

MEMORIA EXPLICATIVA DEL PROYECTO

TÍTULO: ¿Por qué el ejercicio puede ayudar a curar mejor el cáncer infantil? Una visión integrada con pacientes con neuroblastoma y modelo animal.

INVESTIGADORES PRINCIPALES

Manuel Ramírez Orellana (Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid)
Alejandro Lucía Mulas (Universidad Europea de Madrid y Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid)

RESUMEN

Debido a los grandes avances experimentados en el tratamiento del cáncer pediátrico y por ende en las tasas de supervivencia, cada vez es más importante reducir los efectos secundarios del tratamiento, prevenir neoplasias malignas secundarias y evitar el deterioro de la salud de los supervivientes. A este respecto, el ejercicio no solo atenúa los efectos secundarios del cáncer y de la quimioterapia, sino que puede ayudar también a prevenir la aparición de cáncer o atenuar la progresión del mismo. El posible efecto anti-tumoral del ejercicio podría deberse los efectos beneficiosos que puede tener sobre el sistema inmune. Por otra parte, en comparación con otros tumores pediátricos el pronóstico del neuroblastoma es muy malo, sobre todo en los grupos de alto riesgo y urge por tanto explorar nuevas aproximaciones terapéuticas para este tipo de tumor. El objetivo de este proyecto es determinar los efectos de un programa de ejercicio físico sobre la respuesta fisiológica, inmune y tumoral en pacientes pediátricos con neuroblastoma y en un modelo murino (THMYCN) con la misma enfermedad.

Palabras clave: ejercicio, neuroblastoma, pacientes pediátricos, ratones THMYCN.

ABSTRACT

Owing to recent advances in the treatment of pediatric cancers and subsequent improvements in survival rates, a growing emphasis is being placed in reducing the side effects of treatment, preventing occurrence of secondary malignancies and attenuating patients and survivors' decline in physical function. In this regard, besides its documented benefits in patients' physical function, regular exercise might also decrease cancer risk or the rate of tumor growth once it has initiated. Such potential anti-tumorigenic effect of exercise might be mediated, at least partly, through its beneficial effect on the immune system. On the other hand, as opposed to other pediatric tumors, the prognosis of neuroblastoma is usually very poor, especially in high-risk children, which urges the search for novel therapeutic approaches. The purpose of this project is to determine the effects of an exercise training program on the physiological, immune and tumor response in pediatric patients with neuroblastoma and in a murine model (THMYCN) of this disease.

Keywords: exercise, neuroblastoma, pediatric patients, THMYCN mice.

ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

Beneficios del ejercicio en el cáncer pediátrico

Con los avances experimentados en las últimas décadas, las tasas de curación en niños y adolescentes con cáncer han aumentado considerablemente, alcanzando valores del ~80% [1]. Sin embargo, este incremento de la supervivencia conlleva un mayor riesgo de padecer efectos secundarios derivados del tratamiento, lo cual deteriora la capacidad funcional y la fuerza muscular de los supervivientes y por tanto, su bienestar y calidad de vida [1]. Así, al igual que ocurre con el cáncer en adultos, cada vez es más importante reducir los efectos secundarios del tratamiento, prevenir neoplasias malignas secundarias y evitar el deterioro de la salud de los supervivientes de cáncer pediátrico.

La mayoría de los estudios en los que se ha aplicado ejercicio físico en pacientes con cáncer se han centrado en adultos, y estaban orientados sobre todo a reducir los efectos secundarios del tratamiento, como sobre todo la fatiga y el deterioro de la capacidad funcional de los pacientes [2]. Los datos disponibles en cáncer infantil son más escasos y la gran mayoría de las investigaciones han estudiado a niños con tumores hematológicos, principalmente leucemia linfoblástica aguda [3].

Nuestro grupo de trabajo (Universidad Europea de Madrid [UEM]-Hospital Infantil Universitario Niño Jesús [HIUNJ]) viene trabajando desde hace más de 10 años en cáncer pediátrico, mostrando los beneficios del ejercicio (con especial hincapié en ejercicio de fuerza, como trabajar con máquinas de pesas) en niños con tumores hematológicos (principalmente leucemia linfoblástica aguda) [4-6] y más recientemente con tumores sólidos (incluido el neuroblastoma, en el que nos centraremos en este proyecto) [7]. El principal beneficio que hallamos (consistentemente, independientemente del tipo de tumor en cuestión) fue un incremento de la fuerza muscular de los niños afectados. Este hallazgo es clínicamente relevante puesto que la fuerza muscular, que es un componente esencial de la capacidad funcional de los niños y por ende de su bienestar, está mermada tanto por el cáncer en sí como por los efectos secundarios de la quimioterapia.

Ejercicio y sistema inmune anti-tumoral

Cada vez van surgiendo más estudios que apoyan la teoría de que el ejercicio no solo atenúa los efectos secundarios del cáncer y de la quimioterapia, sino que puede ayudar también a prevenir la aparición de cáncer y/o a atenuar la progresión del mismo. Este efecto anti-tumoral del ejercicio podría deberse, al menos en parte, a los efectos en general beneficiosos que la actividad física (al menos a intensidades moderadas) tiene sobre nuestro primer sistema de vigilancia y defensa contra tumores: el sistema inmune. Tanto nuestro grupo UEM_HIUNJ [4, 8, 9] como otros investigadores [10,11] han encontrado resultados preliminares que sugieren que un programa de entrenamiento físico supervisado realizado por niños con cáncer, incluso en las fases más agresivas del tratamiento o durante el periodo de tiempo correspondiente al trasplante de precursores hematopoyéticos (o posterior al mismo), puede ser beneficioso para el sistema inmune de estos pacientes, si bien existe controversia al respecto.

Ladha y colaboradores hallaron como una sola sesión aguda de ejercicio de intensidad moderada en niños con leucemia linfoblástica aguda en fase de tratamiento de

mantenimiento, incrementaba el recuento de neutrófilos pero no se estudiaron los efectos del entrenamiento, es decir, de sesiones agudas repetidas y programadas en el tiempo [11]. Shore y Shephard [10] demostraron que 12 semanas de entrenamiento en niños con diferentes tipos de tumores (grupo de estudio muy heterogéneo) causaron un cierto grado de alteración en su sistema inmune (descenso en el recuento de linfocitos CD4+ y CD25+). Sin embargo, nuestro grupo (Chamorro-Viña y colaboradores [4]) estudió a niños (la mayoría con tumores hematológicos) que realizaron un entrenamiento de 6 semanas de duración durante la fase de aislamiento en hospital por trasplante de precursores hematopoyéticos (el entrenamiento duraba desde el comienzo de la fase de acondicionamiento hasta el final de la fase de neutropenia). Hallamos una respuesta comparable en niños que entrenaron frente a niños control desde la fase pre-trasplante hasta el final del mismo para la mayoría de las poblaciones linfocitarias (incluidos linfocitos CD4+ y células ‘*natural killer*’ [NK]), si bien el programa de entrenamiento contribuyó a atenuar el descenso en el recuento de células dendríticas. Más recientemente, nuestro grupo mostró resultados preliminares apoyando un incremento de la función citotóxica de las células NK tras un programa de entrenamiento de 10 semanas de duración realizado tras trasplante de precursores hematopoyéticos [8]. Aun siendo preliminar, este hallazgo es prometedor pues la capacidad de citotoxicidad de las células NK juega un papel esencial en la defensa contra tumores sólidos pediátricos y de hecho algunos autores proponen el uso de terapias basadas en estas células para combatir este tipo de tumores [12]. En efecto, las células NK son capaces de reconocer y eliminar células tumorales, en parte mediante la activación de receptores como el receptor NKG2D o receptores de ‘citotoxicidad natural’ (NKp46, NKp44, NKp30) [12].

