

Monitorización de Digoxina en pacientes ancianos. Camino Hernández Iglesias; David García González; Jonás Samuel Pérez Blacno; Ana M.^a Martín Suárez / Consumo de tabaco en estudiantes de farmacia. Evaluación mediante el test Fagerström. Alba Martín; R. Laura Vicente-Vicente / Efecto del taxol sobre la autofagia en células tumorales de colon. Ana María Mateos Temprano; Rogelio González Sarmiento / Control de Calidad en el llenado de carros de dosis unitarias en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante los meses de noviembre y diciembre de 2015. Luis Malpica Arce; Virginia Martínez Callejo / Efectividad y seguridad del tratamiento con pirfenidona en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI). Cecilia Martín; Eduardo Arnáez; Lucía Velasco / Valoración del uso de los inhibidores de la bomba de protones en la población. Jacobo Cristellys; Ramona Mateos / Actividades del biocontrol de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Aurora Pérez; Rosa Hermosa; Enrique Monte / El efecto Foehn sobre la mortalidad en Asturias. Alicia Caso; Ramona Mateos / Clobetasol propionato en el tratamiento de la psoriasis en placas. Beatriz Feliz García; Felice Mussico; Raquel Álvarez Lozano / Estudio de la Caspasa -3 en un modelo experimental de preconditionamiento isquémico neuronal en cultivo. Victoria López Tejero; María Delgado-Esteban; Juan P. Bolaños / Medicamentos falsificados. Todo lo que debemos saber. Alfonso Domínguez-Gil Hurlé; Paulo da Silva / La química computacional en el descubrimiento de nuevos fármacos. Beatriz de Pascual; Teresa Fernández / Dietas de adelgazamiento: ¿son eficaces y seguras? M.^a Jesús Peña Diego / El modelo molecular: una herramienta para la mejora y obtención de nuevos fármacos. José Luis López Pérez / Proyecto piloto de investigación Concilia medicamentos. Fernando Calvo Boyero / Monitorización de Digoxina en pacientes ancianos. Camino Hernández Iglesias; David García González; Jonás Samuel Pérez Blacno; Ana M.^a Martín Suárez / Consumo de tabaco en estudiantes de farmacia. Evaluación mediante el test Fagerström. Alba Martín; R. Laura Vicente-Vicente / Efecto del taxol sobre la autofagia en células tumorales de colon. Ana María Mateos Temprano; Rogelio González Sarmiento / Control de Calidad en el llenado de carros de dosis unitarias en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante los meses de noviembre y diciembre de 2015. Luis Malpica Arce; Virginia Martínez Callejo / Efectividad y seguridad del tratamiento con pirfenidona en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI). Cecilia Martín; Eduardo Arnáez; Lucía Velasco / Valoración del uso de los inhibidores de la bomba de protones en la población. Jacobo Cristellys; Ramona Mateos / Actividades del biocontrol de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Aurora Pérez; Rosa Hermosa; Enrique Monte / El efecto Foehn sobre la mortalidad en Asturias. Alicia Caso; Ramona Mateos / Clobetasol propionato en el tratamiento de la psoriasis en placas. Beatriz Feliz García; Felice Mussico; Raquel Álvarez Lozano / Estudio de la Caspasa -3 en un modelo experimental de preconditionamiento isquémico neuronal en cultivo. Victoria López Tejero; María Delgado-Esteban; Juan P. Bolaños / Medicamentos falsificados. Todo lo que debemos saber. Alfonso Domínguez-Gil Hurlé; Paulo da Silva / La química computacional en el descubrimiento de nuevos fármacos. Beatriz de Pascual; Teresa Fernández / Dietas de adelgazamiento: ¿son eficaces y seguras? M.^a Jesús Peña Diego / El modelo molecular: una herramienta para la mejora y obtención de nuevos fármacos. José Luis López Pérez / Proyecto piloto de investigación Concilia medicamentos. Fernando Calvo Boyero / Monitorización de Digoxina en pacientes ancianos. Camino Hernández Iglesias; David García González; Jonás Samuel Pérez Blacno; Ana M.^a Martín Suárez / Consumo de tabaco en estudiantes de farmacia. Evaluación mediante el test Fagerström. Alba Martín; R. Laura Vicente-Vicente / Efecto del taxol sobre la autofagia en células tumorales de colon. Ana María Mateos Temprano; Rogelio González Sarmiento /



EDICIONES UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

DIRECCIÓN: Raquel ÁLVAREZ, Universidad de Salamanca, Spain

COMITÉ EDITORIAL: Antonio MURO ÁLVAREZ, Universidad de Salamanca, Spain
Raquel ÁLVAREZ, Universidad de Salamanca, Spain
Ana Isabel MORALES MARTÍN, Universidad de Salamanca
Alfonso Jesús DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ

AYUDANTE DE DIRECCIÓN: Myriam GONZÁLEZ DÍAZ, Universidad de Salamanca, Spain

COMITÉ CIENTÍFICO: Raquel ÁLVAREZ, Universidad de Salamanca, Spain
Antonio MURO ÁLVAREZ, Universidad de Salamanca, Spain
Ana Isabel MORALES MARTÍN, Universidad de Salamanca, Spain
Alfonso Jesús DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ, Universidad de Salamanca, Spain

CORRECTOR DE ORIGINALES: Iván PÉREZ MIRANDA, Spain

SECRETARÍA DE REDACCIÓN: Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca
Campus Miguel de Unamuno, s/n - 37008 Salamanca, España

El comité científico de *FarmaJournal* quiere agradecer la colaboración durante el proceso de revisión de los artículos de investigación publicados en este número, a los siguientes profesores de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Salamanca:

María Jesús Almendral Parra, Francisco Javier Burguillo Muñoz, María Victoria Calvo Hernández, Javier Domínguez Álvarez, Montserrat Dueñas Patón, Alejandro Esteller Pérez, María del Mar Fernández de Gatta, Emilio Fernández Sánchez, Mónica García Domingo, María José García Sánchez, Luis García Sevillano, María Jesús de la Concepción Holgado Manzanera, Cristina Maderuelo Martín, Bernarda Marcos Laso, María Luisa Martín Calvo, María Rita Martín Muñoz, Gloria María Miranda García, Ana Isabel Morales Martín, Javier Muñoz González, Ana Vega Ortiz de Urbina Angoso, Rafael Peláez Lamamiec de Clairac Arroyo, María de la Concepción Pérez Melero, María del Pilar Puebla Ibáñez, Rosana Ramos Aparicio, Juan Antonio Sánchez Rodríguez, María Luisa Sayalero Marinero, Fernando Simón Martín, Cipriano Jesús Valle Gutiérrez y Santiago Vicente Tavera

FARMAJOURNAL es una revista científica en español sobre farmacología, de periodicidad semestral y en la que los artículos recibidos son evaluados por revisores y posteriormente aprobados por un tribunal docente.

Los trabajos publicados pueden consultarse en: «eUSAL Revistas» <<http://revistas.usal.es/index.php/famajournal/>>, Gredos <<http://gredos.usal.es/jspui/handle/10366/4666>>, Dialnet.

REALIZA: Jásen Proyectos Editoriales - www.jasernet.com

ÍNDICE

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

Camino HERNÁNDEZ IGLESIAS; David García González; Jonás Samuel PÉREZ BLANCO; Ana M. ^a MARTÍN SUÁREZ, <i>Monitorización de Digoxina en pacientes ancianos</i>	21-29
Alba MARTÍN; R. Laura VICENTE-VICENTE, <i>Consumo de tabaco en estudiantes de farmacia. Evaluación mediante el test Fagerström</i>	31-40
Ana María MATEOS TEMPRANO; Rogelio GONZÁLEZ SARMIENTO, <i>Efecto del taxol sobre la autofagia en células tumorales de colon</i>	41-51
Luis MALPICA ARCE; Virginia MARTÍNEZ CALLEJO, <i>Control de calidad en el llenado de carros de dosis unitarias en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante los meses de noviembre y diciembre de 2015</i>	53-59
Cecilia MARTÍN; Eduardo ARNÁEZ; Lucía VELASCO, <i>Efectividad y seguridad del tratamiento con pirfenidona en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI)</i>	61-71
Jacobo CRISTELLYS; Ramona MATEOS, <i>Valoración del uso de los inhibidores de la bomba de protones en la población</i>	73-84
Aurora PÉREZ; Rosa HERMOSA; Enrique MONTE, <i>Actividades del biocontrol de Trichoderma frente a Ascomicetos fitopatógenos</i>	85-93
Alicia CASO; Ramona MATEOS, <i>El efecto Foehn sobre la mortalidad en Asturias</i>	95-110
Beatriz FELIZ GARCÍA; Felice MUSSICO; Raquel ÁLVAREZ LOZANO, <i>Clobetasol propionato en el tratamiento de la psoriasis en placas</i>	111-120
Victoria LÓPEZ TEJERO; María DELGADO-ESTEBAN; Juan P. BOLAÑOS, <i>Estudio de la caspasa-3 en un modelo experimental de preconditionamiento isquémico neuronal en cultivo</i>	121-131

