Amadeo de Saboya, 4
46010 Valencia • España
Tel. 963 391 250
Fax 963 601 453
www.ochoa.fib.es

MEMORIA CIENTÍFICA 2003

FVIB

MEMORIA CIENTÍFICA 03

FVIB

FVIB • FUNDACIÓN VALENCIANA DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

PRESENTACIÓN **05**

Vicente Rambla Momplet. Conseller de Sanidad

INTRODUCCIÓN **07**

Rubén Moreno Palanques. Director General

QUÉ ES LA FVIB **11**

La FVIB, su próximo traslado al CSAT 11

Organigrama, Patronato y Composición 14

MEMORIA CIENTÍFICA: **21**

Programa de Biomedicina **23**

Departamento de Biología del Cáncer **25**

Laboratorio de Biología Molecular del Cáncer 25

Departamento de Neurobiología **29**

Laboratorio de Neurobiología 29

Laboratorio de Patología Celular 38

Unidad de Microscopía Confocal 42

Departamento de Inmunobiología **47**

Laboratorio de Patología Autoinmune 47

Departamento de Biología Celular, Molecular y Genética **51**

Laboratorio de Biología Celular 51

Laboratorio de Genética Molecular 54

Laboratorio de Reconocimiento Molecular 58

Laboratorio de Toxicología Genética 63

Laboratorio de Organización Celular 66

Programa de Genómica y Farmacoproteómica **71**

Departamento de Química Médica **73**

Laboratorio de Péptidos y Desarrollo de Ensayos 73

Datos complementarios **79**

Contratos Ramón y Cajal 81

Becas 82

Premios y distinciones 84

Acuerdos institucionales 85

Seminarios 85

Cursos y jornadas 88

Instituciones colaboradoras 89

EL CSAT HOY **93**

El edificio 95

Recursos humanos 98

Dossier de prensa 101

Presentación

Vicente Rambla Momplet. Conseller de Sanidad

Tengo la satisfacción de presentar, en estas páginas, el balance anual de una de las instituciones científicas valencianas con mayor prestigio, dentro y fuera de nuestras fronteras.

La Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas (FVIB), nacida en 1991 con la misión de financiar, servir y promocionar la labor del Instituto de Investigaciones Citológicas (IIC), acaba de culminar una etapa importante de su historia. Una etapa que ha estado marcada por el rigor y la relevancia de sus líneas de trabajo.

Durante estos trece años ha sabido tender puentes entre el mundo de la ciencia y el tejido social de nuestro país, lo que la ha convertido en un referente de calidad y en un verdadero motor de desarrollo para la Comunidad Valenciana.

Por eso hoy no resulta aventurado afirmar que gracias a la labor desplegada por sus más 100 investigadores, el término investigación biomédica es, para muchos valencianos, sinónimo de vanguardia de la ciencia.

Sin embargo, el año 2004 va a suponer un claro punto de inflexión en su trayectoria.

Con la finalización de las obras del Centro Superior en Alta Tecnología Científica para la Investigación en Biomedicina y en Trasplantes de Tejidos y Órganos de la Comunidad Valenciana (CSAT), parte de las bases de la Fundación, y en concreto el actual Instituto de Investigaciones Citológicas (IIC), va a quedar integrado en sus nuevas instalaciones, y con él su cartera de servicios y sus líneas de investigación.

La Generalitat Valenciana, de esta forma, culminará uno de los retos más ambiciosos, que dentro de su política de apoyo al desarrollo tecnológico y la innovación, se impuso en este arranque de siglo. Un reto basado en la creación de una red de centros especializados en la que el investigador pueda encontrar los medios y el ambiente de trabajo adecuados para desarrollar su actividad.

Con la puesta en marcha del CSAT no sólo vamos a alcanzar esta meta, sino que además evitaremos la atomización y la dispersión de investigadores y grupos de trabajo, con lo que habremos eliminado el principal obstáculo para conseguir una masa crítica de esfuerzos.

La humanidad está viviendo en el umbral de la mayor revolución que han conocido la ciencia biomédica y farmacéutica. Los avances producidos en la genómica, la proteómica y la medicina regenerativa, así como el uso cada vez más habitual de las nuevas tecnologías,

no son sino indicativos del dinamismo y sobretodo de la ambición y el compromiso social con el que la comunidad científica se ha marcado objetivos de cara a este nuevo milenio.

En la Generalitat Valenciana creemos firmemente en ese progreso científico y técnico que se avecina, y hemos apostado por promover la investigación en el campo de la medicina regenerativa con células madre. Para nosotros es el factor estratégico que más va a contribuir al incremento de la calidad asistencial en nuestros centros sanitarios. Por esa razón hemos apostado por proyectos como el CSAT, un proyecto que va a situar a nuestra Comunidad, en muy poco tiempo, en una posición de privilegio en el panorama científico internacional.

Vicente Rambla Momplet
Conseller de Sanidad

Introducción

Rubén Moreno Palanques. Director General

El año 2003 ha representado un significativo avance en la ya larga trayectoria de nuestro Centro, que en 2005 cumplirá 40 años desde su creación como primitivo Laboratorio de Citogenética por el Dr. Jerónimo Forteza Bover. El centro de investigación, que en su desarrollo se fue transformando en Instituto de Investigaciones Citológicas, y posteriormente en Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas (FVIB), dará un salto cuantitativo en 2004 con la finalización de las obras del Centro Superior en Alta Tecnología Científica para la Investigación en Biomedicina y en Trasplantes de Tejidos y Órganos de la Comunidad Valenciana (CSAT).

En materia de **infraestructuras**, durante el ejercicio 2003 se continuó a buen ritmo con la construcción del CSAT, lo que supuso un volumen de ejecución para este ejercicio de 25.181.378 €; y representa hasta la fecha un total de obra ejecutada de 44.934.966 €. Asimismo, se dotó de equipamiento al nuevo departamento de Química Médica por un valor de 300.863,76 €. Se obtuvo también una financiación del Ministerio de Sanidad y Consumo de 225.000 € en 2002 para tres grandes equipos que darán servicio a los distintos grupos de investigación del CSAT, y de 300.000 € para la adquisición de un espectrómetro de masas con tecnología time-of-flight (TOF) en paralelo para identificar y caracterizar miles de proteínas por día, hasta diez veces más rápido que la tecnología preexistente, destinado al análisis masivo y secuenciación de proteínas de interés.

En cuanto al **funcionamiento**, los grupos de investigación consiguieron financiación externa procedente de Proyectos Europeos del V Programa Marco, Programas Nacionales y ayudas públicas por un importe total de 1.212.549 €. Asimismo, obtuvieron la concesión de becas tanto predoctorales, financiadas por el Ministerio de Ciencia, como becas de técnicos FP y Técnicos FP Superiores de la Agencia Valenciana de Ciencia y Tecnología (ACYT). También contribuyó a la financiación de los gastos de funcionamiento de los grupos, otras ayudas de carácter privado, donaciones, convenios, cursos, etc, que para este ejercicio ascendieron a un total de 100.082 €.

Institucionalmente se consiguió la concesión en la convocatoria nacional 2003 de siete contratos Ramón y Cajal cofinanciados durante los próximos cinco años por el Ministerio de Ciencia y Tecnología. También, se incorporó al nuevo grupo de Química Médica un investigador Ramón y Cajal de la convocatoria 2001 procedente de la Universidad de Navarra, y se obtuvo el compromiso de traslado de cuatro contratados más desde otros centros atraídos por las características del CSAT. Durante 2003, se obtuvo del Ministerio de Sanidad y

Consumo la cofinanciación de un contrato de tres años de duración para un investigador con Formación Sanitaria Especializada (FSE), que se incorporó al nuevo grupo de Química Médica, y se realizaron los trámites oportunos para la obtención de tres contratos de tres años de duración mínima para investigadores adscritos al Sistema Nacional de Salud. La incorporación de estos últimos se ha realizado en el primer trimestre de 2004.

Durante el ejercicio 2003, se obtuvieron ayudas de la Agencia Valenciana de Ciencia y Tecnología para financiar una parte de los contratos ya suscritos con investigadores de la institución, por un importe global de 41.058 €, y 126.000 € para la financiación de siete becas post-doctorales por la Fundación Bancaixa.

Respecto a la **actividad científica**, durante el año 2003 se diseñó e implementó la estrategia del CSAT con el establecimiento de los tres grandes Programas de Investigación: Biomedicina; Trasplante y Medicina Regenerativa; y Genómica y Farmacoproteómica. Dentro de estos tres Programas se incorporarán los grupos provenientes de la actual FVIB, así como los correspondientes a futuros traslados y nuevas incorporaciones.

Durante el 2003 se creó el departamento de Química Médica y el laboratorio de Péptidos y Desarrollo de Ensayos, liderado por el profesor Enrique Pérez-Payá, investigador del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, de reconocido prestigio dentro del ámbito nacional e internacional. La actividad de este nuevo grupo se centra en la identificación de nuevas dianas farmacológicas y el diseño de inhibidores con actividad biológica. Con el profesor Pérez-Payá se han incorporado dos investigadores, cuatro becarios y tres técnicos de soporte a la investigación.

La productividad científica de los grupos de la FVIB se incrementó en 2003 hasta casi duplicar la correspondiente al ejercicio 2002. Asimismo, el número de tesis doctorales leídas casi se triplicó, y se mantuvo el nivel de patentes solicitadas. Este éxito es consecuencia del evidente esfuerzo realizado por el personal de la Fundación durante este ejercicio.

Los resultados científicos obtenidos en la FVIB durante 2003 poseen un gran potencial de **transferencia de la I+D+i al sector sanitario**. De especial interés, desde el punto de vista social y de aplicabilidad clínica, son los estudios relacionados con el esclarecimiento de las causas moleculares que subyacen en patologías oncológicas mediante el estudio del gen supresor de tumores PTEN, cuya mutación es muy frecuente en tumores esporádicos y en la línea germinal de pacientes con síndromes tumorales hereditarios de difícil diagnóstico. Los estudios realizados en esta etapa son importantes para comprender cómo previene la proteína PTEN el desarrollo de tumores, y para el correcto diagnóstico, consejo genético y tratamiento preventivo de enfermos con síndromes tumorales hereditarios.

Se consolidó la utilización de Quimiotecas Combinatorias conformacionalmente restringidas diseñadas en nuestro centro, como base para la identificación de inhibidores de interacciones proteína-proteína. Esto tendrá importancia en el descubrimiento de nuevos compuestos con actividad terapéutica.

Se sigue trabajando en el desarrollo de una nueva familia de agentes neuroprotectores (trialquilglicinas) que previenen casi completamente la degeneración neuronal en un modelo de isquemia cerebral en ratas. Se estudia su mecanismo de acción para su aplicación en situacio-

nes de isquemia cerebral o en enfermedades neurodegenerativas en humanos. Por otro lado, se ha revertido la disminución de la capacidad de aprendizaje en ratas con hiperamonemia y/o fallo hepático crónicos, y se va a estudiar su aplicación en pacientes con fallo hepático.

Dentro del estudio de los mecanismos moleculares de enfermedades autoinmunes, GPBP es una nueva enzima molecular que fosforila y cataliza cambios conformacionales de proteínas sustrato (antígeno Goodpasture y proteína priónica). Alteraciones en la forma de operar de GPBP resultan en la producción de conformaciones aberrantes que activan el sistema inmune y causan autoinmunidad (enfermedad de Goodpasture), o agregan y forman depósitos que causan degeneración tisular (encefalopatía espongiforme).

Los resultados científicos obtenidos en la FVIB en 2003 poseen también potencial de **transferencia del I+D+i al sector industrial**. Durante 2003, se suscribió un contrato de cesión de derecho internacional de prioridad y know-how de patente sobre trímeros de N-alquilglicina capaces de proteger a neuronas contra agresiones excitotóxicas. La FVIB tiene también derechos sobre otras moléculas frente a fenómenos de autoinmunidad que están en proceso de desarrollo.

La FVIB estableció más de 70 **colaboraciones** y 4 **Acuerdos Marco** con grupos e instituciones tanto nacionales como internacionales. Las colaboraciones se realizaron con grupos de investigación de todas las Comunidades Autónomas españolas, con 13 países diferentes (EE UU, Canadá, Francia, Inglaterra, Italia,...). Los Acuerdos Marco se firmaron con entidades de tanta relevancia internacional como el Instituto Karolinska de Estocolmo, Suecia; y la Universidad de Vanderbilt, en Tennessee, EE UU; y localmente, con la Fundación Universidad-Empresa de Valencia (Universitat de València), y con la Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Clínico.

En cuanto a la visibilidad de la FVIB en los Foros Nacionales e Internacionales, sus investigadores participaron en 14 Foros Científicos Internacionales, y en la sede de la FVIB se celebraron 36 seminarios científicos, 7 jornadas de Medicina Molecular y 5 cursos (Microscopía Electrónica en Biología; Técnicas de Biología Molecular aplicadas al análisis de las Interacciones entre Proteínas; Sondas Magnéticas y PCR en Diagnóstico Clínico; Técnicas Avanzadas en Diagnóstico Molecular; y Cultivo de Células Animales), todos ellos de larga tradición en España. Asimismo, desde la FVIB se han organizado eventos científicos internacionales, entre los que destacan los Cursos Magistrales de la Cátedra Santiago Grisolía 2003.

Finalmente, se constituyó un **Consejo Científico Asesor** al que se incorporaron los doctores Alberto Muñoz Terol, del Instituto de Investigaciones Biomédicas de Madrid (Premio Rey Jaime I de Investigación 1993); Carlos López Otín, de la Universidad de Oviedo; Eugenio Santos, del Centro de Investigaciones del Cáncer de la Universidad de Salamanca-CSIC; Federico Mayor Menéndez, del Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" de la Universidad Autónoma de Madrid; Francisco X. Real Arribas, del Institut Municipal d'Investigació Médica de la Universitat Pompeu-Fabra, Barcelona; Eduardo Soriano García, del Institut de Recerca Biomédica de Barcelona-Parc Científic de la Universitat de Barcelona (Premio Rey Jaime I de Investigación 2000); y Xavier Estivill, del Centre de Regulació Genòmica de Barcelona. A ellos debe la FVIB un especial agradecimiento por su ayuda en una labor que es absolutamente necesaria en un centro de investigación, como es la asesoría científica externa real y continua. Todos ellos han demostrado que es posible reunir en una misma persona la excelencia científica y una excepcional calidad humana.

En el capítulo de agradecimientos no sólo es obligado, sino una satisfacción, reconocer públicamente el apoyo e implicación personal e institucional del Molt Honorable President de la Generalitat D. Francisco Camps; del Honorable Conseller de Sanitat, y Presidente del Patronato de la FVIB, D. Vicente Rambla; del Presidente de Bancaja, D. Jose Luis Olivas; y de todos cuantos les precedieron; de los directores que ha tenido el centro desde su creación, en especial del Dr. Santiago Grisolía; y por supuesto de todo el personal de la FVIB, científico y no-científico. Todos ellos, en la medida de sus posibilidades, han hecho posible con su generosidad y esfuerzo diario que durante todos estos años nuestro centro haya crecido y aportado a la sociedad parte de lo que la sociedad nos ha dado.
Nuestro compromiso es seguir dando en los próximos años lo mejor de nosotros mismos.

Rubén Moreno Palanques
Director General

La FVIB, su próximo traslado al CSAT

La Fundación Valenciana de Investigaciones Biológicas: pasado y futuro

La Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas (FVIB) tiene sus orígenes en un laboratorio privado que en 1940 el profesor D. Gerónimo Forteza Bover destinó a la investigación citológica y que cristalizó en los años sesenta en el Instituto de Investigaciones Citológicas, Obra Social de la Caja de Ahorros y Monte de Piedad de Valencia.

Después de más de medio siglo de actividad investigadora, la FVIB ha asumido la dirección de la construcción y organización del futuro Centro Superior en Alta Tecnología para la Investigación en Biomedicina y en Trasplantes de Tejidos y Órganos de la Comunidad Valenciana (CSAT), un centro destinado al descubrimiento de nuevos fármacos y terapia celular que representa la mayor apuesta realizada hasta el momento por la Generalitat Valenciana en el campo de la investigación biomédica.

El CSAT nace en el marco del Programa Operativo Integrado de la Comunidad Valenciana 2000-2006, cofinanciado con fondos estructurales de la Unión Europea, y aprobado mediante Decisión de la Comisión Europea el 7 de febrero de 2001, para el desarrollo de la actuación denominada Investigación en alta tecnología biomédica y en trasplantes de tejidos y órganos. La construcción del centro se inició en diciembre de 2001 con la inversión procedente del Fondo de Desarrollo Regional de la Unión Europea (FEDER) y de la Generalitat Valenciana, a través de la Conselleria de Sanitat y su finalización está prevista para 2004.

La Dirección General, tanto de la FVIB como del CSAT, está a cargo del Dr. Rubén Moreno Palanques de quien depende la Gerencia, las Direcciones Científicas, los Programas y las Unidades del Centro. En virtud del convenio suscrito entre la Conselleria de Sanidad de la Generalitat Valenciana y el Instituto de Salud Carlos III, del Ministerio de Sanidad y Consumo, el CSAT adquirió el carácter de Centro Asociado al Instituto de Salud Carlos III como Centro Nacional de referencia para la investigación en biomedicina y en trasplantes de tejidos y órganos.

Un centro de referencia para la investigación en España

El edificio del CSAT, de 32.000 m^2 con una superficie útil de 28.280 m^2, está compuesto por dos elementos principales, una base y tres torres comunicadas vertical y horizontalmente. Dichas torres se configuran como un espacio concebido única y exclusivamente para el uso científico y de investigación. Todos sus acabados cumplen una serie de requisitos técnicos y de protección biológica que homogeneiza todos los espacios.

El conjunto de la construcción está pensado para adaptarse con facilidad a los cambios de la evolución natural de los avances científicos y contiene las instalaciones técnicas más avanzadas en materia de investigación. El CSAT será punto de encuentro para la ciencia internacional, un espacio de vanguardia donde se reúna lo más avanzado de la investigación actual.

Programas y líneas de investigación del CSAT

La actividad del CSAT se agrupa en tres programas fundamentales. El **Programa de Biomedicina** está basado inicialmente en la investigación que se está realizando en el Instituto de Investigaciones Citológicas, previo a su traslado al CSAT, pero con el objetivo de enriquecer progresivamente las líneas de investigación básica en desarrollo con otras nuevas. Además de la investigación básica, su objetivo es el descubrimiento de dianas frente a las que desarrollar nuevos fármacos. En este programa se incluyen áreas como la biología del cáncer, neurobiología e inmunobiología.

El **Programa de Genómica y Farmacoproteómica** está dirigido fundamentalmente a la identificación y validación de nuevas dianas moleculares en patología humana y al diseño de nuevos fármacos. Para el desarrollo de este programa, se están construyendo plataformas de proteómica, bioinformática, genómica y química médica.

Finalmente, el **Programa de Trasplante y Medicina Regenerativa** se orienta fundamentalmente a la investigación de la biología celular y molecular de las células madre embrionarias y de cordón umbilical; la ingeniería de tejidos y terapia celular; y constituirá la plataforma básica y de apoyo científico a los programas clínicos de trasplante asociados de médula ósea, cardiaco, renal y hepático. Constituirá pieza fundamental de este programa el banco de líneas celulares embrionarias.

Los tres programas favorecerán la colaboración con unidades clínicas extramurales que faciliten la investigación aplicada, mediante el establecimiento de Unidades Asociadas con los hospitales de la Comunidad Valenciana.

Personal y equipamiento

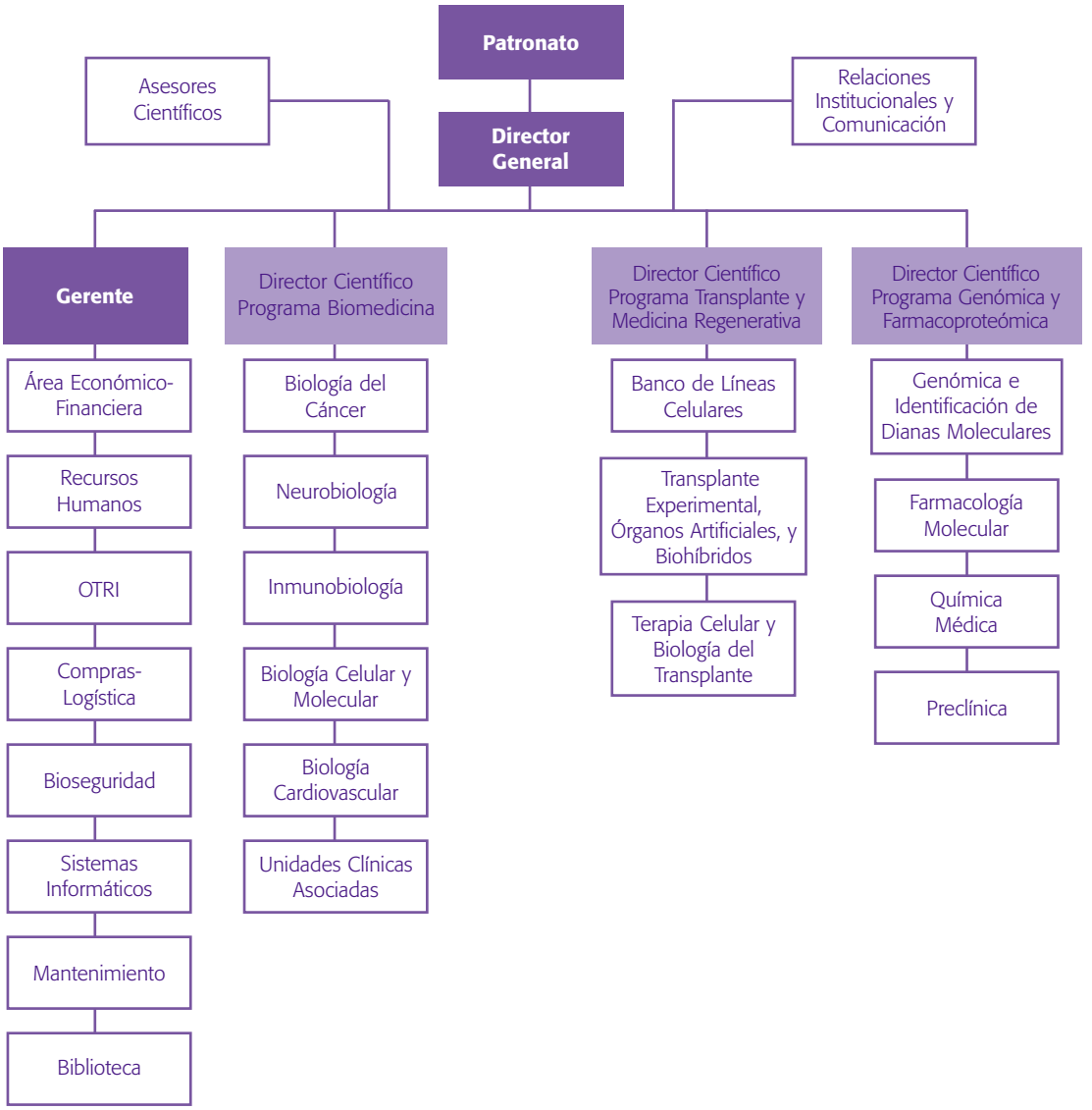
El CSAT incorporará progresivamente a más de 300 investigadores y su personal de apoyo a partir del último trimestre de 2004. En la actualidad, el centro tiene 124 personas trabajando en las instalaciones que la FVIB posee en el Instituto de Investigaciones Citológicas de Valencia. El 87% de ese personal es investigador, mientras que el restante esta asignado a gestión y administración del Centro.