Hace escasas semanas que nuestro grupo acaba de publicar un estudio donde se analizaban los efectos de un programa de entrenamiento realizado durante la totalidad de la fase de quimioterapia coadyuvante por niños de ambos sexos con tumores sólidos (duración media del entrenamiento de 19 semanas) [9]. El citado programa no solo no alteró el perfil inflamatorio ni los recuentos de células inmunes de estos niños (la mayoría de los cuales sufrieron de por sí fases de neutropenia), sino que el recuento de células NK que expresan el receptor KIR2DS4 tendía a ser más estable a lo largo de la quimioterapia en el grupo de entrenamiento mientras que aumentaba en el grupo control. Pensamos que este hallazgo también es prometedor habida cuenta del citado estado de inmunosupresión de los niños debido a la toxicidad de la quimioterapia, y que dicho estado a veces se perpetúa hasta un año después de haber finalizado la quimioterapia [13]. Además de los ya mencionados receptores activadores, las células NK expresan receptores inhibidores de su propia actividad como lo es el citado receptor KIR2DS4, por lo que el hallazgo de que los recuentos de células NK que expresan KIR2DS4 permanece estable durante la quimioterapia en aquellos niños que hacen ejercicio durante la misma pero aumenta en los que permanecieron inactivos es interesante y merece estudios en mayor profundidad. De hecho, datos recientes señalan que una mayor expresión de este receptor inhibidor se asocia con una peor capacidad citotóxica de las células NK [14].

Por otra parte, estudios preclínicos (en diferentes modelos murinos) parecen avalar el hecho de que el ejercicio físico puede modular positivamente el sistema inmune. Sobre todo, un estudio reciente mostró que un programa de entrenamiento en tapiz rodante para ratones a los que les fueron implantados distintos tipos de cáncer adulto (hígado, melanoma [B16], pulmón) reducía la incidencia y tasa de crecimiento tumoral en más

del 60% [15]. En ratones sin tumores, el ejercicio produjo un incremento generalizado en el *pool* total de células NK (sobre todo en médula ósea y bazo). En cambio, en los ratones que sí tenían tumores el ejercicio producía efectos mucho más específicos o *dirigidos* contra las células tumorales: en efecto, en este caso el *pool* de células NK como tal no aumentó pero sí lo hizo la movilización específica de células NK (y de un modo considerable, además) hacia los tumores en cuestión. Por otra parte, si bien el ejercicio no incrementó la capacidad citotóxica de las células NK *per se*, sí que ‘preparó o ‘sensibilizó’ el microambiente tumoral para la infiltración de células NK al aumentar la expresión de ligandos específicos para receptores activadores de células NK, como NKG2D, MULT1, H60a, Clrb o NKp46. Este último hallazgo parece especialmente interesante habida cuenta que el receptor NKp46 media el desarrollo de metástasis en células de melanoma B16) [16], lo cual se correlaciona bien con el descenso de metástasis producidas por este tipo de tumor en el estudio de Pedersen y colaboradores [15].

Neuroblastoma: un tumor infantil de mal pronóstico que requiere de nuevas aproximaciones terapéuticas partiendo de un buen modelo preclínico

El neuroblastoma es un tumor embrionario que se origina en la cresta neural indiferenciada y representa el tumor sólido extra-craneal más frecuente en niños. Si bien existe un importante grado de heterogeneidad en cuanto a su presentación clínica y a su progresión, en general su pronóstico frente a otros tumores infantiles es muy malo, sobre todo en sus variantes de alto riesgo (que afectan a aproximadamente a la mitad de los casos –y sobre todo a los niños de más de ~3 años de edad). En efecto, la tasa de supervivencia en grupos de alto riesgo es tan solo del 40%, muy por debajo de la del cáncer infantil en general, no respondiendo los niños a las terapias convencionales o, si lo hacen, mostrando luego una recaída con infausto pronóstico [17, 18]. Así, el tratamiento del neuroblastoma supone un verdadero reto para los oncólogos y cirujanos pediátricos ya que, a pesar de los avances en las terapias de quimioterapia, radioterapia y trasplante de médula ósea, no se han conseguido mejoras en la supervivencia en la última década [19, 20]. Urge por tanto explorar nuevas aproximaciones terapéuticas para mejorar el pronóstico del neuroblastoma.

El grupo del Dr. Manuel Ramírez del HIUNJ es pionero en investigación de tratamientos para el neuroblastoma, notablemente con *Celyvir* (es decir, células mesenquimales autólogas que portan en su interior un adenovirus oncolítico y que constituyen una estrategia terapéutica para tumores metastásicos y más novedosa que la quimioterapia convencional) [21]. Por otra parte, pensando en nuevas aproximaciones terapéuticas, también es necesario trabajar con un buen modelo animal (preclínico) con valor predictivo, y que permita obtener resultados extrapolables al humano, cumpliendo con las siguientes características: (i) debe reproducir la biología natural del tumor (es decir, aparición en células de un linaje adecuado, desarrollo en un ambiente tisular y anatómico correcto, evolución en el tiempo y exposición al sistema inmune propio); y (ii) debe contar con un sistema inmune competente, tanto frente al tumor como frente al virus. A este respecto, una ventaja de los modelos transgénicos murinos de cáncer (MTMC) frente a los implantes exógenos es que los tumores se desarrollan de manera “natural”, en un huésped inmunocompetente, con el microambiente tisular apropiado, recapitulando el desarrollo embrionario, y reproduciendo las interacciones tumor-estroma y tumor-vasculatura. En este contexto también se reproducen las condiciones que permiten la interacción del sistema inmune con el tumor en desarrollo. En el caso de

los tumores pediátricos esta interacción es diferente que la que sucede en los tumores adultos. Los tumores espontáneos de adultos se desarrollan por la acumulación de mutaciones a lo largo de varios años, y están sometidos a la acción de un sistema inmune postnatal mientras que los tumores pediátricos se asocian a un número relativamente escaso de mutaciones que suceden en un periodo relativamente corto de tiempo. Pero además, suceden durante un periodo en el que el sistema inmune está adquiriendo todo su potencial. Este hecho es especialmente crítico durante el periodo intrauterino, cuando se producen las primeras mutaciones en los tumores pediátricos.

Afortunadamente, nuestro grupo tiene la posibilidad de trabajar con un modelo animal de neuroblastoma espontáneo, el ratón transgénico THMYCN [22], algo excepcional para tumores sólidos infantiles, donde existen pocos modelos animales disponibles. Es este un modelo de neuroblastoma de alto riesgo con amplificación de NMYC, la alteración genética característica de los neuroblastomas de alto riesgo en niños. En este animal, la expresión del cDNA MYCN humano está controlada por el promotor del gen de la tirosínhidroxilasa (TH) de la rata. La expresión de TH en ratones se ciñe a células precursoras neuronales de origen simpático-adrenal. El ratón THMYCN recapitula los aspectos genéticos y clínicos principales de los neuroblastomas con MYCN amplificado, y ha sido utilizado durante los últimos 15 años en muchos estudios de biología básica e investigación preclínica [23]. Se han podido aplicar diferentes técnicas de imagen similares a las de uso clínico. Los tumores de estos ratones aparecen espontáneamente, con penetrancia alta en los tejidos de origen del neuroblastoma (ganglios para-espinales, celíacos y peri-adrenales), replican los cambios genéticos característicos de los neuroblastomas humanos con MYCN amplificado, y reproducen las interacciones tumor-estroma y tumor-vasculatura. También reproduce la enfermedad micro-metastásica, aunque no de manera completamente similar a los neuroblastomas humanos. Histológicamente, los tumores de los ratones THMYCN son similares a los neuroblastomas humanos con poco estroma schwanniano, con diferentes estadios de diferenciación neuronal y alto índice de kariorrexis y expresión de Ki67 [24]. Un aspecto que no ha sido estudiado todavía en este modelo es el perfil de las células inmunes infiltrantes de los tumores, tanto en situación basal como tras la administración de tratamientos. Este punto es muy importante en el caso de inmunoterapias.