CONFERENCIAS ACADEMIA DE FARMACIA DE CASTILLA Y LEÓN

Alfonso DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ; Paulo TEIXEIRA DA SILVA, <i>Medicamentos falsificados. Todo lo que debemos saber</i>	135-136
---	---------

ÍNDICE

Beatriz de PASCUAL; Teresa FERNÁNDEZ, <i>La química computacional en el descubrimiento de nuevos fármacos</i>	137-138
M. ^a Jesús PEÑA DIEGO, <i>Dietas de adelgazamiento: ¿son eficaces y seguras?</i> ...	139-140
José Luis LÓPEZ PÉREZ, <i>El modelado molecular: una herramienta para la mejora y obtención de nuevos fármacos</i>	141-142
PONENCIA FARMAFORUM	
Fernando CALVO BOYERO, <i>Proyecto piloto de investigación Concilia medicamentos</i>	145-147

INDEX

RESEARCH REPORTS

Camino HERNÁNDEZ IGLESIAS; David García González; Jonás Samuel PÉREZ BLANCO; Ana M. ^a MARTÍN SUÁREZ, <i>Digoxin Monitoring in Elderly Patients</i>	21-29
Alba MARTÍN; R. Laura VICENTE-VICENTE, <i>Tobacco Consumption among Pharmacy Students. Evaluation by Fagerström Test</i>	31-40
Ana María MATEOS TEMPRANO; Rogelio GONZÁLEZ SARMIENTO, <i>Taxol Effect in Autophagy of Colon Cancer Cells</i>	41-51
Luis MALPICA ARCE; Virginia MARTÍNEZ CALLEJO, <i>Quality Control in Filling Unit Dose Trolleys at the Marqués de Valdecilla University Hospital during the Months of November and December of 2015</i>	53-59
Cecilia MARTÍN; Eduardo ARNÁEZ; Lucía VELASCO, <i>Effectiveness and Safety of Pirfenidone Treatment in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis ...</i>	61-71
Jacobo CRISTELLYS; Ramona MATEOS, <i>Assessment of Proton Pump Inhibitors Use in Population</i>	73-84
Aurora PÉREZ; Rosa HERMOSA; Enrique MONTE, <i>Trichoderma Biocontrol Activity Against Plant Pathogenic Ascomycetes</i>	85-93
Alicia CASO; Ramona MATEOS, <i>The Foehn Effect on Mortality in Asturias ...</i>	95-110
Beatriz FELIZ GARCÍA; Felice MUSSICO; Raquel ÁLVAREZ LOZANO, <i>Clobetasol Propionate in the Treatment of Plaque Psoriasis</i>	111-120
Victoria LÓPEZ TEJERO; María DELGADO-ESTEBAN; Juan P. BOLAÑOS, <i>Study of Caspase-3 in a Experimental Model of Ischemic Preconditioning in Neuronal Culture</i>	121-131

CONFERENCES OF THE CASTILLA AND LEON PHARMACY ACADEMY

Alfonso DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ; Paulo TEIXEIRA DA SILVA, <i>Falsified Drugs. All we should know</i>	135-136
Beatriz de PASCUAL; Teresa FERNÁNDEZ, <i>Computing Chemistry in New Drugs Discovery</i>	137-138

INDEX

M. ^a Jesús PEÑA DIEGO, <i>Weight Loss Diets: Are they Effective and Safe?</i>	139-140
José Luis LÓPEZ PÉREZ, <i>Molecular Modeling: a Tool for Improving and Obtaining New Drugs.....</i>	141-142

PAPERS FARMAFORUM

Fernando CALVO BOYERO, <i>Research Pilot Project Concilia medicamentos</i>	145-147
---	---------

ÍNDICE ANALÍTICO

HERNÁNDEZ IGLESIAS, CAMINO; GARCÍA GONZÁLEZ, DAVID; PÉREZ BLANCO, JONÁS SAMUEL; MARTÍN SUÁREZ, ANA M.^a

MONITORIZACIÓN DE DIGOXINA EN PACIENTES ANCIANOS

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 21-29

RESUMEN: La digoxina es un medicamento recetado con frecuencia en la población anciana. La tasa de filtración glomerular se utiliza para ajustar la dosis. El valor HUGÉ es una herramienta para diferenciar la presencia o ausencia de enfermedad renal crónica en pacientes de edad avanzada. El objetivo fue investigar la utilidad de una ecuación basada en el valor HUGÉ: $C = 0,281 + 0,029 \times HUGÉ + 5,38 \times Dosis$ para predecir la dosis inicial de digoxina en pacientes mayores de 70 años. Esta ecuación se validó retrospectiva (33 pacientes) y prospectivamente (35 pacientes) en comparación con el método PKS® (Pharmacokinetic System, Abbott) basado en el aclaramiento de creatinina. El rendimiento predictivo de la ecuación fue mejor que el obtenido con la comparación del método.

En conclusión, se presenta la validez clínica y la superioridad de una ecuación basada en el valor HUGÉ. Los resultados apoyan la necesidad de realizar la dosificación de digoxina en ancianos teniendo en cuenta los cambios en la fisiología renal secundaria al envejecimiento y no solamente la tasa de filtración glomerular.

Palabras clave: digoxina; monitorización; anciano; valor HUGÉ; PKS (Abbottbase pharmacokinetic system).

MARTÍN, ALBA; VICENTE-VICENTE, R. LAURA

CONSUMO DE TABACO EN ESTUDIANTES DE FARMACIA. EVALUACIÓN MEDIANTE EL TEST FAGERSTRÖM

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 31-40

RESUMEN: El tabaco es una droga estimulante del sistema nervioso central. Durante su combustión se generan productos tóxicos asociados a diversas patologías. Uno de los principales componentes es la nicotina, responsable de la adicción al tabaco. En España, el 21,7% de la población joven (15-24 años) fuma diariamente. Conociendo este dato,

quisimos evaluar el hábito tabáquico de los estudiantes de Farmacia. Se realizó un estudio observacional mediante una encuesta dividida en dos partes: 1) Información general y hábitos; 2) Consumo de tabaco y dependencia a la nicotina mediante el Test de Fagerström.

Un total de 209 alumnos participaron en el estudio. La mayoría fueron no fumadores (80,9%), solo un 14,4% fumadores y un 4,7% exfumadores. El curso con más fumadores fue 2.º (18,6%) y con mayor número de no fumadores 1.º (85,7%). Ni el tipo de alojamiento ni el ocio nocturno parecieron influir en el consumo tabáquico, sin embargo, sí lo hizo la presión social, la preocupación por la salud o la práctica de deportes.

Se podría concluir que el porcentaje de fumadores entre los alumnos de Farmacia (curso 2015-2016) es menor que la media observada en la población joven española. Además, presentan baja dependencia nicotínica.

Palabras clave: Test de Fagerström; tabaco; dependencia; nicotina; población universitaria.

MATEOS TEMPRANO, ANA MARÍA; GONZÁLEZ SARMIENTO, ROGELIO
EFECTO DEL TAXOL SOBRE LA AUTOFAGIA EN CÉLULAS TUMORALES DE COLON
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 41-41

RESUMEN: El paclitaxel es un fármaco antitumoral utilizado en el tratamiento de cáncer de ovario, mama, no microcítico de pulmón y sarcoma de Kaposi asociado al SIDA. Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de la subunidad β -tubulina en el microtúbulo, disminuyendo su despolimerización y estabilizándolos; deteniendo el ciclo celular en la fase G2/M conduciendo a la apoptosis.

Por otro lado, la autofagia, donde tienen gran importancia los microtúbulos, es un conjunto de procesos catabólicos cruciales para el mantenimiento de la viabilidad celular; pero también supone una ruta de muerte celular programada. Con este trabajo se pretende estudiar la citotoxicidad de este fármaco, así como su efecto sobre 6 proteínas relacionadas con la autofagia: P62, PKC ζ , mTOR, TRAF6, LC3 y Beclin 1; sobre dos líneas celulares de cáncer de colon: HT29 y HCT-116. Las técnicas utilizadas fueron los ensayos MTT y Western Blot. Nuestros resultados indican que el paclitaxel inhibe el crecimiento de ambas líneas a 10nM; y aumenta la expresión de las proteínas Beclin 1, LC3-II y p62, que nos indica una inducción de la autofagia, y su posterior bloqueo en el paso de formación del autolisosoma. En conclusión, se puede afirmar que el paclitaxel bloquea la autofagia.

Palabras clave: paclitaxel; cáncer; colon; autofagia; p62; LC3-II; Beclin 1.

