

OTRAS ACTUACIONES FINANCIADAS CON FONDOS FEDER

ACTUACIONES EN MATERIA DE INVESTIGACIÓN SOBRE EL SARS-COV 2 Y LA ENFERMEDAD COVID-19 FINANCIADO CON LOS RECURSOS REACT-UE DEL FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL.

La Universidad Autónoma de Madrid es beneficiaria, a través de un Convenio firmado con la Comunidad de Madrid, de una subvención directa con cargo a los recursos REACT-UE del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), dentro del Eje Prioritario 1 (potenciar la investigación, el desarrollo tecnológico y la innovación), Objetivo Específico OE REACT-UE 1 (productos y servicios para los servicios de salud) y línea de actuación relativa a los proyectos de I+D+i en materia de respuesta a la COVID-19, para la ejecución de proyectos de investigación aplicada que permitan adquirir y desarrollar nuevos conocimientos y técnicas, o bien emplear los ya existentes, para la creación de nuevos productos, procesos o servicios con los que hacer frente, con un enfoque multidisciplinar, tanto a la pandemia de COVID-19 como a futuras pandemias.

A través de este convenio se ha financiado una línea de proyectos de I+D y una línea de infraestructuras. La línea de proyectos de I+D se compone de los siguientes proyectos:

Proyecto 1: “Plataformas y modelos preclínicos para el abordaje multidisciplinar en COVID-19 y en respuesta a futuras pandemias - COVTRAVI-19-CM”

El proyecto enfocado a avances en el Conocimiento, Tratamiento y Vigilancia de la infección por SARS-CoV-2. Se han estudiado algunos de los posibles mecanismos patogénicos provocados por el virus principalmente mecanismos inflamatorios y vasculares, así como las complicaciones cardiovasculares y de fertilidad y se han desarrollado modelos preclínicos de patogénesis. Estudio de COVID persistente. Principalmente ha contribuido al desarrollo de nuevos antivirales y viricidas, (descubrimiento, caracterización, producción) de muy diversas estructuras químicas. Ensayo preclínico de fármacos candidatos en modelos preclínicos de COVID. Virus emergentes asociados a patologías hematopoyéticas. Se han desarrollado estrategias de vigilancia/emergencia de patógenos, con objeto de entender con mejor las consecuencias de esta pandemia y mejorar la respuesta a futuras pandemias, que serán muy probablemente causadas por zoonosis transmisibles.

La infección por SARS-CoV-2 puede causar importantes alteraciones cardiovasculares, metabólicas, endocrinas e inflamatorias, aunque quedan muchos aspectos de su etiopatología por determinar. Un mejor conocimiento de todos esos procesos es esencial para entender la compleja patogenia de esta enfermedad, las posibles causas del COVID persistente y para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Hemos validado modelos experimentales en relación con esas alteraciones que serán útil para conocer las características específicas de las alteraciones por COVID-19 y el desarrollo de

tratamientos específicos para COVID-19 agudo o persistente. El descubrimiento de nuevos antivirales puede ayudar a un mejor tratamiento de posibles reinfecciones con variantes que escapen a vacunación y nuevas pandemias virales. La prevención y vigilancia metagenómica y las tecnologías implementadas contribuirá a entender mejor las dinámicas de cooperación entre la población natural de virus linfo-hematopoyéticos y virus humanos emergentes y proporcionará una evaluación del riesgo de pandemias a través de la detección de zonas y factores de riesgo asociados a potenciales zoonosis.