Referencias

1. San Juan AF, et al. *Recent Results Cancer Res* 2011;186:319-47.
2. Schmitz KH, et al. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42:1409-26.
3. Wolin KY, et al. *Leukemia* 2010;24:1113-20.
4. Chamorro-Viña C, et al. *Med Sci Sports Exer* 2010;42:1045-53.
5. San Juan AF, et al. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:13-21.
6. San Juan AF, et al. *Int J Sports Med* 2008;29:439-46.
7. Fiuza-Luces, et al. *Med Sci Sports Exerc.* 2017;:223-30.
8. Chamorro-Viña C, et al. *Integr Cancer Ther* 2016: Nov30. pii: 1534735416679515
9. Fiuza-Luces C, et al. *Am J Phys Med Rehab* 2017 (en prensa).
10. Shore S, Shepard RJ. *J Sports Med Phys Fitness* 1999;39:240-3.
11. Ladha AB, et al. *J Pediatr Hematol Oncol* 2006;28:671-7.
12. Cho D, *Clin Cancer Res* 2010;16:3901-9.
13. Kovacs GT, et al. *Pathol Oncol Res* 2008;14:391-7.
14. Merino AM, et al. *PLoS One* 2014;9:e99353.

15. Pedersen, L. et al. Cell Metab 2016;23:554-62.
16. Glasner, A. et al. J Immunol 2012;188;2509-15.
17. Berlanga, et al. Expert Opin Emerg Drugs 2017;22(1):63-75.
18. Cao et al., Oncotarget. 2016; Dec 31. doi: 10.18632/oncotarget.14408
19. Cohn SL, et al. J Clin Oncol 2009;27:289-97.
20. London WB, et al. J Clin Oncol 2011;29:3286-92.
21. García-Castro J, et al. Cancer Gene Ther 2010;17:476.
22. Weiss WA, et al. EMBO J 1997;16:2985.
23. Chesler L, Weiss WA. Semin Cancer Biol. 2011;21:245.
24. Moore HC, et al. J Clin Pathol. 2008;61:1098.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

La realización de un programa de ejercicio físico en pacientes pediátricos y en ratones con neuroblastoma podría resultar una herramienta complementaria al tratamiento farmacológico usado contra esta enfermedad. Consideramos que el ejercicio mejorará la fuerza muscular, y la capacidad funcional y cardiorrespiratoria, lo cual influirá positivamente sobre la calidad de vida del paciente. Además, el ejercicio también podría favorecer la respuesta inmune contra el tumor y crear un cierto ambiente anti-inflamatorio que mejore la evolución clínica de la enfermedad.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar los posibles efectos de un programa de ejercicio físico de 8 semanas de duración sobre la respuesta fisiológica, inmune y tumoral en pacientes pediátricos con neuroblastoma y en un modelo murino (THMYCN) con la misma enfermedad.

Objetivos específicos

1. Evaluar los posibles efectos de un programa supervisado de ejercicio físico (combinando ejercicios aeróbicos, de fuerza dinámica muscular y específicos de los músculos respiratorios) realizado en un ambiente intrahospitalario (HIUNJ) por pacientes pediátricos con neuroblastoma, sobre las siguientes variables: calidad de vida, capacidad cardiorrespiratoria y funcional, fuerza muscular dinámica y de los músculos respiratorios, composición corporal y niveles de actividad física (*variables primarias*); y sobre marcadores inmunológicos (cantidades de leucocitos, monocitos y linfocitos, y subpoblaciones linfocitarias y células dendríticas) y de inflamación (perfil en sangre de citoquinas pro o anti-inflamatorias y/o moduladoras del sistema inmune a nivel local y sistémico) (*variables secundarias*). Establecer en qué medida se mantienen los efectos obtenidos con el entrenamiento tras un periodo de inactividad de 8 semanas.
2. En ratón THMYCN, estudiar cómo un programa de ejercicio físico (incluyendo ejercicios de fuerza y aeróbicos) incide sobre la progresión del tumor (marcadores biológicos) y la respuesta inmune antitumoral, tanto a nivel local como sistémico.

METODOLOGÍA DEL PROYECTO

Pacientes

Los pacientes serán reclutados mediante cribado de los registros médicos del departamento de Oncología-Hematología del HIUNJ. Serán candidatos a participar en el estudio todos los pacientes de ambos sexos que cumplan con los siguientes criterios de inclusión: a) edad comprendida entre 4 y 18 años, b) diagnosticados con neuroblastoma, c) sin contraindicaciones médicas incompatibles con la práctica de ejercicio físico, d) comprensión de la lengua española, y e) entrega/firma del consentimiento informado por los padres/tutores responsables del paciente. Los criterios de exclusión en este estudio serán: a) paciente ingresado en la Unidad de Vigilancia Intensiva (UVI), e b) indisposición o malestar del paciente. El protocolo del estudio se adhiere a las directrices de ética de la Declaración de Helsinki.

Diseño de estudio

Proponemos un estudio longitudinal de intervención, el cual se llevará a cabo durante 2 años en el HIUNJ. Presentará tres grandes fases: (i) pre-intervención (2 semanas), (ii) intervención (8 semanas), y (iii) post-intervención (8 semanas) (ver **Figura 1**).

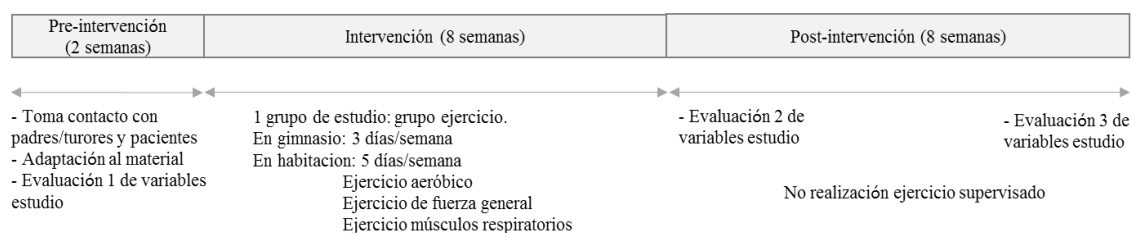


Figura 1. Diseño experimental del estudio en pacientes pediátricos con neuroblastoma.

(i) Fase de pre-intervención

Nos pondremos en contacto con los padres/tutores y con los pacientes candidatos para explicarles el estudio, y le proporcionaremos el consentimiento informado. Con aquellos que cumplan los criterios de inclusión, se realizará: (a) la recogida de muestras de sangre, para obtener los valores basales de las variables inflamatorias e inmunes (evaluación 1); (b) la familiarización con el material a ser usado en el estudio, con el objetivo de aprender su correcto uso, minimizando así el error en las evaluaciones, y (c) la medición basal de las variables de estudio (evaluación 1), para conocer el estado físico y psicológico del paciente (ver más adelante).

