

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 ascomicetos 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 ascomicetos 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: Jáser 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 HUGE 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 HUGE: $C = 0,281 + 0,029 \times HUGE + 5,38 \times Dosis$ 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 HUGE. 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 HUGE; 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 MT^T 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 polimedicados 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 wearersensitive 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, transitory 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-D-aspartate (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 medium, 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 findings 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

ESTUDIO DE LA CASPASA-3 EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO NEURONAL EN CULTIVO

Study of Caspase-3 in an Experimental Model of Ischemic Preconditioning in Neuronal Culture

Victoria LÓPEZ TEJERO; Juan P. BOLAÑOS

Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)/Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG/CSIC-USAL) C/ Zacarías González 2

María DELGADO-ESTEBAN

Funded by grants from the Instituto de Salud Carlos III (Miguel Servet I CP0014/00010; RD12/0014/0007); FEDER (European regional development fund).

Correo electrónico: mdesteban@usal.es (619021929)

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.

ABSTRACT: In humans, transient 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-D-aspartate (NMDA; 20 μ M 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 medium, 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 findings 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.

INTRODUCCIÓN

El ictus es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo desarrollado. Su aparición se incrementa a partir de los 55 años y constituye la primera causa de invalidez en adultos, siendo la demencia subsiguiente un problema de salud importante. Además, alrededor de un 10% de muertes son debidas a esta patología en países industrializados. El 80% de ictus son isquémicos y, por tanto, derivan de la falta de aporte sanguíneo adecuado a un área cerebral; el 20% restante son hemorrágicos.

Se ha demostrado que pequeños ataques isquémicos transitorios (AIT) conducen a una resistencia llamada tolerancia isquémica, la cual produce un mejor pronóstico funcional de las neuronas del paciente. La tolerancia isquémica cerebral es un fenotipo de protección transitorio provocado por la aplicación de estímulos subletales (hipoxia, productos químicos, etc.) que pueden aumentar la resistencia de células o tejidos frente a un evento isquémico posterior más riguroso. Este estado de adaptación inducido por preconditionamiento es un fenómeno conservado que se observa en todos los tipos celulares y gracias a él se asegura la adaptación y supervivencia frente a factores de estrés perjudiciales.

El mecanismo molecular por el cual se induce esta tolerancia ha sido extensamente estudiado en varios modelos animales, pero aún no es del todo conocido. Recientemente, se ha demostrado que la apoptosis mitocondrial desempeña un papel importante en los procesos patológicos del SNC y, más concretamente, se ha demostrado que la activación de la familia de proteasas denominadas caspasas está implicada en la muerte celular y es importante para el proceso apoptótico asociado a la isquemia. Entre ellas se encuentra la Caspasa-3, miembro de la sub-familia CED-3 de las caspasas, que interviene en la mediación nuclear de la apoptosis, incluyendo la condensación cromática y la fragmentación de DNA.

OBJETIVO

Estudiar la proteína Caspasa-3 en un modelo de preconditionamiento isquémico en cultivo primario de neuronas corticales de ratón.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivos primarios de neuronas corticales de ratón

Para la realización de los cultivos celulares se utilizó un protocolo puesto a punto en el grupo de investigación donde se desarrolló el TFG presente y que consiste, en primer lugar, en la extracción de los cerebros de embriones de ratón

de 14,5 días de gestación. Posteriormente el tejido se tripsiniza y se procesa para la obtención de los neuroblastos, que se mantienen en un medio de cultivo específico para crecimiento y diferenciación neuronal denominado Neurobasal (GIBCO, Invitrogen).

La suspensión de células disociadas se sembró a una densidad de 180.000 células/cm² en Placas de cultivo previamente tratadas con Poli-D-Lisina, con objeto de favorecer la adhesión celular. Además, el medio de cultivo Neurobasal se enriqueció con el suplemento B27 al 2%, 2mM de glutamina y en presencia de glucosa de 5 mM.