Entre los resultados obtenidos, se han descrito:

- a) Las alteraciones moleculares y metabólicas derivadas de la interacción SARS-CoV-2-mitocondrias in vitro y la contribución de las mitocondrias a la infección por SARS-CoV-2, patogénesis de COVID-19 en órganos afectados, perfil de citoquinas y activación del sistema inmune en modelos murinos de infección.
- b) Bases moleculares de la disfunción endotelial y la respuesta inflamatoria en el corazón causadas por el SARS-CoV-2, esenciales para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.
- c) Alteraciones de la fertilidad derivadas de la infección por SARS-CoV-2.
- d) Capacidad inmunomoduladora de varios agonistas parciales de los receptores TLRs que han demostrado capacidad terapéutica en el modelo de ratón transgénico K18-hACE2.
- e) Diseño, producción e identificación de compuestos fitoquímicos antivirales; desarrollo de antivirales de amplio espectro basados en el bloqueo de ribosomas; polímeros aniónicos como antivirales y desarrollo de antivirales de amplio espectro basados en NDTs en plataformas microfluídicas con capacidad de clasificación por fluorescencia (on-chip sorting).
- f) Prevención y vigilancia metagenómica. La diversidad microbiana asociada a los animales portadores de patógenos humanos emergentes potenciales y la diversidad de los virus. Análisis genético de virus emergentes asociados a patologías hematopoyéticas humanas.

A pesar de realizar un primer gran screening de actividad antiviral con todos los compuestos de partida, solo unos pocos consiguieron superar el umbral definido para ser compuestos candidatos. Sin embargo, se ha descrito varios con una ventana terapéutica muy amplia que, tras futuros ensayos clínicos, podría terminar siendo un posible tratamiento contra la COVID-19 y otros virus. El trabajo constituye, probablemente, el primer ensayo masivo in vitro de productos de origen natural (plantas, legumbres y setas) con actividades beneficiosas para COVID-19, futuras pandemias, o frente a procesos relacionados, como es la respuesta inflamatoria. Los resultados alcanzados han permitido realizar los primeros avances en la investigación sobre suplementos alimenticios antivirales. El desarrollo de este tipo de productos para la nutrición personalizada de enfermos de COVID-19 u otros virus, así como para aliviar las secuelas de la enfermedad, es de gran interés para contribuir a la salud de la sociedad, con creciente interés en el sector de la industria de los nutracéuticos y complementos alimenticios.

Proyecto 2: “Regulación de la respuesta inflamatoria y dinámica de la inmunidad en pacientes COVID-19 y vacunados de diferentes poblaciones de riesgo. Nuevas aproximaciones terapéuticas - INMUNOVACTER-CM”

El proyecto se ha llevado a cabo merced a la intensa colaboración entre los miembros del consorcio integrado por cinco hospitales Universitarios de la Comunidad de Madrid (Hospital Universitario de La Paz, Hospital Universitario de La Princesa, Hospital Clínico San Carlos, Hospital Universitario 12 de Octubre y Hospital Universitario Ramón y Cajal). La cooperación entre los distintos grupos investigadores ha dado lugar a la generación de conocimiento sumamente relevante para la comprensión de los mecanismos patogénicos de la COVID-19, y la respuesta inmunitaria a la vacunación contra SARS-CoV-2 en la población general y en grupos de especial riesgo. Así, se han identificado nuevas dianas terapéuticas útiles para el diseño de tratamientos frente a la inflamación crónica y el daño tisular en las fases avanzadas de la COVID-19, y se ha obtenido información esencial para el desarrollo y mejora de estrategias de inmunización, así como para la optimización de las pautas de tratamiento inmunosupresor en distintos grupos de pacientes.

Dentro del estudio de las respuestas implicadas en inflamación crónica y daño tisular, se han caracterizado las respuestas innatas mieloides y se ha analizado el fenotipo de las células de respuesta innata NK, así como los mecanismos de inmunidad adaptativa específica frente al SARS-CoV-2. Por otra parte, se ha identificado una firma específica de miRNA en plasma que permite clasificar con altos niveles de sensibilidad y especificidad los pacientes de COVID-19 y neumonía adquirida en la comunidad. Asimismo, se han encontrado diversas proteínas y factores solubles en suero que se expresan diferencialmente en ambos grupos de pacientes y entre pacientes con COVID-19 leve y grave.