(ii) Fase de intervención

El programa de ejercicio será realizado durante 8 semanas en el gimnasio pediátrico del HIUNJ (3 días/semana) o en la habitación del paciente (5 días/semana) en el caso de que éste esté ingresado. El programa será progresivo, supervisado e individualizado, y seguirá las normas de las instituciones de referencia mundial para el entrenamiento aeróbico y de fuerza en población infantil y adolescente. Cada sesión de ejercicio durará ~60-90 minutos y estará formada por:

- a) Un periodo de acondicionamiento (10 minutos), formado por un calentamiento general con movilizaciones articulares dinámicas.
- b) Una parte principal, formada por:
 - b.1) Ejercicio aeróbico (10-30 minutos), donde la carga se incrementará gradualmente hasta alcanzar el primer umbral ventilatorio, utilizando bicicleta o manivela de brazos (en función del estado del paciente);
 - b.2) Ejercicios de fuerza (30 minutos) a modo de circuito, el cual estará formado por 5 ejercicios (prensa de pecho y piernas, dorsal remo y alto, y extensión rodillas) realizados contra resistencia y con un amplio rango de movilidad articular. Se harán 3 series de 12-15 repeticiones con un descanso entre repeticiones de 20 segundos y entre series de 2 minutos, a una intensidad del 50% de 1 repetición máxima (RM) la cual se estimará a través de un test de 5 RM para cada grupo muscular trabajado;
 - b.3) Ejercicios para el entrenamiento de los músculos respiratorios, donde se realizarán 2 series de 30 inspiraciones y 30 espiraciones a través de un dispositivo específico de entrenamiento de la musculatura respiratoria (Power breathe, Biocorp Europa, Andoain, Basque Country, España). La intensidad de la carga corresponderá al 40% durante las semanas 1-2 y al 50% durante las semanas 3-4 de la presión inspiratoria (PIM) y espiratoria máximas (PEM); tras esas 4 semanas se re-ajustarán las cargas trabajando hasta el final de la intervención al 40% de la PIM y PEM. El paciente lo hará 5 días/semana (2 de ellos, por su cuenta).
- c) Un periodo de vuelta a la calma (10 min), con estiramientos y ejercicios de flexibilidad controlando el descenso de pulsaciones y el estado general del paciente.

(iii) Fase post-intervención

Al finalizar las 8 semanas de ejercicio, haremos una segunda medición de las variables físicas y psicológicas (durante 1 semana, evaluación 2) para conocer el efecto del ejercicio sobre la evolución del paciente. 48 horas después de las evaluaciones físicas se procederá a la recogida de muestras de sangre periférica para la evaluación de los parámetros inmunológicos e inflamatorios. Además, en esta fase los pacientes dejarán de entrenar durante 8 semanas con el objetivo de conocer la duración del efecto del ejercicio. Finalizado este periodo, se volverá a repetir la evaluación de las variables de estudio (evaluación 3), completando así la recogida de datos.

Medición de las variables de estudio

Calidad de vida

Tanto los pacientes como sus padres/tutores completarán el Cuestionario sobre Calidad de Vida Pediátrica PedsQL (*“The Spanish Version of Health-Related Quality of Life Questionnaire”*, PedsQL™ 3.0), cuyo módulo general consta de 23 ítems distribuidos en cuatro escalas: funcionamiento físico (8 ítems), emocional (5 ítems), social (5 ítems) y escolar (5 ítems). También utilizaremos el módulo para pacientes oncológicos (*“The Pediatric Quality of Life Inventory Acute Cancer Modul”*, PedsQL 3.0), <http://pedsq.org/>), el cual evalúa las dimensiones: dolor y molestias, presencia de náuseas, ansiedad previa, ansiedad por tratamientos, preocupaciones, problemas cognitivos, percepción del aspecto físico y comunicación [25].

Capacidad cardiorrespiratoria

Los parámetros ergoespirométricos y cardiovasculares serán medidos con un ergoespirómetro (Vmax 29C; SensorMedics Corp., Yorba Linda, California) y en cicloergómetro pediátrico (Ergoline, Sanro Electromedicina, España), aplicando el siguiente protocolo incremental: comienzo con 0 W, incremento de carga de 1W/30s (6W/min) y con una cadencia de pedaleo entre 40-60 revoluciones por minuto (rpm). Cuando el estado físico del paciente no permita el uso del cicloergómetro de piernas, se utilizará ergómetro de brazos (Monark Rehab Trainer model 881E, Monark, Varberg, Suiza) aplicando el siguiente protocolo: comienzo con 0 W, incrementando 5 W cada 30 segundos mientras la cadencia se mantenga constante a 50 rpm. Durante la prueba se registrarán, respiración a respiración, los siguientes parámetros de intercambio gaseoso: consumo de oxígeno (VO) pico (VO_{2pico}), VO_2 en el umbral anaerobio, ventilación pico (VE_{pico}), consumo de dióxido de carbono (VCO_2), equivalentes de oxígeno ($VE \cdot VO_2^{-1}$) y de dióxido de carbono ($VE \cdot VCO_2^{-1}$) en el umbral anaerobio, y presión parcial de oxígeno (Pet O_2) y de dióxido de carbono (Pet CO_2) basal, en el umbral anaerobio y en el pico de esfuerzo. También se mantendrá un registro electrocardiográfico (12 derivaciones) y de la saturación de oxígeno (Sat O_2). Los criterios de finalización de la prueba serán la interrupción voluntaria por parte del paciente, la incapacidad de mantener una cadencia ≥ 40 rpm o ≥ 30 rpm en cicloergómetro de piernas y brazos respectivamente, o cuando aparezcan signos o síntomas indicativos de interrumpir una ergometría (dolor torácico, cambios en el electrocardiograma sugerentes de problema cardiológico, disnea severa desproporcionada al esfuerzo, taquiarritmias, desaturación $>85\%$, o síntomas del sistema nervioso central como ataxia o temblores).

Fuerza muscular dinámica

Emplearemos máquinas de fuerza pediátricas (Strive Inc., PA, EE.UU.) con el objetivo de determinar el nivel de fuerza muscular en miembros inferiores, pectoral y dorsal, aplicando el test de 5 RM [26].

Fuerza de los músculos inspiratorios y espiratorios

Con el paciente sentado y con un clip de nariz, determinaremos la PIM y la PEM con un medidor de presión en la boca (Micro Medical Inc., Chatham, Kent, Reino Unido) a través de la realización de 3 inspiraciones y 3 espiraciones máximas, con periodos de descanso ≥ 1 minutos entre cada maniobra. Registraremos el valor máximo obtenido y que varíe menos del 20% ya que, considerar una menor variabilidad no puede garantizar que se hayan hecho esfuerzos máximos [27].

Capacidad funcional

- Test de la marcha de 2 minutos. En un pasillo de 15 metros de longitud (7,62 metros ida y 7,62 metros vuelta) y sin pendiente, con giros de 180° en cada extremo, el paciente caminará lo más rápido posible sin correr, sintiéndose cómodo. Se anotará la distancia recorrida a los 2 minutos.
- Test de agarre de la mano dominante o “*Hand Grip Strength test*”. Utilizando un dinamómetro electrónico portátil, mediremos 3 veces la fuerza de agarre de la mano dominante. Calculamos el promedio como el valor máximo de la fuerza de agarre.