El CSAT dispondrá de la más alta tecnología científica destinada a la consecución de sus objetivos. A modo de ejemplo, tendrá operativas entre otras, instalaciones de proteómica, con integración de biología celular, química de proteínas, espectrometría de masas e informática. Esta tecnología permitirá la identificación de dianas para intervención terapéutica, así como marcadores diagnósticos basados en proteínas. Entre los instrumentos que incorpora están los de última generación en espectrometría de masas, como el Applied Biosystems 4700 Proteomics Analyzer, que utiliza la tecnología time-of-flight (TOF) en tándem para identificar y caracterizar miles de proteínas por día, hasta diez veces más rápido que la tecnología preexistente; el sistema Q STAR™ XL Hybrid LC/MS/MS, la unión de las tecnologías de triple cuadrupolo y TOF para la selección y análisis de iones que en su conjunto permite, además de la identificación de proteínas y péptidos, el acceder a la caracterización de interacciones entre biomacromoléculas, modificaciones postraduccionales y estudios de metabolómica; o la resonancia magnética nuclear (RMN) con un campo de 600 mHz optimizado con criosonda para la resolución estructural en disolución de proteínas y complejos proteína-fármaco.

Colaboraciones

Actualmente existen más de 70 colaboraciones de la FVIB con centros nacionales e internacionales que se incrementarán con el desarrollo de las nuevas líneas del Centro. En concreto, la FVIB ha establecido un convenio marco con el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), dependiente del Ministerio de Sanidad y Consumo, con la Universidad de Valencia y con la Fundación de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia, así como acuerdos internacionales de colaboración con la Universidad de Vanderbilt (EE UU) y el Instituto Karolinska de Suecia.

Organigrama



Asesores Científicos

Dr. Alberto Muñoz Terol

Instituto de Investigaciones Biomédicas (Madrid)

Dr. Carlos López Otin

Universidad de Oviedo (Oviedo)

Dr. Eugenio Santos

Centro de Investigaciones del Cáncer, Universidad de Salamanca-CSIS (Salamanca)

Dr. Federico Mayor Menéndez

Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid (Madrid)

Dr. Francisco X. Real Arribas

Institut Municipal d´Investigació Médica, Universitat Pompeu-Fabra (Barcelona)

Dr. Eduardo Soriano

Institut de Recerca Biomédica de Barcelona/Parc Científic, Universitat de Barcelona (Barcelona)

Dr. Xavier Estivill

Centre de Regulació Genómica (Barcelona)

Patronato

Presidentes de Honor

Molt Hble. Sr. José Luis Olivas Martínez
(Presidente de la GENERALIDAD VALENCIANA - hasta mayo 2003)
Molt Hble. Sr. Francisco Camps Ortiz
(Presidente de la GENERALIDAD VALENCIANA - desde mayo 2003)
D. Julio de Miguel Aynat
(Presidente de BANCAJA y FUNDACIÓN BANCAJA).

Presidente

Hble. Sr. Serafín Castellano Gómez
(Conseller de Sanidad- hasta mayo 2003)
Hble Sr. Vicente Rambla Momplet
(Conseller de Sanidad- desde mayo 2003)

Vicepresidente

D. Santiago Grisolía García

Vocales (hasta mayo 2003)

D. Máximo Caturla Rubio
D. Vicente López Merino
D. Manuel M. Llombart Bosch
Dª. Alicia de Miguel García
D. Francisco Murcia García
D. Eduardo Primo Yúfera
D. Jesús Rodríguez Marín
D. José Sanmartín Espulgues
D. Miguel Ángel Utrillas Jáuregui
D. Ángel Villanueva Pareja
Dª. Isabel Zarzuela Luna

Vocales (desde mayo 2003)

D. Juan Antonio Barcia Albacar
D. Alfonso Bataller Vicent
D. Antonio Campos Muñoz
D. José Vicente Castell Ripoll
D. Joaquín Farnós Gauchia
D. Marciano Gómez Gómez
D. Melchor Hoyos García
D. Eloy Jiménez Cantos
D. Emilio Lora-Tamayo d`Ocón
D. Manuel Llombart Bosch
D. José Mir Pallardó
D. Esteban Morcillo Sánchez
D. Francisco Murcia García
D. Antonio Pellicer Martínez
D. Rafael Sanus Sellés
D. Miguel Ángel Utrillas Jáuregui
D. Ángel Villanueva Pareja
D. Juan Viña Rives

Secretario

D. José Hernández Yago

Personal de la Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas

DIRECCIÓN

DIRECCIÓN GENERAL	Rubén Moreno Palanques
GERENTE	Mª José Feltrer Sanmartín

SERVICIOS GENERALES

ADMINISTRACIÓN	Begoña Núñez Navarro (Jefa de Administración)
	María Blanco Martínez
	Isabel Lacreu Cuesta
	María José Lázaro Suau
BIBLIOTECA	Ramona Sánchez Motilla
MANTENIMIENTO	Ramón Ruiz Caplliure
	Roberto Sánchez Martín
RECEPCIÓN	Elisa Marco Roig
	Elisa Marco Vidal (en excedencia)
	Susana Martínez López
	Soledad Montoya Soto
SECRETARÍA DE DIRECCIÓN	
	Dominique Stevenson (hasta 15/12/2003)
	Gabriela Pérez Garrity (desde 16/12/2003)

Personal de la Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas

INVESTIGADORES

Biomedicina

DEPARTAMENTO	LABORATORIO	Responsable
Biología del Cáncer	BIOLOGÍA MOLECULAR DEL CÁNCER	Dr. Rafael Pulido
Neurobiología	NEUROBIOLOGÍA	Dr. Vicente Felipo
	PATOLOGÍA CELULAR	Dra. Consuelo Guerri
	UNIDAD DE MICROSCOPIA CONFOCAL	Dra. María Burgal
Inmunobiología	PATOLOGÍA AUTOINMUNE	Dr. Juan Saus
Biología Celular, Molecular y Genética	BIOLOGÍA CELULAR	Dr. Erwin Knecht
	GENÉTICA MOLECULAR	Dra. Mª Eugenia Armengod
	RECONOCIMIENTO MOLECULAR	Dr. Javier Cervera
	TOXICOLOGÍA GENÉTICA	Dr. Manuel Blanco
	ORGANIZACIÓN CELULAR	Dr. José Hernández-Yago

Genómica y Farmacoproteómica

DEPARTAMENTO	LABORATORIO	Responsable
Química Médica	PÉPTIDOS Y DESARROLLO DE ENSAYOS	Dr. Enrique Pérez Payá

500 mL

MEMORIA CIENTÍFICA

PROGRAMA DE BIOMEDICINA

1

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DEL CÁNCER

Laboratorio de Biología Molecular del Cáncer

Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
Rafael Pulido	Miguel Valiente	Juanjo Muñoz	Isabel Roglá
	Anabel Gil	Pablo Ríos	Beatriz Gomar
	Céline Tárrega	Amparo Andrés	Elena Fernández
		Rocío Cejudo	

La investigación desarrollada en el laboratorio de Biología Molecular del Cáncer está dirigida al estudio, desde el punto de vista molecular, de la regulación del crecimiento, la diferenciación y la transformación celular por medio de proteínas quinasas y fosfatasas, y su posible participación en la generación de tumores. En particular, estamos estudiando: 1/ la participación de la fosfatasa supresora de tumores PTEN en la transformación celular; y 2/ la regulación de la ruta de señalización de las MAP quinasas, activada por el producto del oncogén Ras, mediante proteínas fosfatasas y quinasas. Las características estructurales y funcionales de las proteínas que estudiamos en el laboratorio, hacen de ellas unos candidatos idóneos a ser supresores o inductores de tumores, por lo que la caracterización de su función biológica es un paso importante para el diseño de terapias anti-tumorales.

PARTICIPACIÓN DE LA FOSFATASA SUPRESORA DE TUMORES, PTEN, EN LA REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO CELULAR

PTEN es una molécula supresora de tumores con actividad enzimática lípido- y proteín-fosfatasa. Un elevado número de tumores, entre los que se incluyen glioblastomas, neuroblastomas, linfomas, diversos carcinomas y melanomas, presentan anomalías en el gen PTEN; por ello, en la actualidad se considera a PTEN, junto con p53, uno de los supresores tumorales de mayor relevancia clínica. La actividad biológica de PTEN se manifiesta mediante la desfosforilación de fosfolípidos señalizadores, que se encargan de activar la vía de supervivencia de la proteína quinasa oncogénica PKB/Akt, así como mediante la desfosforilación de proteínas específicas.

Nuestro laboratorio ha obtenido y caracterizado, inmunoquímica y funcionalmente, un panel de AcM frente a distintos epítopos de PTEN, los cuales pueden tener utilidad en el diagnóstico clínico de pacientes con cáncer, así como servir de herramientas para estudiar la función de este supresor tumoral. Además, estamos analizando las consecuencias biológicas de las mutaciones encontradas en el gen PTEN en tu-

mores humanos. De especial interés son las mutaciones encontradas en la línea germinal de pacientes con síndromes de hamartomas tumorales hereditarios asociados a disfunciones en PTEN (Vega et al., 2003). La identificación y caracterización funcional de este tipo de mutaciones es de gran importancia clínica para el seguimiento familiar de la enfermedad y el consejo genético, así como para entender los mecanismos moleculares responsables de la misma. En este contexto, estamos estudiando los mecanismos moleculares mediante los cuales las células regulan la función de PTEN durante su crecimiento y/o adaptación a las condiciones del entorno. Hemos descubierto que la fosforilación de PTEN por CK2 confiere a este supresor tumoral estabilidad frente a la degradación por el proteasoma, así como protección frente a la degradación por la proteasa apoptótica caspasa-3 (Torres et al., 2003). Nuestra hipótesis es que la fosforilación de PTEN por CK2 podría regular su función biológica durante las respuesta celulares a estímulos de supervivencia o muerte, permitiendo a las células sobrevivir o comprometiéndolas a la muerte por apoptosis. El conocimiento de los mecanismos moleculares que utilizan las células para regular la actividad biológica de PTEN facilitará el desarrollo de agentes terapeúticos que impidan el crecimiento de las células cancerosas en pacientes aquejados de cáncer.

REGULACIÓN DE LAS RUTAS DE SEÑALIZACIÓN DE LAS MAP QUINASAS MEDIANTE PROTEÍNAS FOSFATASAS DE TIROSINAS DE LA FAMILIA PTP-SL

Las rutas de señalización intracelular que convergen en la activación de las MAP quinasas son de enorme importancia para la correcta regulación del crecimiento celular. De hecho, alteraciones de las proteínas que integran estas rutas pueden conferir a las células un fenotipo transformado. La transmisión de las señales en dichas rutas se ejecuta, principalmente, mediante la fosforilación secuencial de sus componentes, hasta llegar a las moléculas efectoras, las MAP quinasas, las cuales se traslocan al núcleo y disparan la respuesta celular que conducirá a la proliferación, diferenciación o muerte de la célula. En nuestro laboratorio, estamos investigando la participación de proteínas fosfatasas de tirosinas de la familia PTP-SL (PTP-SL, STEP y HePTP) y MKP en la regulación de la función biológica de las MAP quinasas.

PTP-SL, STEP y HePTP se asocian con las MAP quinasas ERK1/2 y p38α por medio de un motivo de interacción (KIM) localizado en la porción no catalítica de estas fosfatasas. El reconocimiento de ERK1/2 y p38α a través del KIM confiere especificidad a las mencionadas fosfatasas para la retención de estas quinasas en el citoplasma, en su forma inactiva. Hemos caracterizado, desde el punto de vista molecular, la asociación entre estos dos tipos de moléculas: qué aminoácidos están implicados en dicha asociación y los mecanismos que emplea la célula para regular la misma. Estamos llevando a cabo un estudio comparativo de dicha unión con la mostrada por las MKPs, otras fosfatasas inactivadoras de MAP quinasas. También hemos identificado una región, adyacente al KIM, en las PTPs de la familia PTP-SL, que es importante para definir la especificidad de reconocimiento hacia distintas MAP quinasas mostrada por estas PTPs (Muñoz et al., 2003). Nuestra hipótesis de trabajo es que la interferencia específica de la asociación entre las MAP quinasas y sus fosfatasas inactivadoras, podría ser utilizada como un mecanismo terapeútico para controlar la incorrecta regulación del crecimiento celular durante el desarrollo de un tumor.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

• Participación de la fosfatasa supresora de tumores, PTEN, en la regulación del crecimiento celular.

• Regulación de las rutas de señalización de las MAP quinasas mediante proteínas fosfatasas de tirosinas PTP-SL.

PUBLICACIONES

• Muñoz, J.J., Tárrega, C., Blanco-Aparicio, C., Pulido, R. (2003) Differential interaction of the tyrosine phosphatases PTP-SL, STEP and HePTP with the mitogen-activated protein kinases ERK1/2 and p38α is determined by a kinase specificity sequence and influenced by reducing agents. Biochem. J. 372, 193-201.

• Torres, J., Rodriguez, J., Myers, M.P., Valiente, M., Graves, J.D., Tonks, N.K., Pulido, R. (2003) Phosphorylation-regulated cleavage of the tumor suppressor PTEN by caspase-3: implications for the control of protein stability and PTEN-protein interactions. J. Biol. Chem. 278, 30652-30660.

• Vega, A., Torres, J., Torres, M., Cameselle-Teijeiro, J., Macia, M., Carracedo, Á., Pulido, R. A novel loss-of-function mutation (N48K) in the PTEN gene in a Spanish patient with Cowden disease. J. Invest. Dermatol. 121, 1356-1359.

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

• Regulación de la expresión, la localización subcelular y la función del supresor tumoral PTEN. Ministerio de Ciencia y Tecnología, SAF2002-00085 (01/12/2002- 01/12/2005) (investigador principal).

• Regulación de las rutas de señalización de las MAP quinasas mediante proteínas tirosina fosfatasa de la familia PTP-SL. Ministerio de Ciencia y Tecnología, PM1999-0039 (01/12/00-01/12/03) (investigador principal).

• Papel de la proteólisis intracelular en la oncogénesis controlada por el supresor tumoral PTEN. Generalitat Valenciana, CTIDIB-2002-86 (co-solicitante).

• The role of protein tyrosine phosphatases in the development and repair of the vertebrate nervous system. Unión Europea, Research Training Networks HPRN-CT-2000-00085 (01/09/00-01/09/03) (proyecto europeo coordinado; miembro).

• Structure-function of the MAP kinase tyrosine phosphatase PTP-SL and STEP. The Wellcome Trust (UK), Biomedical Research Collaboration Grant (01/01/03-01/01/05) (co-solicitante).

• Análisis estructural y funcional de los complejos moleculares MAP quinasas/fosfatasas de MAP quinasas en la señalización celular. Ministerio de Ciencia y Tecnología, BMC2003-02696 (01/12/03-30/11/06) (investigador principal).

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

Regulación de la fosfatasa supresora de tumores PTEN. (Diciembre 2002).

Doctorado: José M. Torres Ibáñez.

En desarrollo:

• C. Tárrega,

• J. Muñoz,

• P. Ríos,

• A. Andrés.

PONENCIAS A LAS QUE HAN SIDO INVITADOS

Autores: Pulido, R.

Título: Regulation of PTEN function by phosphorylation and proteolysis.

Tipo de participación: Conferencia invitada.

Congreso: EMBO Conference EuroPhosphatases 2003.

EVALUACIÓN DE PROYECTOS

• Ministerio de Ciencia y Tecnología.

• Ministerio de Sanidad y Consumo.

• Medical Research Council y Cancer Research UK (Reino Unido).

COLABORADORES

NACIONALES:

• Ana Vega **(Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela).**

• Ángel Carracedo **(Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela).**

INTERNACIONALES:

• Lydia Tabernero **(School of Biological Sciences, Manchester, UK).**

• Wiljan Hendriks **(University of Nijmegen, The Netherlands).**

• Nick Tonks **(Cold Spring Harbor Laboratory, USA).**

2

DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGÍA

Laboratorio de Neurobiología

Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos	Invest. invitados
Vicente Felipo	Marta Llansola	Mª Salud García Ayllón	Virginia Rejas	Elena Kosenko
	Pilar Monfort	Mariluz Hernández Viadel	Ruth Wallace	Gennaro Giordano
	Regina Rodrigo	Slaven Erceg	Rosa Vivó	Christopher Rose
	Ana Sánchez Pérez	Omar Cauli	Maribel Salazar	Nicolas Chatauret
			Mar Martínez	Carmina Montoliu
			Mª Carmen Castro	
			Francisca Sellés	

El laboratorio de Neurobiología estudia las bases moleculares de las alteraciones neurológicas que se presentan en pacientes con fallo hepático (cirrosis, hepatitis, ...) así como los mecanismos por los que el fallo hepático agudo o la intoxicación por amonio conducen a la muerte.

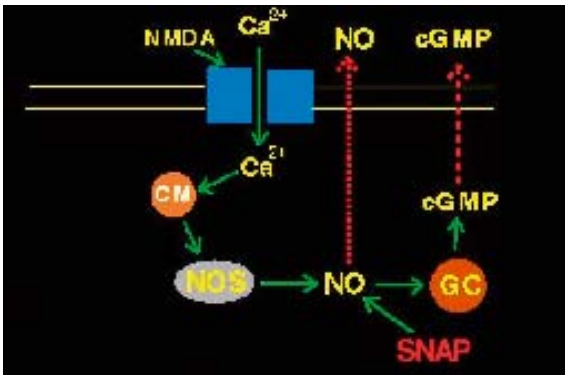
El objetivo de estos estudios consiste en, una vez identificados los mecanismos responsables de las alteraciones neurológicas y de la muerte, diseñar nuevos agentes y tratamientos que prevengan la muerte o reviertan las alteraciones neurológicas.

Las alteraciones neurológicas en situaciones de fallo hepático se deben esencialmente al aumento de los niveles de amonio (hiperamonemia). En condiciones normales, el amonio se elimina en el hígado, pero cuando éste falla, la eliminación del amonio no se produce adecuadamente. Esto hace que los niveles de amonio en el cerebro aumenten, lo que conduce a las alteraciones neurológicas y, cuando los niveles son muy altos, al coma y a la muerte.

La investigación del grupo se centra actualmente sobre todo en la determinación de las bases neurobiológicas de algunas de las alteraciones neurológicas que más afectan la calidad de vida de los pacientes con enfermedades hepáticas: la disminución de la capacidad intelectual y la alteración en la coordinación motora. También va a iniciar el estudio de los mecanismos moleculares de la alteración en los ritmos de sueño y vigilia presentes en dichos pacientes.

Utilizamos modelos animales de fallo hepático (ratas con anastomosis porta cava) o de hiperamonemia sin fallo hepático. Hemos comprobado que en estos modelos animales también se produce una disminución de la capacidad de aprendizaje y una alteración de las respuestas motoras, reproduciendo las alteraciones neurológicas presentes en pacientes. Estamos estudiando en estos modelos las alteraciones a nivel molecular en la neurotransmisión glutamatérgica que contribuyen a las alteraciones neurológicas mencionadas.

Hemos encontrado que tanto en ratas con fallo hepático como en ratas hiperamonémicas sin fallo hepático se altera la función de vías de transducción de señales asociadas a distintos tipos de receptores de glutamato en el cerebro de los animales in vivo.



El glutamato es el neurotransmisor más importante que usan las neuronas de mamíferos para comunicarse entre si y con otras células. El glutamato liberado por una neurona en una sinapsis activa receptores en la neurona vecina y la activación de estos receptores pone en marcha unas vías de transducción de señales.

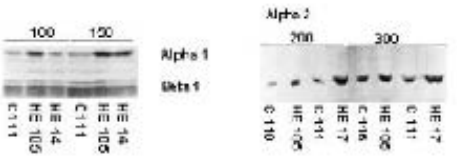
Una de las vías que se altera en hiperamonemia y en fallo hepático es la vía glutamato-óxido nítrico-GMP cíclico, asociada al receptor de glutamato del tipo NMDA, que se muestra en la **Figura 1**. La activación del receptor NMDA conduce a un aumento de calcio en la neurona. El calcio se une a la calmodulina (CM) y activa la óxido nítrico sintasa (NOS), aumentando la formación de óxido nítrico (NO) que a su vez activa a la guanilato ciclasa soluble (GC) que produce cGMP.

Esta vía controla importantes procesos cerebrales, incluyendo la memoria y la capacidad de aprendizaje.

Hemos comprobado que la función de esta vía en cerebro in vivo está alterada a nivel de la activación de la guanilato ciclasa por óxido nítrico. La activación de la guanilato ciclasa por óxido nítrico está disminuida en el cerebelo de pacientes fallecidos con cirrosis hepática así como en cerebelo de ratas con anastomosis porta-cava o con hiperamonemia sin fallo hepático. Esto indica que la hiperamonemia es responsable de la disminución de la activación del enzima en el cerebelo de los pacientes.

En contraste con lo que ocurre en cerebelo, la activación de la guanilato ciclasa por óxido nítrico está aumentada en corteza cerebral de pacientes fallecidos con cirrosis hepática y en ratas con fallo hepático.

La guanilato ciclasa es una proteína compuesta por dos subunidades, una alfa y una beta. En cerebro existen dos tipos de subunidad alfa, la alfa 1 y la alfa 2. Hemos comprobado que el contenido de las subunidades alfa 1 y alfa 2 está aumentado tanto en cerebelo como en corteza de pacientes fallecidos con cirrosis hepática **(Fig. 2)** y en ratas con fallo hepático.



Los resultados que estamos obteniendo actualmente indican que la alteración en la función de esta vía contribuye a la disminución de la capacidad de aprendizaje en ratas con hiperamonemia ó con fallo hepático y, probablemente, a la disminución de la capacidad intelectual en pacientes con fallo hepático.