MALPICA ARCE, LUIS; MARTÍNEZ CALLEJO, VIRGINIA

CONTROL DE CALIDAD EN EL LLENADO DE CARROS DE DOSIS UNITARIAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA DURANTE LOS MESES DE NOVIEMBRE Y DICIEMBRE DE 2015

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 53-59

RESUMEN: Objetivo: Cuantificar y categorizar los errores de dispensación producidos durante el llenado de carros en un Sistema de Dispensación de Medicamentos en Dosis Unitarias (SDMDU).

Materiales y métodos: Estudio observacional durante los meses de noviembre y diciembre de 2015. Acciones llevadas a cabo: 1) Registro diario de las discrepancias ocurridas entre el tratamiento de cada paciente y el contenido del cajetín de medicación, y 2) Cuantificación y categorización de las discrepancias halladas con respecto al total de unidades dispensadas.

Resultados: 1) Se evaluaron 29 carros de medicación, que contenían 3773 unidades a dispensar, y se cotejaron con 1947 líneas de prescripción, 2) Se encontró que 18 unidades presentaban discrepancias con el tratamiento pautado (tasa de error de 0,48%), de las que: 10 unidades se dispensaron por exceso (6 unidades, 0,16%) o defecto (4 unidades, 0,11%), 7 unidades no estaban prescritas a pacientes (0,18%), y 1 unidad tenía una dosificación distinta a la pautada (0,03%).

Conclusiones: La evaluación y control del llenado de carros ha permitido registrar los errores que se cometen en la dispensación, para su posterior análisis, en un proceso de mejora continua de la calidad asistencial.

Palabras clave: Error; Medicación; Dispensación; Calidad; Hospital; Farmacia.

MARTÍN, CECILIA; ARNÁEZ, EDUARDO; VELASCO, LUCÍA

EFFECTIVIDAD Y SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO CON PIRFENIDONA EN PACIENTES CON FIBROSIS PULMONAR IDIOPÁTICA (FPI)

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 61-71

RESUMEN: La Fibrosis Pulmonar Idiopática (FPI) es una grave enfermedad pulmonar que, a día de hoy, no tiene cura. En el afán de encontrar un tratamiento efectivo para estos pacientes surge pirfenidona, primer fármaco aprobado con indicación en el tratamiento de FPI. En este estudio observacional, longitudinal, retrospectivo se pretende determinar la efectividad y seguridad de este nuevo fármaco, en la práctica clínica habitual. Para ello se evaluaron parámetros de función pulmonar e indicadores de seguridad en 16 pacientes tratados con pirfenidona en el Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Se observó que a los 12 meses de tratamiento: el 66,67% de los pacientes experimentó un descenso de su capacidad vital forzada (CVF) inferior al 10% de la estimada, y que, en el 45,45% de los pacientes, la enfermedad había progresado. Además, el 31,25% de los pacientes experimentó agudizaciones a lo largo del tratamiento y el 56,25% de los pacientes

sufrió alguna reacción adversa (las más frecuentes fueron alteraciones gastrointestinales y cansancio/astenia).

Palabras clave: pirfenidona; fibrosis; pulmonar; idiopática; tratamiento; efectivo.

CRISTELLYS, JACOBO; MATEOS, RAMONA

VALORACIÓN DEL USO DE LOS INHIBIDORES DE LA BOMBA DE PROTONES EN LA POBLACIÓN

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 73-84

RESUMEN: Los inhibidores de la bomba de protones conforman el subgrupo terapéutico de mayor consumo en nuestro país, siendo para los consumidores el omeprazol el «protector» más popular. El consumo en España dobla al de países vecinos. ¿A qué se debe este consumo tan elevado? ¿Están siendo prescritos de forma adecuada? Mediante una encuesta se entrevista aquellos pacientes que acuden a la oficina de farmacia solicitando un inhibidor de la bomba de protones. Entorno a la mitad de las prescripciones son injustificadas. En su mayoría indicados de forma crónica en pacientes polimedcados sin tratamiento concomitante con fármacos gastrolesivos, aumentando el riesgo de padecer efectos adversos.

Palabras clave: omeprazol; sobreutilización; consumo; inadecuado; inhibidores de la bomba de protones; riesgo.

PÉREZ, AURORA; HERMOSA, ROSA; MONTE, ENRIQUE

ACTIVIDADES DE BIOCONTROL DE *TRICHODERMA* FRENTE A ASCOMICETOS FITOPATÓGENOS

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 85-93

RESUMEN: Algunas especies de *Trichoderma* son usadas como agentes de biocontrol porque pueden reducir la severidad de enfermedades en plantas mediante la inhibición de patógenos por varios mecanismos de acción. *Fusarium oxysporum* (FO) y *Botrytis cinerea* (BC) son dos hongos relevantes económicamente, pues ocasionan importantes pérdidas en más de 200 cultivos a nivel mundial.

Para analizar el potencial antagonista de *Trichoderma* frente a estos patógenos se utilizaron 6 cepas de distintas especies, representando la diversidad genética existente en el género, y diferentes ensayos *in vitro* realizados en dos medios de cultivo (PDA y MM). Se evaluó habilidad micoparasítica y actividad antifúngica de volátiles y metabolitos secretados. La mayor capacidad micoparasítica se observó en la cepa *T. parareesei* T6 frente a FO en PDA. Los volátiles producidos en MM por las 6 cepas inhibieron un 50-60% el crecimiento de FO, sin diferencias significativas entre cepas, pero no mostraron actividad frente a BC. Los metabolitos secretados por *T. virens* T87 en PDA o MM dieron los mayores valores de inhibición del crecimiento de ambos patógenos.

Los resultados muestran que el potencial de biocontrol de *Trichoderma* spp. depende del genotipo, el patógeno al que se enfrenta y de las condiciones de cultivo.

Palabras clave: *Trichoderma*; micoparasitismo; antibiosis; Fusarium; Botrytis.

CASO, ALICIA; MATEOS, RAMONA

EL EFECTO FOEHN SOBRE LA MORTALIDAD EN ASTURIAS

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 95-110

RESUMEN: El Efecto Foehn es un fenómeno que se produce cuando coexisten dos variables meteorológicas: viento de componente sur y un aumento significativo en la temperatura. Este puede afectar a la salud de personas denominadas meteorosensibles. En Asturias se produce Efecto Foehn, de manera que nuestro estudio valora la posible relación y la tendencia en el tiempo de este fenómeno con un aumento de la mortalidad por causas externas (accidentes de tráfico, suicidios u homicidios) en un periodo de 13 años. En la mayoría de los casos la asociación es débil pero aparecen asociaciones moderadas entre el Foehn y los suicidios en 7 de los años estudiados, con una tendencia en el tiempo similar en varios meses.

Palabras clave: Mortalidad; causas externas; Foehn; Asturias.

FELIZ GARCÍA, BEATRIZ; MUSICCO, FELICE; ÁLVARZ LOZANO, RAQUEL

CLOBETASOL PROPIONATO EN EL TRATAMIENTO DE LA PSORIASIS EN PLACAS

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 111-120

RESUMEN: La psoriasis es una enfermedad crónica común, enfermedad con un deterioro significativo en la calidad de vida. Como no existe una cura, a menudo requiere llevar un control de la misma durante toda la vida con el fin de minimizar el desarrollo de lesiones de la piel y aliviar los síntomas.

La psoriasis vulgar, también denominada leve/moderada, es un tipo de psoriasis que se caracteriza por manifestarse de forma localizada con una implicación de la superficie de la piel <10%. Para este tipo de psoriasis, estudios clínicos han demostrado un aumento de la eficacia basado en un tratamiento en combinación de corticosteroides tópicos clase I (dipropionato de betametasona) 0,05% con ácido salicílico 2-3%, únicos presentes en el mercado.

El objetivo de este estudio fue la preparación de una fórmula magistral que combine clobetasol al 0,015% incorporado en vaselina salicílica al 6% (para la zona no pilosa) y aceite de almendra dulce con ácido salicílico al 6% (para la zona pilosa), debido a la ausencia de un preparado que asegure las concentraciones prescritas así como comprobar la eficacia de este preparado en una muestra de pacientes con psoriasis leve/moderada que acuden al hospital a través de los índices PASI e IGA.

Palabras clave: psoriasis; clobetasol propionato; corticosteroides tópicos; agentes queratolíticos; emolientes.

LÓPEZ TEJERO, VICTORIA; DELGADO-ESTEBAN, MARÍA; BOLAÑOS, JUAN P.
ESTUDIO DE LA CASPASA-3 EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO NEURONAL EN CULTIVO
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 121-131

RESUMEN: En los seres humanos, los ataques isquémicos transitorios (AIT) son el correlato clínico de preconditionamiento isquémico cerebral (IPC) que conduce a la resistencia transitoria llamada tolerancia isquémica (TI). Los mecanismos moleculares subyacentes todavía no se entienden completamente. Recientemente, se ha demostrado que la activación de las proteasas llamadas caspasas desempeñan un papel importante en la muerte apoptótica asociada a la isquemia.