- Test de flexibilidad o “*Sit and reach*”. Mediremos la flexibilidad de la zona lumbar, de los extensores de la cadera y de los músculos flexores de la rodilla. Se utilizará un flexómetro en cuya parte superior se dispondrá de un listón y una cinta métrica. El paciente se sentará con las piernas rectas, tocando el flexómetro con la planta de los pies. Mediremos la distancia máxima (en centímetros) que el paciente logre alcanzar con la punta de sus dedos después de realizar una flexión frontal, punto en el cual deberá mantenerse por un par de segundos. Los pacientes realizarán 2 veces el test, anotándose el mejor de ambos intentos.

Composición corporal

Calculada a través del índice de masa corporal [peso (kg)/talla(m)²], será determinada con una balanza y un tallímetro (Ano Sayol SL, Barcelona, España).

Niveles de actividad física

Serán medidos durante 7 días utilizando un acelerómetro triaxial (Actigraph model GT3X; Manufacturing Technology Inc., Fort Walton Beach, Florida), programado con “*epochs*” de 15 segundos y 30 Hz, considerándose válidas las mediciones con un mínimo de 10 h/día registradas durante 5 días (2 festivos y 3 laborables). Analizaremos los datos con el programa ActiLife6 (Actigraph) utilizando puntos de corte previamente definidos [28]. Las variables de estudio se expresarán como intensidad media (en “*counts*”·min⁻¹).

Marcadores inmunológicos

En sangre venosa periférica, se medirán leucocitos, monocitos y linfocitos en un analizador hematológico, y las subpoblaciones linfocitarias (linfocitos T, linfocitos B, linfocitos T reguladores, linfocitos CD3⁺, CD4⁺ y CD8⁺) y células dendríticas mediante citometría de flujo. El número de células de cada subpoblación linfocitaria será calculado multiplicando los leucocitos totales por el porcentaje de cada subpoblación.

Marcadores inflamatorios

Utilizaremos el sistema Bio-Plex, siguiendo el procedimiento recomendado por los fabricantes para la cuantificación en suero de las siguientes citoquinas: IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, PDGF, TGF- β , TNF- α .

Modelo murino

Emplearemos ratones hembras THMYCN heterocigotos (con fondo genético 129SvJ) de 6 semanas de edad, los cuales procederán del “*National Cancer Institute*” (Frederick, Maryland, EE.UU.). Se mantendrán en el Animalario del Centro de Investigaciones Energéticas y medioambientales (CIEMAT, Registro Número 28079-21A) cumpliendo con las recomendaciones y las leyes españolas y europeas relacionadas con el uso del animal de laboratorio (FELASA: Federación Europea de Asociaciones de Laboratorio de Animales en la Ciencia). Los ratones vivirán en jaulas micro-aisladas euro-estándar tipo IIL, un máximo de 5 por jaula, en condiciones controladas de temperatura y humedad (reguladas a 20±2°C y 55±10%, respectivamente), con iluminación

fluorescente de 07:00 a 19:00 horas, recibiendo comida (Harlan Teklad Global Diets 2914) y agua (filtrada 50 μm e irradiada con luz ultravioleta) *ad libitum*.

Diseño de estudio

El diseño de estudio estará dividido en tres grandes fases: (i) pre-intervención (2 semanas), (ii) intervención (8 semanas), y (iii) post-intervención (2 semanas) (ver **Figura 2**).

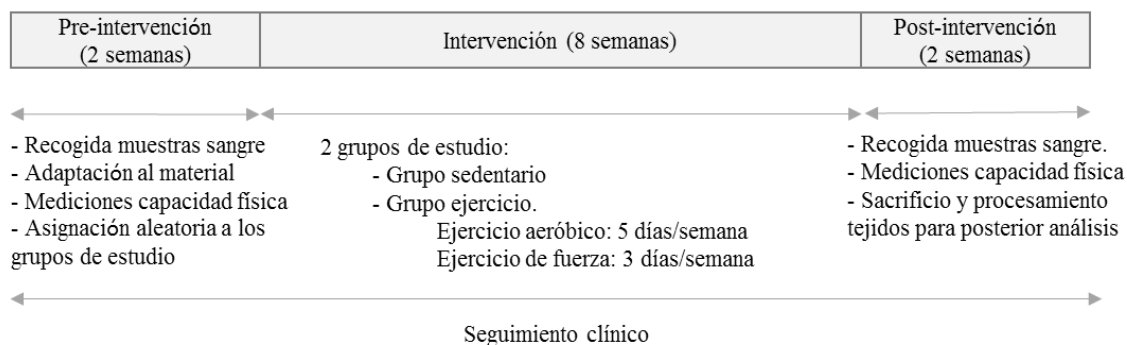


Figura 2. Diseño experimental del estudio en el modelo murino.

(i) Fase de pre-intervención

En esta fase tendrá lugar: (a) la recogida de muestras de sangre, para obtener los valores pre-intervención de las variables inflamatorias e inmunes; (b) la adaptación de los ratones al material que va a ser usado en el estudio; y (c) la evaluación inicial de la capacidad cardiorrespiratoria y fuerza de los ratones (ver más adelante).

(ii) Fase de intervención

Los ratones serán distribuidos aleatoriamente a los siguientes dos grupos, con un bloqueo en el nivel de capacidad cardiorrespiratoria: grupo de ejercicio (n=10; realizarán un programa de ejercicio individualizado) o grupo sedentario (n=10, cuyo movimiento quedará limitado al espacio de la jaula). El programa de ejercicio comenzará 48 horas después de haberse realizado la evaluación de la capacidad cardiorrespiratoria, y consistirá en un entrenamiento combinado (ejercicio aeróbico y de fuerza) de 8 semanas de duración, realizado entre las 07:15-12:00 horas.

Ejercicio aeróbico

El entrenamiento aeróbico interválico (intensivo-extensivo) se realizará de lunes a viernes utilizando un tapiz rodante (Harvard Apparatus, Panlab, Barcelona, España). La velocidad de carrera, la inclinación del tapiz y la duración del ejercicio aumentarán progresiva e individualmente para cada ratón desde las primeras sesiones [25 minutos de duración, intensidad ~35% de la velocidad máxima ($V_{\text{máx}}$) alcanzada en la prueba de esfuerzo y 0% de pendiente] hasta las últimas (1 hora de duración, intensidad ~70% de la $V_{\text{máx}}$, y 15% de pendiente). Con el fin de mantener las habilidades de carrera, pero sin llegar a provocar adaptaciones fisiológicas, los ratones del grupo sedentario correrán 5 minutos a una velocidad constante de 5 cm/s y sin pendiente, 1 día por semana (lunes).

Ejercicios de fuerza

Esta parte de la sesión será realizada después del ejercicio aeróbico, 3 días/semana (lunes, miércoles, viernes), e incluirá los siguientes ejercicios:

Plancha horizontal y volteo. El ratón será colocado en la parte superior de una plancha de fácil agarre, la cual se invertirá cuidadosamente colocándolo boca abajo. El ejercicio consiste en que el ratón vuelva a colocarse en la parte superior de la plancha. Cuando alcance este objetivo, se repetirá el proceso durante un tiempo que será progresivamente incrementado a lo largo del estudio (desde 30 segundos al comienzo hasta 90 segundos al final de la fase de entrenamiento). Dicho ejercicio se repetirá un total de 6 veces, con 2 minutos de descanso entre repeticiones.