LA HIPERAMONEMIA Y EL FALLO HEPÁTICO TAMBIÉN ALTERAN LA MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD MOTORA POR LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO

Otra de las alteraciones presentes en pacientes con fallo hepático es la alteración en la coordinación motora. Estamos estudiando en los modelos animales de hiperamonemia y de fallo hepático los posibles mecanismos responsables de dicha alteración. La activación de los receptores metabotrópicos de glutamato en el nucleus accumbens del estriado cerebral conduce a la activación de un circuito neuronal que induce locomoción. En este circuito están implicadas la neurotransmisión glutamatérgica, dopaminérgica y GABAérgica. Hemos comprobado que la hiperamonemia crónica altera las respuestas motoras y neuroquímicas a la activación de los receptores metabotrópicos de gluta-

Figura 1. Vía neuronal glutamato-óxido nítrico-GMP cíclico.
Figura 2. El contenido de las subunidades alfa 1 y alfa 2 de la guanilato ciclasa soluble están aumentados en cerebelo de pacientes fallecidos con cirrosis hepática, mientras que la subunidad beta no está alterada. Muestras de cerebelo de distintos controles (Ci) o pacientes (HEi) se analizaron por immunoblotting utilizando anticuerpos que reconocen las distintas subunidades.

mato (mGluRs) en el nucleus accumbens. En ratas hiperamonémicas la respuesta motora a la activación de estos receptores está muy aumentada. Además su activación conduce a una liberación de glutamato que no ocurre en ratas control, mientras que la liberación de dopamina inducida es mucho menor que en ratas control.

Estamos estudiando los mecanismos moleculares responsables de las alteraciones motoras y neuroquímicas en ratas hiperamonémicas. Una vez identificados estudiaremos si las mismas alteraciones a nivel molecular se producen en pacientes fallecidos con cirrosis hepática y si podrían ser responsables de la alteración en la coordinación motora en dichos pacientes. Por otra parte, intentaremos revertir en los modelos animales las alteraciones motoras mediante manipulación farmacológica de los procesos alterados.

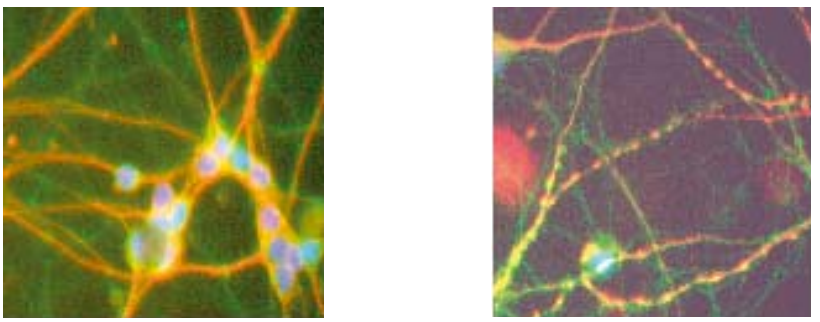
DEGENERACIÓN NEURONAL. MECANISMO MOLECULAR DE LA NEUROTOXICIDAD DEL GLUTAMATO. POSIBLES MECANISMOS DE PREVENCIÓN

La activación excesiva de los receptores de glutamato, especialmente de los del tipo NMDA conduce a la degeneración y muerte neuronal. Esta activación excesiva de los receptores de glutamato es responsable de la muerte en la intoxicación aguda por amonio y podría serlo también de la inducida por el fallo hepático agudo, que lleva asociado un aumento de niveles de amonio. La activación excesiva del receptor NMDA es también responsable de la degeneración neuronal en situaciones como la isquemia cerebral y en algunas enfermedades neurodegenerativas. Por tanto, disponer de agentes terapéuticos que prevengan la degeneración y muerte neuronal inducidas por la activación excesiva de receptores de glutamato sería muy útil tanto en intoxicación aguda por amonio y fallo hepático agudo como en isquemia cerebral y algunas enfermedades neurodegenerativas.

Los compuestos que directamente bloquean los receptores tienen efectos secundarios intolerables porque impiden el funcionamiento normal del cerebro. Por tanto son necesarios nuevos agentes neuroprotectores que prevengan los efectos neurotóxicos de la activación excesiva de los receptores de glutamato pero no impidan su funcionamiento fisiológico normal.

Estamos estudiando los mecanismos por los que la activación excesiva del receptor NMDA conduce a la muerte neuronal. En la **Figura 3** se muestra uno de los efectos de la activación excesiva de los receptores NMDA, la proteolisis de la proteína asociada a microtúbulos MAP-2 y la disgregación de los microtúbulos y de la arquitectura neuronal.

La finalidad de estos estudios sobre los mecanismos moleculares de la neurotoxicidad del glutamato es la identificación de nuevas dianas terapéuticas útiles para prevenir la degeneración y la muerte neuronal inducidas por la activación excesiva de los receptores de glutamato en situaciones como la isquemia cerebral, la intoxicación aguda por amonio y algunas enfermedades neurodegenerativas.



A **B**

Figura 3. La activación excesiva del receptor NMDA induce una degradación de MAP-2 y una subsiguiente disgregación de los microtúbulos. Se muestra una imagen de microscopía de fluorescencia de un cultivo primario de neuronas de cerebelo. En azul se tiñen los núcleos de las neuronas, en verde la proteína quinasa A y en rojo la proteína asociada a microtúbulos MAP-2. Se observa que la tinción de MAP-2, que es continua en neuronas control (A), se altera y es discontinua en las neuronas tratadas con glutamato (B) debido a que se activa la proteasa calpaina que degrada MAP-2.

SÍNTESIS Y ENSAYO DE NUEVOS AGENTES NEUROPROTECTORES

Recientemente hemos desarrollado y ensayado una nueva familia de agentes neuroprotectores (trialquilglicinas) con gran eficacia en la prevención de la degeneración y muerte neuronal en distintos sistemas. Estos estudios han permitido disponer de una nueva familia de agentes terapéuticos que previenen la degeneración neuronal y la muerte en intoxicación aguda por amonio así como en isquemia cerebral y podrían ser también útiles en el tratamiento de algunas enfermedades neurodegenerativas. Continuamos desarrollando esta familia de compuestos, estudiando su mecanismo de acción y ensayando su posible aplicación terapéutica.

MECANISMO MOLECULAR DE LA NEUROTOXICIDAD DE AGENTES NEUROTÓXICOS AMBIENTALES

El laboratorio de Neurobiología participa en dos proyectos europeos cuyos objetivos son esclarecer los mecanismos de neurotoxicidad de sustancias neurotóxicas ambientales, evaluar sus efectos sobre el desarrollo cerebral y diseñar ensayos que sirvan para evaluar los posibles efectos neurotóxicos de dichas sustancias, por ejemplo en trabajadores expuestos a estas sustancias en sus lugares de trabajo. Recientemente hemos iniciado un nuevo estudio europeo sobre los efectos de la exposición a sustancias neurotóxicas presentes en los alimentos y en la leche materna (metilmercurio y PCBs) sobre el desarrollo cerebral y las consecuencias sobre la función cerebral y la capacidad intelectual a lo largo de la vida. También analizamos si los efectos se potencian cuando se produce una exposición simultanea a más de una sustancia neurotóxica, que es la situación más habitual.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

• Bases moleculares de las alteraciones neurológicas en hiperamonemia y encefalopatía hepática.

• Degeneración neuronal. Mecanismo molecular de la neurotoxicidad del glutamato. Posibles mecanismos de prevención. Síntesis y ensayo de agentes neuroprotectores.

• Mecanismo molecular de la neurotoxicidad de agentes neurotóxicos ambientales.

PUBLICACIONES

• Kosenko, E., Llansola, M., Montoliu, C., Monfort, P., Rodrigo, R., Hernandez-Viadel, M., Erceg, S., Sánchez-Perez, AM., and Felipo, V. (2003) Glutamine synthetase activity and glutamine content in brain: modulation by NMDA receptors and nitric oxide. Neurochem Int. 43: 493-499.

• Llansola, M., Boscá, L., Felipo, V., and Hortelano, S. (2003) Ammonia prevents glutamate-induced but not low k+-induced apoptosis in cerebellar neurons in culture. Neuroscience 117: 899-907.

• Hernández-Viadel, M., Montoliu, C., Monfort, P., Canales, JJ., Erceg, S., Rowan, M.,Ceccatelli, S. and Felipo, V. (2003) Chronic exposure to 2,5-hexanedione impairs the glutamate- nitric oxide-cyclic GMP pathway in cerebellar neurons in culture and in rat brain in vivo. Neurochem. Int 42, 525-533.

• Kosenko, E. A., Venediktova, N.I., Kaminsky Y. G., Montoliu, C., and Felipo, V. (2003) Calcium transport across the inner mitochondrial membrane of rat brain in hyperammonemia. Biol. Membr. 20: 149-159 (in russian).

• Kosenko, E., Venediktova, N., Kaminsky, Y, Montoliu, C., and Felipo, V. (2003) Sources of oxygen radicals in brain in acute ammonia intoxication in vivo. Brain Res. 981, 193-200.

• Sánchez-Pérez, A.M., Montoliu, C. and Felipo, V. (2003) Trialkylglycines: a new family of compounds with in vivo neuroprotective activity. CNS Drug Reviews 9:263-74.

• Canales, J.J., Elayadi, A., Errami, M., Llansola, M., Cauli, O. And Felipo, V. (2003) Chronic hyperammonemia alters motor and neurochemical responses to activation of group i metabotropic glutamate receptors in the nucleus accumbens in rats in vivo. Neurobiol. Dis. (in press).

• Monfort, P., Muñoz, M. D. and Felipo, V. (2003) Hyperammonemia impairs long-term potentiation in hippocampus by altering the modulation of cGMP-degrading phosphodiesterase by protein kinase G. Neurobiol. Dis. (in press).

• Kosenko, E., Montoliu, C., Giordano, G., Kaminsky, Y., Venediktova, N., Buryanov, Y. And Felipo, V. Acute ammonia intoxication induces an NMDA receptor-mediated increase in poly(ADP-ribose) polymerase level and NAD+ metabolism in nuclei of rat brain cells. J. Neurochem. (in press).

• Monfort, P., Muñoz, M.D., Kosenko, E., Llansola, M., Sánchez-Pérez, A., Cauli, O.and Felipo, V. Sequential activation of soluble guanylate cyclase, protein kinase G and cGMP-degrading phosphodiesterase is necessary for proper induction of long-term potentiation in CA1 of hippocampus. Alterations in hyperammonemia. Neurochem. Int. (in press).

• Rodrigo, R., Montoliu, C., Chatauret, N., Butterworth, RF, Behrends, S., Del Olmo, J.A. Serra, M.A., Rodrigo, J.M., Erceg, S. and Felipo, V. Alterations in soluble guanylate cyclase content and modulation by nitric oxide in liver disease. Neurochem. Int. (in press).

• Hernandez-Viadel, M., Rodrigo, R. and Felipo, V. Selective regional alterations in the content or distribution of neuronal and glial cytoskeletal proteins in brain of rats chronically exposed to 2,5-hexanedione. Toxicol. Ind Health. (in press)

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título: Development of methods for predictive toxicity testing with reference to neurotoxic volatile chemicals.

Organismo financiador: Unión Europea, Programa: Quality of life and management of living resources. QLK4-CT-1999-01356

Investigador Principal: Vicente Felipo.

En colaboración con otros seis grupos europeos.

Cuantía: 190,000 euros.

Duración: 2000 - 2003.

Título: Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyleter: Mechanisms and effects.

Organismo financiador: Unión Europea, Programa: Quality of life and management of living resources. QLK4-CT-1999-01562.

Investigador Principal: Vicente Felipo.

En colaboración con otros cuatro grupos europeos.

Cuantía: 200,000 euros.

Duración: 2000 - 2003.

Título: Alteraciones de la regulación y de la expresión de la guanilato ciclasa soluble en hiperamonemia, en fallo hepático y en exposición crónica al aluminio. Papel en las alteraciones neurológicas asociadas.

Organismo financiador: Ministerio de Educación y Ciencia. Plan Nacional I + D Promoción General del Conocimiento. PM99-0018

Investigador principal: Vicente Felipo.

Cuantía: 13,000,000 pesetas.

Duración: 2000-2003.

Título: Validación terapeutica y desarrollo de neuroprotectores de nueva generación basados en trialquilglinas.

Organismo financiador: Ministerio de Ciencia y Tecnología. Programa PETRI. PTR1995-0541-OP.

Investigador Principal: Vicente Felipo.

Cuantía: 110,856 euros.

Duración: 2002-2004.

Título: Policy Interpretation Network on Children's Health and Environment (PINCHE). A Thematic Network.

Organismo financiador: Unión Europea: Programa: Quality of Life and Management of Living Resources. QLRT-2001-02395.

Investigador Principal: Vicente Felipo.

Título: Alteraciones de vías de transducción de señales asociadas a receptores de glutamato en hiperamonemia y fallo hepático. Papel en las alteraciones neurológicas de la encefalopatía hepática.

Organismo financiador: Ministerio de Ciencia y Tecnología. SAF2002- 00851.

Investigador Principal: Vicente Felipo.

Cuantía: 120,000 euros.

Duración: Diciembre 2002- Diciembre 2005.

Título: Bases moleculares, neuroanatómicas y neurofisiológicas de la encefalopatía hepática clínica y subclínica. Implicaciones terapéuticas y diagnósticas.

Organismo financiador: Instituto de Salud Carlos III. (FIS). Ministerio de Sanidad y Consumo.Red Temática de Investigación Cooperativa. G03/155.

Coordinador de la Red e Investigador Principal: Vicente Felipo.

Cuantía primera anualidad: Red: 400,000 euros; grupo FVIB: 87,375 euros.

Duración: 2003-2005.

Titulo: Toxic threats to the developing nervous system: in vivo and in vitro studies on the effects of mixture of neurotoxic substances potentially contaminating food.

Organismo financiador: European Commission. Programa: Food Quality and Safety. FOOD-CT-2003-506143.

Cuantía: 270,000 euros.

Duración: 2003-2006.

Titulo: Ayuda para grupos de I + D + I

Organismo financiador: Agencia Valenciana de Ciencia y Tecnología.

Investigador principal: Vicente Felipo.

Cuantía: 35,778 euros.

Duración: 2003

Titulo: Encefaloptía hepática: alteraciones neuroquímicas y motoras relacionadas con la activación de los receptores metabotrópicos del glutamato.

Organismo financiador: Agencia Española de Cooperación Internacional. Ministerio de Asuntos Exteriores.

Programa de colaboración con Marruecos.

Investigador principal: Vicente Felipo.

Cuantía: 6,321 euros.

Duración: 2003-2004

ACUERDOS CON EMPRESAS

Acuerdo con la empresa Diver Drugs para el desarrollo del proyecto PETRI mencionado en el punto anterior.

PATENTES

Admitida a trámite patente Nª P200301593 /0.

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

Doctorado: Pilar Monfort Eroles.

Alteraciones de las vías de transducción de señales asociadas al receptor NMDA en hiperamonemia. Papel en las alteraciones neurológicas de la encefalopatía hepática.

Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. 3 de Febrero de 2003.

Calificación: Sobresaliente cum laude.

Doctorado: Regina Rodrigo Nicolás.

Alteraciones de la regulación y del contenido de la guanilato ciclasa soluble en hiperamonemia y en fallo hepático.

Facultad de Ciencias Biológicas Universidad de Valencia, 15 de Diciembre de 2003.

Calificación: Sobresaliente cum laude.

Finalizadas:

- Mariluz Hernández Viadel
- Slaven Erceg

En desarrollo:

- Omar Cauli

PONENCIAS A LAS QUE HAN SIDO INVITADOS

• Ponente invitado en el 9th Meeting of the International Neurotoxicology Association. Dresden. Germany. June 22-27, 2003. Vicente Felipo.

• Ponentes invitados en el International Symposium on Nitric oxide-cGMP Signal Transduction in Brain. Valencia, 23-25 Noviembre 2003. Pilar Monfort, Regina Rodrigo y Vicente Felipo.

COMUNICACIONES A CONGRESOS

• Pilar Monfort. Sequential activation of soluble guanylate cyclase, cGMP-dependent protein kinase and cGMP-degrading phosphodiesterase is necessary for proper induction of long-term potentiation in the CA1 area of hippocampus. CGMP 2003. NO/sGC interactions and its therapeutic implications. Leipzig. Germany. June 14-16, 2003.

• Mariluz Hernández-Viadel. Chronic exposure to 2,5-hexanedione impairs the glutamate- nitric oxide-cyclic GMP pathway in cerebellar neurons in culture and in rat brain in vivo. 9th Congress of the International Neurotoxicology Association. 22-27 June 2003 Dresden, Germany.

• Vicente Felipo. Prenatal exposure to PBDE 99 alters the function of the glutamate-nitric oxide-cGMP pathway in brain in vivo and learning ability in rats. 9th Congress of the International Neurotoxicology Association. 22-27 June 2003 Dresden, Germany.

• Vicente Felipo. Modulation by the glutamate-nitric oxide-cGMP pathway of the ability to learn a conditional discrimination task. International Symposium on Nitric Oxide -Cyclic GMP Signal Transduction in Brain. Valencia. November 23-25, 2003.

• Pilar Monfort. Role of soluble guanylate cyclase, protein kinase G and cGMP degrading phosphodiesterase in long-term potentiation. Alterations in hyperammonemia. International Symposium on Nitric Oxide -Cyclic GMP Signal Transduction in Brain. Valencia. November 23-25, 2003.

• Regina Rodrigo. Alterations in soluble guanylate cyclase content and modulation in liver disease. International Symposium on Nitric Oxide -Cyclic GMP Signal Transduction in Brain. Valencia. November 23-25, 2003.

• M. Hernández-Viadel, C. Montoliu, P. Monfort, S. Erceg, M. Rowan, S. Ceccatelli And V. Felipo. Chronic exposure to 2,5-hexanedione impairs the glutamate- nitric oxide-cyclic gmp pathway in cerebellar neurons in culture and in rat brain in vivo. Conference: An Environment For Better Health European Science Foundation. WHO Regional Office For Europe. European Comission. Aarhus, Dinamarca, May 8-11, 2003.

• A.F. Castoldi , T. Coccini, M. Hernandez-Viadel, S. Ceccatelli, V. Felipo, L. Manzo. Molecular targets of repeated moderate carbon monoxide (CO) exposure in the central nervous system. Conference: An Environment For Better Health European Science Foundation. WHO Regional Office For Europe. European Comission. Aarhus, Dinamarca, May 8-11, 2003.

• Regina Rodrigo, Nicolas Chatauret, Marta Llansola, Carmina Montoliu, Slaven Erceg, Vicente Felipo. Content and modulation of soluble guanylate cyclase are altered in brain of cirrhotic patients: Differential alterations in cerebellum and cortex. CGMP 2003. NO/SGC INTERACTIONS AND ITS THERAPEUTIC IMPLICATIONS. LEIPZIG. GERMANY. JUNE 14-16, 2003.

• Mariluz Hernández-Viadel, Anna F. Castoldi, Teresa Coccini, Luigi Manzo, Slaven Erceg and Vicente Felipo. In vivo exposure to carbon monoxide induces delayed impairment of activation of soluble guanylate cyclase by nitric oxide in rat brain. International Symposium on Nitric Oxide -Cyclic GMP Signal Transduction in Brain. Valencia. November 23-25, 2003.

• Erceg S, Hernandez-Viadel M, Montoliu C, Llansola M, Felipo V. Chronic exposure to 2,5-hexanedione reversibly impairs learning of a conditional discrimination task in rats. 35th annual general meeting of the European Brain and Behaviour Society. 17-20 September 2003, Barcelona, Spain.

• Llansola, M., Boscá L., Hortelano S., and Felipo V. El amonio previene la apoptosis inducida por glutamato pero no la inducida por depleción de potasio, en neuronas de cerebelo en cultivo. X Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia. SENC. Lleida, 6-9 de septiembre de 2003.

• Mari Luz Hernández-Viadel, Carmina Montoliu, Pilar Monfort, Slaven Erceg, Marta Llansola, Regina Rodrigo, Ana Sánchez-Pérez y Vicente Felipo. La exposición crónica a 2,5-hexanodiona altera la vía glutamato- óxido nítrico-GMP cíclico en neuronas de cerebelo en cultivo y en cerebelo de rata in vivo. X Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia. SENC. 2003. Lleida, 6-9 de septiembre de 2003.

• Montoliu, C., del Olmo, JA., Serra, MA., Rodrigo, JM. and Felipo, V. Alteraciones de la Homeostasis y metabolismo del GMP cíclico en células sanguíneas de pacientes con fallo hepático. XXVIII Congreso de la Asociación Española para el Estudio del Hígado. Barcelona, 27 Febrero- 2 Marzo 2003.

LABOR EDITORIAL

• Editor, junto con el Dr. Antonio Llombart-Bosch del libro: "New Trends in Cancer for the 21st century" en la Serie Advances in Experimental Medicine and Biology. Vol. 532, 2003. Kluwer-Plenum Press, New York, USA.

• Miembro del EDITORIAL BOARD de la revista Neurochemical Research, New York, USA. Desde Noviembre de 1993

• Miembro del EDITORIAL BOARD de la revista Metabolic Brain Disease, New York/London. Desde Febrero 1994.

• Miembro del EDITORIAL BOARD de la revista Analytical Pharmacology, Riyadh. desde Enero 1997

• Miembro del EDITORIAL BOARD de la revista International Journal of Molecular Medicine, desde Abril de 1997

• Guest Editor del Special issue on "Nitric oxide-cGMP signal transduction in brain" de la revista Neurochemistry International, (en prensa).

• EVALUADOR de Artículos científicos:
Hepatology
Gut
Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics
Neurochemical Research
Brain Research
Neurochemistry International
Journal of Inorganic Biochemistry
Journal of Neuroscience Research
Pediatrics

EVALUACIÓN DE PROYECTOS

Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto Carlos III del Ministerio de Sanidad

MIEMBROS DE JURADOS

Miembro de la Comisión Medalla García Blanco

CURSOS

• Organizador de los Cursos Magistrales de la Cátedra Santiago Grisolía 2003 sobre: "From Brain Dynamics to Consciousness: How Matter becomes Imagination". y "Brain mechanisms of motor cognitive processes" Valencia, Mayo 2003.

• Director del Curso de Doctorado: "Neurotoxicidad. Mecanismos moleculares". Programa Interdepartamental de Neurociencias. Universidad de Valencia. Curso 2003-2004.