En el presente trabajo estudiamos la caspasa-3 en la neuroprotección inducida por el IPC. Para ello, las neuronas corticales en cultivo primario se expusieron a una concentración subtóxica moderada de N-metil-D-aspartato (NMDA; 20 μ M NMDA; condición IPC) durante 2 horas, seguido de incubación durante otros 90 min en normoxia (presencia de oxígeno y glucosa) o isquémica (oxígeno y privación de glucosa; OGD). En paralelo, las neuronas control no fueron estimuladas con NMDA. Después de 4 horas de incubación en medio de cultivo, se analizó la apoptosis neuronal (Anexina-V-tinción) por citometría de flujo. Además, se determinó la actividad de la caspasa-3 y la expresión de la caspasa-3 activa usando el ensayo de fluorimetría e Inmunofluorescencia, respectivamente.

Previamente, los resultados obtenidos en el grupo demostraron que el IPC previno la apoptosis inducida por la OGD en las neuronas. En este trabajo mostramos que el IPC impidió la activación de la caspasa-3 inducida por la OGD. Estos hallazgos demuestran el papel clave de la vía de señalización de la apoptosis en la neuroprotección inducida por IPC contra un daño isquémico posterior y señala a la caspasa-3 como diana esencial asociada a la tolerancia isquémica.

Palabras clave: Supervivencia neuronal; preconditionamiento isquémico; tolerancia isquémica; apoptosis; caspasa-3; neuroprotección.

ANALYTIC SUMMARY

HERNÁNDEZ IGLESIAS, CAMINO; GARCÍA GONZÁLEZ, DAVID; PÉREZ BLANCO, JONÁS SAMUEL; MARTÍN SUÁREZ, ANA M.^a

DIGOXIN MONITORING IN ELDERLY PATIENTS

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 21-29

ABSTRACT: Digoxin is a frequently prescribed drug in the elderly population. Estimated glomerular filtration rate is used to adjust dosages. The HUGE value is a tool for differentiating the presence or absence of chronic kidney disease in elderly patients. The objective was to investigate the usefulness of an equation based on the HUGE value: $C = 0,281 + 0,029 \times HUGE + 5,38 \times Dose$ to predict the initial dose of digoxin in patients older than 70 years. This equation was validated retrospectively (33 patients) and prospectively (35 patients) in comparison with the PKS® method (Pharmacokinetic System, Abbott) based on creatinine clearance. The predictive performance of our equation was better than that obtained with the compared method.

In conclusion, clinical validity and superiority of an equation based on the HUGE value is presented. Our results support the need to perform digoxin dosing in elderly people bearing in mind the changes in renal physiology secondary to ageing and not merely the estimated glomerular filtration rate.

Key words: digoxin; monitoring; elder; HUGE value; PKS (Abbottbase pharmacokinetic system).

MARTÍN, ALBA; VICENTE-VICENTE, R. LAURA

TOBACCO CONSUMPTION AMONG PHARMACY STUDENTS. EVALUATION BY FABERSTRÖM TEST

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 31-40

ABSTRACT: Tobacco is a central nervous system stimulant drug. During tobacco combustion toxic products associated with various diseases are generated. One of the main components is nicotine, responsible of tobacco's addiction. In Spain, 21.7% of the young population (15-24 years) smoke daily. Knowing this fact, we wanted to evaluate

the smoking habits in Pharmacy students. An observational study was conducted through a survey divided into two parts: 1) Overview and habits; 2) Tobacco consumption and nicotine dependence by the Fagerström Test.

A total number of 209 students participated in the study. The majority were non-smokers (80.9%), only 14.4% were smokers and 4.7% were ex-smokers. The 2nd year course was the one with more smokers (18.6%) and the 1st course with more non-smokers (85.7%). Neither the type of accommodation nor the nightlife seemed to influence tobacco consumption; however, social pressure, health concern or sports did it.

We might conclude that the percentage of smokers among students of Pharmacy (2015-2016 academic course) is less than the average observed in the Spanish young people. Also they present low nicotinic dependence.

Key words: Fagerstrom Test; tobacco; dependence; nicotine; university population.

MATEOS TEMPRANO, ANA MARÍA; GONZÁLEZ SARMIENTO, ROGELIO
TAXOL EFFECT IN AUTOPHAGY OF COLON CANCER CELLS
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 41-51

ABSTRACT: Paclitaxel is an anticancer drug used in the treatment of ovarian, breast, non small cell lung, and Kaposi's sarcoma associated with AIDS. Its mechanism of action is based on blocking β -tubulin subunit of microtubules, decreasing depolymerisation and stabilizing them; stopping the cell cycle at the G2 / M phase leading to apoptosis.

Furthermore, the autophagy, in which process microtubules are very important, is a set of catabolic processes crucial for the maintenance of cell viability; but also is a programmed cell death. The target of this article is to study the drug cytotoxicity and its effect on 6 autophagy related proteins: P62, PKC ζ , mTOR, TRAF6, LC3 and Beclin 1; on two colon cancer cell lines: HT29 and HCT-116. The techniques used were the MTT and Western Blot tests. Our results indicate that paclitaxel inhibits the growth of both lines at 10 nM; and increases the expression of Beclin 1, LC3-II and p62 proteins, which indicates an induction of autophagy, and a later block of autolysosoma. In conclusion, we can say that paclitaxel blocks autophagy.

Key words: paclitaxel; cáncer; colon; autophagy; p62; LC3-II; Beclin 1.

MALPICA ARCE, LUIS; MARTÍNEZ CALLEJO, VIRGINIA
QUALITY CONTROL IN FILLING UNIT DOSE TROLLEYS AT THE MARQUÉS DE VALDECILLA
UNIVERSITY HOSPITAL DURING THE MONTHS OF NOVEMBER AND DECEMBER OF 2015
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 53-59

ABSTRACT: Objective: To quantify and categorize dispensing errors produced during filling of trolleys in a unit dose drug dispensing system (UDDDS).

Material and methods: Observational study during the months of November and December of 2015. Actions taken: 1) Daily record of discrepancies occurred between the treatment of each patient and the content of the medication cassette, and 2) Quantification and categorization of the discrepancies found regard to the total units dispensed.

Results: 1) 29 medication trolleys were evaluated, which contained 3773 units to be dispensed, and they were compared against 1947 prescription lines, and 2) 18 units were found to present discrepancies with the prescribed treatment (error rate 0.48%), of which: 10 units were dispensed in excess (6 units, 0.16%) or default (4 units, 0.11%), 7 units were not prescribed to patients (0.18%), and 1 unit had a different dosage to scheduled (0.03%).

Conclusions: Evaluation and control of trolley filling has enabled log errors committed in dispensing, for further analysis in a process of continuous improvement of quality of care.

Key words: Error; Medication; Dispensation; Quality; Hospital; Pharmacy.

MARTÍN, CECILIA; ARNÁEZ, EDUARDO; VELASCO, LUCÍA
EFFECTIVENESS AND SAFETY OF PIRFENIDONE TREATMENT IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 61-71

ABSTRACT: Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF) is a serious lung disease that, at the present time, has no cure. In an effort to find an effective treatment for these patients, pirfenidone comes up, becoming the first drug approved in IPF treatment. This observational, longitudinal and retrospective study attempts to determine the effectiveness and safety of this new drug in habitual clinical practice. Lung function parameters and safety traces were evaluated in 16 patients treated with pirfenidone in Central University Hospital of Asturias. It was observed that, after 12 months of treatment, 66,67% of patients had a decline in forced vital capacity (FVC) less than 10% of the estimated, and the disease had progressed in 45,45% of patients. In addition, 31,25% of patients had exacerbations during the treatment and 56,25% suffered any adverse event (usually gastrointestinal disease or fatigue).

Key words: pirfenidone; idiopathic; pulmonary; fibrosis; treatment; effective.

CRISTELLYS, JACOBO; MATEOS, RAMONA

ASSESSMENT OF PROTON PUMP INHIBITORS USE IN POPULATION

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 73-84

ABSTRACT: Proton-pump inhibitors are the therapeutic subgroup with the biggest consumption in our country, being omeprazole the most «protector» popular for consumers. Consumption in Spain doubles that of neighboring countries. Why is this consumption so high? Is this drug being prescribed appropriately? Patients who came to the pharmacy requesting a protons-pump inhibitor were interviewed. About half of all the prescriptions are unjustified. Most of the time indicated chronically in patients polymedicated without a concomitant treatment with gastro-damaging drugs, increasing the unnecessary risk of experiencing side effects.

Key words: omeprazole; overuse; consumption; inadequate; proton-pump inhibitors; risk.

