



## DATOS DEL PROYECTO

Referencia: MAT2016-79832-R

Título del proyecto: Desarrollo de nuevos biomateriales de fibroína de seda para regeneración cerebral.

Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia e Innovación. Agencia Estatal de Investigación.

Duración del proyecto: del 30/12/2016 al 29/12/2019.

Total concedido (costes directos): 175.000€

### Abstract:

Las enfermedades cerebrovasculares constituyen una de las principales causas de muerte y discapacidad a largo plazo en el adulto. En la actualidad no existen terapias eficaces para reparar las regiones cerebrales dañadas tras una lesión. Una de las estrategias más prometedoras en neurorestauración se basa en la terapia celular con células madre y progenitores de origen mesenquimal (MSC). Las características neurotróficas e inmunomoduladoras de las MSC contribuyen a sus efectos terapéuticos. A pesar de que la viabilidad, seguridad y tolerancia del trasplante de MSC se están examinando en ensayos preclínicos y clínicos con resultados aceptables, el trasplante de MSC en modelos de daño cerebral es bastante ineficaz y la respuesta funcional escasa. La falta de eficacia está relacionada con un problema de retención y supervivencia de las MSC en la zona del injerto.

En este proyecto hipotetizamos que la inyección intracerebral de MSC encapsuladas en un hidrogel de formación in situ fabricado a partir de fibroína de la seda biofuncionalizada (BSF) podría favorecer significativamente la retención y supervivencia a largo-plazo de las MSC transplantadas, incrementando la recuperación funcional tras el daño cerebral. En este contexto resulta necesario obtener información sobre la biocompatibilidad de los hidrogeles de BSF para encapsular las MSC preservando sus funciones neurotróficas así como examinar la seguridad y tolerancia de este biomaterial implantado en el tejido cerebral. Los objetivos de esta propuesta son: i) Obtener y caracterizar una BSF conjugada con péptidos bioactivos para desarrollar un sistema inyectable basado en una estructura de hidrogel; ii) Estudiar in vitro la interacción y la función de las MSC encapsuladas en los hidrogeles de BSF así como evaluar in vivo las biorespuestas y la función cerebral de animales implantados intracerebralmente con este biomaterial. La proyección clínica de esta estrategia está avalada por el hecho de que la fibroína de la seda se ha utilizado durante años en una gran variedad de aplicaciones biomédicas. El objetivo general de este proyecto es identificar y explotar un nuevo enfoque basado en el uso de biohíbridos de BSF para promover la reparación y la recuperación funcional, teniendo repercusión en el desarrollo de estrategias experimentales para reparación del daño y la degeneración cerebral.

Personal Activo en el proyecto:

- 1) Gustavo Victor Guinea Tortuero (Investigador Principal).
- 2) Francisco Javier Rojo Pérez
- 3) Rafael Daza
- 4) Daniel González Nieto
- 5) Milagros Ramos Gómez

Equipo de trabajo.

- 1) Laura Fernández García
- 2) Soledad Martínez Montero
- 3) Luis Colchero Paetz
- 4) Paloma Lozano Picazo
- 5) Daniel Corregidor Ortiz
- 6) Nahla Jemni Damer

Resumen del proyecto para difusión pública.

Las enfermedades cerebrovasculares (ictus) constituyen una de las principales causas de muerte y discapacidad a largo plazo en el adulto, y en la actualidad no existen terapias eficaces para reparar las regiones cerebrales dañadas tras una lesión.

El proyecto ha abordado una de las estrategias más prometedoras en neurorestauración, basada en la terapia celular con células madre y progenitores de origen mesenquimal (MSC), desarrollando un nuevo biomaterial basado en fibroína de seda que permite mantener las buenas características neurotróficas e inmunomoduladoras de las MSC, su viabilidad, seguridad y tolerancia, resolviendo a la vez el problema de retención y supervivencia de las MSC en la zona del injerto.

Para ello se ha desarrollado un nuevo método de inyección intracerebral de MSC encapsuladas en un hidrogel de formación in situ fabricado a partir de fibroína de seda biofuncionalizada. El nuevo gel de fibroína de seda es capaz de gelificar retardadamente de forma controlada, lo que permite la inyección intracraneal de las células y moléculas terapéuticas en estado líquido para luego gelificar in-situ y encapsular y preservar sus funciones neurotróficas, antiinflamatorias y reparadoras.