Ejercicio de agarre con dos patas. Los ratones tendrán que agarrarse, solo con las patas delanteras, a una percha (de 2 mm de espesor) durante el mayor tiempo posible. La percha estará colocada ~40 cm por encima de una superficie blanda para amortiguar las caídas, distancia suficiente tanto para motivar al ratón a permanecer agarrado a la percha como para prevenir lesiones en el momento de la caída [29]. Este ejercicio se realizará 6 veces/sesión, con 10 minutos de descanso entre repeticiones.

(iii) Fase post-intervención

En esta fase se medirá la capacidad cardiorrespiratoria y la fuerza de ambos grupos de estudio. 48 horas después de las evaluaciones físicas se procederá a la recogida de muestras de sangre periférica y al sacrificio de los ratones a través de dislocación cervical. De cada ratón se extirparán los siguientes tejidos: el tumor, para estudios de inmunidad celular; el bazo y la médula ósea, para analizar la posibilidad de metástasis; y músculo esquelético y cardíaco, para identificar adaptaciones moleculares al ejercicio.

Medición de las variables de estudio

Seguimiento clínico diario

Evaluaremos diariamente la supervivencia y el peso de los ratones.

Inmunidad celular tumoral y metástasis

Se valorará la existencia de tumor mediante estudio anatómico macroscópico de la cavidad abdominal. A continuación, se extirparán las piezas tumorales, que se usarán para diferentes estudios. Una parte será fijada en formaldehído (10%) e incluida en parafina, para la posterior tinción con hematoxilina-eosina para el estudio de anatomía patológica con microscopio de luz. El resto del tumor se procesará para la detección del infiltrado leucocitario (CD45+) y el estudio de subpoblaciones (inmunidad innata y adaptativa, células mieloides supresoras, linfocitos reguladores y efectores, marcadores de activación y agotamiento) mediante la realización de citometría de flujo (FACS Canto II, Beckton Dickinson), y para el estudio de la expresión génica de mediadores moleculares del microambiente tumoral (citoquinas Th1 y Th2, “quimioquinas”, moléculas inmunosupresoras, metaloproteasas de matriz, moléculas co-estimuladoras e inhibidoras) mediante qRT-PCR (“*quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction*”). Por último, se realizará citometría de flujo (FACS Canto II, Beckton Dickinson) en bazo, médula ósea y sangre periférica para la investigación de metástasis.

Perfil inflamatorio sistémico

Las muestras de suero recogidas antes y después de la intervención serán utilizadas para cuantificar los niveles de las siguientes citoquinas, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BioPlex Pro™, Mouse Cytokine Standard Group I 23-Plex Laboratories Inc., Hercules, CA., EE.UU.): IL2, IL4, IL6, IFN γ y TNF α .

Capacidad cardiorrespiratoria

Se utilizará un tapiz para determinar de forma indirecta la capacidad cardiorrespiratoria máxima y para calcular la intensidad de las cargas del entrenamiento a través de la $V_{\text{máx}}$ alcanzada en el último estadio completado por el ratón [30]. Antes de la realización de esta prueba y durante 3 sesiones, los ratones aprenderán a correr en el tapiz. Durante el primer contacto, la velocidad será de 0 cm/s, con una inclinación del 0% y sin aplicación de estímulo eléctrico; posteriormente, la adaptación consistirá en 15 minutos de ejercicio continuo a una velocidad incremental desde 5 cm/s hasta 15 cm/s, con una inclinación del tapiz del 15% (estímulo eléctrico de 0,1 mA, 1 Hz, 200 ms). Durante la prueba, y después de un calentamiento de 10 minutos a 8 cm/s, la velocidad inicial del tapiz, que será de 5 cm/s, se incrementará en 2 cm/s cada 2 minutos. La inclinación del tapiz será del 15% porque permite obtener la mejor carga cardiovascular y minimizar las lesiones [31]. Consideraremos como criterio de parada de prueba el momento en el que el ratón permanezca más de 5 segundos seguidos en la rejilla electrificada y no sea capaz de seguir corriendo a una velocidad inmediatamente superior. Determinaremos la capacidad cardiorrespiratoria como la diferencia de la distancia total recorrida en las pruebas de esfuerzo realizadas al inicio y al final del estudio [31].

Fuerza muscular de las patas anteriores

Realizaremos el test de agarre o “*Hand Grip Strength Test*” para conocer la fuerza de las patas delanteras de los ratones a través de un aparato especializado que posee una barra (de diámetro de 3 mm) conectada a un sensor de fuerza isométrica (Panlab, Harvard apparatus, Barcelona, España). La prueba consiste en que el ratón agarre dicha barra utilizando las patas delanteras, a la vez que el evaluador tira ligeramente de la cola hacia atrás en un plano horizontal para que el propio ratón realice una fuerza contraria a la aplicada externamente (será registrada en gramos) [29]. Realizaremos 3 intentos, con 5 minutos de descanso entre ellos, considerando el mejor valor como la fuerza máxima alcanzada por cada ratón. También calcularemos la máxima fuerza relativa al peso [29].

Adaptaciones musculares al entrenamiento.

Determinaremos la actividad del enzima “*citrato sintasa*”, un marcador clásico de adaptación muscular aeróbica y de biogénesis mitocondrial, espectrofotométricamente en músculo esquelético homogeneizado [32]. También determinaremos la actividad de los complejos I, II, III, IV, I+III y II+III de la cadena respiratoria mitocondrial como un indicador de la capacidad oxidativa de los músculos esqueléticos homogeneizados, siguiendo los protocolos estandarizados para los análisis espectrofotométricos de la cadena respiratoria descritos por Medja *et al.* [33].

Referencias

25. Varni JW, et al. Cancer. 2002;94(7):2090-106.
26. Santana Sosa E, et al., Med Sci Sports Exerc. 2012;44(1):2-11.

27. Aldrich TK, Spiro P. Thorax. 1995;50(1):40-3.
28. Evenson KR, et al. J Sports Sci. 2008;26(14):1557-65.
29. Aartsma-Rus A, van Putten M. J Vis Exp. 2014;85. doi:10.3791/51303.
30. Fiuza-Luces C, et al. Cell Transplant. 2013;22:2409-20.
31. Hoydal MA, et al. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2007;14:753-60.
32. Powers SK, et al. Respir Physiol 1994;95:227-37.
33. Medja F, et al. Mitochondrion. 2009;9:331-9.

PLAN DE TRABAJO Y FASES DEL ESTUDIO

Pacientes

El diseño de estudio con los pacientes será realizado a lo largo de los 2 años que dura el proyecto, siempre y cuando un nuevo paciente sea diagnosticado en el HIUNJ. Seguiremos las fases que se definen a continuación:

Fase I.- Detección de posibles participantes y comprobación de los criterios de inclusión por parte de los oncólogos y de la psicóloga del Hospital. Puesta en marcha de la labor multidisciplinar.

Fase II.- Reunión con los padres/tutores/pacientes por parte de un miembro del equipo investigador (oncólogos, psicóloga o doctores en actividad física y salud). Entrega del consentimiento informado y devolución del mismo por aquellos que quieran participar.

Fase III.- Realización de la familiarización con el material. Un graduado en actividad física y salud explicará al paciente la técnica correcta de los ejercicios, minimizando de esta manera los errores de medición, así como el riesgo de lesión.