PÉREZ, AURORA; HERMOSA, ROSA; MONTE, ENRIQUE

TRICHODERMA BIOCONTROL ACTIVITY AGAINST PLANT PATHOGENIC ASCOMYCETES

FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 85-93

ABSTRACT: Several *Trichoderma* spp. are used as biocontrol agents because they can reduce the disease severity in plants by inhibiting pathogens through different mechanism of action. *Fusarium oxysporum* (FO) y *Botrytis cinerea* (BC) are economically relevant fungi since they cause important losses in more than 200 crops worldwide.

To analyse the antagonistic potential of *Trichoderma* against these two pathogens, we used 6 strains from different species, representing the genetic diversity existing in this genus, and different in vitro assays performed in two culture media (PDA y MM). The mycoparasitic ability and antifungal activity of volatiles and metabolites secreted by *Trichoderma* were tested. *Trichoderma parareesei* T6 showed the highest mycoparasitism against FO on PDA. Volatiles produced by these six strains on MM cultures reduced the FO growth in ca. 50-60% without significant differences among strains, but they had not activity against BC. The secreted metabolites of *T. virens* T87 on PDA or MM showed the highest growth inhibition values in both pathogens.

These results indicate that the biocontrol potential of *Trichoderma* spp. depends on the genotype, the target pathogen and the culture conditions.

Key words: *Trichoderma*; mycoparasitism; antibiosis; *Fusarium*; *Botrytis*.

CASO, ALICIA; MATEOS, RAMONA
THE FOEHN EFFECT ON MORTALITY IN ASTURIAS
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 95-110

ABSTRACT: The Foehn Effect is a phenomenon that occurs when two weather variables coexist: southerly wind and a significant increase in temperature. This can affect the health of the weather-sensitive people. The Foehn effect happens in Asturias, so our study assesses the possible relationship and time trend with an increased mortality because of external causes (traffic accidents, suicide or homicide) in a 13-year period. In most of the cases the association is weak, but there are moderate associations between Foehn and suicides in 7 of the years studied, with a time trend similar in several months of the year.

Key words: Mortality; external causes; Foehn; Asturias.

FELIZ GARCÍA, BEATRIZ; MUSICCO, FELICE; ÁLVARZ LOZANO, RAQUEL
CLOBETASOL PROPIONATE IN THE TREATMENT OF PLAQUE PSORIASIS
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 111-210

ABSTRACT: Psoriasis is a common chronic disease with significant impairment in quality of life. As there is no cure, it often requires lifelong disease control to minimize the development of skin lesions and to relieve symptoms.

Psoriasis vulgaris, also called mild / moderate, is a type of psoriasis characterized by manifest localized involvement of a skin surface <10%. For this type of psoriasis, clinical studies have shown increased efficiency based on a combination treatment of topical corticosteroids class I (betamethasone dipropionate) 0.05% with salicylic acid 2-3%, unique in the market.

The aim of this study was the preparation of a master formula that combines clobetasol 0.015% incorporated into salicylic vaseline 6% (for non-hirsute area) and sweet almond oil with salicylic acid 6% (for the hirsute area) due to the absence of a preparation to ensure the prescribed concentrations and test the effectiveness of this preparation in a sample of patients with mild / moderate psoriasis who come to the hospital through PASI and IGA indexes.

Key words: psoriasis; clobetasol propionate; topical corticosteroids; keratolytic agents; emollients.

LÓPEZ TEJERO, VICTORIA; DELGADO-ESTEBAN, MARÍA; BOLAÑOS, JUAN P.
STUDY OF CASPASE-3 IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF ISCHEMIC PRECONDITIONING
IN NEURONAL CULTURE
FarmaJournal, 2017, vol. 2, núm. 1, pp. 121-131

ABSTRACT: In humans, tansitory ischemic attacks (TIAs) are the clinical correlate of cerebral ischemic preconditioning (IPC) leading to transient resistance called ischemic tolerance (IT). The underlying molecular mechanisms are still not fully understood. Recently, the activation of proteases called caspases has been shown to play an important role in apoptotic death associated with ischemia.

Here, we study the Caspase-3 on IPC-induced neuroprotection. Primary cortical neurons were exposed to a moderate subtoxic concentration of N-methyl-Daspartate (NMDA; 20µM NMDA; IPC condition) for 2 hours, followed by incubation for further 90 min in normoxic (presence of oxygen and glucose) or ischemic (oxygen and glucose deprivation; OGD). In parallel, control neurons were not stimulated with NMDA. After 4 hours of incubation in culture médium, neuronal apoptosis (Annexin-V-staining) was analyzed by flow cytometry. Further, the activity and expression of active caspase-3 were determined using Fluorometric assay and Immunofluorescence, respectively.

Previously, the results of the lab group showed that IPC prevented apoptosis induced by OGD in neurons. In this work we show that the IPC prevented OGD induced caspase-3 activation. These finding demonstrate the key role of the apoptosis signalling pathway in neuroprotection induced by IPC against a subsequent ischemic insult and poses caspase-3 as an essential target in ischemic tolerance.

Key words: Neuronal survival; ischemic preconditioning; ischemic tolerance; apoptosis; Caspase-3; neuroprotection.

**Artículos
de investigación**

EFECTO DEL TAXOL SOBRE LA AUTOFAGIA EN CÉLULAS TUMORALES DE COLON

Taxol Effect in Autophagy of Colon Cancer Cells

Ana María MATEOS TEMPRANO; Rogelio GONZÁLEZ SARMIENTO

Centro de Investigación del Cáncer (CIC), laboratorio 14. Campus Miguel de Unamuno. Salamanca

Correo electrónico: anamariamateostemprano@gmail.com

RESUMEN: El paclitaxel es un fármaco antitumoral utilizado en el tratamiento de cáncer de ovario, mama, no microcítico de pulmón y sarcoma de Kaposi asociado al SIDA. Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de la subunidad β -tubulina en el microtúbulo, disminuyendo su despolimerización y estabilizándolos; deteniendo el ciclo celular en la fase G2/M conduciendo a la apoptosis.

Por otro lado, la autofagia, donde tienen gran importancia los microtúbulos, es un conjunto de procesos catabólicos cruciales para el mantenimiento de la viabilidad celular; pero también supone una ruta de muerte celular programada. Con este trabajo se pretende estudiar la citotoxicidad de este fármaco, así como su efecto sobre 6 proteínas relacionadas con la autofagia: P62, PKC ζ , mTOR, TRAF6, LC3 y Beclin 1; sobre dos líneas celulares de cáncer de colon: HT29 y HCT-116. Las técnicas utilizadas fueron los ensayos MTT y Western Blot. Nuestros resultados indican que el paclitaxel inhibe el crecimiento de ambas líneas a 10nM; y aumenta la expresión de las proteínas Beclin 1, LC3-II y p62, que nos indica una inducción de la autofagia, y su posterior bloqueo en el paso de formación del autolisosoma. En conclusión, se puede afirmar que el paclitaxel bloquea la autofagia.

Palabras clave: paclitaxel; cáncer; colon; autofagia; p62; LC3-II; Beclin 1.

ABSTRACT: Paclitaxel is an anticancer drug used in the treatment of ovarian, breast, non small cell lung, and Kaposi's sarcoma associated with AIDS. Its mechanism of action is based on blocking β -tubulin subunit of microtubules, decreasing depolymerisation and stabilizing them; stopping the cell cycle at the G2 / M phase leading to apoptosis.

Furthermore, the autophagy, in which process microtubules are very important, is a set of catabolic processes crucial for the maintenance of cell viability; but also is a programmed cell death. The target of this article is to study the drug cytotoxicity and its effect on 6 autophagy related proteins: P62, PKC ζ , mTOR, TRAF6, LC3 and Beclin 1; on two colon cancer cell lines: HT29 and HCT-116. The techniques used were the MTT and Western Blot tests. Our results indicate that paclitaxel inhibits the growth of both lines at 10 nM; and increases the expression of Beclin 1, LC3-II and p62 proteins, which indicates an induction of autophagy, and a later block of autolysosoma. In conclusion, we can say that paclitaxel blocks autophagy.

Key words: paclitaxel; cáncer; colon; autophagy; p62; LC3-II; Beclin 1.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. *Papel de la autofagia en el cáncer*

La autofagia es un conjunto de procesos catabólicos específicos, cruciales para el mantenimiento de la viabilidad celular y la homeostasis en respuesta a condiciones estresantes (Jiang *et al.*, 2015); pero también supone una ruta de muerte celular programada (Xi *et al.*, 2011).

El papel de la autofagia en la carcinogénesis es controvertido y depende del tipo de tumor y su fase: en fases iniciales puede evitar la formación del tumor y su progresión; en fases avanzadas actuará como un mecanismo de defensa que promueve la supervivencia de las células cancerosas y el desarrollo de resistencias frente a la quimioterapia (Peña-Sanoja, De Sanctis, 2013). Así, la modificación adecuada de la autofagia podría aumentar la citotoxicidad del tratamiento anti-tumoral (Galluzzi *et al.*, 2015).