Se ha evaluado positivamente la seguridad y tolerancia de este biomaterial implantado en el tejido cerebral. También se ha examinado in vivo la biorespuesta y mejoría funcional de animales con daño cerebral implantados con el biomaterial combinado con MSC. Respecto a la inyección celular tradicional, la incorporación del biomaterial incrementó la supervivencia y retención celular de las MSC, reduciendo el daño cerebral y reorganizando el mapa sensorial y motor, un hallazgo que se relacionó con una mejora significativa de las habilidades sensorimotoras tras la isquemia cerebral.

La proyección clínica de los resultados del proyecto tendrá una fuerte repercusión en el desarrollo de nuevas estrategias experimentales para reparación del daño y la degeneración cerebral.

## **INDICADORES DE PRODUCTIVIDAD**

### **Resumen:**

- 9 publicaciones en revistas científicas
- 1 trabajo fin de grado
- 1 trabajo fin de master.
- 9 publicaciones en open -Access

- 2 patentes
- 1 asistencia a congreso.
- 3 tesis doctorales relacionadas con el proyecto.

### Publicaciones en revistas indexadas directamente relacionadas con los resultados del proyecto

- 1) Jorge Nieto-Márquez Calvo, Manuel Elices, **Gustavo V. Guinea**, José Pérez-Rigueiro, María Arroyo- Hernández, Stability and Activity Of Lactate-Dehydrogenase On Biofunctional Layers deposited By Activated Vapor Silanization (AVS) and Immersion silanization (IS), Applied Surface Science, 416, 965-970, doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.04.123, 2017, JCR2017, IF: 4.439, Q1,T1 (1/19) Materials Science, Coatings & Films
- 2) **Rafael Daza**; Luis Colchero, Daniel Corregidor, Manuel Elices, **Gustavo V. Guinea**, **Francisco Javier Rojo**, José Pérez-Rigueiro, Functionalization of atomic force microscopy cantilevers and tips by activated vapour silanization, Applied Surface Science, 484,1141–1148, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.04.155>, JCR2017, IF: 4.439, Q1,T1 (1/19) Materials Science, Coatings & Films.
- 3) Gustavo R Plaza, Gustavo Esteban-Manzanares; Blanca González-Bermúdez; Julia Cruces; Mónica De la Fuente; Qingxuan Li; **Gustavo V. Guinea**; José Pérez-Rigueiro; Manuel Elices, Improved measurement of elastic properties of cells by micropipette aspiration and its application to lymphocytes, Annals of Biomedical Engineering, 45(5),1375-1385, 2017, doi: 10.1007/s10439-017-1795-7, JCR2016, IF: 3.221, Q1,T1 (18/77) Engineering, Biomedical.
- 4) Blanca González-Bermúdez, Qingxuan Li, **Gustavo V. Guinea**, Miguel A. Peñalva, and Gustavo R. Plaza, Probing the effect of tip pressure on fungal growth: Application to Aspergillus nidulans, Phys. Rev. E, Aug; 96(2-1): 022402, doi: 10.1103/PhysRevE.96.022402, 2017, JCR2016, IF: 2.366, Q1,T1 (6/55) Physics, Mathematical
- 5) **Rafael Daza**, Blanca González-Bermúdez, Julia Cruces, Mónica De la Fuente, Gustavo R. Plaza, María Arroyo-Hernández, Manuel Elices, José Pérez-Rigueiro, **Gustavo V. Guinea**, Comparison of cell mechanical measurements provided by Atomic Force Microscopy (AFM) and Micropipette Aspiration (MPA), Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 95, 103-115, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.03.031>, JCR2017, IF: 3,239, Q1,T1 (18/78) Engineering, Biomedical.
- 6) Rodrigo Madurga, **Gustavo V. Guinea**, Manuel Elices, José Pérez-Rigueiro and Alfonso M. Gañán-Calvo, Straining flow spinning: Simplified model of a bioinspired process to mass produce regenerated silk fibers controllably, European Polymer Journal, Volume 97, December 2017, Pages 26-39, doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.09.037, 2017, JCR2016, IF: 3.531, Q1,T1 (13/86) Polymer Science.
- 7) Rodrigo Madurga, Alfonso M. Gañán-Calvo, Gustavo R. Plaza, José Miguel Atienza, **Gustavo V. Guinea**, Manuel Elices, Patricia A. López, **Rafael Daza**, Daniel González-Nieto, José Pérez-Rigueiro, Comparison of the effects of post-spinning drawing and wet stretching on regenerated silk fibers produced through straining flow spinning, Polymer, 150, 311-317, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2018.07.042>, 2018, JCR2016, IF: 3.684, Q1,T1 (11/86) Polymer Science.
- 8) F. Guisbert, P. Lozano, J. Pérez-Rigueiro, **G. V. Guinea** , M. Monleón, C. Martínez-Ramos, Conduits based on the combination of hyaluronic acid and silk fibroin: Characterization, in vitro studies and in vivo biocompatibility, International Journal of Biological Macromolecules, 148, pp. 378–390, 2020 JCR2018, IF: 4.784, Q1 (52/298) Biochemistry and Molecular Biology.
- 9) Blanca González-Bermúdez, Gustavo R. Plaza, **Gustavo V. Guinea**, Advances in Micropipette Aspiration: Applications in Cell Biomechanics, Models, and Extended Studies, Biophysical Journal, 116, 587–594, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.01.004>, 2019, JCR2017, IF: 3.495, Q1,T1 (18/72) Biophysics