INVESTIGADORES INVITADOS DE OTROS CENTROS

Elena Kosenko

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, USSR Academy of Sciences, Pushchino. Rusia. Octubre 2002-Abril 2003

Beca de la OTAN

Gennaro Giordano

Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale, Università degli Studi di Roma "La Sapienza", P.le Aldo Moro, 00185 Roma. Italia. Octubre 2002-Febrero 2004

Beca Universidad La Sapienza de Roma

Nicolas Chatauret

Neuroscience Research Unit, Hopital Saint Luc, Montreal, Quebec

Canada, Noviembre 2002-Abril 2003.

Christopher Rose

Neuroscience Research Unit, Hopital Saint Luc, Montreal, Quebec, Canada, Abril 2003- Marzo 2004

Beca de Canadian Institutes of Health Research

COLABORADORES

NACIONALES

• Drs Rodrigo y Del Olmo. **Unidad de Hepatología, Hospital Clinico de Valencia.**

• Dra. Muñoz y Dr Gaztelu. **Neurología Experimental. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.**

• Dr. Insausti. Dto Ciencias Médicas. **Universidad de Castilla la Mancha. Albacete.**

• Drs. Jover, Such y Perez-Mateo. **Unidad de Hepatología. Hospital Clinico. Alicante.**

• Dra. Hortelano y Dr. Bosca. **Instituto de Bioquimica. CSIC- Universidad Complutense. Madrid.**

• Dr. Sebastián Cerdán, Laboratorio de Resonancia Magnética, **Instituto Investigaciones Biomédicas. CSIC. Madrid**

• Dr. Juan Córdoba. Servicio de Medicina Interna / Hepatología. **Hospital Universitari Vall d'Hebrón. Barcelona.**

• Dr. Manuel Romero. Servicio de Hepatologgía. **Hospital de Valme. Sevilla.**

• Dra. Isabel Suárez. Dpto. Biología Celular y Genética. **Facultad de Biología. Universidad de Alcalá de Henares.**

INTERNACIONALES

• Dr. Roger F. Butterworth. Neuroscience Research Unit. **Hopital Saint Luc. Montreal, Canada.**

• Dr. Jozef Burda. Institute of Neurobiology. **Slovak Academy of Sciences. Kosice. Eslovaquia.**

• Dr. Behrends Dept. Pharmacology. **University clinic Hamburg Eppendorf. Hamburgo. Alemania.**

• Dr. Sandra Ceccatelli. Division of Toxicology and Neurotoxicology, **Institute of Environmental Medicine. Karolinska Institute. Suecia.**

• Dr. Luigi Manzo. Fondazione Clinica del Lavoro IRCCS. Centro Medico di Pavia. **Centro Ricerche. Sezione di Tossicologia Sperimentale. Pavia, Italia.**

• Dr. Antonio Mutti. Laboratorio di Tossicologia Industriale. Universita degli Studi di Parma. **Dipartimento di Clinica Medica, Nefrologia e Scienze della Prevenzione. Parma, Italia.**

• Dr. Michael Rowan. Department of Pharmacology. **Trinity College. Dublin, Irlanda.**

• Dr. Hans-Guenther Knaus. Institute for Biochemical Pharmacology, **University Innsbruck, Austria.**

• Dr. Herbert Wiegand. Med.Inst.Environm. **Hyg. at the Heinrich Heine University. Duesseldorf, Alemania.**

• Dr. Walter Lichtensteiger. **Universität Zürich. Institut für Pharmakologie und Toxikologie. Zürich, Suiza.**

• Dr. Lucio G. Costa. Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale. **Università degli Studi di Roma "La Sapienza" Roma, Italia.**

• Dr. Per Eriksson. Department of Environmental Toxicology, **Uppsala University, Uppsala, Suecia.**

• Dra. Kosenko. Institute of Theoretical and Experimental Biophysics. **Russian Academy of Sciences. Pushchino, Rusia.**

• Drs. Errami y El Ayadi. **Universidad de Tetuan, Marruecos.**

OTROS

• Organizador del International Symposium on Nitric Oxide -Cyclic GMP Signal Transduction in Brain. Valencia. November 23-25, 2003.

• Miembro del International Scientific Committee of the 4th International Conference of the African Association of Physiological Sciences. Tetouan-Tanger, Morocco, 2-10 July 2004.

• Director de la Cátedra Santiago Grisolía, desde el año 2000.

• Miembro del Comité de Expertos de la Comunidad Valenciana como Asesores para el Museo de las Ciencias “Príncipe Felipe”. Desde Mayo 2002.

• Coordinador de la Red Española de Encefalopatía Hepática. Desde Enero 2003 en que se constituyó.

Laboratorio de Patología Celular

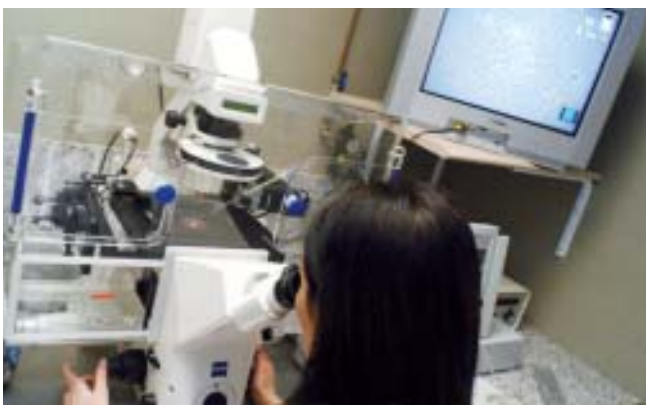
Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
Consuelo Guerri Sirera	Soroya Vallés Martí	Ana Blanco Sánchez	Mª Amparo Pérez Aragó
	María Pascual Mora	Rebeca Miñambres Herraiz	Mª Carmen García-Minguillán Castillo
	Rosa Guasch Aguilar	Gema Rubert Raga	Marisa March Sorni
			María José Agulló

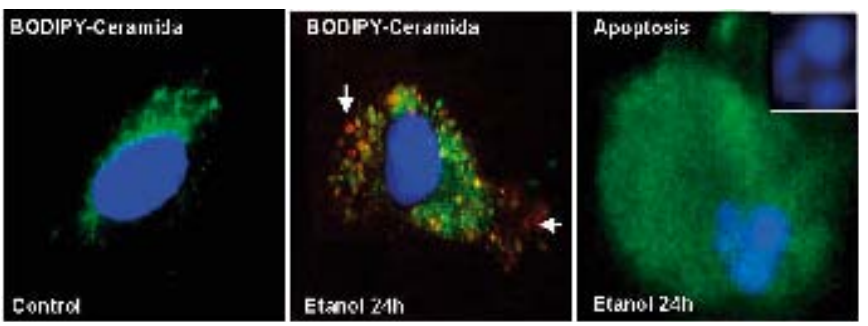
El objetivo fundamental de nuestro grupo es investigar las bases moleculares de la toxicidad del etanol, para identificar y caracterizar dianas moleculares que puedan bloquear su acción y prevenir las patologías asociadas a su consumo. Entre las patologías que estudiamos se incluyen, la hepatopatia alcohólica, las alteraciones cerebrales asociadas al consumo agudo y crónico de alcohol, y las generadas en la descendencia de madres que han consumido alcohol durante la gestación y que pueden conducir al denominado Síndrome Alcohólico Fetal (SAF).

Utilizamos dos aproximaciones experimentales, a) in vivo, animales (ratas) en los que se les administra el alcohol de forma aguda o crónica y crías descendientes de hembras alcohólicas , b) in vitro, cultivos primarios de hepatocitos y células neurales (astrocitos y neuronas), expuestos al etanol o células aisladas de animales control y tratados con etanol.

Estudios de nuestro grupo demuestran que, a pesar de la diversidad de efectos que el alcohol induce en el organismo, existen algunas dianas a nivel celular y molecular sensibles al efecto del etanol. Estudios llevados a cabo en hígados y en cerebro de animales alcohólicos, así como en hepatocitos y astrocitos en cultivo, demuestran que el etanol estimula la liberación y respuesta de mediadores inflamatorios (ejem. IL-1, iNOS y COX-2) activando vías de transducción (ejem. MAPK) y factores de transcripción (NFkB) asociados con el daño inflamatorio. De hecho, el daño inflamatorio ha sido implicado en la patogénesis y progresión de la hepatopatia alcohólica, pero se desconoce si este mecanismo puede subyacer a los déficits cognitivos asociados al consumo de alcohol y al SAF. Hallazgos recientes también indican que el etanol puede inducir muerte celular, vía producción de ceramidas. Hemos demostrado que el etanol interacciona con ciertos microdominios de la membrana celular (rafts), activando la esfingomielinasa que transforma los esfingolípidos en ceramida y pudiendo desestructurar el citoesqueleto de actina. La reorganización de la actina en forma de anillo, junto con una acumulación de ceramida en la célula, conlleva a la activación de determinadas vías de transducción (ROCK, MAPK, JNK) que

conducen a la muerte por apoptosis. La inhibición de estas vías de transducción, bloquean la muerte inducida por el etanol. La apoptosis inducida por etanol en celulas astrogliales se observa igualmente in vivo, en cerebros en desarrollo. Un aumento de la esfingomielinasa y producción de ceramidas ha sido también implicado en la muerte de hepatocitos tratados con etanol. Estos resultados indican que el etanol posee ciertas dianas a nivel molecular, y sugieren que el bloqueo de estas dianas podría prevenir el daño y la muerte celular inducida por el etanol.





LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

• Efecto de la exposición prenatal al etanol sobre los mecanismos implicados en la muerte celular de células neurales:

- Procesos de transporte y señalización intracelular de esfingolípidos y su posible implicación en la apoptosis en astrocitos.
- Alteraciones en el citoesqueleto de actina y anoikis: proteínas Rho.

• Posible papel del daño inflamatorio en las alteraciones hepáticas y cerebrales que ocasiona el consumo crónico de alcohol en el cerebro adulto y durante su desarrollo.

PUBLICACIONES

• Guasch R, Tomás M, Miñambres R, Vallés S, Renau-Piqueras J, Guerri C. (2003) RhoA and lysophosphatidic acid are involved in the actin cytoskeleton reorganization of astrocytes exposed to ethanol. J. Neurosci. Res. 72(4):487-502.

• Riley EP, Guerri C, Calhoun F, Charness ME, Foroud TM, Li T-K, Mattson SN, May PA, Warren KR. (2003) Prenatal alcohol exposure: Advancing knowledge through international collaborations. Alcoholism: Clin. Exp. Res. 27:118-135.

• Cano-Cebrian MJ, Zornoza-Sabina T, Polache A, Guerri C and Granero L. (2003) Local acamprosate modulates dopamine release in the rat Nucleus Accumbens through NMDA receptors: An in vivo microdialysis study. Arch.Parmacol. 367:119-125.

• Cano-Cebrian MJ, Zornoza-Sabina T, Guerri C, Polache A and Granero L. (2003) Acamprosate blocks the increase in dopamine extracellular levels in nucleus accumbens evoked by chemical stimulation of the ventral hippocampus. Arch. Pharmacol. 368:324-327.

• M. Pascual, S. Valles, J. Renau-Piqueras, C. Guerri (2003) Ceramide pathways modulate ethanol-induced cell dealth in astrocytes. J. Neurochem. 87:1535-1545.

• Vallés S, Blanco AM, Azorin I,Guasch R, Pascual M, Gómez-Lechon MJ, Renau-Piqueras J, Guerri C. (2003) Chronic ethanol consumption enhances IL-1 mediated signal transduction in out liver and in hepatocytes in culture. Alcoholism: Clin. Exp. Res. 27:1979-1986.

• Popovic M, Caballero-Bleda M, Puelles L and Guerri C (2003) Multiple binge alcohol consumption during rat's adolescence increases anxiety but does not impair retention in the passive avoidance task. Neurosci. Letters 352 (en prensa).

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Efecto de la exposición prenatal al etanol sobre los procesos de transporte y señalización intracelular de esfingolipidos y su posible implicación en la apoptosis en astrocitos (2002-2004). Ministerio de Ciencia y Tecnología. Plan Nacional I+D. Ref: BFI2001-0123-C02-01.

Investigador principal: C. Guerri

Red de Trastornos Adictivos: Investigación Básica, Clínica y Epidemiológica. (2003) Instituto de Salud Carlos III. Ref: G03/005.

Investigador principal: C. Guerri

Posible papel del daño inflamatorio en las alteraciones cerebrales que ocasiona el consumo crónico de alcohol en el cerebro adulto y durante su desarrollo. Conselleria de Bienestar Social de la Generalitat Valenciana. (2003).

Investigador principal: C. Guerri

El etanol induce alteraciones en el citoesqueleto de actina que pueden conducir a muerte por anoikis: Implicación de las proteínas Rho. (2003–2005) Ministerio de Ciencia y Tecnología. Ref: SAF2003-06217.

Investigador principal: C. Guerri

ACUERDOS CON EMPRESAS

ATOM, S.A

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

Doctorado: Teodoro Zornoza Sabina

"Estudios Farmacocinéticos y Biofarmacéuticos del Acamprosato en la rata"

Facultad Farmacia, Universidad de Valencia. 28 Noviembre, 2003.

En desarrollo:

• Ana Blanco

• Rebeca Miñambres

• Gemma Rubert

PONENCIAS A LAS QUE HAN SIDO INVITADOS

• C. Guerri y M. Pascual. Efecto del consumo de alcohol sobre la transmisión sináptica excitatoria. I Congreso Europeo de Trastornos Adictivos de la Soc. Española de Toxicomanías. Alicante, 27-29 de Marzo de 2003.

• Guasch, R.M, Miñambres, R., Perez-Roger, I., Guerri, C. Effect of the small GTPase RhoE in U-87 glioblastoma cellular proliferation. "Small GTPases in Human Carcinogenesis" CNIO,Madrid, 16-18 Junio, 2003.

• G. Rubert, S. Vallés, C. Guerri. Fetal alcohol exposure alters radial glia and may affect corpus callosum formation. Alcohol and Alcoholism 38 (5), 462, 2003.
9th Congress of the European Society for Biomedical Research on Alcoholism. Prague, 11-14 Septiembre 2003.

• C. Guerri. El Alcohol: Una droga natural. Moderadora y ponente en la Mesa Redonda " Drogas naturales y sintéticas." XXVI Congreso de la SEBBM. A Coruña (España), 15-18 Septiembre, 2003.

COMUNICACIONES A CONGRESOS

• Chronic ethanol consumption increases inflammatory mediators in rat brain. AM. Blanco, S. Vallés, C. Guerri. Alcohol and Alcoholism 38 (5), 500, 2003.
9th Congress of the European Society for Biomedical Research on Alcoholism, Prague, 11-14 Septiembre 2003.

• Ethanol affects sphingolipids metabolism, inducing ceramide accumulation in astrocytes. M. Pascual, J. Renau-Piqueras, C. Guerri. Alcohol and Alcoholism 38 (5), 498, 2003.
9th Congress of the European Society for Biomedical Research on Alcoholism, Prague, 11-14 Septiembre 2003.

• Alcohol affects actin cytoskeleton organization, leading to cell detachment and apoptosis in astrocytes. R. Miñambres, RM. Guasch, JE. O'Connor, C. Guerri. Alcohol and Alcoholism 38 (5), 485, 2003.
9th Congress of the European Society for Biomedical Research on Alcoholism, Prague, 11-14 Septiembre 2003.

• Efecto de la GTPasa RhoE en el ciclo celular de astrocitos en cultivo. Miñambres, R., Guasch, RM., O'Connor, J.E., Poch, E, Pérez-Roger, I., Guerri, C. XXVI Congreso de la SEBBM. A Coruña (España), 15-18 Septiembre, 2003.

• El etanol induce la expresión de mediadores inflamatorios en astrocitos en cultivo. Blanco, A. Vallés, S., Rubert, G., Pascual, M., Guerri, C. XXVI Congreso de la SEBBM. A Coruña (España), 15-18 Septiembre, 2003

• Poster: La exposición prenatal al etanol provoca alteraciones sobre la glía radial en cultivo dando lugar a defectos en la gliogénesis y neurogénesis. Rubert, G., Vallés, S. Blanco, A. Guerri, C. XXVI Congreso de la SEBBM. A Coruña (España), 15-18 Septiembre, 2003.

LABOR EDITORIAL

• Miembro del Consejo Editorial (Ed. Board Member) de las revistas:
Alcoholism: Clin. Exp. Res. (EE.UU.).
Alcohol (EE.UU.)
Alcohol and Alcoholism (UK)
Addiction Biology (UK)
Trastornos Adictivos; Salud y Drogas y Revista Española de Drogodependencias.

• Critico o "referee" de 12 artículos (2003) de las siguientes revistas:
Brain Research
Dev. Brain Res
Mol. Brain Res
J. Neurochem
Eur. J. Neurosci
Alcohol
Alcoholism: Clin. Exp. Res.
Alcohol and Alcoholism
TRENDS Pharmacol. Sci.

EVALUACIÓN DE PROYECTOS

Agencia Española de Evaluación y Prospectiva (ANEP), Ministerio de Ciencia y Tecnología.

CURSOS

• Curso de doctorado en "Neurobiología Molecular y Celular". Programa de Neurociencias Básicas y Aplicadas. Facultad de Biológicas, Universidad de Valencia, Junio 2003.

• Cursos de Otoño de la Universidad de Cádiz en Algeciras, Organizado por la Fundación Municipal Universitaria, Ayto. de Algeciras, Vicerrectorado de Extensión Universitaria de la UCA. Algeciras 28 de Octubre de 2003.

INVITADA A PARTICIPAR COMO PONENTE

Ponencia: Bases neurobiológicas de la dependencia alcohólica.

COLABORADORES

NACIONALES

• Dr. Jaime Renau-Piqueras y Dra. MJ. Gómez-Lechón, **Centro de Investigación, Hospital "La Fe".**

• Dr. Vera Román, Dept. Anatomía Patológica, **Hospital General Castellón**

• Dra. Ana Polache, Dept. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, **Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia.**

INTERNACIONALES

• Dra. Anne Ridley, **Lodwig Institute of cancer, London, UK.**

• Dra. Eva Qwarnstrom EE, Cell Biology Unit, Division of Genomic Medicine, **University of Sheffield, UK.**

INSTITUCIONES COLABORADORAS

Convenio entre la Conselleria de Bienestar Social de la Generalitat Valenciana y el **Inst.de Investigaciones Citológicas. (2003) C. Guerri.**

OTROS

Nominación de "Chair of the publication Committee" y miembro de la Directiva de la Sociedad " International Society for Biomedical Research on Alcoholism".

Unidad de Microscopía Confocal

Responsable	Becarios
María Burgal	Alberto Hernández
	Eva María Lafuente
	Santiago García
	Iván Martínez

Este centro cuenta con una unidad de Microspcopía Confocal, abierta a la colaboración con otros grupos que requieran el concurso de esta tecnología, y que ha constituido un medio imprescindible para llevar a cabo la línea de investigación que actualmente estamos desarrollando.

INVESTIGACIÓN BÁSICA EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica, inflamatoria y desmielinizante del sistema nervioso central, que muestra una extraordinaria heterogeneidad, tanto clínica como patológica, ya que puede afectar a muchas y diferentes funciones motoras y sensoriales, siendo muy rara la pérdida de las facultades mentales. La EM en nuestro entorno tiene una prevalencia de 60-70 personas por cada 100.000 habitantes, lo que supone que en España existen no menos de 25.000 pacientes. De causa totalmente desconocida, esta enfermedad, a menudo discapacitante, suele afectar a personas jóvenes, coincidiendo con sus últimos años de formación o el comienzo de su actividad laboral, impidiendo el ejercicio de su profesión y siendo una fuente de confusión y frustración, tanto para los enfermos como para sus familiares. Por ello, y debido a la larga expectativa de vida de estos enfermos, la afectación emocional y el coste social que la enfermedad origina son relevantes, con un gran impacto socioeconómico, siendo para nuestra sociedad un reto afrontar la investigación de una enfermedad que es la segunda causa de discapacidad en el adulto joven, detrás sólo de los accidentes de tráfico.

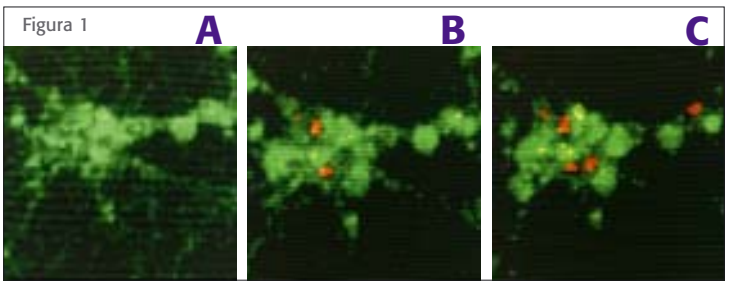
El curso de esta enfermedad, donde los ataques y remisiones aparecen sin previo aviso, es totalmente impredecible y aunque la mayoría de los pacientes experimenta los primeros síntomas entre los 20 y los 40 años, a menudo el diagnóstico se retrasa debido a su naturaleza transitoria y a la carencia de un test diagnóstico síntomas-específico. Lamentablemente, deben producirse alteraciones en el SNC antes de que el diagnóstico se confirme, lo que dificulta el estudio de los agentes causantes de las primeras alteraciones, tal vez reversibles, y complica consecuentemente el estudio y aplicación de una terapia adecuada. Sólo investigando la causa y el desarrollo de los síntomas, en extrecha colaboración entre la investigación básica y la clínica, podemos esperar encontrar la manera de prevenir o curar la EM.

