3109/13814788.2013.857399.
- Ingrasciotta Y, Sultana J, Giorgianni F, et al. The burden of nephrotoxic drug prescriptions in patients with chronic kidney disease: A retrospective population-based study in Southern Italy. *PLoS One.* 2014;9(2):1-8. doi:10.1371/journal.pone.0089072.
- Ioannidis I. Diabetes treatment in patients with renal disease: Is the landscape clear enough? *World J Diabetes.* 2014;5(5):651. doi:10.4239/wjcd.v5.i5.651.
- Arnouts P, Bolognani D, Nistor I, et al. Glucose-lowering drugs in patients with chronic kidney disease: a narrative review on pharmacokinetic properties. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;1-18. doi:10.1093/ndt/gft462.
- Farag A, Garg AX, Li L, Jain AK. Dosing errors in prescribed antibiotics for older persons with CKD: A retrospective time series analysis. *Am J Kidney Dis.* 2014;63(3):422-428. doi:10.1053/ajkd.2013.09.009.
- Wei L, MacDonald TM, Jennings C, Sheng X, Flynn RW, Murphy MJ. Estimated GFR reporting is associated with decreased nonsteroidal anti-inflammatory drug prescribing and increased renal function. *Kidney Int.* 2013;84(1):174-178. doi:10.1038/ki.2013.76.
- Diamantidis CJ, Becker S. Health information technology (IT) to improve the care of patients with chronic kidney disease (CKD). *BMC Nephrol.* 2014;15(1):7. doi:10.1186/1471-2369-15-7.
- Tuot DS, Boulware LE. Telehealth Applications to Enhance CKD Knowledge and Awareness Among Patients and Providers. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2017 Jan;24(1):39-45. doi: 10.1053/j.ackd.2016.11.017.
- Erlar A, Beyer M, Petersen JJ, et al. How to improve drug dosing for patients with renal impairment in primary care - a cluster-randomized controlled trial. *BMC Fam Pract.* 2012;13:91. doi:10.1186/1471-2296-13-91.
- Martínez Bernabé E, Paluzie-Ávila G, Terre Ohme S, et al. Sistemas de soporte a la toma de decisiones clínicas en insuficiencia renal. *Farm Hosp.* 2014;38(3):216-222. doi:10.7399/fh.2014.38.3.753.
- Tawadrous D, Shariff SZ, Haynes RB, Iansavichus A V, Jain AK, Garg AX. Use of clinical decision support systems for kidney-related drug prescribing: a systematic review. *Am J Kidney Dis.* 2011;58(6):903-914. doi:10.1053/j.ajkd.2011.07.022.
- Shemeikka T, Bastholm-Rahmner P, Elinder C-G, et al. A health record integrated clinical decision support system to support prescriptions of pharmaceutical drugs in patients with reduced renal function: Design, development and proof of concept. *Int J Med Inform.* 2015;84(6):387-395. doi:10.1016/j.ijmedinf.2015.02.005.
- Ruta Assistencial de la Malaltia Renal Crònica. Institut Català de la Salut. Servei d'Atenció Primària Vallès Occidental Est. Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell, març 2016.
- Pautes per a l'harmonització del tractament farmacològic de la malaltia renal crònica. Barcelona: Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya. Departament de Salut. Generalitat de Catalunya 2016. (Programa d'Harmonització Farmacoterapèutica de Medicaments en l'Àmbit de l'Atenció Primària i Comunitària del Servei Català de la Salut; 02/2016).
- La fitxa tècnica dels medicaments a Espanya, tal i com consta a la web de l'Agència Espanyola del Medicament. <http://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>
- (BNF) British Medical Association and the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. British National Formulary. 70th ed. (September-March 2015) UK: BMJ Publishing Group.
- Up to Date on line. Copyright 1978-2016 Lexicomp.

... i molt més



Premi millor treball de grau 2018

Probiòtics, prebiòtics i sistema nerviós

E. Alòs, Universitat de Barcelona. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació

INTRODUCCIÓ

Qui no ha sentit alguna vegada l'expressió "tenir papallones a l'estómac"? De fa molt de temps, la relació entre l'aparell digestiu i el sistema nerviós ha estat objecte d'atenció. En el pla científic, Ivan Pavlov (premi Nobel 1904) l'estudià a bastament, establí la base de la fisiologia moderna de la digestió, demostrà que el sistema digestiu està sotmès a l'influx del sistema nerviós central d'una manera complexa i que el procés psicològic pot condicionar la naturalesa dels fluids que secreta el tracte digestiu¹. De fet, Pavlov va ser un precursor a l'hora d'estudiar la xarxa complexa i intricada que ara anomenem *eix intestí-cervell* (GBA, de l'anglès *Gut-Brain-Axis*).

Els últims anys han aparegut evidències creixents que fan pensar que els itineraris esmentats estan influïts per la microbiota intestinal i aquest fet ens porta a parlar de l'eix microbiota-intestí-cervell(MGBA)^{2,3}. L'aplicació de noves tecnologies de seqüenciació d'ADN ha transformat allò que sabíem de la microbiota intestinal i han aportat eines per descriure el microbioma intestinal i relacionar les alteracions que experimenta amb diferents trastorns⁴. Cada dia que passa es fa més evident que la microbiota juga un paper clau en el desenvolupament de les malalties de l'SNC com l'Alzheimer, l'ansietat, l'autisme, l'esclerosi lateral amiotròfica, la depressió, l'esclerosi múltiple o la malaltia de Parkinson (PD)⁵.

En aquesta revisió bibliogràfica el nostre interès principal són les possibles aplicacions dels probiòtics a la prevenció i el tractament de les malalties de l'SNC. Aquesta idea no és completament nova. Fa més d'un segle⁶ Metchnikoff va teoritzar que podria ser possible retardar la senilitat mitjançant la manipulació de la microbiota intestinal amb bacteris continguts en aliments com el iogurt. Aquesta teoria va tornar a aparèixer a la dècada de 1990 i avui en dia els probiòtics no són només tema d'investigació mèdica sinó que tam-

bé són la font d'una indústria multimilionària mundial⁶.

LA COMPOSICIÓ DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

El tracte gastrointestinal humà està habitat per 1013 a 1014 microorganismes⁷. Aquesta quantitat és més de deu vegades el nombre de cèl·lules humanes del cos. D'altra banda, aquest microbioma conté 150 vegades tants gens com el nostre genoma.

La microbiota intestinal és un ecosistema complex en el qual el component bacterià és el dominant mentre que els fongs representen menys del 0,01% al 0,1% dels gens en mostres fecals⁸. De fet, el terme microbiota s'acostuma a utilitzar per referir-se a la microbiota bacteriana. Fins ara, la majoria dels estudis publicats s'han centrat exclusivament en el component bacterià.

El consens actual (que prové de l'anàlisi de l'rRNA 16S de milers de mostres fecals) és que en estat de salut, els fílums bacterians predominants en la microbiota de l'intestí gros humà són Bacteroidetes i Firmicutes, seguits d'Actinobacteria (aquest últim composts principalment pel gènere *Bifidobacterium*⁹. A més, se n'han pogut determinar tres enterotips¹⁰. Cada un d'aquests enterotips es caracteritza per la variació en els nivells d'un dels tres gèneres següents: *Bacteroides* (Bacteroidetes), *Prevotella* (Bacteroidetes) i *Ruminococcus* (Firmicutes). Hem de remarcar que la classificació de la microbiota en enterotips pot dependre del mètode de processament de dades. Alguns altres treballs¹¹ mostren només dos agrupaments en els quals l'enterotip *Bacteroides* apareix fusionat amb *Ruminococcus*.

Aquesta variabilitat en la microbiota es deu a diversos factors i situacions:

a) **La dieta** és un dels principals factors. L'enterotip *Prevotella* apareix associat a la dieta d'hidrats de carboni i l'enterotip *Bacteroides*, a dietes altes en greixos o proteïnes¹¹.

b) **Les infeccions, les malalties i l'ús d'antibiòtics** poden alterar transitòriament l'estabilitat de la composició natural de la microbiota intestinal.

c) **El desenvolupament** inicial del microbioma neonatal està fortament determinat pels intercanvis de microbiota entre la mare i el nadó. Pràctiques com el naixement per cesària o l'ús de llet maternitzada poden alterar-ne el desenvolupament.¹²

d) **La ràtio Firmicutes/Bacteroidetes** és un marcador important ja que apareix augmentada en l'obesitat.

LA MICROBIOTA INTESTINAL I L'EIX INTESTÍ-CERVELL EN LES MALALTIES DEL SISTEMA NERVIÓS CENTRAL

La microbiota intestinal afecta l'eix intestí-cervell per diferents vies^{5,13}. Els mecanismes principals descrits en la literatura són els següents:

Activació immunitària. La microbiota i els agents probiòtics poden tenir efectes directes sobre el sistema immunitari que alhora exerceix una comunicació bidireccional amb el cervell.

Nervi vague. Els estudis en animals evidencien que la microbiota intestinal pot activar el nervi vague i que aquesta activació juga un paper crític en la mediació dels efectes sobre el cervell. No obstant això, els mecanismes d'aquesta activació encara no estan clars.

Metabolisme del triptòfan. El triptòfan és un precursor del neurotransmissor serotonina. Hi ha evidència que en molts trastorns que afecten el cervell i el tracte gastrointestinal hi ha una desregulació de la via metabòlica del triptòfan. Hi ha evidències que suggereixen que alguns probiòtics (com *Bifidobacterium infantis*) poden modular-la.

Reaccions metabòliques. Els bacteris de l'intestí modulen diverses reaccions metabòliques de l'hoste que repercuteix en la producció de metabòlits com els àcids biliars, la colina i els àcids grassos de cadena curta (SCFA), essencials per a la salut de l'hoste. D'altra banda, els carbohidrats complexos poden ser digerits i posteriorment fermentats al còlon per mi-

croorganismes intestinals en àcids grassos de cadena curta amb propietats neuroactives.

Neurometabòlits microbians. S'ha comprovat que els bacteris generen neurotransmissors i neuromoduladors. Entre aquests compostos trobem: GABA, noradrenalina, serotonina, dopamina i acetilcolina.

Sucres de la paret cel·lular bacteriana. Els components de la paret cel·lular del microbioma estan preparats per induir les cèl·lules epitelials a alliberar molècules que al seu torn modulen la senyalització neuronal.

Permeabilitat epitelial. Com descriu la documentació¹⁴ la microbiota intestinal és essencial per prevenir la colonització dels bacteris nocius ja que hi competeix. Si aquesta microbiota es redueix, els organismes patògens poden colonitzar l'epiteli i produir toxines que, conjuntament amb la inflamació local, augmenten la permeabilitat intestinal. D'altra banda, diversos estudis mostren que algunes espècies de probiòtics com *Lactobacillus*, *Escherichia coli* i *Bifidobacterium* poden augmentar la producció de proteïnes transmembrana, millorar la producció de moc i reduir la permeabilitat intestinal.

