

PRESENTACIÓN DEL ÁREA/COMPOSICIÓN

II REUNIÓN ANUAL DE ÁREAS Y GRUPOS DEL IIS-FJD
Diciembre del 2021

 Universidad Autónoma
de Madrid

 Hospital Universitario
Fundación Jiménez Díaz
Grupo  Quirónsalud

 IIS
FJD
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
S A N I T A R I A
FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

ÁREA: TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN SANITARIA

↳ GRUPO: INVESTIGACIÓN EN NUEVAS TERAPIAS

LABORATORIO: NUEVAS TERAPIAS: TERAPIA CELULAR Y GENOMETÁSTASIS



LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN PRECLÍNICASY CLÍNICAS

GENOMETÁSTASIS

- 2- Proy. FIS (ISCIII)
- 2- proy. Financ. Empresas



- 2- Patentes
- 16- Publicaciones JCR

TERAPIA CELULAR

- 2- Proy. FIS (ISCIII)
- 3- Proy. Financ. Empresas
- 1- Red nacional (ISCIII)
- 1- Red Autonómica (CAM)
- 7- Ensayos Clínicos
- 96- Usos Compasivos



- 3- patentes
- 21- publicaciones JCR

TRATANDO PRIMERO EL ESTROMA: UN ABORDAJE TERAPÉUTICO NUEVO EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE CARCINOMATOSIS PERITONEAL

PERSONAL IMPLICADO EN EL ESTUDIO

Servicio Cirugía:

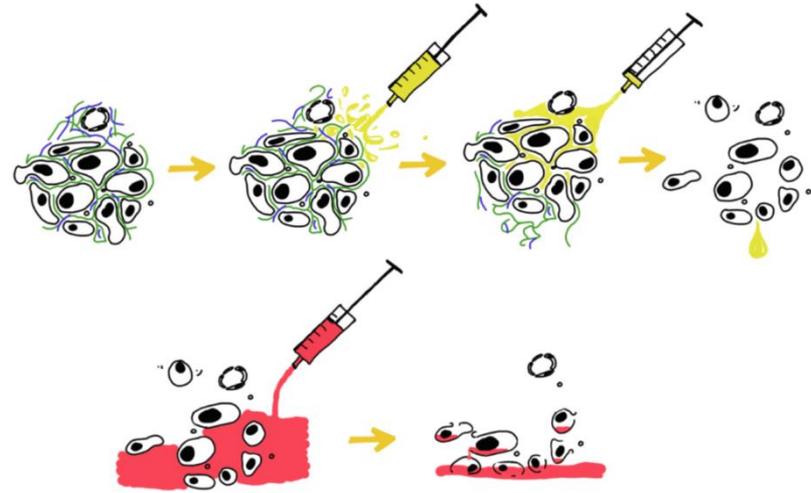
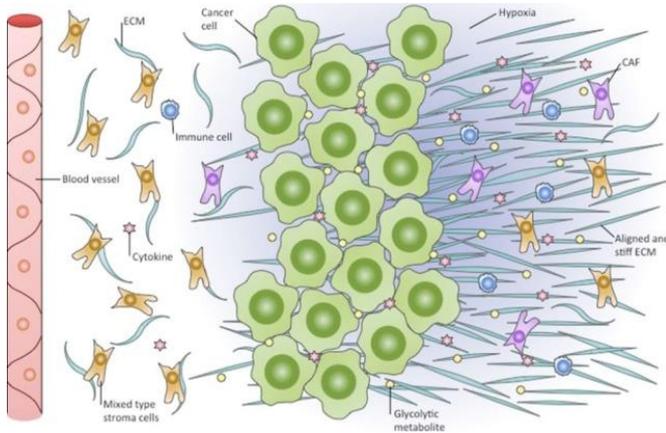
Damián García Olmo
Hector Guadalajara
Pedro Villarejo
Javier Barambio
Felipe Vélez

Laboratorio:

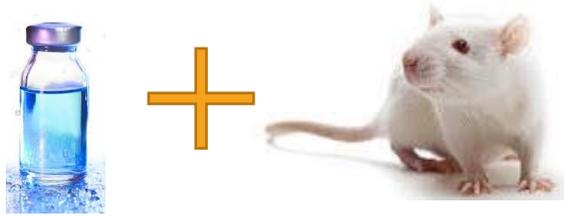
Mariano García Arranz
M^a Luz Vega Clemente