Como resultado de la caracterización de mecanismos específicos de respuesta frente al SARS-CoV-2, se ha iniciado el desarrollo de una nueva terapia biológica frente al virus, consistente en el empleo de linfocitos T de memoria específicos frente al virus, así como exosomas/microvesículas liberadas por dichas células.

En el estudio de la respuesta vacunal en individuos sanos, se han identificado las variaciones en los patrones de especificidad de la respuesta celular frente a distintos componentes del virus, y se ha determinado la respuesta inmunitaria adaptativa tras la vacunación específicamente en niños y ancianos. Se ha analizado además la respuesta a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en grupos específicos de pacientes potencialmente inmunocomprometidos (pacientes con trasplante de órgano sólido y precursores hematopoyéticos, con esclerosis múltiple y artritis reumatoide en tratamiento distintos agentes inmunomoduladores, pacientes con infección por VIH, sujetos adultos con Síndrome de Down, y pacientes con errores innatos de la inmunidad). Los resultados obtenidos han proporcionado información acerca de los mecanismos de respuesta inmunitaria en individuos con distintas formas de inmunodeficiencia, de gran utilidad para el diseño de estrategias vacunales y el establecimiento del tratamiento inmunomodulador en estos pacientes.

Proyecto 3: “Viral S protein-ACE2 interactions: cell damage, protection and prognosis in the cardiovascular complications of COVID-19 - SPACE2-CV-COVID-CM”

Objetivos: Estudiar los efectos directos tóxicos del complejo S/S1-ECA2 bajo ambiente proinflamatorio en el sistema cardiovascular, inmune y renal. Además, analizar su potencial patrón de expresión génica sobre la susceptibilidad y permisividad al coronavirus (genes SCARF), y el impacto de variantes de la ECA2 en la señalización celular asociada. Adicionalmente, evaluar el potencial papel protector de la Angiotensina-(1-7) sobre la expresión de receptores para el coronavirus, como la ECA2 o basigina, y de genes SCARF bajo condiciones proinflamatorias. Finalmente, validación de las variantes de ECA2 como herramientas predictivas de evolución del paciente con COVID19 y sus complicaciones respiratorias y cardiovasculares asociadas.

Resultados: Analizamos la expresión de genes, como ECA2 o TMPRSS2 relacionados con la interacción y entrada del coronavirus en el sistema cardiovascular, inmune y renal humano, bajo condiciones proinflamatorias, observando variaciones según los tipos celulares. La proteína spike (S) del coronavirus promueve el cebado y la activación del complejo de la inmunidad innata inflamasoma NLRP3, con la consiguiente liberación de IL-1b madura y transcripción de quimioquinas inflamatorias como MCP1, IL6 y RANTES, y genes profibróticos (fibronectina 1 y α -SMA). En monocitos (PBMNC), pero no en células endoteliales (HUVEC), estos efectos están mediados por TLR4, como receptor alternativo a ECA2 para la interacción con la proteína S. Por otro lado, cuantificamos la inducción de factor tisular (TF) por parte de los monocitos y de moléculas de adhesión, y de ICAM-1 y VCAM-1 por parte de las HUVEC, además del aumento en la síntesis y liberación de factores de coagulación como factor vWillebrand (vWF), factor VIII (FVIII) o TF. La proteína S indujo también senescencia celular prematura medida como actividad SA- β -galactosidasa y aumento de los niveles de histona gH2AX o proteína p21, efecto que fue compartido con la IL-1b. Además, la proteína S disminuyó la proteína protectora anti-inflamatoria y anti-senescente klotho, tanto en HUVEC como en células renales (HK2). Por otro lado, hemos observado la sobreexpresión de genes SCARF (LY6E y TOP3B) en células expuestas a proteína S y a citoquinas inflamatorias. Esto mismo efecto se confirmó en el riñón, la aorta, el corazón y el pulmón de un modelo en ratones de enfermedad renal crónica que cursa de fibrosis tubulointerstitial extensa, atrofia tubular, formación de cristales y calcificación de los vasos, apuntando a una mayor susceptibilidad al SARS-CoV2 en la enfermedad renal.