### Trabajos de fin de Grado:

1. Characterization of gelling times of silk fibroin hydrogels, Rey Abad, Susana, Julio 2017, Grado de Ingeniería. Biomédica, Universidad San Pablo-CEU.
2. - Preparation of silk fibroin hydrogels for controlled drug delivery, Vidal Quilez, AnaMaría, Julio 2018, Grado en Ingeniería de Materiales, Universidad Politécnica de Madrid.

3. - Estudio de la repetibilidad de hidrogeles de fibroína; tiempos de gelificación y propiedades, Lopez López, Marta, Julio 2018, Grado en Ingeniería de Materiales, Universidad Politécnica de Madrid.
4. - Biodegradación enzimática in vitro de geles de fibroína, Cobian González, Lucia, Julio 2018, Grado en Ingeniería de Materiales, Universidad Politécnica de Madrid

#### Trabajos de Fin de máster:

- 1) - Obtención y caracterización de hidrogeles de fibroína para su aplicación como biomateriales, Bruno Augusto, Julio 2017, Máster en Ingeniería de Materiales, Universidad Politécnica de Madrid.
- 2) - Estudio de la encapsulación de células madre mesenquimales en hidrogeles de fibroína generados mediante sonicación para futuras aplicaciones clínicas, Mas Thiebaut, Macarena, Julio 2017, Máster en Medicina regenerativa y Terapia Celular, Universidad San Pablo-CEU.
- 3) - Idrogeli di fibroina; ottenimento e degradazione termica ed enzimatica, Pieri, Gaia Giulia, Julio 2017, Corso di Studio in Ingegneria Biomedica, Politécnico de Milano.
- 4) - Encapsulación de células madre mesenquimales en hidrogeles de fibroína para la reparación del SNC, Miguel Hernández Sánchez-Rebato, Universidad de Alcalá, UCM, UAM, Julio 2017