INTRODUCCIÓN

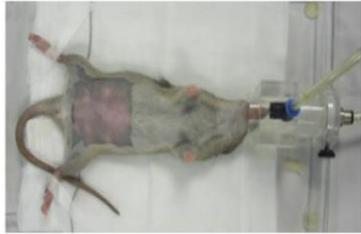
- Microambiente tumoral → Resistencia
- Estroma tumoral: Barrera física.
- Metástasis peritoneales: ↑ colágeno
- Penetración HIPEC: 2-5mm



FASE I CÁLCULO DE DOSIS, TEMPERATURA Y TIEMPO DE EXPOSICIÓN.



- **350 U/ml** supuso dosis letal: Muerte en una hora por hemorragia digestiva masiva.
- La **dosis óptima** fue de **37 U/ml** durante 15 minutos a 37,5°C. No se detectó collagenasa en sangre periférica a esta dosis.
- Una dosis de **<70 U/ml** no induce daño tisular severo.



15 min 37 U /mL Collagenase

FASE I: MODELO CARCINOMATOSIS

- Inyección de células tumorales en ratas singénicas BD-IX: tasa carcinomatosis 80%.

Grupos

- **A (Grupo control):** Sin tratamiento
- **B:** Colagenasa
- **C:** Mitomicina
- **D:** Colagenasa + Mitomicina

Medimos:

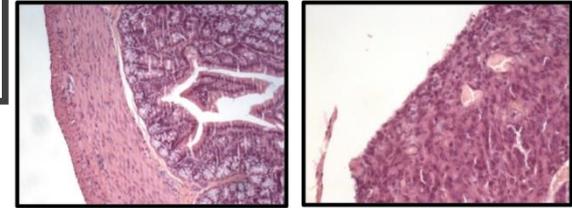
- Mortalidad
- Pérdida de peso
- Reducción del tumor
- Histología de órganos peritoneales
- Aparición de adherencias
- Toxicidad mediante ELISA en sangre

RESULTADOS

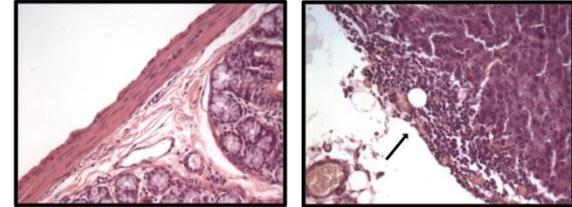
- Mayor reducción tumoral en los grupos tratados con colagenasa ($p < 0,05$).
- Menor aparición de adherencias en los grupos tratados con colagenasa ($p < 0,05$).
- Grupo C mostró mayor toxicidad

BOWEL WALL

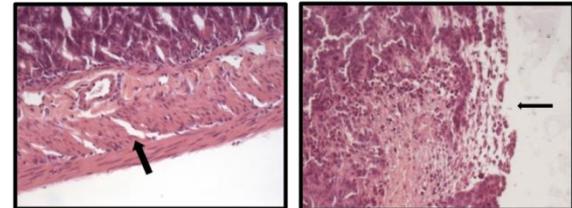
TUMOR STROMA



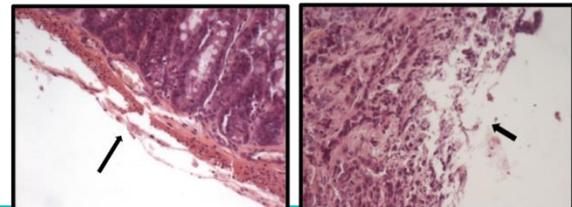
Group A



Group B



Group C



Group D

CONCLUSIONES FASE I

- La colagenasa intraperitoneal no es tóxica y actúa sobre los implantes peritoneales.
- La colagenasa a concentración y tiempo controlado no traspasa al torrente sanguíneo
- El tratamiento controlado con colagenasa favorece la respuesta a la mitomicina.