Finalment, hem de remarcar que els mecanismes anteriors poden afectar el **desenvolupament** cerebral. De fet, s'ha demostrat que la microbiota intestinal està involucrada en el desenvolupament cerebral de mamífers i en el comportament adult posterior^{15,16}.

LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LES MALALTIES DEL SISTEMA NERVIÓS CENTRAL

Diverses malalties neurològiques han estat correlacionades amb canvis en el microbioma intestinal. Les relacions més rellevants estan en la literatura. Per una revisió detallada^{17,18}.

Malaltia de Parkinson. El Parkinson (PD) és el trastorn del moviment més comú. Sovint, les manifestacions motores són precedides de trastorns intestinals com restrenyiment. Com diu¹⁸, s'ha vist que la composició de la microbiota en les mostres de femta té reduïda l'abundància del diversos gèneres, entre altres *Prevotella*. A més, hi ha una correlació de positiva

entre els nivells d'Enterobacteriaceae i la gravetat de la inestabilitat postural. Últimament s'ha observat un augment de la ràtio de Firmicutes/Bacteroidetes en models animals¹⁹.

La malaltia d'Alzheimer és la causa més freqüent de demència. S'ha vist que els gèneres *Escherichia/Shigella* apareixen augmentats en mostres fecals de pacients d'Alzheimer. A més, *Prevotella* apareix disminuït alhora que s'observa una disminució de la relació de Firmicutes/Bacteroidetes i una disminució de *Bifidobacterium*²⁰. Un estudi recent²¹ ha comprovat la presència de material fúngic en les seccions cerebrals. Hem de remarcar que el pèptid $\alpha\beta$, associat a l'Alzheimer, té una activitat antimicrobiana potent, en particular contra *C. albicans*. Els resultats d'aquest treball abonen la hipòtesi que la malaltia d'Alzheimer pot ser causada per fongs, si bé encara cal molta recerca en aquest àmbit.

L'esclerosi múltiple és un trastorn neurodegeneratiu autoimmunitari caracteritzat per la pèrdua progressiva de la mielina que envolta els axons de les neurones. En aquest trastorn s'observen reduccions significatives de *Faecalibacterium*, *Prevotella* i *Araerostipes*. No obstant això, no està clar si aquestes alteracions en la microbiota intestinal són una causa o una conseqüència de la malaltia si bé estudis preclínic amb ratolins han demostrat que la microbiota intestinal influeix en la mielinització en el sistema nerviós central.

Trastorn de l'espectre autista. En models animals han trobat que aquest trastorn va associat a una disminució en la ràtio de Firmicutes/Bacteroidetes. Estudis clínics, descriuen un augment significatiu en la proporció de Firmicutes/Bacteroidetes per una reducció de l'abundància relativa Bacteroidetes²². A més, hi ha una reducció de *Prevotella* i altres fermentadors²³.

Si bé la investigació de la relació entre microbiota intestinal i malalties cerebrals encara és dispersa, de la revisió anterior creiem que podem extreure la informació següent. D'una banda, hi ha una reducció de *Prevotella* en molts d'aquests trastorns, al mateix temps que la ràtio de Firmicutes/Bacteroidetes apareix alterada.

PROBIÒTICS I SISTEMA NERVIÓS CENTRAL

Els **probiòtics** es defineixen com a micro-organismes vius que, quan s'administren en quantitats adequades, aporten un benefici de salut a l'hoste²⁴. Les espècies més comunes utilitzades com a probiòtics són espècies dels gèneres *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. També s'ha utilitzat el llevat *Saccharomyces boulardii* i algunes espècies d'altres gèneres com *Escherichia* i *Bacillus*. Altres, com *Clostridium butyricum*, s'han començat a usar últimament.

Els mecanismes d'acció dels probiòtics no són completament clars (vegeu per exemple^{25,26}). Entre els postulats hi ha una competició amb altres microorganismes pels llocs d'adhesió i pels nutrients, l'antagonisme directe o l'estimulació del sistema immunitari.

Com hem dit als apartats anteriors, diversos trastorns del sistema nerviós central s'han associat a canvis en el microbioma intestinal. Aquest fet ha donat lloc a un interès creixent per regular la microbiota intestinal per via dels probiòtics. Hi ha una evidència cada vegada més sòlida que certs probiòtics poden afectar la patogènesi dels trastorns del sistema nerviós central. Diversos probiòtics han estat investigats en models animals de trastorns neurològics. *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* són els gèneres principals que han mostrat efectes beneficiosos sobre les malalties neurològiques.

PREBIÒTICS I SISTEMA NERVIÓS CENTRAL

Un **prebiòtic** és un component alimentari no viable que afegeix un benefici sanitari a l'hoste associat a la modulació de la microbiota²⁷. Els prebiòtics comprenen certs oligosacàrids no digeribles, fibres fermentables solubles i els oligosacàrids de la llet humana.

S'ha comprovat que els polisacàrids poden millorar la funció cerebral²⁸. A més, els polisacàrids vegetals tenen una influència important en la microbiota intestinal. D'altra banda, els prebiòtics influeixen directament en les molècules de senyalització en el cervell²⁸.

També hem de remarcar que un dels avantatges dels prebiòtics ve donat pel fet que alguns tenen problemes de supervivència en el tracte gastrointestinal.

PROBIÒTICS I PREBIÒTICS EN L'ALIMENTACIÓ

La font habitual dels probiòtics en la dieta són els productes fermentats com ara el iogurt, el quefir o la xucrut, entre altres. Últimament, alguns grups han recomanat que siguin inclosos en les pautes dietètiques estatals²⁹. L'estudi de l'impacte d'aquests aliments en la microbiota encara està en la fase inicial, però els estudis preclínics disponibles mostren que aquests productes modifiquen la microbiota intestinal o bé en canvien la composició¹⁷. S'observa una disminució de la ràtio Firmicutes/Bacteroidetes associada al consum de quefir) o bé alterant les vies metabòliques^{30,31} del iogurt).

La principal font de prebiòtics dels aliments és la fibra dietètica. Si comparem la microbiota d'una dieta típica occidental amb la corresponent a una dieta amb abundància de vegetals³² veiem que la segona presenta clarament una proporció de Firmicutes/Bacteroidetes inferior i abundància de *Prevotella*.

CONCLUSIONS

1. Podem classificar el microbioma de l'intestí humà en tres enterotips caracteritzats per la variació en tres gèneres: *Bacteroides*, *Bacteroidetes* i *Prevotella*. L'enterotip *Prevotella* està relacionat amb dietes altes en fibra, mentre que l'enterotip *Bacteroides*

està vinculat a dietes altes en greix i baixes en fibra. A més, s'ha observat que la ràtio de Firmicutes/Bacteroidetes augmenta en cas d'obesitat.

2. Diverses malalties neurològiques es correlacionen amb els canvis en el microbioma intestinal. En particular, hi ha una reducció *Prevotella* en la malaltia d'Alzheimer, la malaltia de Parkinson i el transtorn d'espectre autista. D'altra banda, s'ha trobat que la ràtio Firmicutes/Bacteroidetes estava alterada en diversos trastorns cerebrals. A més, estudis recents vinculen la malaltia d'Alzheimer a una infecció per fongs.
3. Una de les eines per modificar la composició de la microbiota intestinal és l'ús de probiòtics i prebiòtics. Les espècies utilitzades més comunes són *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, fins i tot quan la biotecnologia moderna ha ampliat la gamma d'organismes amb beneficis potencials per a la salut. L'estudi de l'efecte dels probiòtics en la salut encara està al començament. La principal font de probiòtics en la dieta són alguns productes fermentats, mentre que la font principal de prebiòtics són alguns tipus de fibra.
4. Atesa la importància de la microbiota, considerem convenient prestar atenció a aquells factors que n'afecten el desenvolupament. D'altra banda, creiem que és important incloure els probiòtics en les pautes dietètiques nacionals i promoure el consum de fibra dietètica.

BIBLIOGRAFIA

1. Ivan Pavlov - Biographical [Internet]. [cited 2018 Apr 28]. Available from: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1904/pavlov-bio.html
2. Tillisch K, Labus JS. Neuroimaging the Microbiome-Gut-Brain Axis. In Springer, New York, NY; 2014 [cited 2018 Apr 3]. p. 405–16. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-0897-4_18
3. Mayer EA, Tillisch K, Gupta A. Gut/brain axis and the microbiota. J Clin Invest [Internet]. 2015 Mar 2 [cited 2018 Feb 14];125(3):926–38. Available from: <https://www.jci.org/articles/view/76304>
4. Dovrolis N, Kolios G, Spyrou GM, Maroulakou I. Computational profiling of the gut-brain axis: microflora dysbiosis insights to neurological disorders. Brief Bioinform [Internet]. 2017 Nov 27 [cited 2018 Apr 6]; Available from: <http://academic.oup.com/bib/advance-article/doi/10.1093/bib/bbx154/4665690>
5. Cox LM, Weiner HL. Microbiota Signaling Pathways that Influence Neurologic Disease. Neurotherapeutics [Internet]. 2018 Jan 16 [cited 2018 Feb 27];15(1):135–45. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13311-017-0598-8>
6. Podolsky SH. Metchnikoff and the microbiome. Lancet (London, England) [Internet]. 2012 Nov 24 [cited 2018 Feb 27];380(9856):1810–1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23189332>
7. Luczynski P, McVey Neufeld K-A, Oriach CS, Clarke G, Dinan TG, Cryan JF. Growing up in a Bubble: Using Germ-Free Animals to Assess the Influence of the Gut Microbiota on Brain and Behavior. Int J Neuropsychopharmacol [Internet]. 2016 [cited 2018 Mar 4];19(8). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26912607>
8. Enaud R, Vandenberght L-E, Coron N, Bazin T, Prevel R, Schaefferbeke T, et al. The Mycobioome: A Neglected Component in the Microbiota-Gut-Brain Axis. Microorganisms [Internet]. 2018 Mar 9 [cited 2018 Apr 30];6(1):22. Available from: <http://>