Las células se incuban a 37 °C en atmósfera humidificada con un 5% de CO₂ y cada tres días se cambia la mitad del medio de cultivo. Los neuroblastos se diferencian a neuronas funcionales durante los siguientes nueve o diez días in vitro.

Modelo de preconditionamiento isquémico cerebral (IPC) e isquemia experimental (OGD)

Tras 9-10 días en cultivo, las neuronas se incubaron en cuatro condiciones diferentes:

- 1) Normoxia: las neuronas se incubaron en tampón Hanks a 37 °C en presencia de glucosa.
- 2) IPC: las neuronas se expusieron a concentraciones subtóxicas de N-Metil-D-Aspartato (NMDA) 20mM en presencia de glicina 2mM durante dos horas. El experimento se realiza en medio Hanks con glucosa a 37 °C.
- 3) OGD: en este caso, las neuronas se incubaron en tampón Hanks en ausencia de glucosa, a 37 °C y previamente gaseada con 95% N₂/5% CO₂ durante 5 minutos, lo que produce una concentración del 1% de O₂ en el medio. Las neuronas se incuban en condiciones de OGD durante 90 minutos; tal y como se describió previamente.
- 4) IPC+OGD: las neuronas se incuban como en la condición de IPC y posteriormente se someten a isquemia experimental.

Tras 24 horas de reoxigenación en medio Neurobasal, se analizó la actividad de caspasa-3 y los niveles de expresión de esta proteína en su forma activa, mediante ensayos fluorimétricos y de inmunofluorescencia respectivamente.

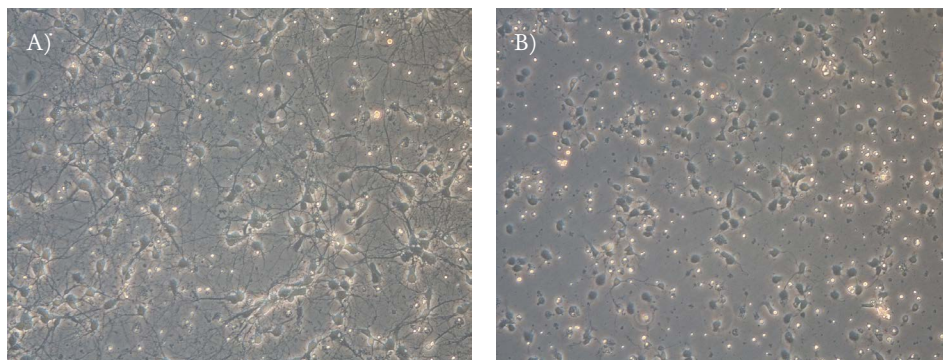
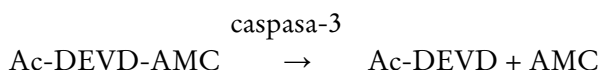


FIGURA 1: Microfotografías de campo claro correspondientes en A) a neuroblastos de 3 días en cultivo y en B) neuronas de 9 días en cultivo donde se aprecian las neuritas características de neuronas diferenciadas. Imágenes realizadas en un microscopio invertido Nikon Eclipse.

Determinación de la actividad de la proteína Caspasa-3 mediante fluorimetría

El ensayo fluorimétrico de Caspasa-3 (SIGMA) se basa en la hidrólisis del péptido sustrato «acetil-Asp-Glu-Val-Asp-7-amido-4-metil-cumarina» (Ac-DEVD-AMC) por caspasa-3, liberándose una sustancia fluorescente llamada 7-amino-4-metilcumarina (AMC).



Las longitudes de onda de excitación y emisión son 360nm y 460nm respectivamente.