- La respuesta es debido:

Destrucción del colágeno y remodelación de la matriz extracelular

Disminución del gradiente de presión transcapilar, facilitando la difusión de fármacos

Incrementando la respuesta tumoral de la quimioterapia intraperitoneal en nuestro modelo experimental.

I REUNIÓN ANUAL DE ÁREAS Y GRUPOS DEL IIS-FJD
Diciembre del 2021

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
27 de agosto de 2020 (27.08.2020)

(10) Número de publicación internacional
WO 2020/169868 A1

(51) Clasificación internacional de patentes:
A61K 38/48 (2006.01) A61P 23/00 (2006.01)

(31) Número de la solicitud internacional: PCT/ES2020/070121

(22) Fecha de presentación internacional:
19 de febrero de 2020 (19.02.2020)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
19182193 19 de febrero de 2019 (19.02.2019) EP

(71) Solicitantes: FUNDACIÓN INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ [ES/ES], Avda. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid (ES); UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID [ES/ES], C/ Einstein, 3, 28049 Madrid (ES)

(72) Inventores: GIL ABAD-LAJARA LABAJO, Héctor; Fundación Instituto De Investigación Sanitaria, Fundación Jiménez Díaz, Avda. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid (ES); GARCÍA ARRANZ, Mariano; Fundación Instituto De Investigación Sanitaria, Fundación Jiménez Díaz, Avda. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid (ES); GARCÍA OLMO, Damían; Universidad Autónoma De Madrid, C/ Einstein, 3, 28049 Madrid (ES); BARAMBIO BUENDÍA, Javier Jesús; Fundación Instituto De Investigación Sanitaria, Fundación Jiménez Díaz, Avda. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid (ES); CORTÉS GURAL, Delia; Fundación Instituto De Investigación Sanitaria, Fundación Jiménez Díaz, Avda. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid (ES); OLMEDILLAS LÓPEZ, Susana; Fundación Instituto De Investigación Sanitaria, Fundación Jiménez Díaz, Avda. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid (ES); VEGGA CLEMENTE, M^o Luz; Fundación Instituto De Investigación Sanitaria, Fundación Jiménez Díaz, Avda. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid (ES).

(74) Mandatario: HOFFMANN EITLE, S.L.U., Paseo de la Castellana 140, 28046 Madrid (ES).

(81) Estados designados (si menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BI, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DI, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (si menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): AEPRO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasíatica (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LI, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada: — con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
— antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se requieren modificaciones (Regla 48.2(b)).

(54) Title: CHEMICAL SCALPEL

(54) Título: BISTURÍ QUÍMICO

(57) Abstract: The present invention relates to a liquid collagenase solution that preconditions the tissues covering peritoneal tumours by means of washing with the solution for a determined time period and at a pre-determined concentration, for use as an enhancer or adjuvant treatment for cytotoxic drugs in the treatment of solid peritoneal tumours. The solution of the invention is used for direct administration or irrigation onto the tumour at a concentration and for a time period that causes a reduction of the mesothelial layer covering the intestinal tract, without damaging intermediate or internal layers.

(57) Resumen: La presente invención se refiere a una solución líquida de colagenasa que generará el pre-acondicionamiento de los tejidos que recubren los tumores peritoneales mediante su lavado con dicha solución durante un tiempo y a una concentración pre-determinada para su uso como tratamiento adyuvante o potenciador de fármacos citotóxicos en el tratamiento de tumores sólidos peritoneales. Dicha solución se utilizará a lo largo de la presente invención para su administración o irrigación directamente sobre el tumor a una concentración y durante un tiempo tal que provoca una disminución de la capa mesotelial que recubre el tracto intestinal sin afectación de capas.

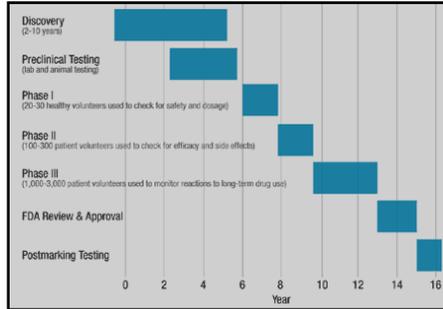
WO 2020/169868 A1

UAM Universidad Autónoma de Madrid

iis FJD INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz Grupo Quironsalud

TRAS FASE I ¿QUÉ?