- www.mdpi.com/2076-2607/6/1/22
9. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis* [Internet]. 2015 [cited 2018 Apr 8];26:26050. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25651996>
 10. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nat May* [Internet]. 2011 [cited 2018 Apr 8];12(4737346):174–80. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3728647/pdf/emss-52942.pdf>
 11. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* [Internet]. 2011 Oct 7 [cited 2018 Apr 30];334(6052):105–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21885731>
 12. Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, Dominguez-Bello MG. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol Med* [Internet]. 2015 Feb [cited 2018 Apr 8];21(2):109–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25578246>
 13. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2012 Oct 12 [cited 2018 Apr 6];13(10):701–12. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrn3346>
 14. Yarandi SS, Peterson DA, Treisman GJ, Moran TH, Pasricha PJ. Modulatory Effects of Gut Microbiota on the Central Nervous System: How Gut Could Play a Role in Neuropsychiatric Health and Diseases. *J Neurogastroenterol Motil* [Internet]. 2016 Apr 30 [cited 2018 Apr 8];22(2):201–12. Available from: <http://www.jnmjournal.org/journal/view.html?doi=10.5056/jnm15146>
 15. Heijtz RD, Wang S, Anuar F, Qian Y, Bjorkholm B, Samuelsson A, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2011 Feb 15 [cited 2018 Apr 14];108(7):3047–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21282636>
 16. Goyal MS, Venkatesh S, Milbrandt J, Gordon JI, Raichle ME. Feeding the brain and nurturing the mind: Linking nutrition and the gut microbiota to brain development. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2015 Nov 17 [cited 2018 Apr 14];112(46):14105–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26578751>
 17. Kim N, Yun M, Oh YJ, Choi H-J. Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. *J Microbiol* [Internet]. 2018 Mar 28 [cited 2018 Apr 7];56(3):172–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29492874>
 18. Sherwin E, Dinan TG, Cryan JF. Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2017 Aug 2 [cited 2018 Apr 15]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28768369>
 19. Geula C, Naito Y, Pellegrini C, Kraneveld AD, Xiao Q, Yang X, et al. Longitudinal Analysis of Fecal Microbiome and Pathologic Processes in a Rotenone Induced Mice Model of Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2018 [cited 2018 May 5];9(9):4413389–441. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5766661/pdf/fnagi-09-00441.pdf>
 20. Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, Harding SJ, Merluzzi AP, Johnson SC, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 19 [cited 2018 Feb 27];7(1):13537. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-13601-y>
 21. Pisa D, Alonso R, Rábano A, Rodal I, Carrasco L. Different Brain Regions are Infected with Fungi in Alzheimer's Disease. *Sci Rep* [Internet]. 2015 Dec 15 [cited 2018 Apr 30];5(1):15015. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep15015>
 22. Strati F, Cavalieri D, Albanese D, De Felice C, Donati C, Hayek J, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. [cited 2018 May 3]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5320696/pdf/40168_2017_Article_242.pdf
 23. Kang D-W, Park JG, Ilhan ZE, Wallstrom G, LaBaer J, Adams JB, et al. Reduced Incidence of Prevotella and Other Fermenters in Intestinal Microflora of Autistic Children. Gilbert JA, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013 Jul 3 [cited 2018 Apr 30];8(7):e68322. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0068322>
 24. Probiotics in food Health and nutritional properties and guidelines for evaluation FAO FOOD AND NUTRITION PAPER. [cited 2018 Apr 29]; Available from: <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>
 25. Butel M. Probiotics, gut microbiota and health. 2014 [cited 2018 May 4]; Available from: https://ac-els-cdn-com.sire.ub.edu/S0399077X13003077/1-s2.0-S0399077X13003077-main.pdf?_tid=aeadc567-95b0-47fc-a221-6ed1c54af528&acdnat=1525457793_826d1f8d8b90aad3253c43b4d0b6a4c
 26. Khalighi A, Behdani R, Kouhestani S. Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition. In: *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health* [Internet]. InTech; 2016 [cited 2018 Apr 20]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/probiotics-and-prebiotics-in-human-nutrition-and-health/probiotics-a-comprehensive-review-of-their-classification-mode-of-action-and-role-in-human-nutrition>
 27. Hutkins RW, Krumbeck JA, Bindels LB, Cani PD, Fahey G, Goh YJ, et al. Prebiotics: why definitions matter. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2016 Feb [cited 2018 Apr 30];37:1–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26431716>
 28. Liu X, Cao S, Zhang X. Modulation of Gut Microbiota–Brain Axis by Probiotics, Prebiotics, and Diet. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2015 Sep 16 [cited 2018 Feb 15];63(36):7885–95. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.5b02404>
 29. Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2017 Apr [cited 2018 May 2];44:94–102. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27998788>
 30. Lisko DJ, Johnston GP, Johnston CG. Effects of Dietary Yogurt on the Healthy Human Gastrointestinal (GI) Microbiome. *Microorganisms* [Internet]. 2017 Feb 15 [cited 2018 May 1];5(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28212267>
 31. McNulty NP, Yatsunenko T, Hsiao A, Faith JJ, Muegge BD, Goodman AL, et al. The impact of a consortium of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins. *Sci Transl Med* [Internet]. 2011 Oct 26 [cited 2018 May 1];3(106):106ra106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22030749>
 32. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poulet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2010 Aug 17 [cited 2018 May 3];107(33):14691–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20679230>

Publica el teu treball a **CIRCULAR**

FARMACÈUTICA

la publicació científica del Col·legi

NORMES DE PUBLICACIÓ

- El treball ha de ser inèdit. Només per raons d'interès especial la revista accepta articles publicats anteriorment.
- Fer constar si ha estat exposat parcialment o totalment en un congrés, un simposi o una reunió científica. El consell de redacció decidirà la inserció o no. Cal que consti el nom i la data de celebració de l'acte.
- Després d'aparèixer l'article a la CF, l'autor no el pot publicar en altres circulars, revistes o obres de qualsevol tipus sense comptar amb l'autorització prèvia i per escrit del COFB.
- La propietat intel·lectual derivada del treball està subjecta al compliment de les disposicions legals vigents aplicables a la matèria.
- L'autor ha de garantir la veracitat de la informació proporcionada i que el treball no significa una vulneració del dret de confidencialitat ni de cap dret de tercers, especialment del dret de propietat industrial o intel·lectual, amb indemnitat total per al Col·legi.
- Els treballs han d'estar escrits en català.
- Via de presentació: correu electrònic a **circular@cofb.net**.
- El text ha de ser a doble espai, a una cara, amb una extensió màxima de 10 folis, lletra de mida 12 cpi.
- En fulls diferenciats, els autors han de fer-hi constar les dades següents:

Pàgina primera

- Títol del treball
- Nom i cognoms de cada un dels autors amb els crèdits acadèmics o professionals que vulguin que apareguin.
- Dades de contacte com telèfon, e-mail, amb el nom i localització de l'autor a qui passar les gal·lerades per revisar.

Pàgines de text

- Numerades correlativament
- Taules, figures, imatges i fotografies. Les taules i les figures han d'anar al final del text de l'article, numerades, amb un peu de pàgina explicatiu i un format uniforme.
- Per a una millor comprensió de l'article, la revista accepta imatges i fotografies.
- En cas d'utilització de taules, figures, imatges o fotografies alienes, l'autor ha de respectar els drets de propietat intel·lectual dels autors corresponents i exonerar de forma expressa el Col·legi de Farmacèutics de la

Província de Barcelona de qualsevol reclamació o responsabilitat que pugui derivar-se'n.

Bibliografia

- La bibliografia ha d'anar al final de l'article i ha d'aparèixer en l'ordre de cita del treball i numerada d'acord amb les normes del Comitè Internacional d'Editors de Revistes Biomèdiques (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html), és a dir:
 - **Article estàndard.** Autor o autors. Títol de l'article. Nom de la revista abreujat. Any. Volum (número): pàgina inicial/ pàgina final, exemple: Medrano MJ, Cerrato E, Boix R. Factores de riesgo cardiovascular en la población española: metanálisis de estudios transversales. Med Clin (Barc). 2005; 124(16): 606-12.
 - **Capítol de llibre.** Autor o autors: director/coordinador/editor del llibre. Títol del llibre. Edició. Lloc de publicació. Editorial. Any, pàgina inicial i final. Exemple: Mehta SJ. Dolor abdominal. A Friedman HH, coordinador. Manual de Diagnóstico Médico. 5a ed. Barcelona: Masson; 2004. p.183-90.
 - **Article d'Internet.** Autor o autors. Títol de l'article. Nom de la revista [revista a Internet] any [data de consulta]; volum (número): [extensió/pàgines]. Adreça electrònica. Exemple: Francés I, Barandiarán M. Estimulación psicocognoscitiva en las demencias. An Sist Sanit Navar [consultable a Internet] 2003 setembre-desembre. [accés 20 d'octubre de 2006]. Disponible a: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/tex-tos/vol26/n3/revis2a.html>
 - **Part d'una pàgina o web.** Títol de la pàgina [seu del web]. Lloc de publicació. Editor. Data de publicació [data actualització/revisió; data d'accés]. Títol de la secció [nombre de pàgines o de pantalles]. Adreça electrònica. Exemple: American Medical Association [seu Web], Chicago: The association; c1995-2002 [actualitzat 19 de desembre de 2005]. AMA Office of Group Practice Liaison; [aprox 2 pantalles]. Disponible a: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

El termini de presentació acaba l'últim dia del primer mes de cada quadrimestre

- Els treballs tramesos als autors per revisar les gal·lerades han de ser retornats en el termini d'una setmana.
- El consell de redacció es reserva el dret de no acceptar els treballs que no consideri adequats o de proposar modificacions quan ho consideri oportú.

Títol de l'article _____

Nom i cognoms _____

Data _____

Signatura de l'autor de la publicació

en senyal de conformitat amb aquestes normes

CIRCULAR



Premi millor treball de grau 2018

Biosíntesi d'esterols conjugats en plantes

M. Riba, Secció de Fisiologia, Departament de Bioquímica i Fisiologia, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona

INTRODUCCIÓ

Els esterols són components essencials de les membranes de les cèl·lules eucariotes que tenen un paper clau en la regulació de l'estructura i la funció d'aquestes¹. A diferència d'altres organismes (mamífers i fongs), que només tenen un esteroi majoritari (colesterol i ergosterol), les plantes en presenten mesclades molt complexes. Els esterols predominants en les espècies vegetals són el campesterol, el β -sitosterol i l'estigmasterol (fig. 1) i en algunes espècies de solanàcies com el tomàquet, també el colesterol²⁻⁴.