En cuanto potenciales fármacos protectores, tanto la Ang-(1-7) como la proteína klotho, cuya expresión se induce por Ang-(1-7), frenaron la senescencia celular inducida por la proteína S o por IL-1b en HUVEC. En células HK2, la Ang-(1-7) protegió frente al aumento de expresión del fenotipo senescente secretor con liberación de IL-6 y RANTES provocado por la proteína S e indujo una recuperación de la expresión del gen nefroprotector klotho. En HUVEC, la Ang-(1-7) también fue capaz de prevenir la

sobreexpresión de genes SCARF inducidos por la citoquina IL-1b, así como TOP3B (topoisomerasa que influye en la replicación viral), LY6E (factor de restricción de entrada) y otro gen SCARF, basigina (BSG) (facilitador de entrada viral). Por otro lado, tras la estimulación con proteína S, cardiomiocitos (AC16) desplazaron su metabolismo respiratorio hacia un metabolismo glucídico para la obtención de ATP. En consumo de oxígeno la cantidad total de ATP fueron además disminuidos.

Finalmente, hemos extraído el DNA plasmático de 1.400 pacientes que padecieron COVID19, y genotipado las 5 variantes de ECA2 propuestas y asociadas a riesgo cardiovascular, además de 2 variantes de BSG. BSG podría actuar como una proteína receptora alternativa para la proteína S. Se han tabulado ya las numerosas variables clínicas disponibles y realizado agrupamiento de pacientes, de lo que se espera encontrar asociaciones de estas variantes con la evolución del paciente.

Proyecto 4: “Explorando la interacción entre partículas víricas y materiales: fundamentos y aplicaciones profilácticas - VIRMAT”

La transmisión de un virus tiene lugar cuando las partículas virales viajan desde la célula donde se han formado hasta un nuevo hospedador. En particular, los virus respiratorios se transportan por el aire en aerosoles formados por microgotas que se depositan fácilmente en las superficies de distintos materiales, como vidrio, plástico, metal, textiles, etc. Siendo este un fenómeno habitual, aún no se conoce cómo afecta la interacción virus-material a la estructura y función de los virus. La interacción y captura de virus en materiales es clave en el desarrollo de aplicaciones profilácticas como mascarillas y sistemas de purificación de aire. También permitiría obtener entornos estériles mediante el uso de pinturas o tejidos con propiedades virucidas. La manera habitual de certificar la inactivación de un virus es comprobando su capacidad infectiva, pero poco se sabe de las alteraciones estructurales inducidas por la interacción virus-material que puedan afectar dicha capacidad y su resistencia físico-química en entornos agresivos.

El principal objetivo de este proyecto ha sido estudiar de manera integral los efectos de la interacción de partículas víricas con materiales en su nanoestructura y capacidad infectiva mediante microscopía de fuerzas, ensayos bioquímicos, y cálculos teóricos. Nos hemos centrado en tres virus respiratorios (adenovirus humano, virus de la gripe y coronavirus) y en una serie de materiales modelo con carga eléctrica, hidrofobicidad y propiedades catalíticas diversas.

Hemos investigado el efecto de estos materiales en la estructura y estabilidad de partículas víricas individuales en ambientes acuoso y deshidratado, así como su ensamblaje/desensamblaje y liberación del genoma, buscando la relación entre la estabilidad estructural y la capacidad infectiva de los virus.

Los resultados obtenidos nos han permitido establecer las bases teórico-experimentales para relacionar la capacidad infectiva de los virus con su estado estructural después de haber interactuado con materiales diversos. Creemos que este aspecto fundamental



**Comunidad
de Madrid**

UNIÓN EUROPEA
Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Una manera de hacer Europa



*Financiado como parte de la respuesta de la Unión
a la pandemia de COVID-19*

permitirá en un futuro próximo diseñar materiales con actividad virucida (textiles, filtros, material sanitario, etc), con evidentes aplicaciones en el actual escenario postpandemia o en situaciones futuras causadas por otros virus circulantes o emergentes.