Fase IV.- Evaluación 1 de las siguientes variables de estudio:

- Calidad de vida, evaluada por la psicóloga;
- Capacidad cardiorrespiratoria, medida por un médico especialista en fisiología del ejercicio;
- Fuerza muscular dinámica y de los músculos respiratorios, capacidad funcional, niveles de actividad física y composición corporal, medidas por un doctor o por un estudiante pre-doctoral graduado en C.C. de la Actividad Física y Salud;
- Las mediciones de los marcadores inmunológicos e inflamatorios serán llevadas a cabo por un biólogo. La obtención de muestras de sangre se hará coincidir con la realización de las analíticas habituales del paciente.

Fase V.- Durante 8 semanas, realización del programa de ejercicio físico, el cual será supervisado por un graduado/doctor en C.C. de la Actividad Física y Salud.

Fase VI.- Evaluación 2 de las variables de estudio (después de las 8 semanas de ejercicio), de la misma manera que hemos definido en la Fase IV.

Fase VII.- Durante 8 semanas, los pacientes no harán ningún tipo de entrenamiento supervisado y, una vez que haya finalizado este periodo temporal, se realizarán las mediciones finales de las variables de estudio (evaluación 3).

Fase VIII.- Análisis de las variables inmunológicas e inflamatorias.

Fase IX.- Recopilación de todos los datos.

Fase X.- Análisis estadístico de los resultados obtenidos. Elaboración de un manuscrito para la publicación de los resultados por parte de los investigadores principales.

Modelo murino

El trabajo con los ratones *in vivo* será realizado a lo largo del primer año del proyecto siguiendo el diseño establecido en la sección de metodología. La familiarización con el


material a utilizar, la evaluación de la capacidad física, el seguimiento diario de los ratones así como la aplicación del programa de ejercicio serán efectuados por un estudiante pre-doctoral en C.C. de la Actividad Física y Salud. En cuanto a la obtención de las muestras de sangre, el sacrificio y la recogida de los tejidos serán llevados a cabo por un biólogo, así como la preparación de las muestras para las mediciones posteriores.


El segundo año del proyecto irá destinado a la evaluación de: a) la inmunidad celular tumoral y metástasis, por el histopatólogo del equipo investigador; b) el perfil inflamatorio sistémico; y c) las adaptaciones musculares moleculares al ejercicio (las tareas b y c las realizará el biólogo). Finalmente, se procederá a la recopilación y análisis estadístico de los datos, y a la elaboración de un manuscrito para la publicación de los resultados por parte de los investigadores principales del proyecto.

EXPERIENCIA Y RELACIÓN DEL EQUIPO INVESTIGADOR


Con este proyecto nos centraremos en la aplicación del ejercicio físico como herramienta terapéutica no farmacológica en pacientes pediátricos con neuroblastoma. Nos basaremos en la experiencia adquirida por el grupo de investigación liderado por el Profesor Alejandro Lucía (uno de los investigadores principales de este proyecto) sobre la utilización del ejercicio en población pediátrica con diferentes patologías (fibrosis quística, anorexia, leucemia, tumores sólidos), lo cual fue posible gracias a la creación del primer gimnasio intrahospitalario pediátrico a nivel mundial y al trabajo multidisciplinar llevado a cabo por diferentes profesionales (neumólogos, psicólogos, oncólogos, y graduados en actividad física y salud). Desde sus inicios en dicho Hospital, el Dr. Lucía colabora de forma estrecha con el Dr. Manuel Ramírez Orellana (también investigador principal del proyecto), el cual es el director del Laboratorio de Oncohematología y Trasplante del HIUNJ y defensor de los potenciales beneficios que conlleva la práctica del ejercicio sobre los pacientes pediátricos con cáncer. Además, el Dr. Ramírez viene trabajando con el modelo murino de neuroblastoma desde hace un par de años y su grupo ha aprendido mucho sobre la inmunidad tumoral, aspectos que repercutirán positivamente en la realización del proyecto. Por otro lado, contamos con la participación de Álvaro Lassaletta, oncólogo y responsable directo de los pacientes con neuroblastoma, el cual será el encargado de detectar los posibles participantes del estudio y de supervisar la evolución del paciente. Rosalía Lorenzo González es la psicóloga del citado hospital que trata tanto a los pacientes como a sus padres/tutores, por lo tanto pieza clave para llevar a cabo este trabajo. La Dr. Elena Santana Sosa es la investigadora encargada de llevar a la práctica los programas de ejercicio físico y está implicada en todos los trabajos desarrollados en pacientes pediátricos en el HIUNJ. Las Dras África González Murillo y Carmen Fiuza Luces son miembros estables del equipo de investigación del Dr. Lucía y el Dr. Ramírez, respectivamente, las cuales presentan experiencia previa en ejercicio físico en modelo murino con otras patologías (como por ejemplo, enfermedad injerto contra huésped). Ambas se encargarán de la supervisión directa de los estudiantes pre-doctorales (Lidia y Cecilia) así como el desarrollo de las técnicas bioquímicas y moleculares establecidas en el proyecto. Específicamente, Cecilia se ocupará del desarrollo del programa de ejercicio físico tanto en pacientes como en ratones, y Lidia se encargará del análisis histopatológico de los tumores así como de la parte de citometría de flujo. Todos los experimentos que se describen en esta propuesta, se llevarán a cabo en España, en el HIUNJ y en los laboratorios del equipo investigador. Los ratones se estabularán en el animalario del CIEMAT.


Investigadores Principales:

Nombre y apellidos	Manuel Ramírez Orellana
Titulación académica	Licenciado en Medicina y Cirugía
Doctor	Doctor en Medicina
Categoría profesional	Pediatra adjunto
Institución	Hospital Infantil Universitario Nino Jesús Servicio de Oncohematología y Trasplante
Firma de conformidad	


Nombre y apellidos	Alejandro Lucía Mulas
Titulación académica	Licenciado en Medicina y Cirugía
Doctor	Doctor en Medicina
Categoría profesional	Catedrático e Investigador
Institución	Universidad Europea de Madrid Hospital Universitario 12 de Octubre
Firma de conformidad:	

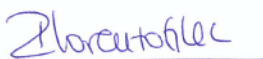
Resto de Investigadores:


Nombre y apellidos	Álvaro Lassaletta Atienza
Titulación académica	Licenciado en Medicina y Cirugía.
Categoría profesional	Pediatra adjunto
Institución	Hospital Infantil Universitario Nino Jesús Servicio de Oncohematología y Trasplante
Firma de conformidad	

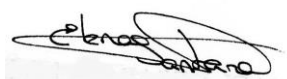
Nombre y apellidos	África González Murillo
Titulación académica	Licenciada en Biología
Doctor	Doctora en Biología
Categoría profesional	Investigadora
Institución	Hospital Infantil Universitario Niño Jesús Laboratorio de Oncohematología y Trasplante
Firma de conformidad	


Nombre y apellidos	Lidia Franco Luzón
Titulación académica	Licenciada en Biología
Doctor	-
Categoría profesional	Estudiante pre-doctoral
Institución	Hospital Infantil Universitario Niño Jesús

	Laboratorio de Oncohematología y Trasplante
Firma de conformidad	

Nombre y apellidos	Rosalía Lorenzo González
Titulación académica	Licenciada en Psicología
Categoría profesional	Psicóloga infanto-juvenil/Psicooncóloga
Institución	Hospital Infantil Universitario Niño Jesús Servicio de Oncohematología y Trasplante
Firma de conformidad	