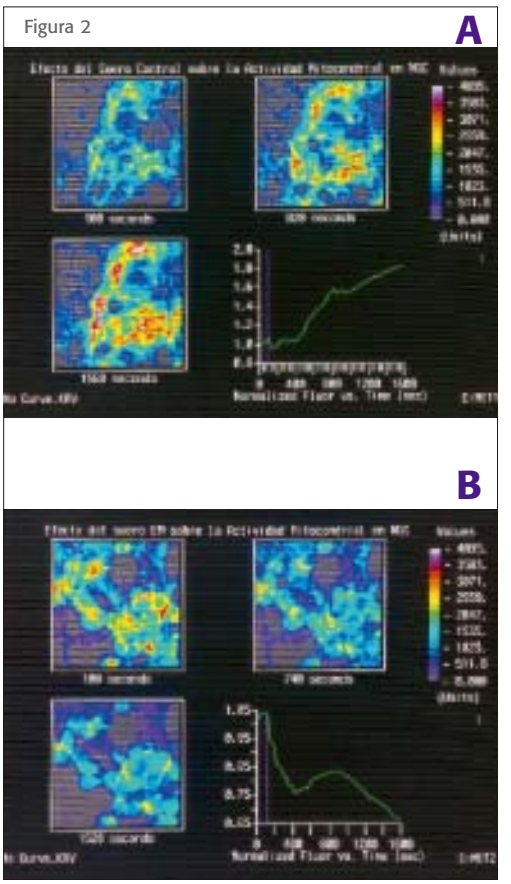
INMUNOCITOPATOGENIA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE: Esta devastadora enfermedad, a través de un proceso inflamatorio, causa una progresiva pérdida de mielina en el sistema nervioso central. Por ese motivo, las investigaciones sobre esta enfermedad se han centrado fundamentalmente en los procesos inflamatorio y desmielinizante. Trabajos recientes demuestran la presencia de axones transectados en las lesiones agudas y crónicas de EM, y existe correlación entre la magnitud del daño axonal que presentan y el grado de discapacidad neurológica irreversible que aparece en estos pacientes. A la luz de estos conocimientos, en colaboración con las unidades clínicas de Esclerosis Múltiple del Hospital Clinic Universitari y el Hospital Universitari La Fe de Valencia, desarrollamos nuestra hipótesis, que tiene como centro considerar que el daño sobre las neuronas y sus axones no es necesariamente un epifenómeno de la lesión inflamatoria y del oligodendrocito, sino que debe existir desde el principio de la enfermedad, siendo el principal elemento causal de la discapacidad y su progresión en EM. Desde esta hipótesis surgieron unos objetivos generales de trabajo, tendentes a confirmar o refutar la misma:

1.- Demostrar la existencia de factores neurotóxicos en el suero y líquido cefalorraquídeo de los pacientes afectos de Esclerosis Múltiple

2.- Estudiar los mecanismos mediante los cuales se produce el daño neuronal.

3.- Buscar los marcadores en los líquidos orgánicos que nos permitan determinar "*in vivo*" los fenómenos de destrucción neuronal, y por tanto, la evolución de la enfermedad.





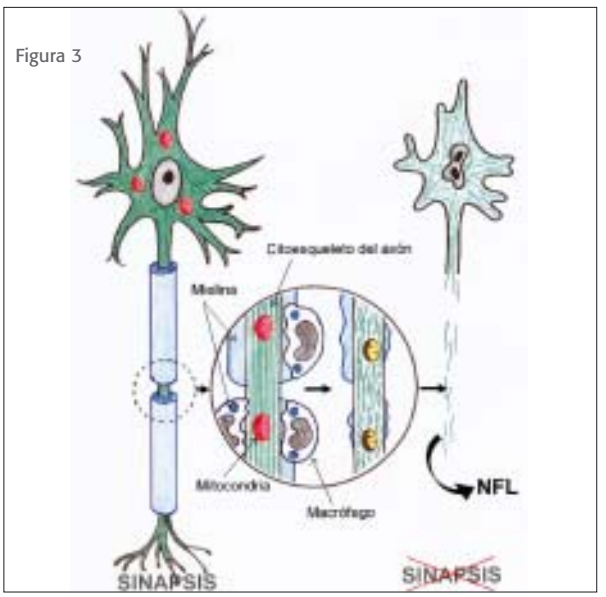
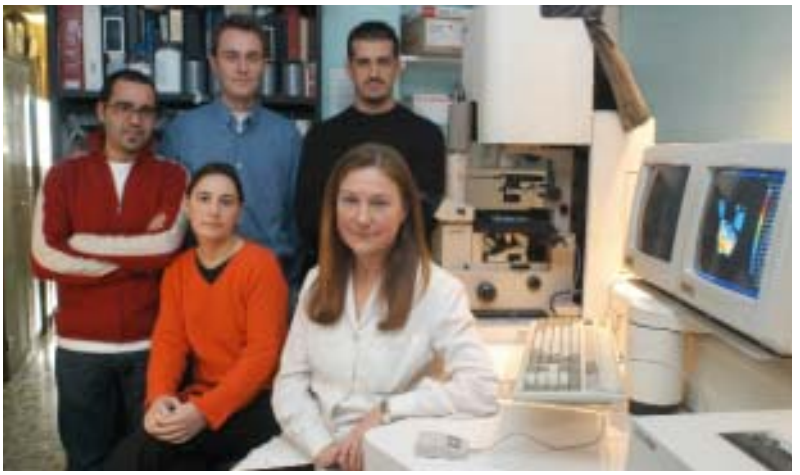


Figura 1. Muerte neuronal inducida por el suero EM. A) Cultivo primario de neuronas granulares de cerebelo vivas, retienen el colorante vital RH-123 y aparecen marcadas en verde. A tiempos cortos de incubación con suero procedente de pacientes EM se induce la muerte secuencial de algunas neuronas, que aparecen marcadas en rojo con IP. Tiempo de exposición al suero EM: A) 0 min., B) 30 min. y C) 90 min.
Figura 2. Cultivo primario de neuronas granulares de cerebelo. Al añadir una pequeña fracción de suero control, se induce un aumento en la actividad mitocondrial (A). Al añadir suero procedente de un paciente EM, no solo se inhibe el aumento, sino que incluso disminuye dicha actividad mitocondrial (B).
Figura 3. La degeneración axonal puede ocurrir no sólo por el proceso de desmielinización inflamatoria, sino también por la desestructuración de su citoesqueleto, debida a la alteración de la fosforilación de la proteina de NFL como consecuencia de un fallo energético mitocondrial.



Dentro del primer objetivo, pudimos demostrar la existencia de factores citotóxicos en el suero de los pacientes EM, que pueden inducir la muerte de las neuronas en cultivo. **(Fig. 1).** Encontramos un efecto similar trabajando con el LCR, lo que nos indujo a pensar que a través de la barrera hematoencefálica dañada, estos factores podían acceder hasta las células del SNC, interviniendo en el daño neuronal descrito en la EM. Actualmente, mediante técnicas de Microscopía Confocal FPLC, electroforesis e inmunoblot, estamos interesados en el aislamiento e identificación de estos factores.

El segundo objetivo está directamente relacionado con el primero, puesto que el conocimiento del mecanismo de acción puede aportar pistas identificativas del agente causante. Nos puede además suministrar información acerca de esas primeras alteraciones, tal vez reversibles, pero asintomáticas, que tienen lugar en EM. De acuerdo con este objetivo, pudimos demostrar un efecto inhibidor sobre la activación, por parte del suero y LCR, de los canales de calcio relacionados con la transmisión del impulso nervioso. Dada la importancia del metabolismo energético en la funcionalidad de las neuronas, hemos analizado la capacidad de estos factores, presentes en suero y LCR de EM, de alterar el potencial de membrana mitocondrial de las neuronas en cultivo. Los resultados se muestran en la **Fig. 2,** donde se observa una importante deplección de la actividad mitocondrial en un cultivo primario de neuronas granulares de cerebelo. Previamente ya habíamos demostrado una alteración de la actividad mitocondrial en las plaquetas de los pacientes de EM, lo que nos indujo a pensar en una severa alteración de su metabolismo energético, en general, que podría estar relacionada con la fatiga que aparece en estos pacientes. Las mitocondrias son los orgánulos generadores de la energía necesaria para que funcione el transporte axonal, directamente ligado a la mielinización, ya que se ha demostrado *in vitro* que la supresión del transporte axonal induce desmielinización y a su vez, que la desmielinización disminuye el transporte axonal, aspectos directamente relacionados con la neurodegeneración.

Los resultados obenidos, se relacionan con el tercero de nuestros objetivos: la búsqueda de factores en LCR resultantes de la neurodegeneración. La integridad del axón depende de su citoesqueleto, siendo la subunidad ligera de la proteina de neurofilamento (NFL), la principal proteina estructural y el elemento más abundante de los axones mielinizados. En la EM, al igual que en otras enfermedades neurodegenerativas, se ha observado una liberación de NFL al LCR, tanto de pacientes en la forma remitente-recurrente, en relación con la aparición de los brotes, como en las formas progresivas, en relación con la discapacidad. En nuestro laboratorio hemos podido confirmar estos resultados, y debido a la poca sensibilidad en la detección de tan extremadamente pequeñas cantidades de NFL, estamos cuantificando la aparición de anticuerpos anti NFL en LCR como una respuesta amplificada de la liberación de NFL por daño axonal. Los resultados que obtenemos, se los correlacionamos con la forma clínica, el grado de discapacidad y la evolución de los pacientes, con el fin de encontrar marcadores que permitan la correcta clasificación de estos pacientes EM, y distinguir a aquellos que padecen una forma benigna, es decir sin lesión neuronal, de los que si presentan afectación neuronal con daño axonal.

La funcionalidad de la proteina de NFL depende de su fosforilación, siendo las mitocondrias del axón su principal fuente de ATP. De acuerdo con nuestra hipótesis esquematizada en la **Fig. 3**, la disminución en la actividad mitocondrial que observamos en las neuronas, puede alterar la fosforilación de la proteina de NFL del axón, afectando no sólo su función en el transporte axonal, sino también su integridad, y contribuyendo al proceso de daño axonal, interrupción de la sinapsis y finalmente neurodegeneración y pérdida de función. Estos procesos que dan lugar a la ruptura de las conexiones neuronales y tienen como consecuencia un fracaso de la función neuronal, ocurriendo en la EM de forma ininterrumpida, podrían ser los responsables en última instancia de la aparición y progresión de la discapacidad en los pacientes. De acuerdo con esta hipótesis, estamos interesados en estudiar la relación entre la disminución de la actividad mitocondrial que observamos en las neuronas, el grado de fosforilación de su NFL y la fragmentación de su citoesqueleto, lo que permitiría demostrar directamente la implicación de este proceso en la lesión axonal observada en EM y abordar desde un nuevo ángulo el estudio de la terapia adecuada.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Investigación básica en Esclerosis múltiple.

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título proyecto: Estudio de factores citotóxicos en el suero de los pacientes de Esclerosis Múltiple.

Entidad financiadora: A.C.V.E.M. (Asociación de la Comunidad Valenciana de Esclerosis Múltiple.

Duración: desde 2001, hasta 2003.

Investigador principal: María Burgal.

Título proyecto: Estudio de factores neurotóxicos en líquido cefalorraquídeo y suero de pacientes afectados de Esclerosis Múltiple.

Entidad financiadora: EVES (Escuela Valenciana de estudios para la salud. Conselleria de Sanitat). Generalitat Valenciana).

Duración: desde 2002, hasta 2003.

Investigador principal: María Burgal.

Título proyecto: Estudio de marcadores de daño axonal en Líquido cefalorraquídeo de pacientes afectados de Esclerosis múltiple.

Entidad financiadora: FEDEM (Fundación Española de Esclerosis Múltiple).

Duración: desde 2002, hasta 2003.

Investigador principal: María Burgal.

Título proyecto: Prevención de la pérdida axonal por fármacos inmunomoduladores en la Esclerosis múltiple.

Entidad financiadora: Laboratorios AVENTIS PHARMA S.A.

Duración: desde 2003, hasta 2005.

Investigador principal: María Burgal.

Título proyecto: Estudio de factores de riesgo ambientales en la esclerosis múltiple.

Entidad financiadora: A.C.V.E.M. (Asociación de la Comunidad Valenciana de Esclerosis Múltiple.

Duración: desde 2003, hasta 2005.

Investigador principal: María Burgal.

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

En desarrollo:

• Alberto Hernández. Factores neurotóxicos en líquido cefalorraquídeo y suero de pacientes afectados de Esclerosis Múltiple.

• Eva María Lafuente. Importancia de la activación plaquetar y factores de secreción derivados de la misma en el daño axonal observado en esclerosis múltiple.

• Santiago García. Marcadores de daño axonal en Líquido cefalorraquídeo de pacientes afectados de Esclerosis múltiple.

• Iván Martínez. Incidencia de factores de riesgo ambientales en la prevalencia de la esclerosis múltiple.

COLABORADORES

NACIONALES

• Bonaventura Casanova Estruch. Departamento de Neurología. **Hospital la Fe de Valencia.**

• Francisco Coret Ferrer. Departamento de Neurología. **Hospital Clínico Universitario de Valencia.**

3

DEPARTAMENTO DE INMUNOBIOLOGÍA

Laboratorio de Patología Autoinmune

Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
Juan Saus	Fernando Revert	Jesús Macias	Filomena Bote
	Francisco Revert	Sergio Lainez	María Helena Ferrandis
	Froilán Granero	Carlos Sánchez	Eva Juan
		Ignacio Ventura	Irene Borredá
		Mario Blanco	Zahara Garzón
		Gilberto Ascensio	Andreu Jordán
		Pilar Martínez Martínez	

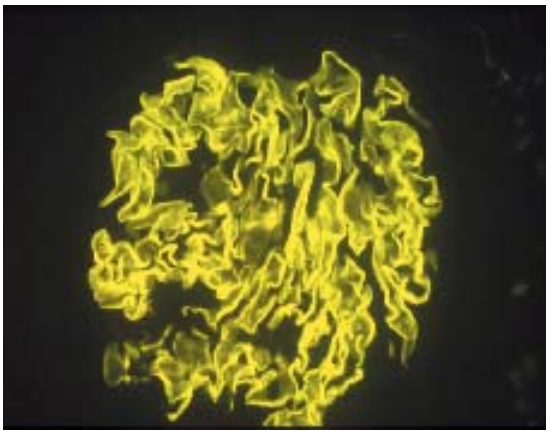
GPBP ES UNA DIANA TERAPÉUTICA EN AUTOINMUNIDAD

El diseño racional de tests diagnósticos y terapéuticos exige conocer los sucesos moleculares que subyacen en la enfermedad. En este sentido, nuestro laboratorio ha realizado un importante esfuerzo en el campo de las enfermedades autoinmunes humanas.

Las enfermedades autoinmunes comprenden un vasto conjunto de patologías mediadas por un ataque inmunológico contra componentes propios (autoantígenos) como resultado de un fracaso en la tolerancia inmunológica. Múltiples evidencias sugieren que alteraciones específicas en la biología de los autoantígenos desencadenan y mantienen la respuesta autoinmune. Nuestro objetivo principal es estudiar y determinar los rasgos biológicos de los autoantígenos humanos con relevancia patogénica para postular un modelo molecular de la enfermedad autoinmune que permita diseñar test diagnósticos y terapéuticos más eficaces. Esto lo hemos realizado estudiando la enfermedad de Goodpasture un desorden de naturaleza autoinmune mediado por autoanticuerpos patogénicos que reconocen un único autoantígeno en la membrana basal.

En la actualidad el término enfermedad autoinmune se ha ampliado a un conjunto de patologías donde el papel patogénico primario de las entidades autorreactivas (anticuerpos o células T citotóxicas) es discutido y su presencia es considerada un fenómeno asociado a un desorden más profundo de origen desconocido. Así otras patologías de naturaleza autoinmune incluyen diabetes juvenil, esclerosis múltiple, artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico.

La enfermedad de Goodpasture (GP) es una patología autoinmune sólo descrita en humanos que cursa clínicamente como una glomerulonefritis frecuentemente acompañada de una hemorragia pulmonar. Esta enfermedad está mediada por anticuerpos circulantes dirigidos contra la cadena $\alpha 3$ del colágeno IV (antígeno GP) **(Fig. 1)**. La presencia de cadenas similares que no median en la enfermedad ha permitido realizar estudios estructurales comparativos entre ellas y determinar que el antígeno humano posee una capacidad extraordinaria para



cambiar su conformación en respuesta a señales específicas. Esta capacidad plástica cuya función es desconocida coloca al antígeno humano en una situación de vulnerabilidad para sufrir alteraciones en su estructura tridimensional o conformación.

Nuestros hallazgos demuestran que el antígeno GP humano es en realidad un conjunto de estructuras tridimensionales distintas (confórmeros) que se generan a partir de una misma molécula y también que la incorporación diferencial de fosfatos en la molécula es uno de los mecanismos que regula la formación de los confórmeros. Finalmente el antígeno GP aislado a partir de riñones de pacientes contiene confórmeros aberrantes que son reconocidos por los autoanticuerpos, indicando que en estos pacientes los autoanticuerpos representan una respuesta legítima del sistema inmunitario contra un antígeno alterado en su estructura tridimensional.

Recientemente hemos identificado y caracterizado una proteína (GPBP, Goodpasture antigen-binding protein) que se encuentra íntimamente asociada al antígeno GP humano y que es capaz de catalizar cambios en la estructura tridimensional del antígeno humano, sugiriendo que en los pacientes GP un malfuncionamiento de GPBP media la formación de antígeno aberrante y desencadena la enfermedad. De acuerdo con esta idea hemos demostrado que la expresión de GPBP está aumentada en los pacientes GP y que GPBP puede catalizar in vitro la formación de confórmeros aberrantes del antígeno GP que también se generan en el riñón de pacientes GP.

También hemos observado una expresión aumentada de GPBP en tejidos humanos que están sufriendo otros ataques autoinmunes como por ejemplo en el lupus eritematoso sistémico, lupus cutáneo, penfigoide y liquen plano **(Fig. 2)** lo que sugiere que la expresión aberrante de GPBP también desempeña un papel clave en el establecimiento de otras respuestas autoinmunes más frecuentes. De acuerdo con esta idea hemos producido y desarrollado compuestos moduladores específicos de la actividad de GPBP y los hemos ensayado en un modelo animal de lupus renal en un intento por: 1) validar a GPBP como diana terapéutica; 2) obtener compuestos cabeza de serie para el desarrollo de fármacos efectivos en el tratamiento de las enfermedades autoimmunes. Nuestros estudios indican que los moduladores positivos de la actividad de GPBP promueven de forma eficiente la instauración de procesos de esclerosis que caracterizan el estadio final de la enfermedad mientras que los moduladores negativos previenen la progresión de la enfermedad. Estos hallazgos validan a GPBP como diana terapéutica en los procesos de naturaleza autoinmune y revelan que la inhibición de GPBP es una vía eficaz para tratar la esclerosis en el contexto de una respuesta autoinmune.

Figura 1. Se muestra inmunofluorescencia directa de un glomérulo renal en un paciente Goodpasture. Los autoanticuepos patogénicos se depositan de forma linear a lo largo de la membrana basal glomerular.

Figura 2. Se muestran cortes histológicos de piel control o que está sufriendo un ataque autoinmune (lupus cutáneo y liquen plano) teñidas con anticuerpos contra GPBP. En la fila de arriba se muestran inmunoflourescencia indirecta sobre cortes congelados en los que la presencia de GPBP se detecta en verde. En la fila de abajo se muestran cortes de muestras incluidas en parafina en los que la presencia de GPBP se detecta mediante coloración marrón. Se observa una expresión de GPBP aumentada en la piel que esta sufriendo un ataque autoinmune que abarca todo el espesor de la epidermis.

GPBP ES UNA DIANA TERAPÉUTICA EN CÁNCER

En un intento por determinar el papel de GPBP en las células hemos emprendido estudios encaminados a identificar proteínas que interaccionan con GPBP y hemos aislado un conjunto de proteínas que hemos denominado genéricamente GPBP-interacting proteins (GIPs). Al igual que GPBP estas proteínas están pobremente expresadas en células transformadas y en cáncer indicando que se trata de proteínas cuya expresión debe estar inhibida para que haya una adecuada progresión tumoral. Cuando hemos estudiado la expresión de estas proteínas en tejidos que sufren un ataque autoinmune hemos observado que su expresión es virtualmente sólo nuclear y por lo tanto que podrían jugar un papel central en la regulación de genes que orquestan una respuesta con una actividad neta global anti-tumoral. Consistentemente con esta idea hemos demostrado que estas proteínas tienen capacidad para poner en marcha genes heterólogos (actividad transactivacional) y que las células que muestran una expresión prominente de GIPs en los tejidos que están sufriendo un ataque autoinmune se encuentran en apotosis o muerte celular programada. Todos estos hallazgos sugieren que GIPs promueven un programa de muerte celular que orquesta GPBP que necesita ser inactivado para una adecuada progresión tumoral, o lo que es lo mismo, un aumento en la expresión (o una activación) de GPBP y de las proteínas GIP podría comprometer el desarrollo de ciertos tumores o incluso inducir regresión tumoral.

GPBP ES UNA DIANA TERAPÉUTICA EN ENFERMEDADES DEGENERATIVAS

Un hallazgo muy frecuente en el lupus renal tanto en humanos como en modelos de ratón es la aparición de depósitos proteicos en el espacio subendotelial de naturaleza hialina. Estudios pre-clínicos recientes realizados en nuestro laboratorio muestran que la aparición de esos depósitos se puede acelerar con la administración de activadores de GPBP y que el material allí depositado muestra rasgos estructurales similares aunque no idénticos a los que caracterizan los depósitos amiloides que causan degeneración tisular en desórdenes tales como la enfermedad por priones, la enfermedad de Alzheimer y diabetes tipo II. Interesantemente, la administración de un inhibidor de GPBP en estos modelos animales si bien no reducía de forma significativa la presencia de depósitos de material para-amiloide, sí que inhibía de forma muy significativa los rasgos estructurales amiloideos. Esta observación nos ha llevado a investigar el papel de GPBP en la formación de depósitos proteicos de naturaleza amiloide. De acuerdo con estas ideas, GPBP reconoce e interacciona con un buen número de proteínas que se alteran conformacionalmente y causan degeneración tisular. Más específicamente estudios recientes ponen de manifiesto que como resultado de esa interacción GPBP imprime cambios conformacionales en estas proteínas que causan agregación y precipitación, o lo que es lo mismo, GPBP tiene la capacidad de promover la formación de depósitos proteicos de naturaleza amiloide. Todo ello sugiere que GPBP es una diana terapéutica potencial en enfermedades degenerativas mediadas por depósitos proteicos de naturaleza amiloide y también para-amiloide.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

GPBP, una nueva diana terapéutica en enfermedades autoinmunes, degeneración tisular y cáncer.

PUBLICACIONES

Jais JP, Knebelmann B, Giatras I, De Marchi M, Rizzoni G, Renieri A, Weber M, Gross O, Netzer KO, Flinter F, Pirson Y, Dahan K, Wieslander J, Persson U, Tryggvason K, Martin P, Hertz JM, Schroder C, Sanak M, Carvalho MF, Saus J, Antignac C, Smeets H, Gubler MC. X-linked alport syndrome: natural history and genotype-phenotype correlations in girls and women belonging to 195 families: a "European Community Alport Syndrome Concerted Action" study (2003)J Am Soc Nephrol 14(10):2603-10.

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título del proyecto: Base moleculares de enfermedades autoinmunes: Implicaciones patogénicas de GPBP, una nueva proteína que fosforila y cataliza cambios en la estructura terciaria del antígeno Goodpasture.

Entidad financiadora: Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (SAF 2000/0047).