En les plantes en conjunt, s'han descrit més de 250 esterols diferents entre intermediaris metabòlics i productes finals. Aquests esterols vegetals, també anomenats fitosterols, estan tant a les membranes

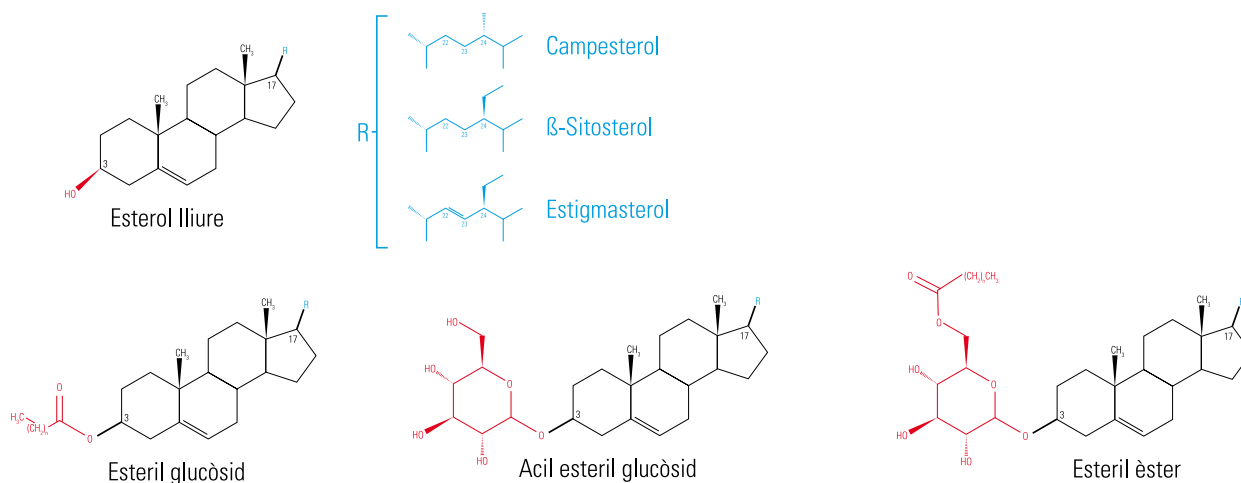
Els esterols són components essencials de les membranes de les cèl·lules eucariotes que tenen un paper clau en la regulació de l'estructura i la funció d'aquestes ”

cel·lulars per modular-ne la fluïdesa i la permeabilitat com en el citosol en forma de cossos lipídics, unes estructures d'emmagatzematge que participen en l'homeòstasi dels esterols de membrana³⁻⁶. S'ha descrit, a més a més, que els esterols també intervenen en la resposta de les plantes a l'estrès⁷.

Els esterols es presenten en forma lliure i en forma conjugada, com a esteril glucòsids, acil esteril glucòsids i esteril èsters (fig. 1). Els esterols conjugats s'obtenen dels esterols lliures mitjançant diferents reaccions catalitzades

enzimàticament³. Aquest treball se centra en l'estudi dels enzims que intervenen en la síntesi dels esteril èsters: les esterol acil transferases. Segons el substrat que serveix com a donador del grup acil, un acil-CoA o un fosfolípid, aquestes es classifiquen en

Fig. 1. Estructura dels esterols vegetals més comuns: campesterol, β -sitosterol i estigmasterol. Aquests es poden trobar en forma lliure i en forma conjugada com a esteril glucòsids, acil esteril glucòsids i esteril èsters³.



acil-CoA: esterol acil transferases (ASAT) i fosfolípid: esterol acil transferases (PSAT)^{3,8,9}.

Actualment, només les ASAT i les PSAT de l'*Arabidopsis thaliana* i del tomàquet (*Solanum lycopersicum*) han estat clonades i caracteritzades^{4,8,9}. Les seqüències de l'ASAT del tomàquet (SIASAT) i l'ASAT de l'*Arabidopsis* (AtASAT) comparteixen una identitat de seqüència del 49%, però difereixen en longitud a causa del domini central de 101 aminoàcids de l'SIASAT,

A diferència d'altres organismes, que només tenen un esterol majoritari (colesterol i ergosterol), les plantes en presenten mesclades molt complexes.

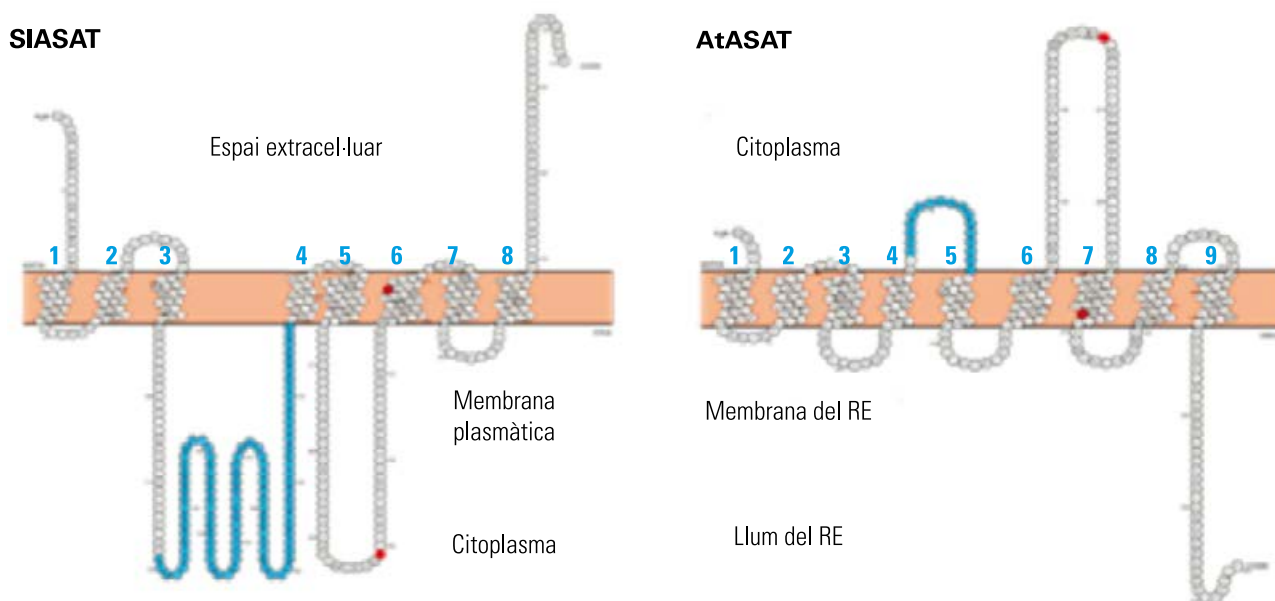
”

el qual consta només de 18 aminoàcids en la regió equivalent de l'AtASAT. A més a més, estudis de localització subcel·lular han demostrat que l'enzim de

tomàquet està localitzat en la membrana plasmàtica, mentre que el d'*Arabidopsis* està en la membrana del reticle endoplasmàtic (RE) de les cèl·lules vegetals (fig. 2)⁴.

En aquest estudi, s'ha dissenyat i aplicat una estratègia d'extensió per la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) solapant¹⁰ per obtenir una seqüència de cDNA quimèrica que codifica una proteïna ASAT híbrida, en la qual el domini central d'SIASAT ha estat reemplaçat pel domini equivalent d'AtASAT, com a un primer pas per a l'estudi de la funció biològica d'aquest domini proteic. D'acord amb la posició relativa d'aquests dominis en la proteïna quimèrica (SIASAT-AtASAT-SIASAT, tomàquet-*Arabidopsis*-tomàquet), aquesta l'hem anomenat TAT-ASAT. Paral·lelament, vam idear i aplicar una estratègia basada en l'ús dels polimorfismes de longitud dels fragments de restricció per identificar mutants PSAT *knock-out* de tomàquet de tipus homozigot generats mitjançant la tècnica CRISPR-Cas9¹¹.

Fig. 2. Models de la topologia d'inserció de les proteïnes SIASAT i AtASAT a la membrana generats utilitzant l'eina informàtica Protter (<http://wlab.ethz.ch/protter/start/>). Les seqüències de transmembrana estan numerades en blau. En vermell hi ha representats els residus d'Asn i His importants per al procés de catàlisi de les ASAT. El domini central de 101 aminoàcids comprès entre les posicions 118 i 218 de l'SIASAT i el domini equivalent de 18 aminoàcids comprès entre les posicions 104 i 121 de representats en blau⁴.



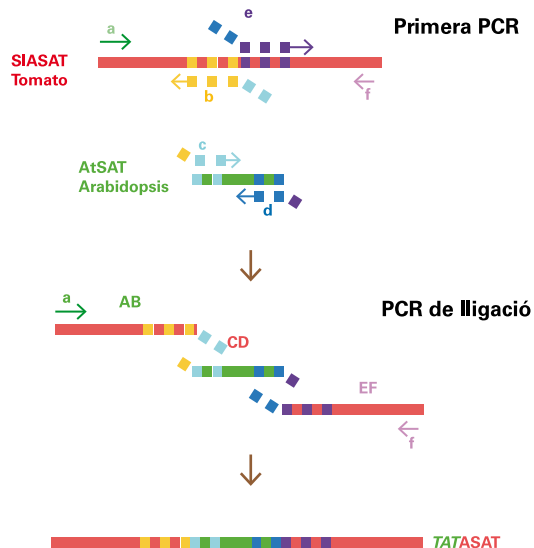
RESULTATS

Obtenció d'una seqüència de cDNA que codifica la proteïna quimèrica TAT-ASAT per PCR solapant

Per obtenir la seqüència de cDNA de la proteïna quimèrica TAT-ASAT, es va amplificar per PCR els tres fragments de cDNA provinents d'SIASAT i AtASAT. Aquests fragments es van anomenar: fragment AB, que codifica el domini N-terminal d'SIASAT de 96 aminoàcids, fragment CD, que codifica el domini central d'AtASAT de 18 aminoàcids, i fragment EF que codifica el domini C-terminal d'SIASAT de 226 aminoàcids. D'acord amb aquesta tècnica, els encebadors utilitzats per amplificar els tres fragments presentaven cues complementàries a la seqüència del fragment contigu i d'aquesta manera facilitaven l'amplificació posterior conjunta dels tres fragments amplificats (AB, CD i EF) que dona lloc a la seqüència única que codifica la proteïna quimèrica TAT-ASAT

“ Els esterols predominants en les espècies vegetals són el campesterol, el β -sitosterol i l'estigmasterol i en algunes espècies de solanàcies com el tomàquet, també el colesterol

Fig. 3. Esquema del mètode d'extensió per PCR solapant per obtenir la seqüència de cDNA de la proteïna quimèrica TAT-ASAT. Les seqüències SIASAT i AtASAT estan representades en color vermell i verd, respectivament. Els encebadors a i f emprats en la PCR es representen amb fletxes i els encebadors b-e es representen amb quadrats de diferents colors. Els quadrats del mateix color dins els encebadors i les seqüències indiquen que les seqüències són complementàries. Els tres productes de PCR (fragments AB, CD i EF) s'obtenen mitjançant una primera PCR utilitzant les corresponents parelles d'encebadors (a-b, c-d i e-f). La seqüència codificant per la proteïna TAT-ASAT s'obté en la segona PCR en la mescla dels tres fragments solapants s'amplifica mitjançant els encebadors a i f, per generar el producte final.