#### Publicaciones en “open access” directamente relacionadas con los resultados del proyecto.

- 1) Parsa Rezvanian, **Rafael Daza**, Patricia A. López, **Milagros Ramos**, **Daniel González-Nieto**, Manuel Elices, **Gustavo V. Guinea**, José Pérez-Rigueiro, Enhanced Biological Response of AVS-Functionalized Ti-6Al-4V Alloy through Covalent Immobilization of Collagen, Scientific Reports, 8:3337 DOI:10.1038/s41598-018-21685- 3, 2018, JCR2016, IF: 4.259, Q1,T1 (10/64) Multidisciplinary.
- 2) **González-Nieto**, Laura Fernández-García, José Pérez-Rigueiro, **Gustavo V. Guinea**, Fivos Panetsos, Hydrogels-Assisted Cell Engraftment for Repairing the Stroke-Damaged Brain: Chimera or Reality, Polymers10, 184, doi:10.3390/polym10020184, 2018, JCR2016, IF: 3.364, Q1,T1 (16/86) Polymer Science
- 3) Laura Fernández-García, José Pérez-Rigueiro, Ricardo Martínez-Murillo, Fivos Panetsos, **Milagros Ramos**, **Gustavo V. Guinea**, **Daniel Gonzalez Nieto**, Cortical reshaping and functional recovery induced by silk fibroin hydrogels-encapsulated stem cells implanted in stroke animals, Frontiers in Cellular Neuroscience; 12, 296, Sep 2018, 29, doi: 10.3389/fncel.2018.00296, 2018, JCR2016, IF: 4.555, Q1, T1 (55/259) Neurosciences.
- 4) Yolanda Martín-Martín, Laura García, Miguel H. Sánchez-Rebato, Núria Mari-Buyé, **Francisco J. Rojo**, José Perez-Rigueiro, **Milagros Ramos**, **Gustavo Guinea**, Fivos Panetsos, and **Daniel Gonzalez-Nieto**, Evaluation of neurosecretome from mesenchymal stem cells encapsulated in silk fibroin hydrogels, Scientific Reports, (2019) 9:8801 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45238-4>, JCR2017, IF: 4.122, Q1,T1 (12/64), Multidisciplinary.
- 5) Rodrigo Madurga, Alfonso M. Gañán-Calvo, Gustavo R. Plaza, **Gustavo V. Guinea**, Manuel Elices and José Pérez-Rigueiro, Straining flow spinning: production of regenerated silk fibers under a wide range of mild coagulating chemistries, Green Chemistry, 19, 3380, DOI: 10.1039 / c7gc01254c, 2017, JCR2016, IF: 9.125, Q1,T1 (15/166) Chemistry, Multidisciplinary.
- 6) Rodrigo Madurga, Alfonso M. Gañán-Calvo, Triana Mariscal, Gustavo R
- 7) Plaza, **Gustavo V. Guinea**, Manuel Elices, José Pérez-Rigueiro, Production of Regenerated Silkworm Silk Fibers from aqueous dopes through Straining Flow Spinning, Textile Research Journal, 89(21-22):4554-4567, 2019. DOI:, 10.1177/0040517519838050, JCR2017, IF: 1.54, Q1 Materials Science, Textiles.
- 8) J. Pérez-Rigueiro, V. Ruiz, J. L. Cenis, M. Elices, **G.V. Guinea**, Lessons from spider and silkworm silk guts, Frontiers in Materials, doi: 10.3389/fmats.2020.00046, 2020, JCR2018, IF: 2.689, Q2 (119/293) Materials Science, Multidisciplinary
- 9) Víctor Ruiz, Ping Jiang, Claudia Müller, Inmaculada Jorge, Jesús Vázquez, Álvaro Ridruejo, Salvador D. Aznar-Cervantes, José Luis Cenis, Luis Messeguer-Olmo, Manuel Elices, **Gustavo Víctor Guinea** and José Pérez-Rigueiro, Preparation and characterization of Nephila clavipes tubuliform silk gut, Soft Matter, 15, 1960, DOI:10.1039/c9sm00212j, 2019, JCR2017, IF: 3.709, Q1,T1 (64/285) Materials Science,, Multidisciplinary.
- 10) José Pérez-Rigueiro, Rodrigo Madurga, Alfonso M. Gañán-Calvo, Gustavo R. Plaza, Manuel Elices, Patricia A. López, **Rafael Daza**, **Daniel González-Nieto**, **Gustavo V. Guinea**, Straining Flow Spinning of Artificial Silk Fibers: A Review, Biomimetics, 3(4), 29, doi:10.3390/biomimetics3040029, 2018.

## **Patentes**

Método Para Obtener Puntas Sensoras De Microscopía De Fuerza Atomica Funcionalizadas Mediante Silanización Por Vapor Activado, ES20180030777 20180727, Licenciada a SILKBIOMED SL 15-07-2019, en explotación Silk-based Biohybrids for cell/drug delivery. Under process (Hoffmann Eitle).

## **Asistencia a congresos**

**Nombre del congreso/conferencia/ workshop:** CellMech17-Manchester; Windermere, Reino Unido, 21 a 23 de Junio 2017, **Tipo de comunicación:** Poster: "Measuring the T-lymphocytes mechanical behavior: a comparison of techniques and models", **Autores\*:** **Gustavo Guinea, Rafael Daza García, Año:** 2017.

## **Tesis doctorales relacionadas con el proyecto**

**1) Nombre:** Laura Fernández García

**Director:** **Daniel González Nieto**

**Título:** Terapia Celular Asistida por Hidrogeles de Fibroína en un Modelo Experimental de Ictus Cerebral **Organismo:** Universidad Politécnica de Madrid, 30-10-2017; CUM LAUDE por Unanimidad

**2) Nombre:** Paloma Lozano Picazo

**Director:** **Francisco Javier Rojo Pérez - Daniel González Nieto**

**Título:** Caracterización de formatos avanzados de fibroína de la seda para protección y regeneración en respuesta a daño celular y tisular **Organismo:** Universidad Politécnica de Madrid, en marcha (beca FPI BES-2017-081496).

**3) Nombre:** Rocío Fernández Sierra

**Director:** **Gustavo Víctor Guinea Tortuero - Daniel González Nieto**

**Título:** Desarrollo de sistemas vehiculares de liberación farmacológica para el tratamiento de las enfermedades cerebrovasculares y neurodegenerativas. **Organismo:** Universidad Politécnica de Madrid, en marcha (beca CM IND2018/BMD-9804)