Entidades participantes: Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas.

Duración: desde 2000, hasta 2003.

Investigador principal: Juan Saus Mas.

Título del proyecto: Identificación mediante química combinatoria de compuestos moduladores de la actividad de GPBP y utilización de los mismos con finalidad terapéutica en modelos animales con lupus renal.

Entidad financiadora: Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (SAF 2001/0453).

Entidades participantes: Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas.

Duración: desde 2001, hasta 2004.

Investigador principal: Juan Saus Mas.

Título del proyecto: GPBP en la patogénesis de la fibrosis tisular asociada a procesos autoinmunes: Ensayos terapéuticos en modelos murinos.

Entidad financiadora: Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (SAF2003-09772-C03-01).

Entidades participantes: Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas.

Duración: desde 2003, hasta 2006.

Investigador principal: Juan Saus Mas.

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

"La fosforilación de serinas y el plegamiento de autoantígenos: Caracterización de GPBP, una nueva quinasa implicada en autoinmunidad".

Doctorando: Pilar Martínez-Martínez.

Diciembre 1, 2003.

"Caracterización del promotor de COL4A3BP humano y su activación en respuesta al factor de necrosis tumoral".

Doctorando: Froilán Granero.

Fecha prevista: Primer trimestre 2004.

"GPBP-interacting proteins (GIPs) una nueva familia de factores de transcripción con relevancia en autoinmunidad y cáncer."

Doctorando: Francisco Revert.

Fecha prevista: Segundo trimestre 2004.

PONENCIAS A LAS QUE HAN SIDO INVITADOS

"GPBP una nueva proteína quinasa que cataliza cambios conformacionales en proteínas sustrato: Implicación en patología degenerativa y autoinmune".

Santander (Febrero 6, 2003).

Facultad de Medicina, **Universidad de Cantabria.**

"GPBP, una nueva diana para el tratamiento de las enfermedades autoinmunes y degenerativas" Servicio de Nefrología, **Hospital Alarcos de Ciudad Real** (Mayo 7, 2003).

ESTANCIAS EN OTROS LABORATORIOS

Froilán Granero, **University of Vanderbilt, Center for Matriz Biology.**

COLABORADORES

NACIONALES

- Jesús Merino, **Universidad de Cantabria**; Pedro Muniesa, **Universidad de Zaragoza.**
- Juan José Calvete, **Instituto de Biomedicina de Valencia.**

INTERNACIONALES

- Kun Pin Lu, **Harvard University, USA.**
- Billy G. Hudson, **Vanderbilt University, USA.**
- Antonella de Matteis, **Consorzio Mario Negri SUD, Italia.**
- Effie Tsilibary, **National Centre Scientific Research "Demokritos",Grecia**

4

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, MOLECULAR Y GENÉTICA

Laboratorio de Biología Celular

Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
Erwin Knecht	Belén Calles	Maribel Sánchez	Asunción Montaner
	Carmen Aguado	Graciela Fuertes	María Dolores Catalán
		Natalia Salvador	Miguel Á. Soriano
		Jorge Jiménez	
		Inmaculada Esteban	

La degradación intracelular de proteínas o proteólisis intracelular es un proceso, que ocurre en todas las células, eucarióticas y procarióticas, y por el que todas las proteínas celulares son degradadas, continua y selectivamente, hasta sus aminoácidos constituyentes. Se trata de un proceso esencial para la supervivencia celular ya que cumple funciones tan importantes como evitar la acumulación de proteínas defectuosas, adaptar el contenido enzimático de las células a nuevas situaciones, proveer a las células de aminoácidos en situaciones adversas, controlar el ciclo, la diferenciación y la muerte celular, etc. Nuestro laboratorio investiga las bases moleculares y celulares de ese proceso, en el que están implicados, sobre todo y mediante diversos mecanismos, dos sistemas proteolíticos: los proteasomas y los lisosomas. Asimismo, investigamos las consecuencias que tienen en diferentes patologías las alteraciones en el normal funcionamiento de los diferentes sistemas proteolíticos.

MECANISMOS MOLECULARES Y CELULARES DE LA DEGRADACIÓN SELECTIVA DE PROTEÍNAS Y SUS IMPLICACIONES PATOLÓGICAS

La degradación intracelular de proteínas cumple funciones esenciales para la supervivencia celular, tales como: i) el control de la división, la proliferación y la diferenciación celulares; ii) el control de los mecanismos de morfogénesis, envejecimiento y muerte celular (tanto por necrosis cómo por apoptosis); iii) la fabricación de péptidos antigénicos para su presentación por los complejos principales de histocompatibilidad al sistema inmunológico; iv) la adaptación de la maquinaria enzimática celular a cambios ambientales; v) la eliminación de proteínas mal plegadas, no funcionales o "erróneas"; vi) el control del tráfico intracelular de proteínas; vii) la provisión a las células, en situaciones adversas como en el ayuno, de aminoácidos utilizables como fuente de energía o para la síntesis de proteínas más necesarias en tales condiciones; etc.

Por otro lado, numerosas enfermedades humanas aparecen asociadas a depósitos de agregados proteicos que se acumulan en determinadas células o tejidos. Los más conocidos son los que aparecen en las enfermedades de Alzheimer, Parkinson y Huntington, en las encefalopatías espongiformes y en la diabetes tipo 2, no dependiente de insulina. De hecho, los depósitos, intra- o extracelulares, de proteínas agregadas son una

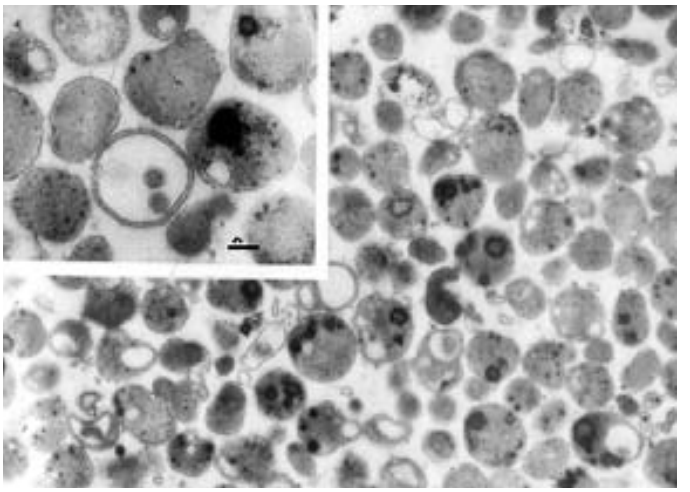


Figura 1

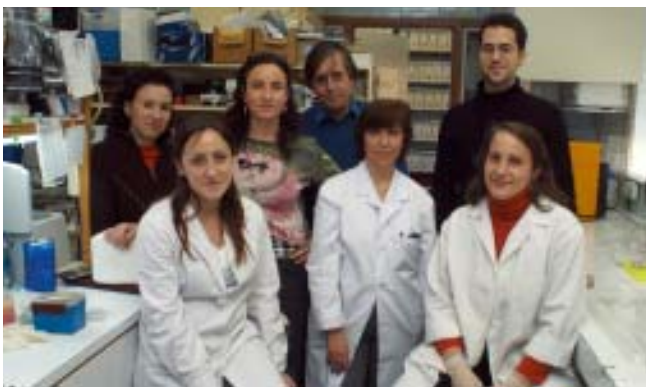
característica común de muchas enfermedades, especialmente neurodegenerativas, pese a que los síntomas son muy diferentes.

Para evitar que se formen estos agregados proteicos, las células disponen de unas proteínas, las chaperonas o carabinas moleculares, que promueven, generalmente de forma cooperativa, el plegamiento proteico correcto. Cuando, tras varios intentos por las chaperonas, las proteínas no alcanzan el plegamiento adecuado y son plegadas incorrectamente, intervienen las proteasas celulares, que eliminan esas proteínas e impiden su agregación. Por ello, las carabinas moleculares y las proteasas celulares están funcionalmente, y a veces físicamente, relacionadas. Pero además, las proteínas plegadas adecuadamente y, por tanto, funcionales, son finalmente degradadas con velocidades distintas que varían según la proteína, el tipo celular o las condiciones ambientales. Todos estos mecanismos desempeñan un papel esencial en las células y los datos del Proyecto Genoma Humano predicen la intervención de 800 proteínas distintas implicadas en procesos de plegamiento y degradación de proteínas.

Existen diferentes clases de carabinas moleculares que vienen definidas por su tamaño molecular, su localización y su función. Las principales son las Hsp90 (citosólicas y de retículo endoplásmico (ER), las Hsp-70 (citosólicas, mitocondriales, lisosomales y de ER), las Hsp-60 (llamadas también chaperoninas, mitocondriales, citosólicas y nucleares; y que se dividen en dos grupos según requieran o no co-chaperoninas), las Hsp-40 (citosólicas, mitocondriales y de ER) y las sHsps (pequeñas hsps de localización citosólica sobre todo).

En cuanto a las proteasas celulares, son muy numerosas y se encuentran localizadas prácticamente por toda la célula. Sin embargo, las vías degradativas de proteínas intracelulares en células eucarióticas se dividen, por motivos históricos, en dos grandes grupos: las vías no lisosomales y las vías lisosomales. El papel más importante en la degradación intracelular de proteínas por las vías no lisosomales lo desempeñan los diferentes proteasomas (el 20S, sólo o unido a diferentes complejos reguladores como el 19S o el PA28 y, probablemente, otros). Estos complejos supramoleculares son los responsables de la proteólisis dependiente (el proteasoma 26S) o independiente del polipéptido ubicuitina y de la generación de péptidos antigénicos para su presentación por los complejos principales de histocompatibilidad clase I. Las vías lisosomales son responsables, al menos, de la degradación de proteínas extracelulares que entran por endocitosis, de fase fluida, adsorptiva o mediada por receptores, a las células y también de proteínas intracelulares, cuando las células se encuentran en situaciones de estrés (ayuno por ejemplo). Sin embargo, los lisosomas, que son orgánulos que contienen enzimas digestivas para la degradación de todo tipo de macromoléculas en un medio acídico mantenido por una ATPasa vacuolar (V-ATPasa o (H+)-ATPasa), representan, en ciertas condiciones, la principal vía degradativa que opera en las células eucarióticas.

No se sabe bien si los depósitos de proteínas agregadas en la célula pueden ser causa de las alteraciones celulares o son simplemente un resultado de las mismas. En cualquier caso, la acumulación de ese material puede afectar al normal funcionamiento de los sistemas degradativos de la célula, lo que, por la importancia de los mismos, puede tener consecuencias funestas para ellas. Esto es lo que al parecer ocurre con los proteasomas en el caso de las enfermedades de Parkinson y Huntington y con los lisosomas en el caso de las lipofuscinosis ceroideas neuronales y la enfermedad de Danon.



Nuestro grupo investigador trabaja, en colaboración con otros, en el estudio de las bases moleculares de los procesos proteolíticos celulares y como se ven alterados esos procesos en diversas patologías. Además, nuestro grupo colabora con el de la Dra. M. Eugenia Armengod de este Instituto en el estudio de GTPasas conservadas evolutivamente, empleando como sistemas experimentales E. coli, rata, ratón y células humanas.

Figura 1. Lisosomas aislados de hígado de rata.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

• Mecanismos moleculares y celulares de la degradación selectiva de proteínas.

• Implicaciones patológicas de alteraciones en el funcionamiento de las principales vías degradativas (en colaboración con otros laboratorios del Centro: Genética Molecular, Biología Molecular del Cáncer y Patología Molecular).

• Estudio de genes implicados en la síntesis de proteínas mitocondriales y sus relaciones con enfermedades humanas (en colaboración con el laboratorio de Genética Molecular).

PUBLICACIONES

• Fuertes G., Villarroya, A., Knecht, E.: Role of proteasomes in the degradation of short-lived proteins in human fibroblasts under various growth conditions. Int. J. Biochem. Cell Biol. 35, 651-664 (2003).

• Yim, L., Martínez-Vicente, M., Villarroya, M., Aguado, C., Knecht, E., Armengod, M.E.: The GTPase activity and cysteine C-terminal of the E. coli MnmE protein are essential for its tRNA modifying function. J. Biol. Chem. 278, 28778-2887 (2003).

• Fuertes, G., Martín de Llano, J.J., Villarroya, A., Rivett, A.J., Knecht, E.: Changes in the proteolytic activities of proteasomes and lysosomes in human fibroblasts produced by serum withdrawal, amino acid deprivation and confluent conditions. Biochem. J. 375, 75-86 (2003).

• Knecht, E., Salvador, N.: Chaperone-mediated autophagy. En: Lysosomes (Saftig, P., ed.). RG Landes Co. (en prensa).

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

• Mecanismos y regulación de la degradación selectiva de proteínas intracelulares. Ref. BMC2001-0816. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Programa: Promoción General del Conocimiento. Finaliza: 27.12.2004.

• Defectos en proteínas de la membrana lisosomal relacionados con proteopatías humanas. Ref. SAF2002-00206. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Programa: Biomedicina. Finaliza: 1.12.2005.

• Papel de la proteólisis intracelular en la oncogénesis controlada por el supresor tumoral PTEN. Ref. CTIDIB/2002/86. Generalitat Valenciana. Finaliza: 31.12.2004.

• Defectos metabólicos y moleculares en la diabetes mellitus y sus complicaciones. Terapia génica y celular. Instituto de Salud Carlos III del Ministerio de Sanidad y Consumo. Programa: Redes de grupos de investigación cooperativa. Grupo 10. Comenzó en enero de 2003.

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

• Graciela Fuertes: Función de los proteasomas en la degradación intracelular de proteínas en células de mamífero. Febrero de 2004. Sobresaliente "Cum Laude"

• Natalia Salvador: Mecanismos lisosomales de degradación selectiva de proteínas intracelulares. Fecha prevista de lectura: Julio de 2004.

PONENCIAS A LAS QUE HAN SIDO INVITADOS

• X Congreso de la Sociedad Española de Biología Celular. Santander, 18-21 diciembre 2003.

• "Alteraciones en la función de los principales sistemas de degradación intracelular de proteínas: ubicuitina-proteasomas y lisosomas. Conformación proteica y formación de agregados: ¿Causa, consecuencia o epifenómeno de la neurodegeneración?". Universidad de Valencia. 18 de junio de 2003.

COMUNICACIONES A CONGRESOS

• Fifth International Workshop on Proteasomes. Clermont-Ferrand, Francia, 27-29 abril 2003.

LABOR EDITORIAL

"Editorial Adviser" del Biochemical Journal.

EVALUACIÓN DE PROYECTOS

• Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva.

• Ministerio de Ciencia y Tecnología.

• Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de Argentina (FONCyT).

COLABORACIONES

NACIONALES

• José Ángel Martínez Climent, Hospital Clínico Universitario de Valencia

• Rafael Garese, **Facultad de Medicina, Univ. Autónoma de Madrid.**

• José Penadés, Departamento de Ciencias Biomédicas Básicas, **Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia.**

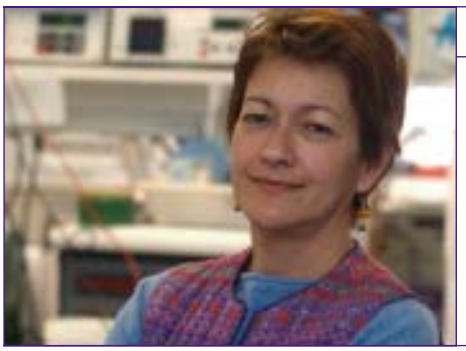
• Fernando Aniento, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, **Universidad de Valencia.**

INTERNACIONALES

• A. Jennifer Rivett, **University of Bristol, UK.**

• Paul Saftig, Institut of Biochemistry, **University of Kiel, GER.**

Laboratorio de Genética Molecular



Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
Mª Eugenia Armengod González	Lucía Yim	Marta Martínez-Vicente	Elvira Cebolla
	Magda Villarroya	David Pérez Martínez	Carmen Verdejo
		Ismaïl Moukadiri	Mara Mellado López
		José Ignacio Martínez Ferrandis	

CARACTERIZACIÓN DE GENES Y PROTEÍNAS CONSERVADOS EVOLUTIVAMENTE CON RELEVANCIA CLÍNICA

El logro de las secuencias genómicas de organismos muy diversos, desde bacterias a humanos, permite plantearse la búsqueda y caracterización de genes relevantes, desde el punto de vista clínico, mediante las nuevas estrategias de la Genómica y Proteómica Comparadas. La identificación de genes conservados evolutivamente puede facilitar la detección de ortólogos humanos y la predicción de sus funciones a partir de datos obtenidos en bacterias. Las proteínas bacterianas homólogas a las humanas son modelos familiares excelentes que pueden ser caracterizados bioquímica, estructural y funcionalmente a menudo con mayor facilidad que sus parientes eucarióticos. Por otra parte, la identificación y caracterización de proteínas conservadas entre bacterias, y esenciales para su supervivencia y/o mecanismos de patogenicidad, permite su uso como dianas en el diseño de nuevos fármacos antimicrobianos.

Nuestro grupo ha continuado durante 2003 con la caracterización bioquímica, estructural y funcional de dos GTPasas de E. coli, MnmE e YjdA, que están conservadas evolutivamente y que son prototipos, dentro de la superfamilia de las proteínas G, de dos familias diferentes, la familia MnmE y la familia de las dinaminas, respectivamente. Ambas familias tienen representantes en las células eucarióticas, en las cuales los miembros de la familia son de localización mitocondrial. Defectos en el funcionamiento de estas proteínas en humanos se han relacionado con síndromes neuromusculares o sensoriales muy graves. Nosotros pensamos que la caracterización de las proteínas bacterianas puede facilitar la de sus homólogas eucarióticas.

Nuestros resultados muestran que MnmE tiene propiedades bioquímicas que la diferencian de las GTPasas clásicas (reguladoras) y utiliza un mecanismo peculiar para hidrolizar el GTP. Curiosamente, y a diferencia también de las GTPasas clásicas, MnmE requiere la hidrólisis de GTP (no basta con la unión al nucleótido) para ser funcionalmente activa. Probablemente la hidrólisis de GTP provoca reordenamientos estructurales en la molécula que le permiten ejecutar su función. MnmE está implicada en la modificación de tRNAs, un aspecto crucial en

la descodificación del mensaje genético y en procesos de regulación de la expresión génica. Nuestros resultados muestran que la actividad GTPasa de MnmE es necesaria para la función modificadora de la proteína. Además, MnmE puede ser una proteína esencial en ciertas bacterias patógenas, lo que la convierte en posible diana de nuevos fármacos antimicrobianos, un tema de investigación actualmente en desarrollo en nuestro laboratorio.

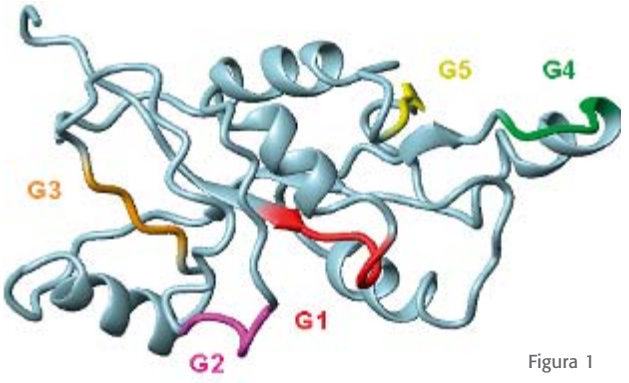


Figura 1

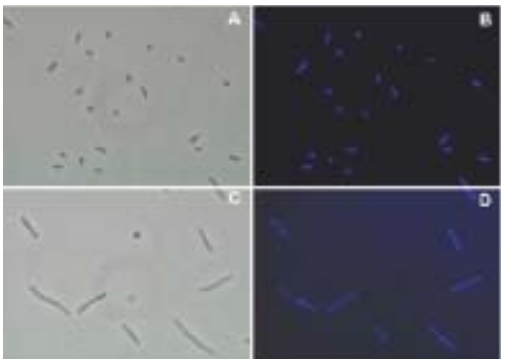


Figura 2

BASES GENÉTICAS DE ENFERMEDADES MULTIFACTORIALES

Por otra parte, el Laboratorio de Genética Molecular colabora desde hace más de una década con diversos Equipos de Investigadores Clínicos en el estudio de las bases moleculares de enfermedades multifactoriales humanas. El trabajo realizado ha permitido establecer la asociación de mutaciones y/o polimorfismos genéticos con la hipercolesterolemia familiar y la hipertensión arterial (o su daño orgánico). En la actualidad, nuestra colaboración se centra fundamentalmente en el estudio de genes y/o polimorfismos genéticos asociados con el cáncer de mama.

El cáncer de mama es la neoplasia mas frecuente entre las mujeres del mundo occidental y la primera causa de muerte por cáncer en mujeres. Aproximadamente, un 5% de los cánceres de mama son hereditarios y debidos, en gran parte, a mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. El resto es probablemente consecuencia de combinaciones alélicas de diferentes genes (de baja penetrancia) y factores ambientales. Un área de investigación muy activa en la actualidad es, precisamente, la búsqueda de variantes alélicas que, a pesar de conferir individualmente un riesgo muy moderado de cáncer, lo incrementan significativamente cuando se combinan por azar en un determinado individuo, lo que puede ocurrir en un porcentaje importante de personas debido a la alta frecuencia con que se presentan tales variaciones en la población. Nuestro trabajo durante 2003 ha contribuido a determinar la asociación de mutaciones BRCA con el cáncer de mama precoz (desarrollado antes de los 40 años), así como la asociación de otros polimorfismos genéticos con esta enfermedad.

Figura 1: Modelo de la estructura del dominio G de MnmE a partir de datos de RMN.
Figura 2: La inactivación de MnmE afecta diversos procesos celulares (entre ellos la división celular, como se aprecia en los paneles inferiores) y provoca letalidad.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

• Identificación y caracterización de genes conservados evolutivamente relacionados, en humanos, con enfermedades mitocondriales (sistemas experimentales: E. coli, líneas celulares de mamíferos y DNA de pacientes).

• Estudio de GTPasas de las familias MnmE y dinaminas.

• Genes y proteínas implicados en la traducción de proteínas.

• Identificación de proteínas bacterianas esenciales para su supervivencia y/o mecanismos de patogenicidad: diseño de nuevos fármacos antimicrobianos.

• Genética Molecular del cáncer de mama.