(fig. 3). Un cop amplificat, aquest fragment va ser clonat mitjançant la tecnologia Gateway en un plasmidi d'entrada, pDONR 207 i seguidament, el vam transferir a un plasmidi d'expressió binari, pEarley Gate 103. En aquest vector, la seqüència que codifica TAT-ASAT va quedar fusionada en fase a 5' de la seqüència que codifica la proteïna fluorescent verda GFP, de tal manera que la proteïna final resultant va ser una fusió quimèrica TAT-ASAT-GFP. Per confirmar la integritat de la seqüència obtinguda que codifica la proteïna quimèrica TAT-ASAT, es va realitzar una PCR mitjançant la DNA polimerasa Green Taq i els encebadors a i f de la qual el fragment resultant esperat era de 1184 parells de bases (pb) (fig.4). L'absència de mutacions generades du-

rant les amplificacions per PCR i el manteniment del marc de lectura obert de la seqüència de cDNA de TAT-ASAT fusionada a aquella que codifica GFP, es van validar per seqüenciació. Un cop confirmat aquest punt, el vector d'expressió portador de la seqüència que codifica TAT-ASAT-GFP va ser introduït en la soca apropiada d'*Agrobacterium tumefaciens* amb la qual vam fer l'operació d'agroinfiltrar fulles de *Nicotiana benthamiana* per fer els estudis de localització subcel·lular.

Polimorfisme de longitud dels fragments de restricció

Es disposava d'una primera generació de plantes de tomàquet portadores d'una deleció de quatre nucleòtids en el gen que codifica la única PSAT d'aquesta planta, obtingudes mitjançant la tècnica CRISPR-Cas9. Aquesta mutació va comportar un canvi en el marc de lectura de la seqüència codificant del

Fig. 4. Electroforesi en gel d'agarosa que mostra el fragment de 1184 pb amplificat per PCR mitjançant els encebadors a i f a partir del plasmidi pEarly Gate 103 recombinant portador de la seqüència que codifica TAT-ASAT-GFP. La fletxa vermella indica la posició del fragment de 1000 pb de la barreja de fragments de mida coneguda emprada com a referència.

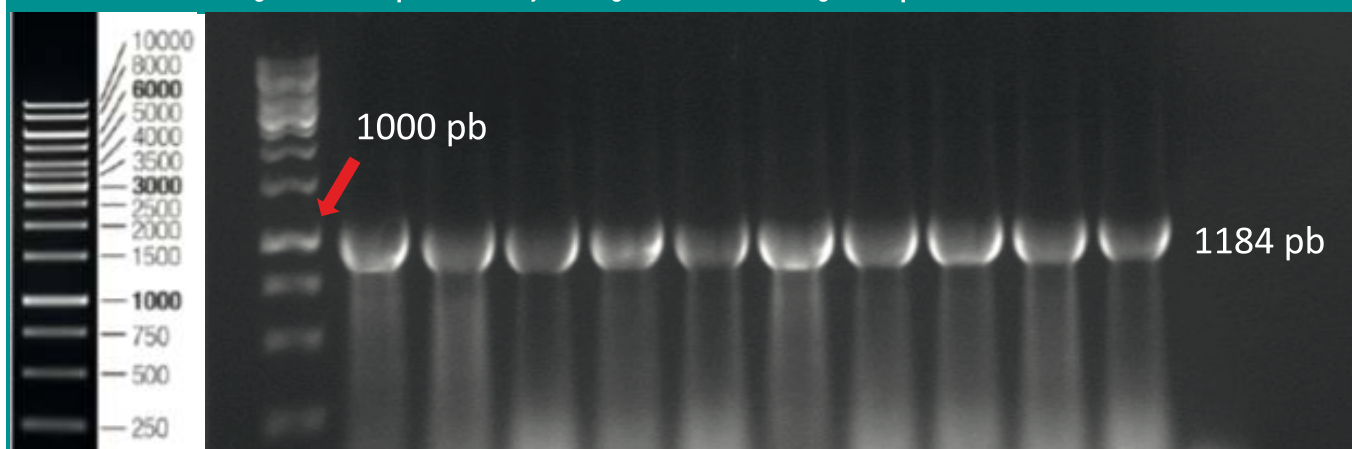


Fig. 5. Alineament de les seqüències del gen *SIPSAT* *wild-type* i mutant portadora de la deleció de 4 nucleòtids generada en intentar reparar el tall generat pel sistema CRISPR-Cas9. La punta de fletxa indica la posició del punt de tall. La deleció de 4 nucleòtids s'indica amb guions i la nova diana de restricció està subratllada en blau. Es mostra també, en la diana de restricció de l'enzim de restricció *XhoI*, el punt de tall amb puntes de fletxa.



gen que donava lloc a una proteïna PSAT inactiva. Per comprovar si aquesta deleció es mantenia en les generacions següents, es va dissenyar una estratègia de polimorfisme de longitud dels fragments de restricció. Aquesta tècnica està basada en la generació d'una nova diana de restricció (*XhoI*) originada per la deleció de 4 nucleòtids en la seqüència codificant del gen codificant per la proteïna PSAT de tomàquet (*SIPSAT*) obtinguda per la tècnica de CRISPR-Cas9 (fig. 5). D'aquesta manera, els casos en què la digestió del fragment de la seqüència del gen *SIPSAT* de 296 parells de bases (pb) que inclou la mutació amb l'enzim de restricció *XhoI* genera dos fragments de DNA de 118 i 174 pb es confirma la presència de la diana de restricció i, per tant, la presència de la mutació. En canvi, si el gen *SIPSAT* no presenta la

mutació i per tant la nova diana de restricció no hi és, el fragment de PCR es manté intacte.

Així, doncs, els fragments genòmics del gen *SIPSAT* amplificats per PCR a partir d'una planta *wild-type*, d'una planta heterozigota per la mutació i de dues plantes (1 i 2) de la generació següent van ser digerits mitjançant l'enzim de restricció *XhoI*. En el cas de la seqüència de *SIPSAT* *wild-type*, l'anàlisi del gel d'agarosa mostra una única banda corresponent a la seqüència íntegra del fragment de 296 pb. En canvi, en el cas de la planta heterozigota, s'observa la banda intensa corresponent al fragment no digerit del gen *SIPSAT* i dues bandes menys intenses, corresponents als dos fragments resultants de la digestió amb *XhoI* de 174 i 118 pb. En el cas de les plantes de la generació filial, ambdues presenten un patró de tres

Fig. 6. Electroforesi en gel d'agarosa on es mostren els resultats de digerir amb *Xho*I el fragment de 296 pb del gen *SIPSAT* amplificat a partir de DNA genòmic de dos plantes (1 i 2) de la generació filial, una planta heterozigota i una planta *wild-type*. Els punts vermells al carril de la dreta indiquen la posició dels fragments de 100, 200 i 300 pb de la barreja de fragments de mida coneguda emprada com a referència.



bandes com a resultat de la digestió de la seqüència de *SIPSAT*. Cal destacar però, la intensitat d'aquestes bandes. D'una banda, la planta 1 presenta un patró de tres bandes similar a la planta heterozigota, és a dir, una banda intensa corresponent al fragment sencer i dues bandes de menor intensitat corresponents als fragments resultants de la digestió i per tant, corrobora l'heterozigosi d'aquest individu. D'altra banda, en la planta 2, la intensitat de la banda que correspon al fragment complet és poc intensa mentre que la intensitat de les dues bandes derivades de la digestió amb *Xho*I presenten una intensitat superior que indica l'homozigosi de la mutació (fig. 6).

CONCLUSIONS

D'una banda, s'ha utilitzat el mètode d'extensió per PCR solapant per sintetitzar una seqüència de

cDNA que codifica per la proteïna quimèrica TAT-ASAT, consistent en el domini N-terminal d'SIASAT, seguit del domini central d'AtASAT i el domini C-terminal d'SIASAT. A més a més, la seqüència que codifica TAT-ASAT s'ha clonat fusionant-la a l'extrem 5' de la seqüència codificant per GFP, la qual cosa permetrà fer estudis futurs per determinar la implicació del domini central de la proteïna en la localització subcel·lular i l'activitat enzimàtica ASAT.

D'altra banda, l'anàlisi d'un polimorfisme de longitud del fragment de restricció observat en digerir amb l'enzim de restricció *Xho*I un fragment genòmic del gen *SIPSAT* amplificat per PCR és un mètode ràpid i eficient per discriminar entre mutants PSAT *knock-out* homozigots obtinguts per CRISPR-Cas9, individus heterozigots i *wild-type*.

BIBLIOGRAFIA

- Schaller H. New aspects of sterol biosynthesis in growth and development of higher plants. *Plant Physiol Biochem.* 2004; 42: 465–476.
- Moreau RA, Whitaker BD, Hicks KB. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: Structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res.* 2002; 41: 457–500.
- Ferrer A, Altabella T, Arró M, Boronat A. Emerging roles for conjugated sterols in plants. *Prog Lipid Res.* 2017; 67: 27–37.
- Lara JA, Burciaga-Monge A, Chávez A, Revés M, Lavilla R, Arró M, Boronat A, Altabella T, Ferrer A. Identification and Characterization of Sterol Acyltransferases Responsible for Steryl Ester Biosynthesis in Tomato. *Front Plant Sci.* 2018; 9: 588.
- Hartmann MA. Plant sterols and the membrane environment. *Trends Plant Sci.* 1998; 3: 170–175.
- Bouvier-Nave P, Berna A, Noiriell A, Compagnon V, Carlsson AS, Banas A, Szymne S, Schaller H. Involvement of the Phospholipid Sterol Acyltransferase1 in Plant Sterol Homeostasis and Leaf Senescence. *Plant Physiol.* 2010; 152: 107–119.
- Ramirez-Estrada K, Castillo N, Lara JA, Arró M, Boronat A, Ferrer A, Altabella T. Tomato UDP-Glucose Sterol Glycosyltransferases: A Family of Developmental and Stress Regulated Genes that Encode Cytosolic and Membrane-Associated Forms of the Enzyme. *Front Plant Sci.* 2017; 8: 984.
- Banas' A, Carlsson AS, Huang B, Lenman M, Banas' W, Lee M, Noiriell A, Benveniste P, Schaller H, Bouvier-Nave P, Szymne S. Cellular sterol ester synthesis in plants is performed by an enzyme (phospholipid: Sterol acyltransferase) different from the yeast and mammalian acyl-CoA: Sterol acyltransferases. *J Biol Chem.* 2005; 280: 34626–34634.
- Chen Q, Steinhauer L, Hammerlindl J, Keller W, Zou J. Biosynthesis of Phytosterol Esters: Identification of a Sterol O-Acyltransferase in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 2007; 145: 974–984.
- Lee J, Lee HJ, Shin MK, Ryu WS. Versatile PCR-mediated insertion or deletion mutagenesis. *Biotechniques.* 2004; 36: 398–400.
- Sander JD, Joung JK. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nature Biotechnology.* 2014; 32: 347–355.