Para realizar la medida de la actividad de la Caspasa-3 mediante el kit de ensayo fluorimétrico se:

- Retiró el medio de cultivo.
- Lavó una vez con PBS.
- Anadió EDTA durante 1 minuto para despegar las células y se recogieron en *tubos limpios*.
- Añadió *buffer* de lisis.
- Incubó en hielo durante 20 minutos.
- Centrifugó y transfirió el sobrenadante a tubos limpios.
- En total se prepararon los siguientes pocillos y se leyó la fluorescencia cada 10 minutos durante un total de 50 minutos a 37 °C:

- Muestra (sobrenadante con sustrato).
- Blanco (*Assay Buffer* con sustrato).
- Caspasa-3 (*Assay buffer* con sustrato y Caspasa-3).
- Caspasa-3 con inhibidor (*Assay buffer* con sustrato, Caspasa-3 e inhibidor).
- Paralelamente a las cuatro condiciones descritas anteriormente (Nx, IPC, OGD e IPC+OGD), las neuronas se incubaron en presencia de 1mM de etopósido durante 24 h (inductor del proceso apoptótico), como control positivo de activación de Caspasa-3.
- Recta patrón con concentraciones conocidas de AMC en *Assay Buffer*
- Posteriormente, se extrapolaron los resultados de fluorescencia obtenidos en base a la recta patrón que se realizó usando concentraciones conocidas de AMC *versus* fluorescencia y se calcularon las concentraciones de AMC.

Los cálculos de la actividad de Caspasa-3 se expresaron en:

$$\text{nmol AMC/min/ml generados} = \frac{\text{nmol} \times D}{T \times V}$$

Donde:

- D: factor de dilución
- T: tiempo
- V: volumen

Determinación de la expresión de Caspasa-3 activa mediante inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia es una técnica empleada para localizar antígenos celulares mediante anticuerpos marcados con fluorocromos. Se basa en la gran especificidad y alta afinidad que tienen los anticuerpos para reconocer a moléculas antigénicas y unirse a ellas. Además, la conjugación o combinación de los anticuerpos con sustancias fluorescentes permite detectar cantidades ínfimas de antígenos, debido a que estos fluorocromos emiten radiación cuando se les excita con energía electromagnética de una determinada longitud de onda.

Previamente a la realización del cultivo destinado para el ensayo, las placas se trataron con una solución de Fibronectina y Poli-L-Ornitina sobre cristales estériles.

Tras la incubación de las neuronas bajo las cuatro condiciones descritas anteriormente, se prepararon las muestras sobre portaobjetos como se explica a continuación:

- Retirar el medio de cultivo.
- Lavar con PBS.
- Fijar las células con Paraformaldehído.
- Incubar con glicina para eliminar la autofluorescencia causada por las uniones inespecíficas de los anticuerpos marcados (señal de fondo o *background*).
- Permeabilizar las células con PBS y Tritón para permitir que penetren los anticuerpos y la solución de bloqueo.
- Incubar en Solución de Bloqueo para saturar los posibles sitios de unión inespecífica.
- Incubar con los anticuerpos primarios durante toda la noche a 4 °C.
- Lavar e incubar con los anticuerpos secundarios.
- Incubar con DAPI, fluorocromo con alta afinidad por el DNA.

La utilización de varios tipos de anticuerpos marcados en una misma preparación se denomina inmunodetección múltiple y tiene el objetivo de detectar varias moléculas de un mismo tipo celular [8]. En este caso las moléculas a detectar fueron las proteínas Caspasa-3 y Map-2 (proteína del citoesqueleto utilizada como marcador neuronal específico). Los anticuerpos primarios utilizados fueron anti-Caspasa-3 (conejo) y anti-Map-2 (ratón), ambos de la casa comercial Sigma. Los anticuerpos secundarios empleados fueron anti-conejo marcados con el fluorocromo Cy3 (emiten radiación de color rojo) y anti-ratón, marcados con el fluorocromo Cy2 (emiten radiación de color verde), ambos de la casa comercial Jackson.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El preconditionamiento isquémico previene del aumento en la actividad de la Caspasa-3 inducida tras la isquemia experimental

La determinación de la actividad de Caspasa-3 se realizó en muestras procedentes de 4 cultivos neuronales y, cada muestra procedente de las cuatro condiciones descritas anteriormente y se analizó por triplicado cada una de ellas.