PUBLICACIONES

• Campos , B., Diez, 0., Odefrey, F., Domenech, M., Moncoutier, V., Martinez-Ferrandis, J.I., Osorio, A., Balmana,J., Barroso, A., Armengod, M.E., Benitez, J., Alonso, C., Stoppa-Lyonnet, D., Goldgar, D., Baiget, M. (2003) Haplotype analysis of the BRCA2 9254delATCAT recurrent mutation in breast/ovarian families from spain. Hum. Mutat. 21: 452

• Real, JT, Chaves, FJ, Ascaso, JF, Armengod, ME, Carmena,R. (2003) Additional information on APOB3500Q mutation in spain. Atherosclerosis 168: 399-400.

• Yim, L; Martínez-Vicente,M; Villarroya, M; Aguado,C; Knecht,E; Armengod, ME. (2003) The GTPase activity and C-terminal cysteine of the Escherichia coli MnmE protein are essential for its tRNA modifying function. J. Biol. Chem. 278: 28378-28387.

• Diez, O, Osorio, A, Duran, M, Martínez-Ferrandis, JI, Hoya, M, Salazar, R, Vega, A, Campos, B, Rodríguez-López, R, Velasco, E, Chaves, FJ, Díaz-Rubio, E, Cruz, JJ, Torres, M, Esteban, E, Cervantes, A, Alonso, C, San Román, Jm, González-Sarmiento, R, Miner, C, Carracedo, A, Armengod ME, Caldes, T, Benítez, J, Baiget, M. (2003). Analysis of BRCA1 AND BRCA2 genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: a high proportion of mutations unique to spain and evidence of founder effects. Hum. Mutat. 22: 301-312.

• Martínez-Ferrandis JI, Vega, A, Chirivella, I, Marín-García, P, Insa, A, Lluch, A, Carracedo, A, Chaves, FJ, García-Conde, J, Cervantes, A, Armengod, ME. (2003) Mutational analysis of BRCA1 AND BRCA2 in mediterranean Spanish women with early-onset breast cancer: identification of three novel pathogenic mutations. Hum Mutat 22: 417-418.

• Real, JT, Chaves, FJ, Ejarque, I, García García, AB, Valldecabres, C, Ascaso, JF, Armengod, ME, Carmena,R. (2003) Influence of LDL receptor gene mutations and the R3500Q mutation of the APOB gene on the lipoprotein phenotype of familial hypercholesterolemic patients from a South European population. Eur. J. Hum. Genet 11:959-965.

• Monleón, D, Yim, L, Martínez-Vicente, M, Armengod, ME, Celda, B. Backbone 1H, 13C and 15N resonance assignments for the 18.7 kDa GTPase domain of Escherichia coli MnmE protein. J. Biomol NMR, (en prensa).

• Marín P., Julve, R., Chaves, F.J., Giner, V. Pascual J.M., Armengod, M.E., Redón J. (en prensa) Polymorphisms of the angiotensinogen gene and the outcome of microalbuminuria in essential hypertension: a 3-year follow-up study. J. Hum. Hypertens.

• Rodríguez-López, R., Osorio, A., Ribas, G., Pollán, M., Sánchez-Pulido, L., de la Hoya, M., Ruibal, A., Zamora, P., Arias, J.I., Salazar, R., Vega, A., Martínez, J.I., Esteban-Cardeñosa, E., Alonso, C., Letón, R., Urioste Azcorra, M., Miner, C., Armengod, M.E., Carracedo, A., González-Sarmiento, R., Caldés, T., Díez, O., Benítez, J. The variant E233G of the rad51d gene could be a low penetrance allele in high risk breast cancer families without BRCA1/2 mutations. Int. J. Cancer (en prensa).

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título proyecto: Estudio de las proteínas MnmE y YidC de E. coli, dos proteínas conservadas evolutivamente e implicadas en la biogénesis de proteínas. Ref.: BMC2001-1555.

Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Duración: desde 2001, hasta 2003.

Investigador principal: María Eugenia Armengod.

Título proyecto: GTPasas conservadas evolutivamente: caracterización bioquímica y funcional de YjdA, una proteína de Escrerichia coli perteneciente a la familia de las dinaminas. Ref.: BMC2002-02167.

Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Duración: desde 2002, hasta 2004.

Investigador principal: María Eugenia Armengod.

Título proyecto: Bases Genéticas y Moleculares de los trastornos de la audición. Ref.: G03/212 (Red temática de Investigación Cooperativa).

Entidad financiadora: Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III .

Duración: desde 2003, hasta 2004.

Investigador principal: María Eugenia Armengod.

Título proyecto: Caracterización de los genes humanos MNME y GIDA y estudio de su asociación con enfermedades de la cadena respiratoria. Ref.: CTIDIB/2002/84.

Entidad financiadora: Agencia Valenciana de Ciencia y Tecnología

Duración: desde 2002, hasta 2003.

Investigador principal: María Eugenia Armengod.

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

• José Ignacio Martínez Ferrandis: Análisis mutacional de los genes BRCA1 y BRCA2 en mujeres con cáncer de mama precoz.

• Juan Carlos Escudero Gómez: Biogénesis de la membrana plasmática de E. coli: caracterización de la proteína YidC y estudio de su interacción funcional con la translocasa Sec.

• Magda Villarroya Grau: Regulación de genes de E. coli implicados en replicación del DNA: dependencia de RpoS y caracterización de MnmE

LABOR EDITORIAL

Evaluadora de BBA

EVALUACIÓN DE PROYECTOS

• Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP) – Ministerio de Ciencia y Tecnología.

• Fondo de Investigación Sanitaria (FIS)- Ministerio de Sanidad y Consumo.

ESTANCIAS EN OTROS LABORATORIOS

• Marta Martínez, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

• Lucía Yim, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid.

COLABORADORES

NACIONALES

• Bernardo Celda (Departamento de Química Física, **Universidad de Valencia**).

• Daniel Monleón (Departamento de Química Física, **Universidad de Valencia**).

• Montserrat Baiget **(Hospital Santa Cruz y San Pablo, Barcelona).**

• Javier Benítez **(CNIO, Madrid).**

• Angel Carracedo **(Universidad de Santiago de Compostela).**

• Javier García-Conde (Servicio de Hematología y Oncología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• Andrés Cervantes (Servicio de Hematología y Oncología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• Ana Lluch (Servicio de Hematología y Oncología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• Rafael Carmena (Servicio de Endocrinología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• Juan Ascaso(Servicio de Endocrinología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• José Real(Servicio de Endocrinología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• Javier Chaves (Servicio de Endocrinología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• Josep Redón (Servicio de Medicina Interna, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

• Joaquín Arenas **(Hospital 12 de Octubre, Madrid).**

• Rafael Garese **(Facultad de Medicina, UAM).**

• Felipe Moreno **(Hospital Ramón y Cajal, Madrid).**

• José Ángel Martínez Climent (Servicio de Hematología y Oncología, **Hospital Clínico Universitario, Valencia**).

Laboratorio de Reconocimiento Molecular

Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
Javier Cervera Miralles	Lourdes Rochera Mechó	Cristina Alcántara Baena	Francisca Ripoll Ivars
		Francisco Carmona Álvarez	
		Satu Pekkala	
		Igor Yefimenko	
		Isabel Pérez Arellano	

Hemos continuado los estudios de estructura-función y enzimología molecular de la carbamil fosfato sintetasa (CPS), la carbamato quinasa (CK) y la gamma glutamil quinasa (GK), enzimas de gran interés por ser potenciales dianas de intervención antitumoral, antimicrobiana o biotecnológica y porque los déficit de la CPS1 y de la GK causan errores congénitos del metabolismo.

El déficit en CPS1, la enzima que es la puerta de entrada al ciclo de la urea, un proceso destinado a detoxificar el amonio, cursa con hiperamoniemia lo que acarrea fatales consecuencias. Hemos puesto a punto un modelo experimental (la CPS de Escherichia coli codificada en una plásmido de expresión bacteriano) que posibilita analizar el potencial impacto patogónico de las mutaciones en la CPS1, y lo hemos aplicado a la caracterización de diez mutaciones clínicas. Con ello y al disponer de la estructura de la CPS de E. coli, hemos establecido, sobre bases estructurales, las causas de su patogenicidad. Este sistema permitirá también descartar el impacto patogónico de algunas mutaciones que representarían meros polimorfismos sin repercusión funcional.

Otro error congénito del metabolismo descubierto mas recientemente está causado por el déficit en la actividad gamma glutamil quinasa. Estamos poniendo a punto un sistema experimental que permita analizar el potencial impacto patogénico de las mutaciones en la actividad gamma glutamil quinasa, que es el primer paso en la ruta biosintética de prolina y que en el hombre está contenida en la enzima bifuncional pirrolin 5-carboxilato sintetasa, cuyo déficit cursa con hipoprolinemia e hiperamoniemia. Esta representa una de las aplicaciones del estudio estructural y funcional que estamos realizando sobre la gamma glutamil quinasa de E. coli, de la que hemos clonado el gen, expresado y caracterizado la proteína recombinante y obtenido cristales para abordar la resolución de su estructura mediante cristalografía de rayos X.

La gamma glutamil quinasa y la carbamato quinasa (CK) pertenecen a la familia estructural aminoácido quinasa. CK es de interés por ser una potencial diana de intervención antimicrobiana y biotecnológica. Para tratar de mejorar la estabilidad de las formas mesofílicas de CK de

interés industrial, hemos analizado la contribución a la termoestabilidad de la enzima de las redes de pares iónicos presentes en la superficie de la variante hipertermofílica de la CK.

APROXIMACIÓN A LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN, REGULACIÓN Y PATOLOGÍA DE LA CARBAMIL FOSFATO SINTETASA 1, LA GAMMA GLUTAMIL QUINASA Y LA CARBAMATO QUINASA

CARBAMIL FOSFATO SINTETASA 1

Se conoce, desde hace cuarenta años, que el déficit de carbamil fosfato sintetasa 1 (CPS1), un error congénito del ciclo de la urea, causa hiperamoniemia, cuya severidad oscila desde extrema, con presentación neonatal y rápida progresión a coma profundo con fatales consecuencias, a grados variables de hiperamoniemia de aparición mas tardía.

Hasta la fecha, para correlacionar el tipo y severidad de la presentación con la naturaleza del defecto enzimático, poco mas ha podido hacerse que la determinación de la actividad y de los niveles de enzima en biopsias o necropsias de tejido hepático o intestino delgado. Las formas mas extremas se asocian con la ausencia o muy baja actividad y las formas mas benignas generalmente exhiben una substancial actividad residual. La aproximación directa y deseable para testar la patogenicidad de las mutaciones, que sería la de expresar y purificar CPS1 humana recombinante tras introducir las mutaciones deseadas mediante mutagénesis dirigida, queda imposibilitada ante la dificultad de expresar CPS1 recombinante humana como una proteína soluble y activa en suficiente cantidad para permitir su purificación y las determinaciones requeridas.

Nosotros hemos hecho un corto circuito al problema de analizar el impacto de las mutaciones en la proteína purificada introduciendo diez de las quince mutaciones clínicas de cambio de sentido conocidas en los residuos correspondientes de la CPS de E. coli, una enzima que expresamos abundantemente en el laboratorio a partir de un plásmido que la codifica, donde se pueden introducir las mutaciones a voluntad y que puede purificarse con alto rendimiento. A pesar de las diferencias entre las enzimas ureotélica (CPS1) y bacteriana, el uso de la CPS de E. coli como un modelo de la CPS1 humana está justificado por la identidad del mecanismo catalítico y de la reacciones global y parciales catalizadas por las dos enzimas, por el alto grado de identidad/similitud de sus secuencias aminoacídicas y por la organización de dominios esencialmente idéntica, que vienen esquematizados en la CPS de E. coli de la **figura 1.**

Hemos analizado el efecto de las mutaciones sobre las actividades y estabilidad del enzima. El estudio cinético detallado de las diferentes reacciones global y parciales (actividad glutaminasa presente en el enzima bacteriano pero no en el humano; actividad ATPasa dependiente de bicarbonato que refleja el primer paso de la reacción; y actividad de síntesis de ATP que refleja la reacción reversa de la fosforilación del carbamato), nos ha permitido explicar con precisión la naturaleza patogénica de las mutaciones, lo que avala el uso de la CPS de E. coli como un modelo de la CPS1 humana. Los resultados son consistentes con los datos estructurales de la enzima bacteriana y confirman las predicciones que sobre los efectos de las mutaciones en la CPS1 cabría esperar asumiendo para ella una similar organización estructural. Además, aportan información sobre la estructura del enzima ureotélico y sobre la función de su región N-terminal de 40 kDa, que aunque es homóloga a la subunidad menor del enzima bacteriano no exhibe actividad glutaminasa.

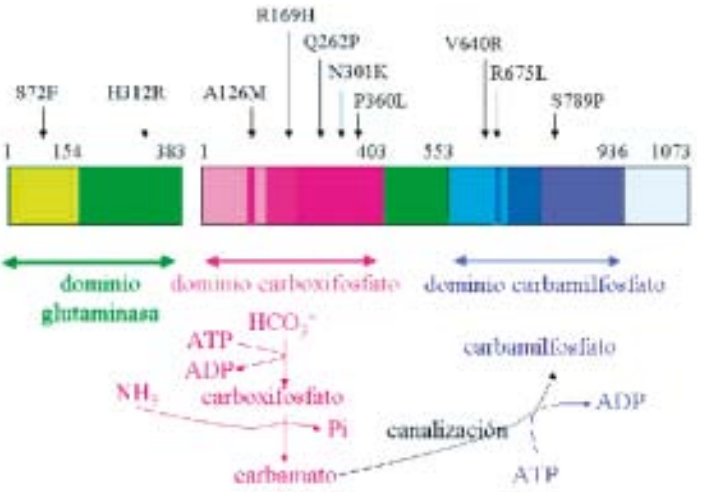


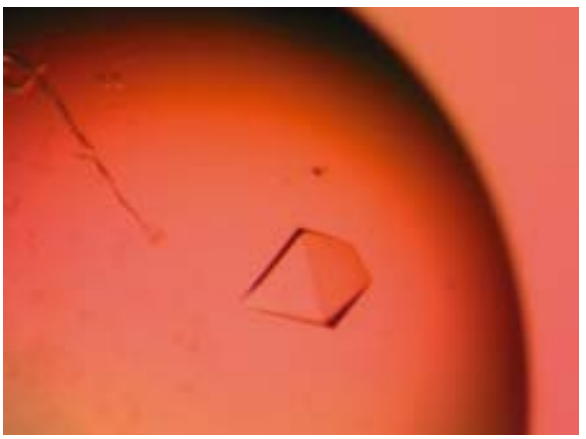
Figura 1. Las mutaciones clínicas en el déficit de la CPS1 humana se han introducido en los residuos equivalentes de la enzima de E. coli y aparecen cartografiadas sobre éste. La región equivalente al dominio glutaminasa de E. coli es de función desconocida en la CPS1 y alberga dos mutaciones. El resto de mutaciones afectan a la región homóloga a la subunidad mayor del enzima bacteriano en donde se identifican los dos centros de fosforilación: el del bicarbonato y el del carbamato. La reacción CPS ocurre en tres pasos que se esquematizan debajo de las dominios catalíticos. Los dos primeros pasos acontecen en el dominio carboxifosfato: en el primer paso se fosforila el bicarbonato y en el segundo se genera carbamato, que se canaliza interiormente hasta el segundo sitio de fosforilación localizado en el dominio carbamilfosfato donde, en el tercer paso de la reacción, se sintetiza el carbamil fosfato.

GAMMA GLUTAMIL QUINASA

La gamma glutamil quinasa (GK) de E. coli (codificada por el gen proB) cataliza el primer paso de la síntesis de prolina, a partir de glutamato y ATP, es retroinhibida por prolina, y genera gamma glutamilfosfato, un intermediario inestable utilizado por la gamma glutamilfosfato reductasa (GPR) (codificada por el gen proA), el segundo enzima de la ruta biosintética. En la mayoría de las bacterias los genes proB y proA forman un operón y hay evidencias que sugieren que ambos enzimas formen un complejo funcional. En organismos superiores incluyendo al hombre, el primer paso de esta ruta biosintética está catalizado por la delta1-pirrolin-5-carboxilato sintetasa (P5CS), una enzima bifuncional de la membrana mitocondrial interna con un dominio N-terminal GK y un dominio C-terminal GPR que cataliza la producción de P5C a partir de glutamato, y que exhibe una elevada similitud de secuencia entre sus componentes enzimáticos y las GK y GPR homólogas de E. coli. El déficit de P5CS, un error congénito del metabolismo, cursa con hiperamoniemia e hipoprolinemia. La aproximación al estudio de esta enzima bifuncional se puede realizar mediante el análisis de las enzimas homólogas GK y GPR de E. coli, llevando a cabo su clonación, expresión, purificación, caracterización bioquímica, mutagénesis dirigida y resolución de la estructura mediante cristalografía de rayos X. Nuestro interés en la GK deriva, además de por sus implicaciones metabolopatológicas, por el hecho de que la acumulación de prolina es un rasgo ligado al potencial de virulencia de numerosas bacterias patógenas, porque la acumulación de prolina proporciona una mayor resistencia a la congelación, lo cual puede ser un rasgo fenotípico deseable en ciertos organismos de interés comercial, y porque en las plantas el exceso de prolina provoca una mayor resistencia a la salinidad y al estrés osmótico, lo que es un factor importante en la obtención de plantas transgénicas adaptadas a terrenos más áridos y a condiciones de sequía.

Durante el último año, hemos clonado el gen proB del enzima de E. coli, expresado y caracterizado la proteína recombinante, de la que hemos obtenido cristales **(Figura 2)**, que en manos del grupo del Dr. V. Rubio (CSIC, Valencia), han proporcionado satisfactorios mapas de difracción de rayos X **(Figura 2)**. Estamos pues persiguiendo la resolución de la estructura cristalina de la GK lo que permitirá entender sobre una base estructural la naturaleza patogénica de las mutaciones causales del déficit de P5CS. Además, se incrementará el conocimiento de la familia aminoácido quinasa constituida por las enzimas carbamato quinasa, acetilglutamato quinasa, gamma glutamil quinasa, aspartoquinasa y UMP quinasa, alguna de los cuales no están presentes en animales y que son de gran interés por ser potenciales dianas de intervención antimicrobiana y/o biotecnológica.

La estructura de los miembros de la familia aminoácido quinasa, acetilglutamato quinasa y carbamato quinasa, nos han guiado en la predicción de los posibles residuos críticos en la gamma glutamil quinasa, que hemos sometido a mutagénesis dirigida, y cuyo análisis, que estamos finalizando, nos permitirá caracterizar los sitios funcionales del enzima y modelar su estructura 3D sobre aquella de la acetilglutamato quinasa.



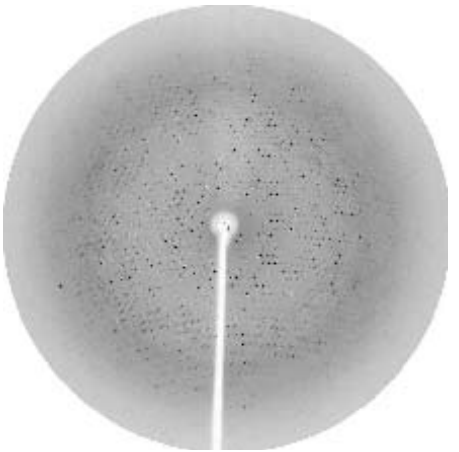
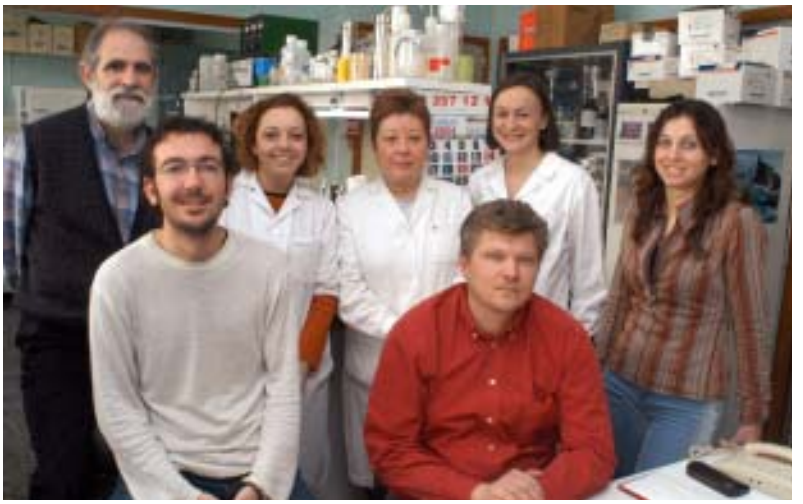


Figura 2. Izquierda : Cristal de gamma glutamil quinasa en presencia de ADP y glutamato. Derecha : Espectro de difracción de rayos X obtenido a partir de estos cristales en el sincrotrón de Grenoble por el laboratorio del Dr. V. Rubio (CSIC, Valencia).



CARBAMATO QUINASA

Carbamato quinasa (CK), una enzima no presente en animales, es esencial para un buen número de microorganismos patógenos del hombre, y por lo tanto es una diana de interés antimicrobiano. Además, la CK tiene varias aplicaciones prácticas, por lo que está comercializada. Una CK de estabilidad aumentada incrementaría su valor comercial. Se dispone de la estructura de la CK de uso industrial, cuya temperatura óptima es de 37ºC, y de la de una CK de estabilidad extrema ya que se encuentra en las arqueas hipertermofílicas del género Pyrococcus que viven a 100ºC pero que resulta ser funcionalmente una enzima muy lenta a 37ºC. La comparación estructural de ambas CKs ha revelado la presencia de redes de pares iónicos en la superficie de la variante hipertermofílica que podrían ser clave para su alta estabilidad **(Figura 3).** Estamos poniendo a prueba esta hipótesis, que en caso de confirmarse sentaría las bases para desarrollar estudios de mutagénesis y de ingeniería de proteínas, que posibilitasen el diseño de una enzima con la velocidad de la CK mesofílica pero con mayor estabilidad.