1.2. *Paclitaxel*

Anticanceroso descubierto en 1968 en extractos del *Taxus brevifolia* (Nutt.) (Barbuti, Chen, 2015). Actualmente es utilizado en el tratamiento de cáncer de

ovario, mama, no microcítico de pulmón y sarcoma de Kaposi asociado al SIDA (Ficha técnica Paclitaxel).

Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de la subunidad β -tubulina en el interior del microtúbulo, disminuyendo la despolimerización de la tubulina y estabilizando los microtúbulos; detiene el ciclo celular en la fase G2/M conduciendo a la apoptosis celular (Barbuti, Chen, 2015).

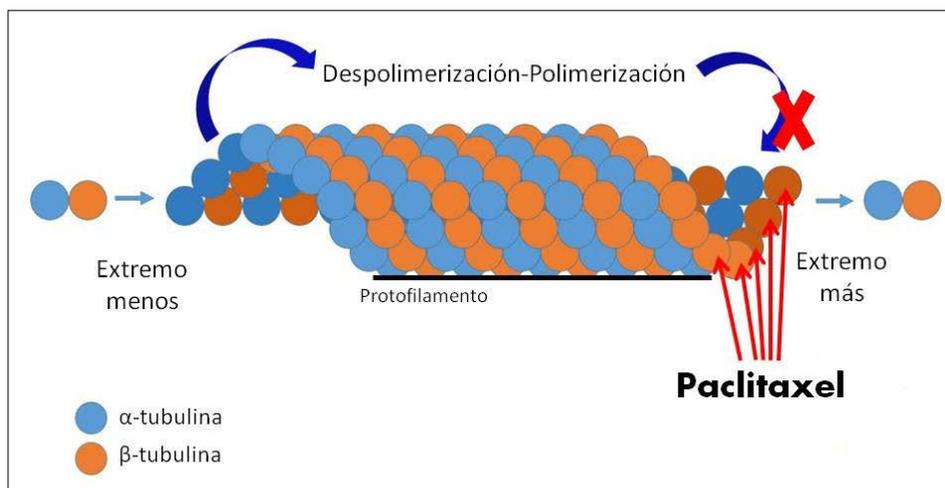


FIGURA 1: Mecanismo de acción de paclitaxel.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Nuestra hipótesis es que el tratamiento de las líneas celulares de cáncer de colon HT29 y HCT116 con paclitaxel induciría un aumento de la autofagia celular.

Así, los objetivos planteados fueron:

- Estudiar la citotoxicidad del paclitaxel sobre ambas líneas, observando la concentración mínima a la que es capaz de inhibir el crecimiento celular.
- Evaluar la expresión de seis proteínas relacionadas con la autofagia: P62, PKC ζ , mTOR, TRAF6, LC3 y Beclin 1 tras el tratamiento con paclitaxel.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. *Cultivos celulares*

Realizamos los cultivos celulares a partir de dos líneas celulares: la línea HCT116, procedente de tejido epitelial de colon humano asociado a carcinoma colorrectal; y la línea HT29, procedente de tejido epitelial de colon humano asociado a adenocarcinoma colorrectal. Fueron cultivadas en medio DMEM, suplementado con antibióticos (penicilina, estreptomycin) y 10% FBS, y en condiciones de 37°C y 5% CO₂.

3.2. *Ensayo MTT*

- Fundamento teórico:

Ensayo de viabilidad celular colorimétrico basado en la reducción del compuesto MTT, una sal de tetrazolio amarilla, por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en la célula metabólicamente activa (Mosmann, 1983).

Se origina un compuesto hidrofóbico denominado formazán, de color azul-violeta, que es soluble en DMSO. Su absorbancia a 540 nm es directamente proporcional a la cantidad de células viables (Mosmann, 1983).

- Procedimiento:

Se realizó un ensayo MTT por cada línea celular.

Cada ensayo se realizó en 4 placas de 24 pocillos, una por tiempo: 0h, 24h, 48h y 72h. Se estudiaron 6 concentraciones de paclitaxel: 1 nM, 5 nM, 10 nM, 20 nM, 35 nM y 50 nM a cada tiempo, y por triplicado (3 pocillos). En los 6 pocillos restantes, se situaron el blanco y el control negativo.

Se partió de una concentración de 10.000 células por pocillo (10.000 cel/mL de cultivo). Las placas se sembraron y se dejaron una noche en el incubador a 37 °C.

Posteriormente, se prepararon las diluciones de fármaco (en 10 mL de medio) y se añadieron en los correspondientes pocillos: excepto en los 6 primeros y en la placa de las 0 h.

Transcurrido el tiempo necesario, se añadió 110 µL de MTT diluido en PBS en cada pocillo, excepto en los 3 primeros (blanco). Se incubaron las placas durante 1 hora a 37 °C, se aspiró el sobrenadante, dejando en el fondo del pocillo los cristales de formazán, y se añadió 1 mL de DMSO por pocillo, diluyendo los cristales.

Se midió la absorbancia a 560 nm mediante un detector de microplacas UltraE-volution (Tecan®), que trasladó los datos al software Xflour 4®.

3.3. Western Blot

- Fundamento teórico:

Inmunoensayo que detecta proteínas específicas dentro de una muestra, pudiendo estimar su tamaño, confirmar la presencia de modificaciones post-traduccionales y ser utilizado para comparar cuantitativamente los niveles de proteínas entre muestras. Esta especificidad se logra mediante la utilización de un anticuerpo que reconoce y se une a un epítipo único de la proteína en estudio (Towbin *et al.*, 1979).

- Procedimiento:

Se analizó la expresión de seis proteínas: p62, PKC ζ , mTOR, TRAF6, LC3 y Beclin1. Para ello, previamente se trataron ambas líneas celulares (HT29 y HCT 116) con paclitaxel 10 nM a tiempo 0h, 24h, 48h y 72h.

- Extracción, cuantificación y preparación de proteínas

Se extrajeron las proteínas incubando el precipitado celular (obtenido de la centrifugación de las muestras) en un buffer de lisis al que se añadieron inhibidores de proteasas durante 1h en frío y agitación. Los extractos celulares se centrifugaron 10 minutos en frío y se recogieron los sobrenadantes, que contenían la mezcla de proteínas.

La cuantificación se llevó a cabo mediante el software Nanodrop®, calculándose los mL necesarios para utilizar siempre la misma cantidad de proteínas, en nuestro caso 200 μ g.

La preparación de las muestras se llevó a cabo mezclando el correspondiente volumen de proteínas con 2 μ L de tampón de lisis, dejándose 5 minutos en un baño seco a 100 °C. Con este proceso desnaturalizamos las proteínas hasta su estructura secundaria, posibilitando la posterior unión de los anticuerpos a sus epítipos.

- Electroforesis y transferencia

Las proteínas se separaron mediante una electroforesis vertical en geles de poliacrilamida a 150V durante una hora aproximadamente, junto a un marcador para poder identificarlas.

Posteriormente, las proteínas fueron transferidas a una membrana de PVDF utilizando un sistema de transferencia semi-húmeda.

- Bloqueo, incubación con los anticuerpos y revelado

Tras la transferencia, se bloquearon las membranas con una solución de leche en polvo al 5% en TBST durante una hora, para evitar uniones inespecíficas de los anticuerpos primario y/o secundario.

Tras el bloqueo, las membranas se incubaron con el anticuerpo primario específico de la proteína de interés durante una noche en agitación. Posteriormente, se realizaron tres lavados con TBST para eliminar el exceso de anticuerpo primario, y se incubaron de nuevo con el anticuerpo secundario HRP-conjugado (peroxidasa) correspondiente.

A continuación, y tras tres lavados con TBST, se llevó a cabo el revelado mediante una reacción de quimioluminiscencia que queda reflejada en una película fotosensible. Se expone la membrana a una mezcla de luminol y peróxido de hidrógeno: allí donde el anticuerpo secundario haya hibridado, la peroxidasa oxidará el luminol y quedará reflejado como una banda oscura en la película.

- Proteína control

Es necesaria una proteína control para cerciorarnos de la correcta carga de las muestras y de que todas ellas tengan la misma cantidad de proteína: así el aumento o disminución de su expresión solo será debido al resultado del tratamiento.

En nuestro caso se utilizó la β -Actina. Se llevó a cabo el mismo procedimiento sobre las mismas membranas, pero con los anticuerpos correspondientes a β -actina, y se revelaron.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. *Ensayo MTT*

A partir de los datos de absorbancia obtenidos, se calculó el porcentaje de supervivencia celular.

Como se observa, en las células control existe un crecimiento exponencial con el tiempo; mientras que en las muestras tratadas, el crecimiento se detiene y llega a disminuir claramente (concentraciones 20nM, 35nM y 50nM) en ambas líneas.