Los valores se expresaron como medias $\pm$ error estándar de la media (S.E.M.). La significatividad se determinó mediante el test «t de *Student*» y en todos los casos un valor de p menor de 0,05 se considera estadísticamente significativo.

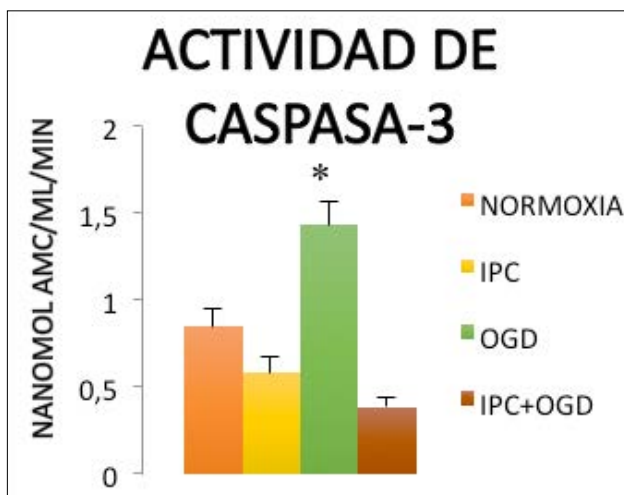


FIGURA 2 Actividad de la Caspasa-3 analizada mediante fluorimetría.

Como se observa en la figura correspondiente a la actividad de Caspasa-3, la isquemia experimental produce un aumento significativo en la actividad de la Caspasa-3 respecto a la condición de normoxia con un $*p < 0,05$.

Además, el IPC previene el aumento en la actividad de Caspasa-3 inducida por la isquemia, ya que hay diferencias estadísticamente significativas entre la actividad de Caspasa-3 de la condición de IPC+OGD *versus* OGD con un $\#p < 0,05$.

Por lo tanto, estos resultados sugieren que el preconditionamiento isquémico genera una respuesta endógena que previene del aumento en la actividad de Caspasa-3 inducida por un daño isquémico posterior.

El preconditionamiento isquémico previene del aumento en la expresión de la Caspasa-3 activa

Una vez se comprobó que la actividad de Caspasa-3 está implicada en el mecanismo de preconditionamiento isquémico utilizado en neuronas corticales de ratón, nos propusimos estudiar los niveles de expresión de dicha proteína bajo las 4 condiciones experimentales anteriormente descritas.

Así, las microfotografías de neuronas se obtuvieron con un microscopio confocal «Spinning Disk» Roper Scientific con microscopio Olympus IX81, cuyo cabezal confocal es CSU-X1 de Yokogawa. Las imágenes se analizaron mediante el programa Metamorph Premier en una escala de 50mm.