- Good study. It seems safe and effective. But you have to present us:

- A larger mammal Toxicity study (pig?)
- A CE market collagenase
- A clinical trial proposal

- We are working in:

- We have carried out a toxicity study in 8 piglets with 2 doses of collagenase. We analyze: Collagenase in blood, histology, biochemistry and Interleukins
- We now use GID collagenase. Which is CE marked and is its use allowed in humans?
- We are looking for a sponsor for a clinical trial that we have designed

FASE II ESTUDIO TOXICIDAD ANIMAL SUPERIOR.



GOBIERNO DE ESPAÑA

MINISTERIO DE CIENCIA, INNOVACION Y UNIVERSIDADES



Instituto de Salud Carlos III



Unión Europea
Fondo Europeo de Desarrollo Regional
"Una manera de hacer Europa"

FUNDACION INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA FUNDACION JIMENEZ DIAZ

FUNDACION INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA FUNDACION JIMENEZ DIAZ

FUNDACION INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA FUNDACION JIMENEZ DIAZ

G85874949

PI19/01263

Papel de las células troncales mesenquimales procedentes del tejido adiposo de cerdo en un modelo animal de sepsis abdominal

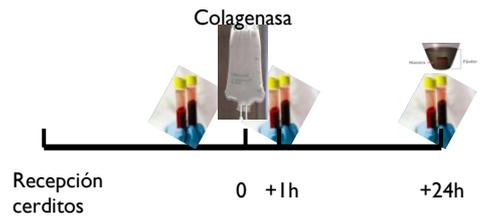
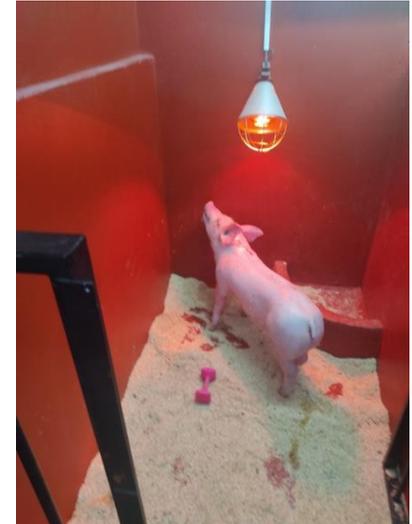
28.107.465A.788

87.120,00 €

42.350,00 €

19.360,00 €

25.410,00 €



I REUNIÓN ANUAL DE ÁREAS Y GRUPOS DEL IIS-FJD
Diciembre del 2021

FASE II PRUEBAS.

ANALÍTICA:

Leucocitos (103yl) Linfocitos (103yL)
Hemates (106yL) Monocitos (103yL)
Hemoglobina (g/dL) Segmentados (103yL)
Hematocrito (%) Eosinófilos (103yL)
VCM sangre (fl) Basófilos (103yL)
HCM (pg) % linfocitos
CHCM (g/dL) % monocitos
RDW (%) % segmentados
Plaquetas (103 yL) % eosinófilos
VPM (fl) % basófilos
Tiempo protombina (sg)
Índice Quick (%)
INR TTPA (sg)
Fibrinógeno (mg/dL)
Glucosa (mg/dL) Creatinina (mg/dL)
Bilirrubina total (mg/dL) Calcio (mg/dL)
Ácido úrico (mg/dL) Fósforo (mg/dL)
Filtrado glomerular GPT (UI/L) GGT (UI/L)
Fosfatasa alcalina (UI/L) LDH (UI/L)
Sodio (mmol/L) Potasio (mmol/L)
Índice Hemólisis Colesterol total (mg/dL)
triglicéridos (mg/dL) HDL colesterol (mg/dL)
Colesterol LDL (mg/dL) Colesterol no-HDL
(mg/dL) Albúmina (g/dL)
Proteína C reactiva (mg/dL)

CUANTIFICACIÓN DE COLAGENASA HUMANA EN PLASMA DE CERDO

ELISA MMP-1
ELISA MMP-2

HISTOLOGÍA.

Bazo
Hígado.
Colon.
Intestino Delgado.
Peritoneo.
Riñón.
Pleura.
Yugular.