Participa!

Convocatòria del **premi** al **millor article publicat** a la **CIRCULAR FARMACÈUTICA** durant el 2020

Els treballs publicats a l'edició de la revista **Circular Farmacèutica** del 2020, d'autors col·legiats al COF de Barcelona podran optar al premi, que convoca **anualment** el Col·legi, sempre que compleixi els requisits previstos a les bases del concurs.

En cas que l'autor de l'article publicat desitgi participar en el concurs, pot sol·licitar-ho expressament emplenat i seguint les instruccions del següent **formulari**.



Premi millor treball de grau 2018

El Montelukast com a intervenció farmacològica per protegir el cervell de la neurotoxicitat causada per la radioteràpia

A. Rodríguez, farmacèutica, estudiant de màster en Biotecnologia Molecular, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona.

Abans dels 20 anys, el càncer és una malaltia rara¹, però de tots el tumors pediàtrics els primaris del sistema nerviós central (SNC) són el segon càncer més comú en la infància i constitueixen el 20% dels casos i el tercer més comú en l'adolescència a Europa².

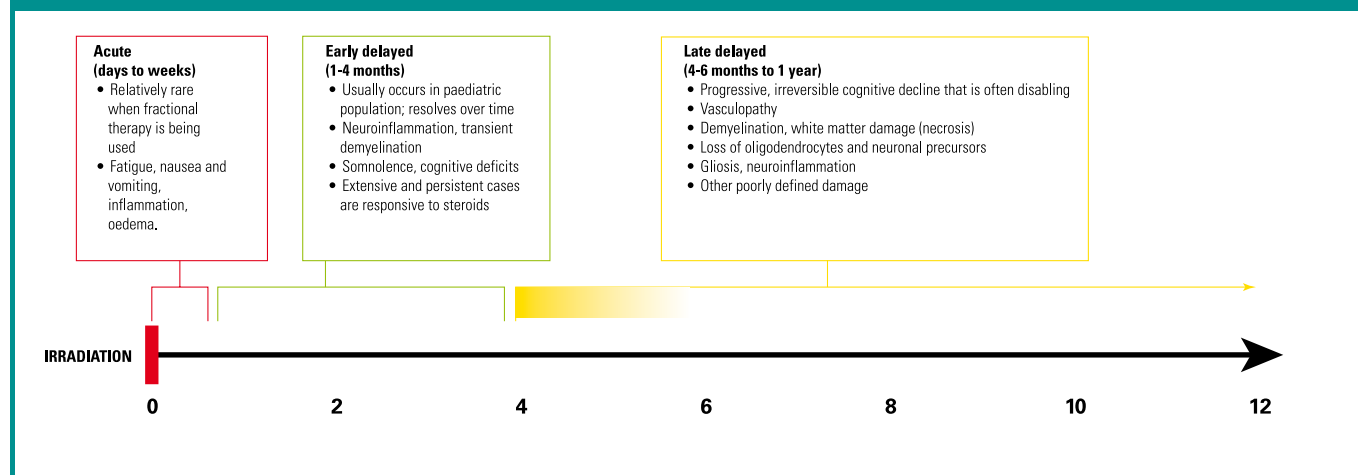
La radioteràpia (RT) és una de les eines més efectives per tractar tumors malignes localitzats en l'SNC³ i s'aplica tant a adults com a infants que tenen tumors primaris o metastàtics^{4,5}. No obstant això, el tractament pediàtric és responsable d'efectes retardats greus com descompensacions hormonals, creixement endarrerit i declivi cognitiu entre d'altres (figura 1)⁶. Als supervivents, aquestes se-

qüeles els afecten tota la vida i no només a nivell psicològic i de salut, sinó també social⁷. Alleujar aquests efectes podria tenir un gran impacte en la qualitat de vida del nombre creixent de nens que sobreviuen a la malaltia.

Les malalties neurodegeneratives com els tumors a l'SNC, incrementen el nivell de leucotriens (LT) en el cervell. Nivells elevats de 5-lipooxigenasa i LT generen espècies reactives d'oxigen que causen dany post-inflamatori en aquest òrgan, amb resultat d'una expressió encara més elevada de mediadors inflamatoris com el factor de necrosi tumoral alfa i la interleucina beta que produeixen i inhibeixen la proliferació de cèl·lules

“ El montelukast és un medicament antiasmàtic comercialitzat, de caràcter antiinflamatori, que bloqueja l'acció del mediador LTD₄, situat a l'SNC, promou vasoconstricció, incrementa la permeabilitat vascular i provoca una interrupció en la barrera hematoencefàlica (BHE) i l'edema cerebral

Figura 1. Síntomes induïts a l'SNC per la RT. Les manifestacions a l'SNC després de RT terapèutica segueixen aquesta línia temporal generalment acceptada⁸.



mare i la neurogènesi⁹.

El montelukast (MTK) és un medicament antiastmàtic comercialitzat, de caràcter antiinflamatori, que bloqueja l'acció del mediador LTD₄, situat a l'SNC, promou vasoconstricció, incrementa la permeabilitat vascular i provoca una interrupció en la barrera hematoencefàlica (BHE) i l'edema cerebral¹⁰. A conseqüència de l'increment d'LT en el cervell mencionat i per la publicació d'un estudi elaborat per Marschallinger et al. que demostra que l'MTK redueix la neuroinflamació, restaura la integritat de la BHE i incrementa la neurogènesi¹¹, vam establir com a objectiu analitzar si aquest fàrmac protegia el cervell del desenvolupament de la neurotoxicitat induïda per RT.

Fins fa uns anys només hi havia descrita una distribució mínima d'aquest fàrmac a través de la BHE per part de la "Food and Drug Administration", però aquest mateix estudi de Marschallinger et al. detecta MTK en sèrum i líquid cefaloraquídi en un subjecte humà que pren una dosi de 10 mg dia⁻¹ ¹¹.

OBJECTIU

Per investigar els efectes de l'MTK vam decidir fer-ho mitjançant un recompte per microscòpia dels oligodendròcits (OL) que sobreviuen en el cos callós (CC) i la proliferació de cèl·lules que hi havia en la zona subgranular (SGZ) del gir dentat de l'hipocamp després de la RT.

L'estudi està enfocat cap aquests aspectes perquè els OL i les beines de mielina que formen pertanyen als components més vulnerables de l'SNC i són particularment vulnerables al dany oxidatiu. Després de l'RT es produeix una resposta inflamatòria i hi ha una generació d'espècies reactives d'oxigen que afecten especialment la matèria blanca. Aquesta combinació d'estrès oxidatiu i citocines inflamatòries explica la reducció de cèl·lules post-RT en el CC. El gir dentat, que és on hi ha l'SGZ també es veu afectat per l'RT. Particularment queden afectades les cèl·lules proliferants que hi ha i això porta a una capacitat més limitada de regeneració. La pèrdua de proliferació neuronal i de

Figura 2. Esquema del disseny experimental. Els animals van ser irradiats el dia P21. Els ratolins van ser injectats tots els dies de l'experiment bé amb MTK o NaCl i es van sacrificar 12 dies després de la RT

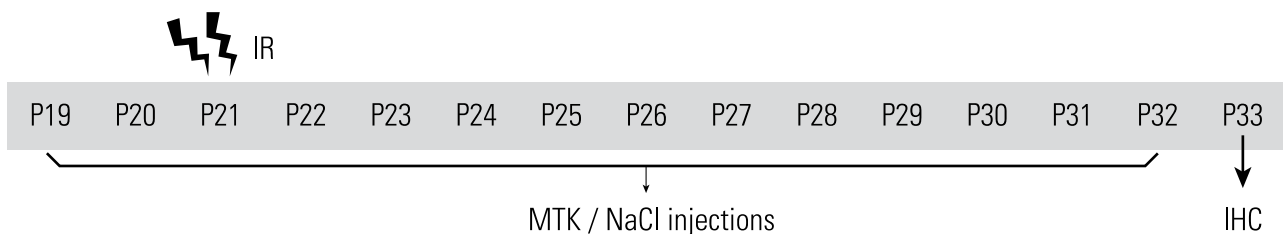
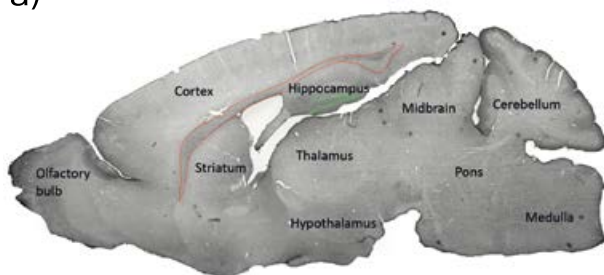
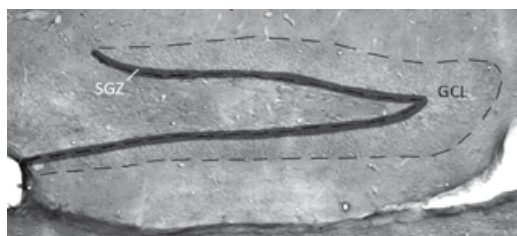


Figura 3. (a) Representació d'un tall sagital d'un cervell de ratolí escollit per fer el recompte (imatge en 1.25x augment). El CC està delineat en vermell i el gir dentat en verd. (b) Imatge del gir dentat d'un ratolí que mostra la capa granular (GCL) delineada amb línies discontinües i la zona subgranular (SGZ) pintada de negre (imatge presa a 5x).

a)



b)



progenitors cel·lulars va a parar a un creixement deteriorat i un volum més petit de la GCL comparat amb cervells no irradiats.

MATERIAL I MÈTODES

Dos grups de ratolins femella (N = 4-9) van rebre una doble dosi de 4 Gy a tot el cervell separada 12 h en el dia postnatal 21 (P21) i van ser sacrificats 12 dies més tard. Un grup rebia el fàrmac MTK i l'altre només la solució vehicle (10% etanol en 0,9% de solució salina) i el mateix per a dos grups control que no van ser irradiats.

El MTK es va administrar diàriament per via intra-peritoneal (ip) a una dosi de 10 mg kg⁻¹ pes corporal⁻¹, durant 14 dies, començant dos dies abans de l'RT (figura 2). Els animals van ser tractats amb una dosi que farmacològicament s'assembla a l'aprovada per a ús humà i que és suficient per aconseguir un efecte tera-

pèutic en el líquid cefaloraquídi¹¹. El grups control van rebre injeccions ip de la solució vehicle els mateixos dies.

Per a la immunohistoquímica vam utilitzar els marcadors següents: factor de transcripció 2 dels oligodendròcits (Olig-2) i Ki-67. Olig-2 és un dels marcadors més consistents de la línia dels OL, s'expressa en tots els estadis i té un paper important en l'especificació de les cèl·lules progenitores dels OL en la majoria de l'SNC (12). Ki-67 és excel·lent per determinar la fracció de creixement d'una determinada població perquè la seva expressió està estrictament lligada a la proliferació cel·lular⁴.