La concentración mínima a la que el fármaco es capaz de inhibir el crecimiento en ambas líneas es 10nM, pues es la primera concentración con la que el crecimiento celular disminuye a las 72h respecto al control. Este resultado es más evidente en la línea HT29. En la línea HCT116 parece que a 5nM empieza a disminuir el crecimiento, pero en otros estudios realizados en nuestro laboratorio se ha demostrado que la concentración mínima, también para esta línea, es 10nM.

Esta fue la concentración de paclitaxel utilizada para la detección de proteínas específicas de autofagia.

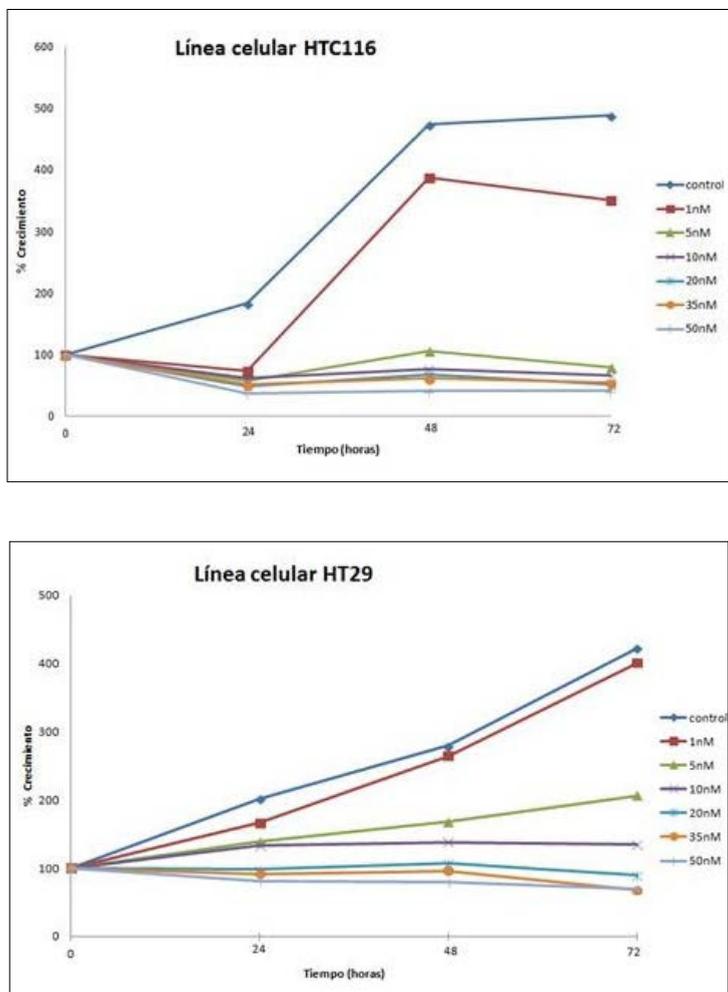


FIGURA 2: Evolución temporal del crecimiento celular de las líneas HTC116 y HT29 a distintas concentraciones de paclitaxel.

4.2. Western Blot

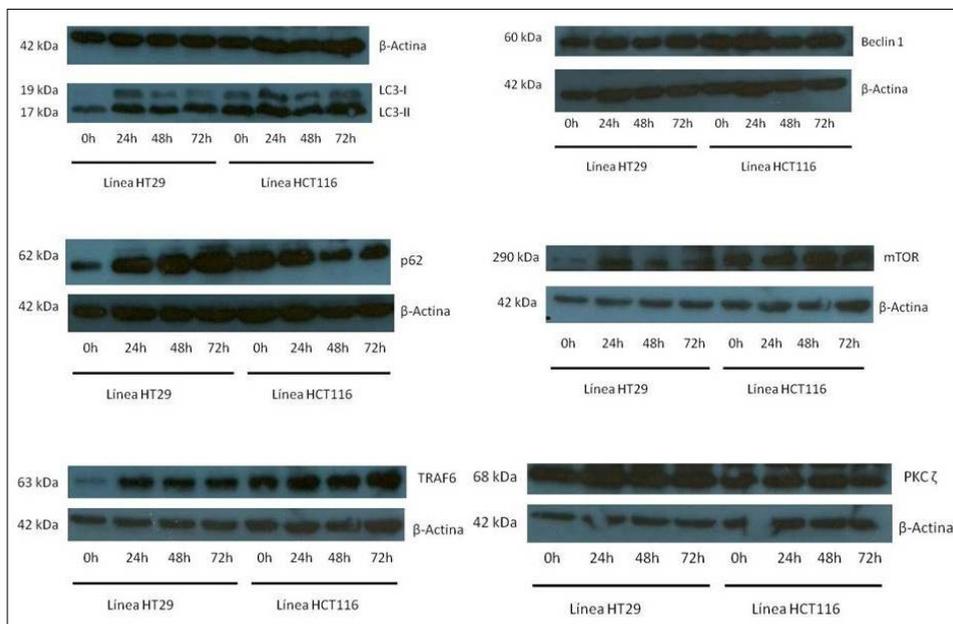


FIGURA 3: Revelado Western Blot de las proteínas p62, PKC ζ , mTOR, TRAF6, LC3 y Beclin1 de ambas líneas celulares tratadas con paclitaxel a diferentes tiempos.

• Proteína LC3

La proteína LC3 tiene dos isoformas: la forma citosólica (LC3-I), se conjuga con fosfatidiletanolamina, dando lugar a LC3-II, que se deposita en la membrana del autofagosoma y resulta esencial para su formación. Por ello, LC3 es considerada un marcador principal de autofagia (Xi *et al.*, 2011).

En nuestros resultados, se muestra un aumento de expresión de LC3-II a medida que aumenta el tiempo de exposición al fármaco, más evidente en la línea HT29. Esto indica la formación del autofagosoma, y por tanto, que se está produciendo la autofagia. A 24h, la expresión de LC3-I aumenta en ambas líneas, y luego disminuye: se está formando el autofagosoma; por lo que la expresión de LC3-II aumenta.

• Proteína Beclin 1

Beclin 1 tiene un papel central en la autofagia: interviene en la formación del autofagosoma, siendo fundamental en la formación del complejo responsable de

la nucleación de la vesícula autofágica. Un aumento en su expresión es indicativo de un aumento en la autofagia (Sinha, Levine, 2009).

Aunque mínimamente, se puede observar un aumento de expresión de Beclin 1 en ambas líneas, sobre todo a 72h de exposición, lo que indica un aumento de la autofagia.

- Proteína p62

Su importancia radica en sus múltiples dominios de interacción proteína-proteína: interviene en la regulación de múltiples procesos celulares. En concreto, se une tanto a proteínas dañadas y agregados de poliubiquitina, por oligomerización; como a LC3 en la membrana del autofagosoma, induciendo la formación del autolisosoma (Mathew *et al.*, 2009). Así, p62 se degrada cuando la autofagia se induce; y cuando p62 aumenta, la autofagia no se está produciendo.

En nuestros resultados, la proteína p62 se acumula en ambas líneas. En la línea HT29 se aprecia bien que a 0h prácticamente no existe proteína, y que esta se acumula a medida que aumenta el tiempo de exposición. Esto indica que no se está llevando a cabo la formación del autolisosoma, porque la proteína p62 no se está degradando.

- Proteína mTOR:

Este regulador del crecimiento celular es una proteína-quinasa que forma parte de una cascada de inhibición de la autofagia, impidiendo la formación del autofagosoma (Barbuti, Chen, 2015). Constitutivamente, mTOR activa una cadena de fosforilación que mantiene inhibida la autofagia; y cuando esta proteína es inactivada, la señal de inhibición desaparece y se forma el autofagosoma (Nguyen *et al.*, 2004).

A pesar de que nuestros resultados en la línea HT29 no son concluyentes; se observa que en la línea HCT116 no se producen cambios en la expresión de mTOR, lo que indicaría que la autofagia que se produce no está mediada por la inhibición de mTOR.

- Proteína TRAF6

TRAF6 interviene, entre otros procesos, en la cascada de inhibición de mTOR, junto con p62, por la cual se induce la autofagia (Linares *et al.*, 2013). Así, junto con p62, su expresión puede interpretarse como presencia de autofagia.

Observamos, en ambas líneas, una expresión sostenida de la proteína con la exposición al fármaco, lo que nos indica que está sucediendo la autofagia. Es relevante mencionar la diferencia a las 0h: en la línea HT29 no observamos expresión;

sin embargo en la línea HCT116 sí, por lo que podemos pensar que aquí también se está produciendo, aunque parece que en menor grado.