PARAMETROS DE SUPERVISIÓN EN BIENESTAR ANIMAL

1.-ASPECTO FÍSICO DEL ANIMAL

- 1) Ninguno
- 2) Pelo "erizado", opaco y/o sucio
- 3) Uno o mas de los siguientes signos: secreciones mucosas y/o sanguinolentas por cualquier abertura, diarrea, órganos hipertrofiados detectables (ganglios, bazo, hígado)
- 4) Uno o mas de los siguientes signos: distensión abdominal de cualquier origen, presencia de ascitis que suponga un aumento superior al 10% del peso corporal inicial, disnea(particularmente si va acompañada de descarga nasal y/o cianosis), caquexia.

2.- ALTERACIONES EN LA CONDUCTA

- 1) Ninguna
- 2) Dificultad para moverse con normalidad
- 3) Dificultad de llegar a la comida/bebida. Aislamiento del resto de los animales de la jaula. Disminución del movimiento
- 4) Intención de "escondarse" en la viruta, no responde a estímulos, letargo
- 5) Estado comatoso

3.- DESHIDRATACION

- 1) Ninguna
- 2) Leve
- 3) Severa

FASE II RESULTADOS I.

Cirugías.

No se observaron complicaciones durante las cirugías. Todos los animales despiertan bien y su movilidad en el chenil tras la cirugía es la normal. Obviamente en todos los casos se realiza tratamiento analgésico con tramadol (5mg/Kg) tras la cirugía. Las imágenes durante los tratamientos muestran la liberación de tejido peritoneal durante los lavados con colagenasa.

Datos macroscópicos.

No se observan cambios macroscópicos pretratamientos y 24h posterior a estos. No hay formación de adherencias ni sangrado en ningún caso, por lo tanto y al no observarse diferencias no se aplica la escala diseñada para tal fin.

Tabla de control de los animales

Tras la cirugía y 4h después todos los animales beben agua, movilidad normal y no muestran signos de dolor. Los resultados del cuestionario de parámetros físicos y de salud de los animales no muestra diferencias significativas.

Estudios bioquímicos y hematológicos en sangre (pre tratamiento, post-tratamiento y 24h post-tratamiento).-

No se han observado ningún valor analítico fuera de los parámetros habituales en ningún caso, salvo algunos analitos de forma puntual y no constantes ni repetidos entre animales. **Sólo** podemos encontrar como valor que se ha elevado a las 24h del tratamiento **el fibrinógeno**, el cual puede deberse a la manipulación del peritoneo ya que en ningún caso se acompañaba con alteraciones en otras determinaciones ni variaciones en las ondas del ECG.

FASE II RESULTADOS II.

INFORME LIVING CELL (Datos de ELISAS frente a MMP1 y MMP2)



CUANTIFICACIÓN DE COLAGENASA HUMANA (MMP1 Y MMP2) EN PLASMA DE CERDO

CONCLUSIONES

MMP1: Los valores medios de absorbancia y concentración de cada muestra se detallan en las siguientes tablas ($R^2=0,9$):

1	0,0165	9	0,018	17	0,02
2	0,0165	10	0,014	18	0,0195
3	0,018	11	0,062	19	0,0165
4	0,0095	12	0,018	20	0,018
5	0,056	13	0,0385	21	0,021
6	0,0195	14	0,0225	B	0,0445
7	0,0155	15	0,018	B	0,0495
8	0,0195	16	0,033	B	0,0555

Tabla 1: Absorbancia de las diferentes muestras (B: blanco). Los valores en rojo muestran absorbancias por encima del valor blanco.