Per a la quantificació de cèl·lules Olig2⁺ en el CC vam fer anàlisis cegues en portaobjectes codificats. Les cèl·lules Olig2⁺ van ser comptades a través del CC en totes les seccions que contenen un hipocamp

Figura 4. (a) Tinció Olig2 en el CC d'un ratolí (les fletxes negres assenyalen cèl·lules Olig2⁺ representatives) (imatge feta a 20x). (b) Nombre de cèl·lules Olig2⁺ en el CC. Les dades es mostren com a la mitjana ± S.E.M. (N = 4-9 ratolins/grup). L'Anova de dues vies està indicada en el gràfic: **P < 0.01 per IR.

a)



b)

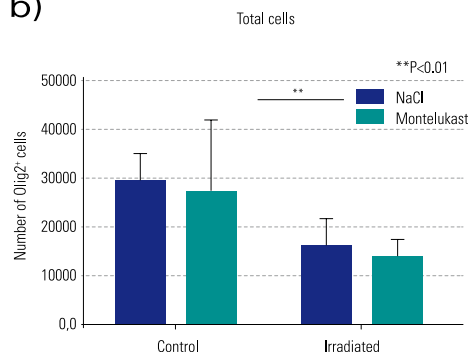
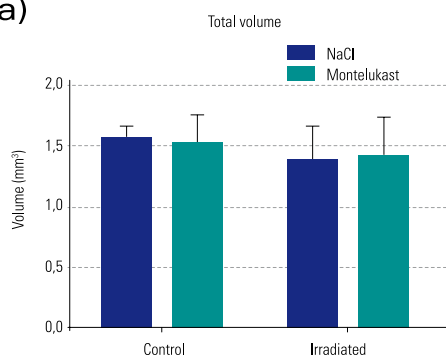
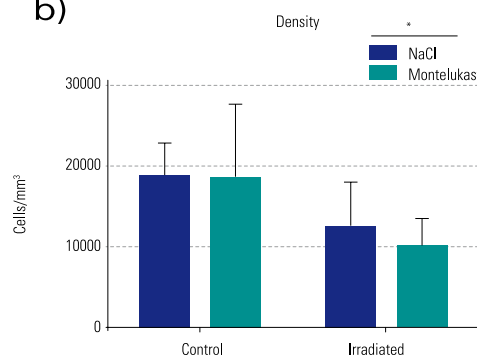


Figura 5. (a) Mostra el volum total (mm³) del CC. (b) Mostra la quantificació de Olig2⁺ cèl·lules/mm³ en el CC. Totes les dades es mostren com a mitjana ± S.E.M. (N = 4-9 ratolins/grup). Els resultats de l'Anova de dues vies estan indicats en els gràfics: *P < 0.05 per IR.

a)



b)



dorsal i ventral clarament separat (veure Figura 3a per una imatge representativa). Les cèl·lules Ki-67⁺ només es van comptar en la SGZ de l'hipocamp (figura 3b). Vam analitzar les dades següents: àrea (mm²), volum (mm³), cèl·lules Olig2⁺ totals, cèl·lules Ki-67⁺ totals i densitat (cèl·lules/mm³).

Tots els resultats es mostren com a mitjana ± error estàndard de la mitjana (SEM), amb $P < 0.05$ considerada estadísticament significativa.

RESULTATS

Supervivència de cèl·lules en el CC en el cervell de ratolins joves després d'RT. La comparació estadística per l'Anova de dues vies mostra canvis significatius en el recompte de cèl·lules Olig2⁺ després de l'RT en què els animals no irradiats mostren un nombre superior d'OL comparats amb els animals irradiats ($F_{1,21} = 10.44$, $P = 0.004$, Figura 4b).

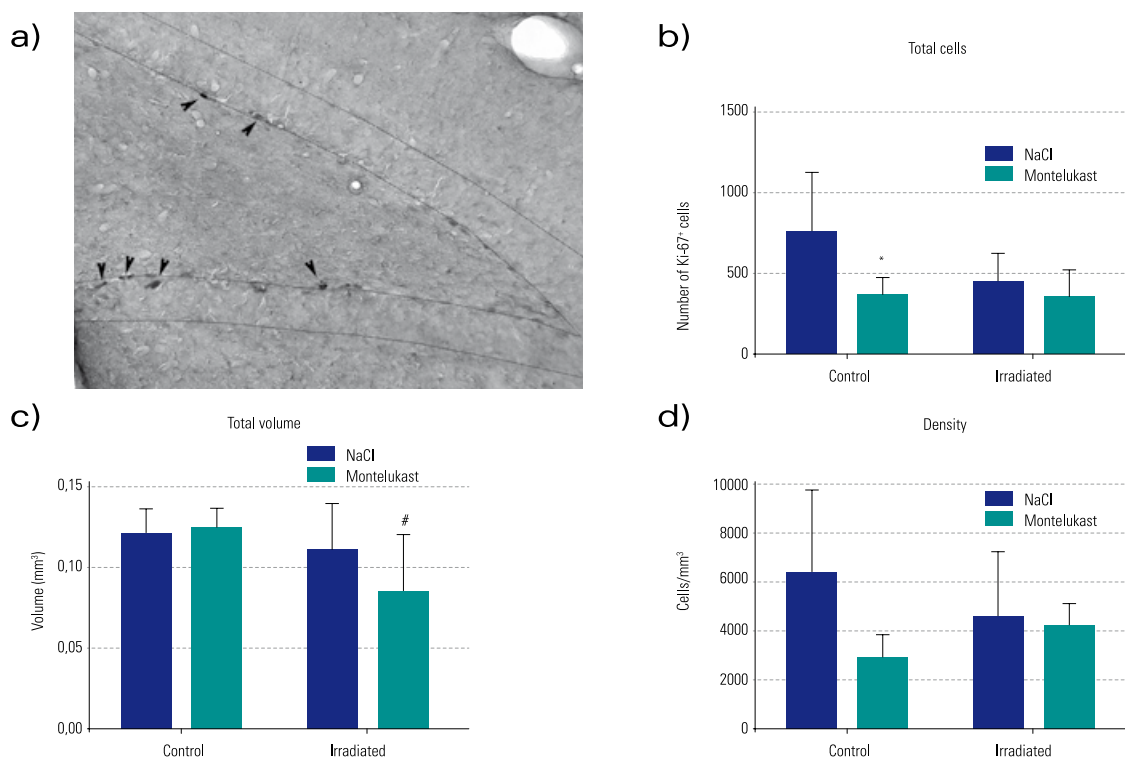
Volum del CC després de l'RT. El CC va ser traçat

en tots els ratolins. L'Anova de dues vies no mostra diferències en el volum entre grups ($F_{1,21} = 1.669$, $P = 0.2105$ per IR; $F_{1,21} = 0.0001086$, $P = 0.9918$ per al tractament amb MTK; comparacions estadístiques per Anova de dues vies seguida per test post-hoc Tukey; figura 5a).

Densitat del CC després de l'RT. L'anàlisi de les dades mostra una diferència significativa ($F_{1,21} = 7.226$, $P = 0.0138$, figura 5b) en la qual els animals irradiats tenen un nombre menor d'Olig2⁺ cèl·lules/mm³ que els animals control. El test post-hoc Tukey no presenta cap diferència significativa entre grups i demostra que l'MTK no ofereix cap benefici sobre el NaCl.

Proliferació de cèl·lules en la GCL després de l'RT. L'anàlisi de les cèl·lules totals mostra una diferència significativa ($F_{1,22} = 5.434$, $P = 0.0293$, figura 6b) entre NaCl i MTK. El test post-hoc Tukey revela una diferència significativa entre MTK control i NaCl control.

Figura 6. (a) Tinció Ki-67 en el gir dentat d'un ratolí (les fletxes negres assenyalen cèl·lules Ki-67⁺ representatives) (imatge feta en 10x augments). (b) Nombre de cèl·lules Ki-67⁺ en la GCL. (c) Mostra el volum total (mm³) de la GCL. (d) Mostra una quantificació de Ki-67⁺ cèl·lules/mm³ en la GCL. L'Anova de dues vies mostra un efecte significatiu de la variable tractament amb MTK en el nombre de cèl·lules Ki-67⁺ ($F_{1,22} = 5.434$, $P = 0.0293$) i una diferència significativa per la IR en el volum total ($F_{1,22} = 7.621$, $P = 0.0114$). Les dades es mostren com a mitjana ± S.E.M. (N = 4-9 ratolins/grup). Els resultats del test post-hoc Tukey estan indicats en els gràfics: * $P < 0.05$ MTK control vs. NaCl control; # $P < 0.05$ IR MTK vs. MTK control



Volum de la GCL després de l'RT. Després de mesurar el volum de la GCL, l'Anova de dues vies demostra una diferència significativa en el grup irradiat ($F_{1,21} = 7.621$, $P = 0.0114$, figura 6c). L'anàlisi post-hoc reporta una diferència significativa entre els ratolins MTK control i els irradiats.

Densitat de la GCL després de l'RT. La densitat de cèl·lules Ki-67⁺ en la GCL segueix el mateix patró que el nombre total de cèl·lules, si bé les diferències no arriben a un nivell significatiu ($F_{1,22} = 0.06932$, $P = 0.7948$ per tractament amb MTK; $F_{1,22} = 3.654$, $P = 0.0690$ per IR; comparació estadística per Anova de dues vies seguida pel test post-hoc Tukey; figura 6d).

DISCUSSIÓ

Tenint en compte el mecanisme d'acció de l'MTK, l'efecte antiinflamatori que té, en principi podria protegir de la mort cel·lular d'OL, per tant, era esperable trobar un nombre més elevat d'Olig2⁺ en els animals irradiats tractats amb MTK que només havien rebut vehicle. No obstant això, sorprenentment, hi ha menys cèl·lules en els ratolins irradiats tractats amb MTK que en els ratolins tractats amb NaCl tant en el CC com en la GCL. Aparentment, el tractament no funciona per prevenir la mort cel·lular i, encara més, l'MTK té un

efecte inhibitori sobre la proliferació cel·lular. En conjunt, aquestes troballes indiquen que l'MTK a dosis de 10 mg kg⁻¹ té un efecte tòxic en certes cèl·lules del cervell de ratolins joves. Una altra explicació podria ser que els leucotriens són importants per al cervell en desenvolupament i d'aquí l'afectació en la proliferació si són inhibits.

Cal tenir en compte també que en aquest projecte el MTK s'administrà per via ip, però que és un agent actiu oral i l'evidència que demostra que travessa la BHE, en aquesta dosi es basa en l'administració oral. Per conseqüent, seria aconsellable avaluar l'efecte del MTK després de l'administració oral.