Nombre y apellidos	Carmen Fiuza Luces
Titulación académica	Licenciada en CC de la Actividad Física y el Deporte
Doctor	Doctora en Biomedicina y Salud
Categoría profesional	Investigadora
Institución	Hospital Universitario 12 de Octubre
Firma de conformidad	

Nombre y apellidos	Elena Santana Sosa
Titulación académica	Licenciada en CC de la Actividad Física y el Deporte
Doctor	Doctora en Actividad Física y Salud
Categoría profesional	Profesora asociada
Institución	Universidad Europea de Madrid
Firma de conformidad	

Nombre y apellidos	Cecilia Rincón Castanedo
Titulación académica	Graduada en CC de la Actividad Física y el Deporte
Categoría profesional	Estudiante pre-doctoral
Institución	Universidad Europea de Madrid
Firma de conformidad	

DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Debido a los efectos devastadores del neuroblastoma y de los tratamientos utilizados contra esta enfermedad, a corto plazo esperamos que los pacientes que hayan participado en este proyecto mejoren su calidad de vida y presenten un menor declive en su capacidad cardiorrespiratoria, fuerza muscular y capacidad funcional, lo cual les permitirá afrontar las actividades de la vida diaria con normalidad, mejorando de esta manera su estado de salud general. Además, el estudio en modelo murino supone una

herramienta idónea para conocer los mecanismos moleculares que median los potenciales efectos beneficiosos del ejercicio en este grupo de pacientes. A medio plazo, los resultados alcanzados proporcionarán datos acerca de cómo influye el estado de forma física en la evolución del neuroblastoma y demás variables planteadas en nuestros objetivos, aportando conocimientos pioneros sobre el efecto del ejercicio físico en este grupo de pacientes, y construyendo nueva evidencia científica en este campo de investigación. Con este proyecto también se incrementará y solidificará la colaboración multidisciplinar entre distintos profesionales, ayudando de una manera más eficiente a estos pacientes, y todo ello con una excelente relación coste/beneficio en los Hospitales de nuestro Sistema Sanitario. A largo plazo, nuestros resultados serán enviados a revistas internacionales de cáncer con orientación clínica y básica, y publicados en congresos internacionales específicos de nuestra área de investigación. Finalmente, este proyecto formará parte de una tesis doctoral.

MEDIOS DISPONIBLES

En el *laboratorio de la Fundación de Investigación del HIUNJ* disponemos de los medios necesarios para la experimentación en temas de Biología Celular y Molecular así como en Citometría de Flujo. En nuestro laboratorio contamos con los siguientes aparatos:

- Cabinas de Flujo, Telstar BIO-II-A x2 y BIO-II-A advance.
- Incubadores de CO₂, Memmert INC153, Revco Elite II, Nuair UN-4850.
- Microscopio invertido de fluorescencia, Leica DM-IRB con captura de imagen.
- Microscopio directo de fluorescencia, Leica DML con captura digital de imagen.
- Sistema de almacenaje de muestras en nitrógeno líquido, Statebourne Biorack 6000, Taylor-Wharton LS750, AirLiquide GT-38.
- Congeladores de -80°C, -20°C y 4°C.
- Centrífugas refrigeradas, Sigma 1-15K, Sigma 2-16K y Kubota 5922.
- Baño Grant sub aqua 12.
- Termoagitadores, Innova 4000.
- Phmetro, Crison. phi360.
- Cabinas de extracción de ácidos nucleicos, Captair.
- Termociclador para PCR cuantitativa, Applied 7500.
- Termociclador para PCR estándar, Eppendorf Mastercycler egradient S.
- Sistema de visualización de geles con captura digital, Biorad ChemiDoc XRS+.
- Aparatos para electroforesis de geles SDS-PAGE, Biorad.
- Espectrofotómetro, NanoDrop.
- Balanza de precisión, Sartorius BP 310.
- CliniMacs, QuadroMacs AutoMacs, Miltenyi.
- Citómetro de flujo, FACS Canto II para 6 fluorescencias.
- Hemocitómetro Beckman Coulter AcT diff.
- Sistemas ELISA, Tecan infinite F200.
- Sistema Bio-Plex Biorad.

En el *gimnasio ubicado dentro del HIUNJ* contamos con el material necesario para llevar a cabo las sesiones de ejercicio físico en pacientes pediátricos:

- Máquinas de fuerza pediátricas (Strive, Inc., McMurray, Pensilvania, EE.UU.)
- Cicloergómetros (Rhyno Magnetic H490; BH Fitness Proaction, Victoria, España y Ergoline, Sanro Electromedicina, España).
- Ergómetro de manivela (Monark Rehab Trainer model 881E; Monark, Suiza).

Tapiz rodante (Technogym Run Race 1400HC; Gambettola, Italia).
 Pulsómetros (Xtrainer Plus; Polar Electro OY, Kempele, Finlandia).
 Material variado (pelotas, bandas elásticas, mancuernas).
 Balanza (Año Sayol SL, Barcelona, España).
 Analizador de gases con electrocardiograma de 12 derivaciones integrado (Vmax 29C; SensorMedics Corp., Yorba Linda, California).
 Acelerómetros triaxial (Actigraph model GT3X; Manufacturing Technology Inc., Fort Walton Beach, Florida).
 Pulsiosímetro (Trusat, General Electric Finland Oy, Helsinki, Finlandia).
 Dispositivos para el entrenamiento de los músculos respiratorios (Power breathe, Biocorp Europa, Andoain, Basque Country, España).
 Medidor de la presión respiratoria (Micro Medical Inc, Chatham, Kent, UK).
 Balanza y un tallímetro (Año Sayol SL, Barcelona, España).

El *animalario del CIEMAT* es el lugar donde este grupo de investigación realiza los experimentos con animales rutinariamente. Allí contamos con:

Tapices rodantes (Harvard Apparatus; Panlab, Barcelona, España).
 “*Hand grip strength meter*” (Panlab, Harvard apparatus, Barcelona, España).

FINANCIACIÓN SOLICITADA Y JUSTIFICACIÓN

Resumen financiación solicitada:

Material inventariable	0 €
Material fungible	20.000 €
Dietas y gastos de viaje	1.000 €
Contratación de personal investigador	40.800 €
Investigadores en formación	0 €
Contratación de servicios externos	0 €
TOTAL	61.800 €

Justificación:

MATERIAL FUNGIBLE	NECESIDAD
Reactivos y kits empleados en las técnicas de Biología Molecular (10.000 euros)	Extracción de ADN, síntesis de oligonucleótidos, síntesis de sondas con marcaje fluorescente, reactivos de PCR, análisis de los marcadores inflamatorios.
Anticuerpos (5.000 euros)	Estudios de patología y de citometría de flujo.
Gastos de animalario y de ratones (5.000 euros)	Realización del estudio en modelo murino.
MATERIAL INVENTARIABLE	NECESIDAD
No se contemplan gastos de inventariable puesto que el laboratorio, el gimnasio y el animalario están dotados con el aparataje necesario para las tareas propuestas.	
PERSONAL	NECESIDAD
1 Graduado en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte (1.700 euros x 24 meses = 40.800 euros)	Con una gran parte del presupuesto se financiará la labor imprescindible de un licenciado especialista en actividad física y salud, el cual desarrollará las sesiones de ejercicio con los pacientes y los ratones.

VIAJES	NECESIDAD
Asistencia a congresos y publicación de los resultados (1000 euros)	Puesta al día de los nuevos avances experimentados en nuestro ámbito de estudio. Gastos ocasionados por la publicación de los resultados en revistas internacionales.