MMP2: Los valores medios de absorbancia y concentración de cada muestra se detallan en las siguientes tablas ($R^2= 0,9$):

1	1,9765	9	2,5515	17	1,9055
2	2,012	10	2,0425	18	2,1295
3	2,4315	11	2,0955	19	1,493
4	2,127	12	2,3205	20	1,5975
5	1,448	13	1,7415	21	2,054
6	1,5605	14	1,318	B	0,075
7	2,0525	15	1,329	B	0,067
8	2,241	16	1,3385	B	0,0735

Tabla 3: Absorbancia de las diferentes muestras (B: Blanco)

Por lo tanto, la conclusión es que no se identifican restos de colagenasa tipo 1 humana en los plasmas de cerdo analizados, aunque los datos para las muestras 5 y 11 hay que tomarlos con precaución (ver tabla 1) ya que no se puede asegurar al 100% la ausencia de colagenasa tipo 1. En el caso de que no se anularen los valores aberrantes (ver tabla 2) para estas dos muestras, la concentración de la muestra 5 sería de 8 pg/ml (Concentración total tras deshacer la dilución inicial = 24 pg/ml) y la de la muestra 11 de 74,07 pg/ml (Concentración total = 222,21 pg/ml).

Respecto a los resultados de la MMP2, aparentemente responden a una reacción cruzada, quizá debida a la altísima similitud en la secuencia de aminoácidos entre la MMP2 humana y de cerdo (>95%); aunque no se pueden descartar reactividades cruzadas con otras proteínas presentes en el plasma y no descritas. Para poder establecer, con los resultados obtenidos, la presencia o no de MMP2 humana en los plasmas de cerdo, se pidió al Investigador Principal del proyecto la leyenda de tratamientos vs. nº de cerdo y se compararon estadísticamente los resultados obtenidos en los plasmas tratados con los no tratados, resultando en distribuciones no diferentes en la toma de 1 hora tras el tratamiento ($p>0,05$), lo que indica que no se ha trasferido MMP2 humana a la sangre del cerdo durante el tratamiento. El resultado significativo, entre las muestras tratadas y recogidas a las 24h y las no tratadas, se podría explicar por la concordancia entre la sobreproducción de MMP2 que se da en procesos inflamatorios posquirúrgicos (ver referencias) y la reacción cruzada entre la MMP2 humana y de cerdo. Sería necesario analizar muestras de control quirúrgico (*sham*) para poder validar esta hipótesis.

FASE II RESULTADOS III.



Facultad de Ciencias de la Salud
Departamento de Ciencias Básicas de la Salud

Madrid, 22 de abril de 2021.

Informe del análisis histopatológico de las muestras de tejidos porcinos solicitado por el Dr. Mariano García Arranz, Laboratorio de Nuevas Terapias del Instituto de Investigación Sanitario Fundación Jiménez Díaz (Madrid).

Yo, Dra. D^a. Soledad García Gómez de las Heras, con D.N.I. 51062197N, Profesor Contratado Doctor del Área de Histología Humana y Anatomía Patológica, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud de la Universidad Rey Juan Carlos (Madrid) certifico que:

Entre el 28 de agosto de 2020 y el 3 de marzo de 2021 he recibido, procedentes del laboratorio de Nuevas Terapias de la Fundación Jiménez Díaz, 42 muestras fijadas en formol al 4%, numerada del 1 al 7 que contenían intestino delgado, colon, bazo, hígado, pleura y riñón.

Se me indica que son muestras de cerdo, pero desconozco el tratamiento al cual han sido sometidos cada uno de los animales.

Conservadas a temperatura ambiente, se encontraban adecuadamente fijadas. Se procesaron siguiendo el protocolo habitual de nuestro laboratorio hasta generar los bloques de tejido incluido en parafina con las diferentes muestras, posteriormente se realizaron cortes seriados de 5 micras de grosor y se tiñeron mediante hematoxilina-eosina para analizar el estado del tejido en las diferentes capas de los órganos.

Habiendo analizado la estructura microscópica de los órganos anteriormente mencionados **CERTIFICO**.

No he observado daño histológico alguno en ninguno de los tejidos, todos los órganos y su tejido adyacente mantienen la arquitectura tisular característica.

En el documento anexo se muestran algunas fotografías generadas por nuestro laboratorio de los diferentes cortes histológicos analizados.

Fdo. Dra. M^a Soledad García Gómez de las Heras

Tj	GRUPO COLAGENASA	GRUPO COLAGENASA X2
B A Z O		
C O L O N		
H Í G A D O		
I D E A L T D I O N O		

I REUNIÓN ANUAL DE ÁREAS Y GRUPOS DEL IIS-FJD
Diciembre del 2021



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

Grupo Quironsalud

thank you!