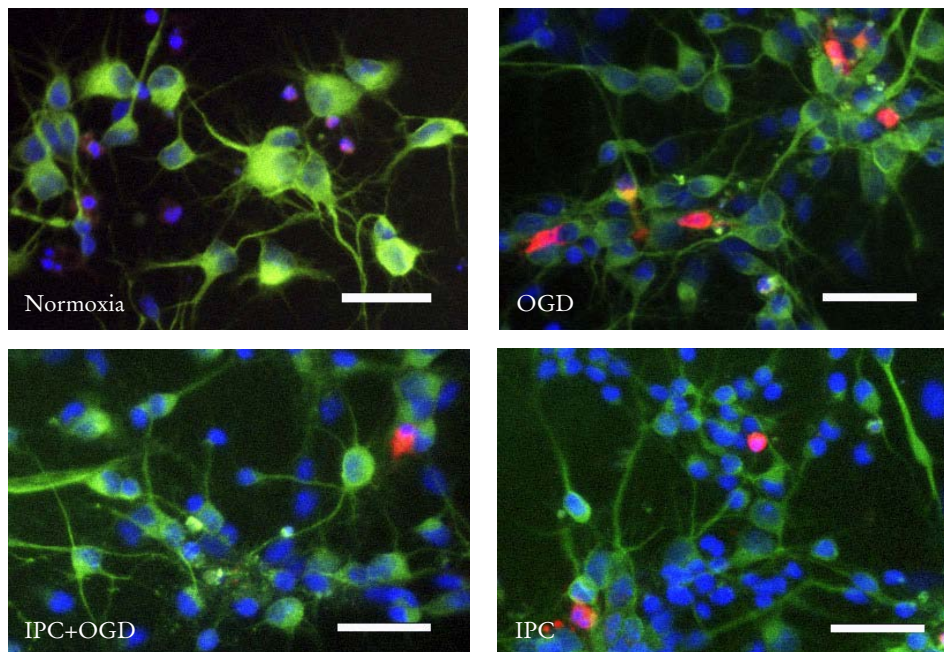


FIGURA 3 El preconditionamiento isquémico previene del aumento en la expresión de Caspasa-3 activa tras la isquemia experimental.

Las microfotografías de neuronas incubadas bajo las condiciones de normoxia, IPC, OGD e IPC+OGD muestran que la OGD aumenta los niveles de expresión de la proteína Caspasa-3 activa, hecho que corrobora que la proteína Caspasa-3 puede ser utilizada como marcador de daño neuronal.

Además, se observa que, en las neuronas, la condición de IPC+OGD previene del aumento de la expresión de Caspasa-3 activa tras la isquemia (OGD).

Estos resultados apoyan los obtenidos recientemente en el grupo de investigación donde se desarrolló el TFG, donde se observa que, realizando el mismo modelo de preconditionamiento isquémico neuronal y en las mismas condiciones descritas en la memoria presente, el preconditionamiento isquémico previene de la muerte por apoptosis inducida por la isquemia (Fig. 4).

Por lo tanto, el preconditionamiento isquémico es capaz de activar mecanismos endógenos que evitan la activación de la Caspasa-3 activa y, con ello, la muerte neuronal por apoptosis asociada al daño isquémico subsiguiente.

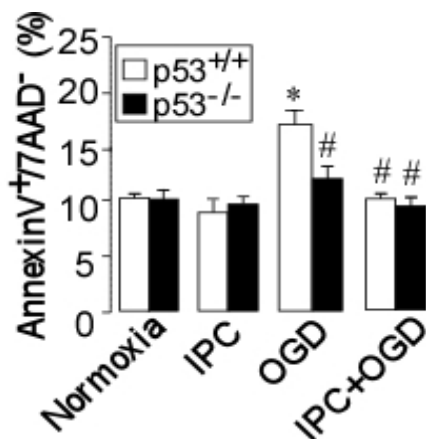


FIGURA 4. Análisis de la muerte neuronal por apoptosis mediante citometría de flujo.

Para la realización de este experimento, las neuronas corticales en cultivo primario procedentes de ratón *Wild Type* (p53+/+) o *Knockout* (p53-/-) para p53, se incuban en las cuatro condiciones experimentales anteriormente descritas (Normoxia, IPC, OGD e IPC+OGD). Se observa cómo en las neuronas p53+/+ tras 4 horas de reoxigenación, la OGD induce un aumento en la muerte neuronal por apoptosis respecto a la condición control (Normoxia) y que el IPC previene de la apoptosis tras la isquemia (IPC+OGD). Sin embargo, las neuronas (p53-/-) son más resistentes a la OGD respecto a las neuronas control (*p<0.05 respecto a la Normoxia; #p<0.05 respecto a la OGD en neuronas p53+/+).