CONCLUSIONS

Aquest treball arriba a la conclusió que el MTK no protegeix el cervell de neurotoxicitat induïda per RT.

Com a punts específics podem destacar que l'MTK no protegeix contra la pèrdua d'OL en el CC després de l'RT i tampoc la proliferació de cèl·lules en la GCL sinó que sembla tenir un efecte minvant en el nombre d'aquestes cèl·lules independentment de l'RT.

Finalment, seria necessari fer més experiments utilitzant una dosi de medicament més baixa que no tingui efectes tòxics per als ratolins.

BIBLIOGRAFIA

1. Steliarova-Foucher E, Stiller C, Kaatsch P, Berrino F, Coebergh JW, Lacour B, et al. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCISproject): an epidemiological study. *Lancet*. 2004;364(9451):2097-105.
2. Papatoma P, Thomopoulos TP, Karalexi MA, Ryzhov A, Zborovskaya A, Dimitrova N, et al. Childhood central nervous system tumours: Incidence and time trends in 13 Southern and Eastern European cancer registries. *Eur J Cancer*. 2015;51(11):1444-55.
3. Tofilon PJ, Fike JR. The radioresponse of the central nervous system: a dynamic process. *Radiat Res*. 2000;153(4):357-70.
4. Prise KM. New advances in radiation biology. *Occup Med (Lond)*. 2006;56(3):156-61.
5. Guadagnolo BA, Liao KP, Elting L, Giordano S, Buchholz TA, Shih YC. Use of radiation therapy in the last 30 days of life among a large population-based cohort of elderly patients in the United States. *J Clin Oncol*. 2013;31(1):80-7.
6. Kalm M, Abel E, Wasling P, Nyman J, Hietala MA, Bremell D, et al. Neurochemical evidence of potential neurotoxicity after prophylactic cranial irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2014;89(3):607-14.
7. Dilley JK, Lockart B. The Pediatric Brain Tumor Late Effects Clinic. In: Goldman S, Turner CD, editors. *Late Effects of Treatment for Brain Tumors*. Cancer Treatment and Research. NY, USA: Springer; 2009.
8. Makale MT, McDonald CR, Hattangadi-Gluth JA, Kesari S. Mechanisms of radiotherapy-associated cognitive disability in patients with brain tumours. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(1):52-64.
9. Huber C, Marschallinger J, Tempfer H, Furtner T, Couillard-Despres S, Bauer HC, et al. Inhibition of leukotriene receptors boosts neural progenitor proliferation. *Cell Physiol Biochem*. 2011;28(5):793-804.
10. Sharma JN, Mohammed LA. The role of leukotrienes in the pathophysiology of inflammatory disorders: is there a case for revisiting leukotrienes as therapeutic targets? *Inflammopharmacology*. 2006;14(1-2):10-6.
11. Marschallinger J, Schaffner I, Klein B, Gelfert R, Rivera FJ, Illes S, et al. Structural and functional rejuvenation of the aged brain by an approved anti-asthmatic drug. *Nat Commun*. 2015;6:8466.
12. Mitew S, Hay CM, Peckham H, Xiao J, Koenning M, Emery B. Mechanisms regulating the development of oligodendrocytes and central nervous system myelin. *Neuroscience*. 2014;276:29-47.

Premi millor treball de grau 2018

Comprimits d'alliberació modificada de metoprolol succinat de 95mg

I. Bordas

El metoprolol succinat, el tartrat i les diferències en posologia i indicacions

El metoprolol és una molècula classificada com a β -blocador. Aquesta família de fàrmacs són antagonistes dels receptors β repartits per diferents teixits i òrgans del cos i que classifiquem en diferents generacions segons la selectivitat que presenten a cada subtipus de receptor β . En la primera generació hi

Com passa en el cas del metoprolol, diferents sals d'una mateixa molècula poden tenir indicacions i posologies diferents. El metoprolol succinat està formulat per ser alliberat progressivament durant el dia, ja que la posologia és d'un comprimit al dia

trobem fàrmacs com el timolol o el propranolol (primera molècula d'aquesta família amb ús terapèutic), en la segona, fàrmacs com l'atenolol o el metoprolol i en la tercera, molècules com el nebivolol o el carvedilol.¹

Quan aquestes molècules s'uneixen als receptors β fan que altres molècules amb afi-

nitat per aquests receptors no s'hi puguin unir en la mateixa mesura. Algunes d'aquestes molècules són les catecolamines i per aquest motiu en presència de β -blocadors al cos queda minvat l'efecte adrenèrgic derivat de la unió de les catecolamines amb els receptors β . Això implica una disminució de signes

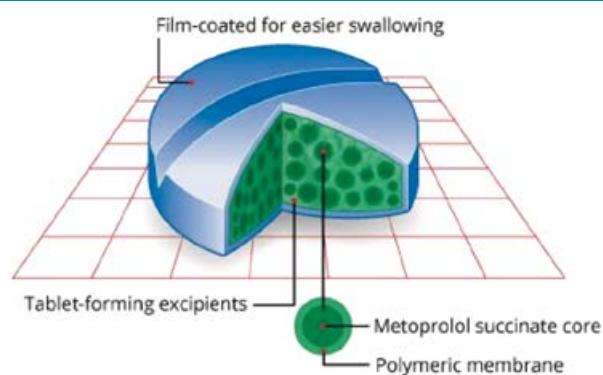
clínic entre els quals observem sobretot una reducció del ritme cardíac, de la pressió arterial i l'aparició d'arítmies. Aquest efecte es pot aprofitar per obtenir un ús terapèutic; pel que fa al metoprolol succinat, està indicat en casos d'angina de pit, hipertensió arterial i fallada cardíaca. D'altra banda, el metoprolol tartrat (una sal diferent del metoprolol) està indicat per combatre la hipertensió arterial, l'angina de pit i per prevenir atacs de cor.²

Com passa en el cas del metoprolol, diferents sals d'una mateixa molècula poden tenir indicacions i posologies diferents. El metoprolol succinat comercialitzat per AEMPS està formulat per ser alliberat progressivament durant el dia, ja que la posologia és d'un comprimit al dia (en cas del metoprolol tartrat és de dos comprimits cada dia, perquè no són comprimits d'alliberació modificada).³

Comprimits en pellets i tecnologia de l'alliberació prolongada

Els comprimits de metoprolol succinat els formen un nucli i un recobriment amb pel·lícula per facilitar la deglució i emascarar les característiques

Figura 1. Representació de la forma farmacèutica del metoprolol succinat. Comprimit format per nucli de pellets i recobert de pel·lícula.⁴



organolèptiques del nucli del comprimit. Alhora, aquest, està format per pellets de metoprolol que envolten una membrana polimèrica.³⁻⁵ La coberta la componen hidroxipropilmetilcel·lulosa (agent de recoberta), diòxid de titani (usat com a pigment blanc), talc (lubricant) i propilenglicol (com a humectant).³

Els excipients que formen el nucli són els següents: sílice col·loïdal anhidra (usat com a adsorbent i desintegrant del comprimit), cel·lulosa microcristal·lina (principalment utilitzada com a diluent), hipromelosa (per mantenir una bona compressió i de característiques polimèriques), lauril sulfat sòdic (tensioactiu i lubricant), polisorbat 80 (millora la humectació del nucli del comprimit i promou la desintegració), glicerol (conservant i edulcorant), hidroxipropilcel·lulosa (component que permet una alliberació modificada millor), etilcel·lulosa (formador de matriu) i estearil fumarat sòdic (lubricant).⁶

Al final hi ha una representació de la forma farmacèutica del metoprolol succinat. Veure figura 1.

Els β -blocadors com a contaminants emergents

Els últims anys ha augmentat el coneixement i la consciència dels contaminants emergents, potencialment són un grup de substàncies que podrien tenir impacte mediambiental i sobre les quals en aquest moment no hi ha cap regulació legal però podria haver-n'hi en un futur.^{6,7} Entre aquests contaminants hi ha β -blocadors com el metoprolol, considerat nociu per a la vida aquàtica i amb efectes de llarga durada. Els fàrmacs arriben a ser contaminants perquè la mateixa molècula o algun dels metabòlits corresponents són excretats per l'orina i arriben a aigües residuals o bé perquè part de la població no fa una bona gestió dels medicaments caducats.⁸

Per contrarestar l'impacte ecològic de la producció industrial de medicaments, en el treball de final de grau proposàvem un canvi en el condicionament primari (canvi de blísters Alu/PVC a Alu/Alu) i una reducció de la mida del condicionament secundari del 23%.⁹

“ Els fàrmacs arriben a ser contaminants perquè la mateixa molècula o algun dels metabòlits corresponents són excretats per l'orina i arriben a aigües residuals o bé perquè part de la població no fa una bona gestió dels medicaments caducats. ”

BIBLIOGRAFIA

1. Richard E. Klabunde. CV Pharmacology | Beta-Adrenoceptor Antagonists (Beta-Blockers) [Internet]. 2005. Disponible a: <http://www.cvpharmacology.com/cardioinhibitory/beta-blockers>
2. University of Illinois-Chicago - Drug Information Group. Metoprolol Tartrate vs. Metoprolol Succinate [Internet]. 2016. Disponible a: <https://www.healthline.com/health/heart-disease/metoprolol-tartrate-vs-metoprolol-succinate#modal-close>
3. AEMPS. Ficha técnica Metoprolol Krka Retard 95mg Compromidos de liberación prolongada EFG [Internet]. 2015. p. 1–13. Disponible a: <https://www.aemps.gob.es/cima/publico/detalle.html>
4. Aralez Pharmaceuticals. TOPROL-XL [Internet]. 2018. Disponible a: <https://www.toprol-xl.com/home.html>
5. FDA. Metoprolol succinate Extended-release Tablets. Disponible a: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/019962s036lbl.pdf
6. Basu A, De A, Dey S. Techniques of Tablet Coating: Concepts and Advancements: A Comprehensive Review. Res Rev J of Pharmacy Pharm Sci [Internet]. 1970 Jan ;2(4):1–6. Disponible a: <http://www.rroij.com/open-access/techniques-of-tablet-coating-concepts-and-advancements-a-comprehensive-review.php?aid=34923>
7. Jaseem M, Kumar P, John RM, Jaseem CM. An overview of waste management in pharmaceutical industry. Pharma Innov J TPI [Internet]. 2017;6(63):158–61. Disponible a: www.thepharmajournal.com
8. Mastroianni N, Alda ML De, Barceló D. Emerging organic contaminants in aquatic environments: state-of-the-art and recent scientific contributions. Vol. 6. 2010.
9. Bordas I. Metoprolol succinate 95mg extended-release tablets. Universitat de Barcelona; 2018.

Web de salut