- Proteína PKC ζ :

Isoforma atípica de la proteína kinasa C que se une a un dominio específico de p62 y está presente en la cascada de activación del factor de transcripción NF- κ B, importante factor anti-apoptótico desregulado en células cancerosas. En la autofagia, se une a p62 para la formación del autolisosoma (Moscato, Diaz-Meco, 2009).

En nuestros resultados podemos observar que la expresión de PKC ζ no se modifica. La proteína no está siendo degradada porque no se está produciendo la formación del autolisosoma, lo que concuerda con los resultados obtenidos para la proteína p62.

Pensamos que, en presencia de paclitaxel, la autofagia se está produciendo, pero sufre un bloqueo a nivel de la formación del autolisosoma: el aumento de la proteína LC3-II indica la formación del autofagosoma; pero la acumulación de p62 indica que el autolisosoma no se está formando. Este resultado era esperable: el paclitaxel es un inhibidor de microtúbulos y, en la autofagia, los microtúbulos tienen mayor participación en la fusión del autofagosoma con el lisosoma. Por tanto, con la polimerización de los microtúbulos inhibida, no se está llevando a cabo esta fusión y el autolisosoma no se está formando.

5. CONCLUSIONES

Se puede concluir que:

- El paclitaxel disminuye el crecimiento celular a concentraciones 10nM y superiores.
- Se aumenta la expresión de las proteínas Beclin 1, LC3-II y p62, que nos indica una inducción de la autofagia, y su posterior bloqueo en el paso de formación del autolisosoma.

Siguiendo esta línea, se podría fácilmente comprobar este resultado mediante un ensayo de inmunofluorescencia. Así se podría dilucidar si este bloqueo que se produce en la autofagia contribuye al efecto citotóxico del paclitaxel.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ATCC®. LGC Standars [base de datos en Internet] 2014. [Actualizada en ¿?; acceso el 7 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www.lgcstandards-atcc.org/>.
- Barbuti A, Chen Z. Paclitaxel through the ages of anticancer therapy: exploring its role in chemoresistance and radiation therapy. *Cancers*. 2015; 7(4):2360-2371.
- Ficha técnica de Paclitaxel. Centro Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS – CIMA [base de datos en Internet] Madrid: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios [fecha de acceso: 13 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>.
- Galluzzi F *et al.* Autophagy in malignant transformation and cancer progression. *The EMBO Journal*. 2015; 34(4):856-880.
- Jiang X, Overholtzer M, Thompson C. Autophagy in cellular metabolism and cancer. *Journal of Clinical Investigation*. 2015; 125(1):47-54.
- Linares J, Duran A, Pasparakis M, Moscat J, Diaz-Meco M. K63 polyubiquitination and activation of mTOR by the p62-TRAF6 complex in nutrient-activated cells. *Molecular cell*. 2013; 51(3):283-296.
- Mathew R, Karp C, Beaudoin B, Vuong N, Chen G, Chen H, Bray K, Reddy A, Bhanot G, Gelinas C, DiPaola R, Karantza-Wadsworth V, Wuite E. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell*. 2009; 137(6):1062-1075
- Moscat J, Diaz-Meco M. p62 at the crossroads of autophagy, apoptosis and cancer. *Cell*. 2009; 137(6):1001-1004.
- Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983; 65(1-2):55-63.
- Nguyen D, Chen G, Reddy R, Tsai W, Schrupp W, Cole G, Schrupp D. Potentiation of paclitaxel cytotoxicity in lung and esophageal cancer cells by pharmacologic inhibition of the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B (Akt)-mediated signaling pathway. *The journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2004; 127(2):365-375.
- Peña-Sanoja M, De Sanctis J. Autofagia y respuesta inmunitaria. *Investigación clínica*. 2013; 54(3):1-13.
- Sinha S, Levine B. The autophagy effector Beclin 1: a novel BH3-only protein. *Oncogene*. 2009; 27(1):137-148.
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1979; 76(9):4350-4354.
- Xi G, Hu X, Wub B, Jiang H, Young C, Pang Y, Yuan H. Autophagy inhibition promotes paclitaxel-induced apoptosis in cancer cells. *Cancer Letters*. 2011; 307:141-148.

NORMAS DE PRESENTACIÓN DE ORIGINALES

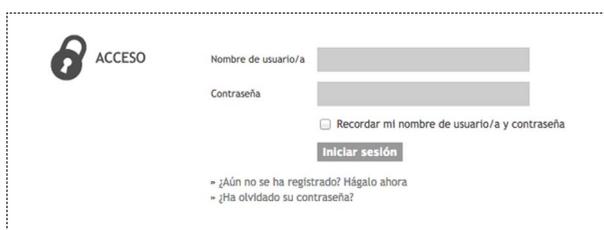
ENVÍOS EN LÍNEA A TRAVÉS DE «USAL REVISTAS»

Previamente habrá que estar registrado en FarmaJournal; si es así le pedirá el nombre de usuario/a y contraseña.

IR A INICIAR SESIÓN.

En caso contrario tendrá que registrarse:

IR A REGISTRO.



ACCESO

Nombre de usuario/a

Contraseña

Recordar mi nombre de usuario/a y contraseña

- ¿Aún no se ha registrado? Hágalo ahora
- ¿Ha olvidado su contraseña?

LISTA PRELIMINAR PARA LA PREPARACIÓN DE ENVÍOS

Como parte del proceso de envíos, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores/as aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

1. El envío no ha sido publicado previamente ni se ha sometido a consideración por ninguna otra revista (o se ha proporcionado una explicación al respecto en los Comentarios al editor/a).
2. El archivo de envío está en formato OpenOffice, Microsoft Word, RTF o WordPerfect.
3. Siempre que sea posible, se proporcionan direcciones URL para las referencias.
4. El texto tiene un interlineado sencillo, un tamaño fuente de 12 puntos, se utiliza cursiva en lugar de subrayado (excepto en las direcciones URL), y todas las ilustraciones, figuras y tablas se encuentran colocadas en los lugares del texto apropiados, en vez de al final.
5. El texto reúne las condiciones estilísticas y bibliográficas incluidas en Pautas para el autor/a, en Acerca de la revista.
6. En el caso de enviar el texto a la sección de evaluación por pares, se siguen las instrucciones incluidas en asegurar una evaluación anónima.

DECLARACIÓN DE PRIVACIDAD

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.

ÍNDICE

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

- Camino HERNÁNDEZ IGLESIAS; David García González; Jonás Samuel PÉREZ BLANCO; Ana M.^a MARTÍN SUÁREZ, *Monitorización de Digoxina en pacientes ancianos* 21-29
- Alba MARTÍN; R. Laura VICENTE-VICENTE, *Consumo de tabaco en estudiantes de farmacia. Evaluación mediante el test Fagerström* 31-40
- Ana María MATEOS TEMPRANO; Rogelio GONZÁLEZ SARMIENTO, *Efecto del taxol sobre la autofagia en células tumorales de colon* 41-51
- Luis MALPICA ARCE; Virginia MARTÍNEZ CALLEJO, *Control de calidad en el llenado de carros de dosis unitarias en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante los meses de noviembre y diciembre de 2015* 53-59
- Cecilia MARTÍN; Eduardo ARNÁEZ; Lucía VELASCO, *Efectividad y seguridad del tratamiento con pirfenidona en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI)* 61-71
- Jacobo CRISTELLYS; Ramona MATEOS, *Valoración del uso de los inhibidores de la bomba de protones en la población* 73-84
- Aurora PÉREZ; Rosa HERMOSA; Enrique MONTE, *Actividades del biocontrol de Trichoderma frente a Ascomicetos fitopatógenos* 85-93
- Alicia CASO; Ramona MATEOS, *El efecto Foehn sobre la mortalidad en Asturias* 95-110
- Beatriz FELIZ GARCÍA; Felice MUSSICO; Raquel ÁLVAREZ LOZANO, *Clobetasol propionato en el tratamiento de la psoriasis en placas* 111-120
- Victoria LÓPEZ TEJERO; María DELGADO-ESTEBAN; Juan P. BOLAÑOS, *Estudio de la caspasa-3 en un modelo experimental de preconditionamiento isquémico neuronal en cultivo* 121-131

CONFERENCIAS ACADEMIA DE FARMACIA DE CASTILLA Y LEÓN

- Alfonso DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ; Paulo TEIXEIRA DA SILVA, *Medicamentos falsificados. Todo lo que debemos saber* 135-136
- Beatriz de PASCUAL; Teresa FERNÁNDEZ, *La química computacional en el descubrimiento de nuevos fármacos* 137-138
- M.^a Jesús PEÑA DIEGO, *Dietas de adelgazamiento: ¿son eficaces y seguras?* ... 139-140
- José Luis LÓPEZ PÉREZ, *El modelado molecular: una herramienta para la mejora y obtención de nuevos fármacos* 141-142

PONENCIA FARMAFORUM

- Fernando CALVO BOYERO, *Proyecto piloto de investigación Concilia medicamentos* 145-147