CONCLUSIÓN

El modelo de isquemia experimental (OGD) utilizado en el cultivo primario de neuronas corticales de ratón produce el aumento en la actividad de Caspasa-3 y en la expresión de esta respecto a las neuronas sometidas a normoxia. Estos resultados apoyan la posible utilización de la proteína Caspasa-3 activa como marcador de muerte neuronal asociado al daño isquémico.

El modelo de preconditionamiento isquémico utilizado en neuronas corticales de ratón previene el aumento en la actividad de la Caspasa-3 y en la expresión de Caspasa-3 activa inducida por la isquemia experimental; lo que apoya la idea de que la Caspasa-3 activa pueda ser considerada como diana molecular asociada a la tolerancia isquémica.

BIBLIOGRAFÍA

- Almeida A, Delgado-Esteban M, Bolaños JP, Medina J. Oxygen and glucose deprivation induces mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurones but not in astrocytes in primary culture. *J Neurochem.* 2002; 81(2):207-217.
- Fernández-Gómez F, Hernández F, Argandoña L, Galindo M, Segura T, Jordán J. Farmacología de la neuroprotección en el ictus isquémico agudo. *Rev Neurol.* 2008; 47(5):253-260.
- Gomez-Sanchez J, Delgado-Esteban M, Rodriguez-Hernandez I, Sobrino T, Perez de la Ossa N, Reverte S *et al.* The human Tp53 Arg72Pro polymorphism explains different functional prognosis in stroke. *JEM.* 2011; 208(3):429-437.
- Kirino T. Ischemic Tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2002; 22(11):1283-1296.
- Sánchez-Pérez M, Álvarez Barrientos A. Inmunología aplicada y técnicas inmunológicas. 1ª ed. Madrid: Síntesis; 1998.
- Soriano F. Preconditioning Doses of NMDA Promote Neuroprotection by Enhancing Neuronal Excitability. *J. Neurosci.* 2006; 26(17):4509-4518.
- Técnicas Histológicas. 5-Tinción: inmunocitoquímicas. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. Vigo: departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Universidad de Vigo; 2003 [actualizo 03 mar 2015; citado 03 may 2016]. Disponible en: <http://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-inmuno.php>
- Vasdekis S, Athanasiadis D, Lazaris A, Martikos G, Katsanos A, Tsivgoulis G *et al.* The role of remote ischemic preconditioning in the treatment of atherosclerotic diseases. *Brain Behav.* 2013; 3(6):606-616.
- Vijayakumar T, Sangwan A, Sharma B, Majid A, GK R. Cerebral Ischemic Preconditioning: the Road So Far... *Mol Neurobiol.* 2015; 53(4):2579-2593.

NORMAS DE PRESENTACIÓN DE ORIGINALES

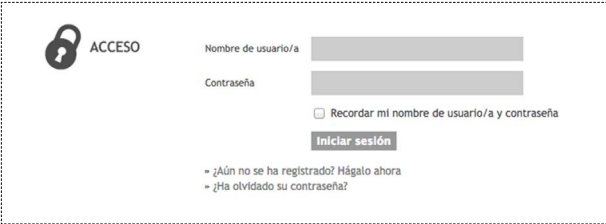
ENVÍOS EN LÍNEA A TRAVÉS DE «USAL REVISTAS»

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.



El formulario de acceso está encerrado en un recuadro con una línea punteada. A la izquierda hay un icono de una cerradura y la palabra "ACCESO". A la derecha hay dos campos de texto para "Nombre de usuario/a" y "Contraseña". Debajo de estos campos hay un checkbox con el texto "Recordar mi nombre de usuario/a y contraseña". En la parte inferior del formulario hay un botón que dice "Iniciar sesión". Debajo del botón hay dos enlaces: "¿Aún no se ha registrado? Hágalo ahora" y "¿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, <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
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
--	---------