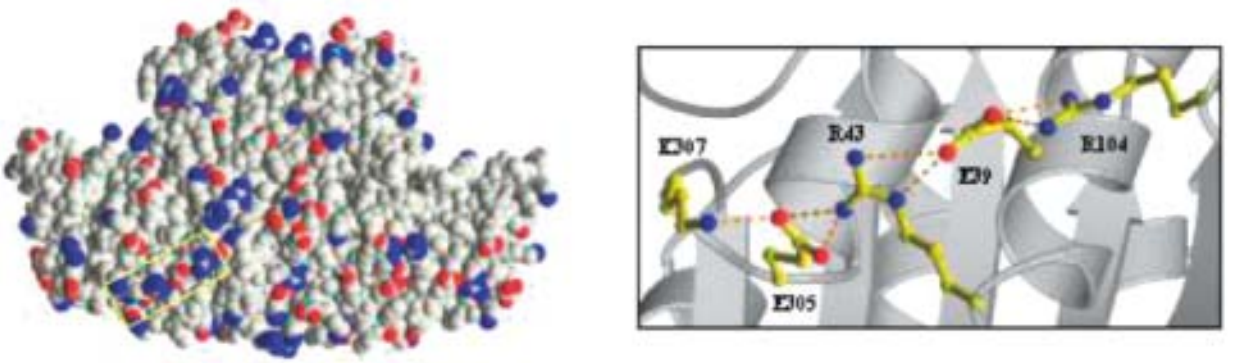


Figura 3. Izquierda: representación de la superficie de la CK de Pyrococcus furiosus destacando los grupos cargados (átomos de oxígeno cargados negativamente de aspartatos y glutamatos en rojo y átomos de nitrógeno cargados positivamente de lisinas y argininas en azul). Derecha: detalle del recuadro de la figura de la izquierda ilustrando la principal red de pares iónicos que entrecruzan diferentes elementos de estructura secundaria y que estamos sometiendo a mutagénesis en el laboratorio. Figura cedida por el Dr. V. Rubio (CSIC, Valencia).

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Estudios de estructura-función y enzimología molecular de carbamil fosfato sintetasa, carbamato quinasa y gamma glutamil quinasa: implicaciones enzimopatológicas, antitumorales y antibióticas.

PUBLICACIONES

Yefimenko, I., Fresquet, V., Rubio, V., and Cervera, J. : Understanding carbamoyl phosphate synthetase deficiency: impact of clinical mutations on enzyme functionality. J. Med. Genet.

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN ACTIVOS

Estudios de estructura-función de nuevas posibles dianas para la terapéutica antimicrobiana: carbamato quinasa, acetilglutamato quinasa y aspartoquinasa.

Organismo: DGESIC PM99-0073.

Investigador principal: Javier Cervera.

Periodo: 1/7/2000 – 1/julio/2003.

El dominio regulador de las carbamil fosfato sintetasas: caracterización funcional del sitio de oligomerización y del sitio de los efectores alostéricos y análisis del control por fosforilación.

Organismo: MCYT DGI BMC 2001-0251.

Investigador principal: Javier Cervera.

Periodo: 28/12/2001 - 27/12/2004.

TESIS DOCTORALES EN DESARROLLO

• **Cristina Alcántara.** Estudios de estructura-función de la carbamato quinasa de Pyrococcus furiosus.

• **Francisco Carmona.** Mecanismos de la transducción de señales alostéricas en la carbamil fosfato sintetasa de Escherichia coli.

• **Satu Pekkala.** Carbamil fosfato sintetasa 1 recombinante: Expresión, caracterización y estudios de estructura-función.

EVALUACIÓN DE PROYECTOS

Organismo: FONCyT

SEMINARIOS

Facultad de Medicina y Odontología de Valencia. Departamento de Fisiología. "Cultivos celulares: aplicaciones clínicas y biotecnológicas". 8/7/2003.

COLABORACIONES

NACIONALES

• Vicente Andrés. **Instituto de Biomedicina de Valencia. CSIC**

• Vicente Rubio. **Instituto de Biomedicina de Valencia. CSIC**

• José María Valpuesta. **Centro Nacional de Biotecnología. CSIC. Madrid.**

INTERNACIONALES

• Michel Denis-Duphil, **URA-CNRS, Toulouse, Francia**

Laboratorio de Toxicología Genética

Responsable	Becarios	Técnicos
Manuel Blanco	Amparo Urios	Carmen Navarro
	Juan Carlos Escudero	Verónica Ruiz

El trabajo constituye un estudio de la toxicología de compuestos fenólicos y del óxido nítrico. Los compuestos fenólicos, tales como catecol y ácido cafeico, tienen interés por su actividad antioxidante. Otros compuestos fenólicos tales como las catecolaminas (L-DOPA, dopamina, adrenalina) desempeñan importantes funciones fisiológicas (ej. neurotransmisión). Los compuestos fenólicos, dada su estructura de dihidroxibencenos, son susceptibles de autooxidación con la consiguiente generación de especies reactivas del oxígeno (ROS: superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo). De este hecho se deriva la necesidad de estudiar las potenciales vías de toxicidad de esta clase de compuestos. Efectos genotóxicos (ej. mutaciones) y citotóxicos resultan de la acción de ROS. Los efectos genotóxicos podrían ser responsables de la formación de tumores, lo cual explicaría la asociación entre inflamación (que implica la formación de ROS) y cáncer, mientras que los efectos citotóxicos podrían determinar procesos degenerativos (ej. Parkinson). Es importante, en consecuencia, disponer de bioensayos evaluadores de la toxicidad de compuestos fenólicos. En el Laboratorio de Toxicología Genética se han desarrollado tales ensayos y se están aplicando, tanto para la detección de efectos tóxicos, como para el estudio de la prevención de dichos efectos (por ej. mediante defensas antioxidantes).

El óxido nítrico (NO) es un mediador de importantes procesos fisiológicos tales como vasodilatación, neurotransmisión e inmunidad celular. Sin embargo, altos niveles de NO, como los presentes al producirse una inflamación, pueden tener efectos tóxicos. En presencia de oxígeno, el NO da lugar a la formación de óxidos (ej. N_2O_3) capaces de inducir mutaciones mediante una acción nitrosante. En estas condiciones, el NO carece de acción citotóxica. Sin embargo, un importante resultado obtenido en el Laboratorio ha mostrado que la mezcla de NO y compuestos fenólicos, origina un gran efecto citotóxico, incluso en presencia de niveles normales de defensas antioxidantes. Se ha sugerido que este efecto dependería de la formación de especies tóxicas, tales como quinonas, a consecuencia de la oxidación de los compuestos fenólicos por NO. Esos resultados, además, permiten plantear la posibilidad de desarrollar agentes terapéuticos, con efectos antibacterianos o antitumorales, a partir de precursores no tóxicos, como por ejemplo NO y catecol (ver el esquema adjunto).

VÍAS DE TOXICIDAD DEL CATECOL Y DERIVADOS
CATECOL
AUTOOXIDACIÓN
ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO
MUTAGÉNESIS
CITOTOXICIDAD
+ ÓXIDO NÍTRICO (NO)
OXIDACIÓN
QUINONA
CITOTOXICIDAD

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Estudio de efectos genotóxicos y citotóxicos inducidos por especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno.

PUBLICACIONES

• Alfaro C, Urios A, González MC, Moya P, Blanco M (2003) Screening for metabolites from Penicillium novae-zalandiae displaying radical-scavenging activity and oxidative mutagenicity: isolation of gentisyl alcohol, Mutation Research 539:187-194.

• Urios A, López-Gresa MP, González MC, Primo J, Martínez A, Herrera G, Escudero JC, O'Connor JE, Blanco M (2003) Nitric oxide promotes strong cytotoxicity of phenolic compounds against Escherichia coli: the influence of antioxidant defenses, Free Radical Biology & Medicine 35:1373-1381.

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Proyecto F.I.S. 01/0151

SEMINARIOS

• Seminario en el Laboratoire de Chimie Analityque et Electrochimie de la Facultad de Farmacia de París (Prof. M.B. Fleury) 18 Noviembre 2003.

• Seminario en el Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, Gif-sur-Yvette (Dr. C. Ducrocq) 21 Noviembre 2003.

INVESTIGADORES INVITADOS DE OTROS CENTROS

Santiago Lamas, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

COLABORADORES

NACIONALES

• P. Moya; Centro de Ecología Química Agrícola, **Universidad Politécnica de Valencia.**

• J. Primo; Centro de Ecología Química Agrícola, **Universidad Politécnica de Valencia.**

• E. Primo; Centro de Ecología Química Agrícola, **Universidad Politécnica de Valencia.**

• J.E. O'Connor; Centro de Citometría y Citómica, Dept. Bioquímica, **Facultad de Medicina de Valencia.**

INTERNACIONALES

• M. Largeron, Laboratoire de Chimie Analytique et Electrochimie de la **Facultad de Farmacia, París, Francia.**

• M.B. Fleury, Laboratoire de Chimie Analytique et Electrochimie de la **Facultad de Farmacia, París, Francia.**

• C. Ducrocq: Institut de Chimie des Substances Naturelles, **CNRS, Gif-sur-Yvette, Francia.**

Laboratorio de Organización Celular

Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
José Hernández Yago	José Rafael Blesa Blesa	José Miguel Hernández Andreu	Eloísa Barber Cano
		Mari Luz Lacalle Garcés	
		Jesús Ángel Prieto Ruiz	
		Jessica Ramsey (2 meses)	
		María Cortina Andrade (3 meses)	

El término enfermedades mitocondriales abarca un grupo heterogéneo de enfermedades cuyas manifestaciones clínicas apuntan a una disfunción primaria mitocondrial. Fundamentalmente consisten en fallos de la fosforilación oxidativa, es decir, en la cadena respiratoria (CR). Este desajuste puede dar lugar a cualquier síntoma, en cualquier órgano o tejido, a cualquier edad y con cualquier tipo de herencia, debido al doble origen genético de los componentes de la CR (ADN nuclear y ADN mitocondrial; ADNn y ADNmt). En general, se trata de enfermedades progresivas que afectan en ocasiones sólo al músculo (miopatías), pero también a otros sistemas, habitualmente el cerebro (encefalomiopatías). El conocimiento de las enfermedades mitocondriales ha aumentado enormemente en los últimos años, especialmente gracias al estudio del ADNmt y el descubrimiento de numerosas alteraciones en el mismo responsables de síndromes concretos. Sin embargo, la realidad es que, al menos entre los casos pediátricos, las enfermedades mitocondriales debidas a deleciones y mutaciones en el ADN mitocondrial no superan el 10-15% de los pacientes.

Es un hecho bien establecido que la biogénesis de las mitocondrias es el resultado de la acción conjunta de dos genomas, el nuclear y el mitocondrial que se expresan mediante sistemas de traducción de proteínas presentes en el citosol y en la matriz mitocondrial, respectivamente. Del total de proteínas mitocondriales, el genoma mitocondrial codifica trece proteínas, es decir un 2%. El 98% restante son codificadas por el ADN nuclear, se sintetizan en forma de preproteínas en polisomas libres del citosol y son transportadas post-traduccionalmente a la mitocondria donde, tras su reconocimiento y maduración, son dirigidas a su ubicación definitiva. El proceso de transporte de proteínas mitocondriales desde el citosol al correspondiente subcompartimento mitocondrial constituye pues un proceso de primordial significación en la biogénesis de estos orgánulos.

Hasta ahora, los genes nucleares en los que se ha pretendido encontrar defectos causantes de desórdenes mitocondriales han sido aquellos que codifican las proteínas de la CR. Sorprendentemente, se han encontrado muy pocas mutaciones en los genes de subunidades catalíticas postulándose que muchas de las deficiencias de la CR podrían ser debidas a alteraciones en el ensamblaje y mantenimiento mitocondrial.

La investigación de nuestro grupo se centra en un ámbito prácticamente inexplorado: es el de aquellas enfermedades mitocondriales que pue-

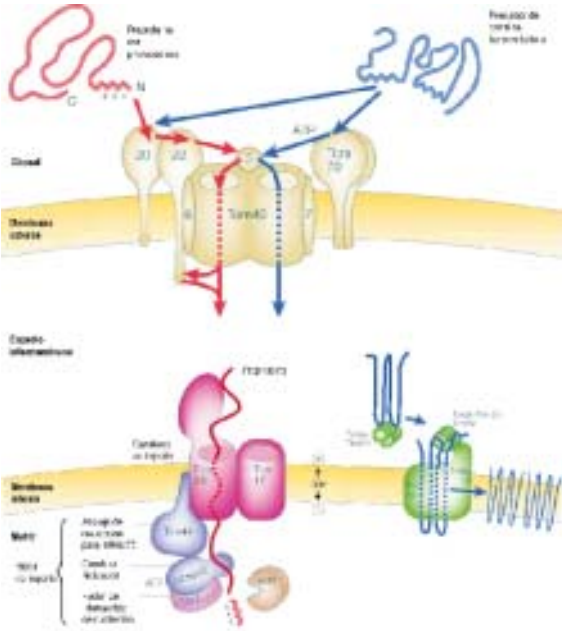


Figura 1

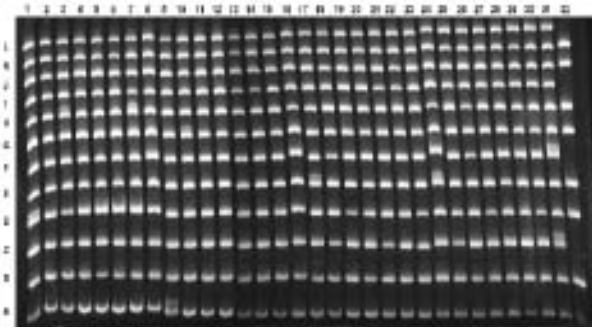


Figura 2

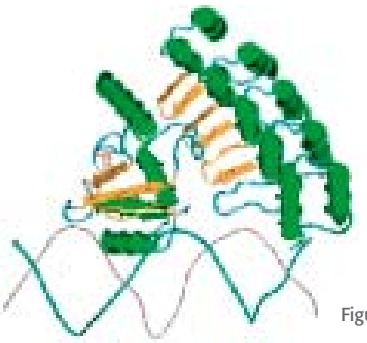


Figura 3

dan derivarse de disfunciones en el transporte de proteínas a mitocondrias. Recientemente se ha puesto de manifiesto que mutaciones en el gen hTimm8a son la causa molecular de los síndromes de Mohr-Tranebjaerg y de Jensen. Timm8a es un gen nuclear que codifica para una de las subunidades que componen el complejo proteico de la translocasa de la membrana mitocondrial interna. El síndrome de Mohr-Tranebjaerg debuta a edad temprana con sordera neurosensorial progresiva postlingual y posteriormente cursa con distonia progresiva, espasticidad, disfagia, deterioro mental, paranoia y ceguera cortical. El síndrome de Jensen se caracteriza por una pérdida de audición neurosensorial profunda que debuta en la infancia, continua en la adolescencia con atrofia progresiva de nervio óptico con pérdida de visión y continua en la madurez con demencia progresiva. Además, en algunos pacientes diagnosticados con encefalomiopatías mitocondriales aparece una disminución en la expresión de la proteína de choque térmico Hsp60, una chaperona de matriz mitocondrial responsable del plegamiento de la proteína en su forma nativa. La importancia del sistema de transporte mitocondrial se ha visto confirmada, además, en estudios recientes que demuestran que distintos estímulos -como la actividad contráctil del músculo esquelético, el tratamiento con hormona tiroidea y el proceso de diferenciación de miocitos- pueden alterar la expresión de los distintos componentes de la maquinaria de transporte, conduciendo a un cambio en la actividad de éste y en el fenotipo mitocondrial. Estos hallazgos ponen de relieve el interés de llevar a cabo estudios dirigidos a revelar aquellas enfermedades mitocondriales debidas a disfunciones en el proceso de transporte de proteínas a mitocondrias.

LÍNEAS ACTUALES DE INVESTIGACIÓN:

• Rastreo (screening) de mutaciones en los exones, uniones de "splicing" y región promotora de los genes humanos de las subunidades de los complejos TOMM y TIMM: estructura exon-intrón, región promotora, uniones de splicing, "Single Nucleotide Polymorphisms" (SNPs).

• Caracterización de los elementos promotores de tales genes.

• Estudio en cultivos celulares de disfunciones provocadas por la inhibición de la síntesis de subunidades de los complejos TOMM y TIMM: modelos celulares de enfermedades de transporte.

Figura 1. Pautas de transporte a mitocondrias de precursores citosólicos de proteínas mitocondriales. Complejos TOMM y TIMM (Translocasas de la membrana externa mitocondrial y de la membrana interna mitocondrial, respectivamente).
Figura 2. Rastreo mediante CSGE de posibles alteraciones en 380 amplicones del exon 1 del gen humano de hTimm8A procedentes de pacientes, con miopatías mitocondriales de origen desconocido, y población general (+ 4 controles negativos).
Figura 3. Nuestro grupo ha identificado secuencias consenso para la unión de factores de trascripción del tipo NRF (Nuclear respiratory factor), en las regiones promotoras de los genes que codifican en humanos la mayoría de las subunidades de los complejos TOMM y TIMM. La figura muestra un modelo de la interacción entre el factor NRF2 (compuesto por dos subunidades, α y β) y el ADN. Su participación es esencial en la inducción de la expresión de hTomm 70 (Mitochondrion 2004, 3:251-259), así como en la de hTomm20.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Diagnóstico y bases moleculares de enfermedades mitocondriales debidas a disfunciones en el transporte de proteínas a mitocondrias.

PUBLICACIONES

• José R. Blesa, José M. Hernández and José Hernández-Yago. NRF-2 transcription factor is essential in promoting human Tomm70 gene expression. Mitochondrion (in press).

• H. Mukouyama, N.K. Janzen, J.M. Hernandez, J.S. Lam, R. Caliliw, A.Y. Wang, R.A. Figlin, A.S. Belldegrun, G. Zeng. Generation of kidney cancer-specific antitumor immune responses using peripheral blood monocytes transduced with a recombinant adenovirus encoding carbonic anhydrase 9. Clin Cancer Res. (in press)

• J.R. Blesa, J.A. Prieto-Ruiz, J. Hernández-Yago CSGE as an ideal high througput strategy for accurate detection of sequence variations in DNA. Screening hTomm and hTimm genes. J. Biomol Screen (accepted)

• José R. Blesa, Remedios Giner-Durán, José Vidal, María L. Lacalle, Ignacio Catalán, Miguel Bixquert, Lourdes Igual and José Hernández-Yago. Report of hereditary persistence of a-fetoprotein in a Spanish family: molecular basis and clinical concerns. Journal of Hepatology 38, 541-544 (2003).

• José R. Blesa, José Vidal, Remedios Giner-Durán, María L. Lacalle, Ignacio Catalán, and José Hernández-Yago. Detection of hereditary persistence of a-fetoprotein by conformation sensitive gel electrophoresis analysis. Clinical Chemistry 49, 2102-2103 (2003).

• Hernandez JM, Bui MHT, Han K, Mukouyama H, Freitas DG, Nguyen D, Caliliw R, Shintaku PI, Paik SH, Tso CL, Figlin R, Belldegrun A. Novel kidney cancer immunotherapy based on the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and carbonic anhydrase IX fusion gene. Clin Cancer Res. 9,1906-16. (2003).

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Organismos públicos:

Diagnóstico y bases moleculares de enfermedades mitocondriales debidas a disfunciones en el transporte de proteínas a mitocondrias.

Fondo de Investigación Sanitaria.

Organismos privados:

Transport diseases in mitochondria. Full screening of DNA alterations in human genes encoding Tomm & Timm complexes in patients with mitochondrial diseases.

United Mitochondrial Disease Foundation. (USA)

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

En desarrollo:

Mari Luz Lacalle Garcés:

Mecanismos transcripcionales de interacción núcleo-mitocondria: caracterización de secuencias promotoras del gen hTomm70.

Jesús Ángel Prieto Ruiz:

Disfunciones en el proceso de transporte de proteínas, asociadas a enfermedades mitocondriales.

PONENCIAS A LAS QUE HAN SIDO INVITADOS

Congreso sobre "Nuevas estrategias terapéuticas en Biomedicina" Marzo 2003. Universidad Cardenal Herrera-CEU.

José Rafael Blesa Blesa: "Diagnóstico y Bases Moleculares de Enfermedades Mitocondriales debidas a disfunciones en el Transporte de Proteínas a Mitocondrias".

COMUNICACIONES A CONGRESOS

"Mitochondria 2003" June 2003 San Diego (USA)

• NFR2 transcription factor is essential for the activity of the human Tomm 70 gene promoter. J.R.Blesa, J.M. Hernández, J.A. Prieto, J. Hernández-Yago.

• Transport disfunction in mitochondrial diseases: new approach for diagnosis. J.R.Blesa, M.L. Lacalle, E. Barber, Beth Hoermann, C.Gustin, J.M. Hernández, M.Cortina, J. Montoya, J. Hernández-Yago.

38th Anual Meeting of he European Association for the Study of the Liver2003. April 2003 Istanbul, Turkey (moved to Geneva July 2003)

• I. Catalán, R. Giner-Durán, J. Vidal, J.R.Blesa, M.L. Lacalle, J.Hernández-Yago, L. Igual, M.Bixquert. Hereditary persistence od alphafetoprotein (HPAFP). A new case of GÆA substitution in the promoter region of the gene.

XXVIII Congreso Nacional de la Asociación Española para el estudio del Hígado. Barcelona 2003

• Giner, R., Catalán, I., Vidal, J., Blesa, J.R., Lacalle, M.L., Bixquert, M., Hernández-Yago, J. Estudio genético de la persistencia familiar de alfa-fetoproteína.

GENOMA ESPAÑA: "Canada/Spain Meeting" 27 Enero 2003 Madird (España)

• Transport diseases in mitochondria: Full screening of DNA alterations in human genes encoding TOMM and TIMM complexes in patients with mitochondrial diseases. J.R.Blesa y J. Hernández-Yago

"REUNIÓN GENERAL de la Red MITOESPAÑA" 5 Diciembre 2003 Madrid (España)

• Búsqueda de mutaciones en genes TOM y TIM. J.R.Blesa y J.Hernández-Yago

LABOR EDITORIAL

José Hernández Yago
Evaluador de:

• FEBS Letters

• Human Genetics

• Gastroenterology

• Clinical Chemistry

EVALUACIÓN DE PROYECTOS

José Hernández Yago:
ANEP.

MIEMBROS DE JURADOS

José Hernández Yago
Miembro Jurado Premio "Jaime I" de Medio Ambiente. 2003.

SEMINARIOS

José Miguel Hernández Andreu. Transporte de proteínas a mitocondrias: mecanismos transcripcionales de interacción núcleo-mitocondria. Departamento de Neurología (Prof. José Masdeu), Universidad de Navarra, 14-noviembre-2003.

COLABORADORES

NACIONALES

• Julio Montoya **(Universidad de Zaragoza).**

• Fernando Mulas (Departamento de Neuropediatría. **Hospital Universitario La Fe. Valencia**).

• Patricia Smeyers (Departamento de Neuropediatría. **Hospital Universitario La Fe. Valencia**).

• Remedios Giner-Durán (Servicio de Medicina digestiva. **Hospital Arnau de Vilanova. Valencia**).

• José Vidal (Servicio de Medicina digestiva. **Hospital Arnau de Vilanova. Valencia**).

• Dolores Corella (Departamento de Medicina Preventiva. **Facultad de Medicina. Valencia**).

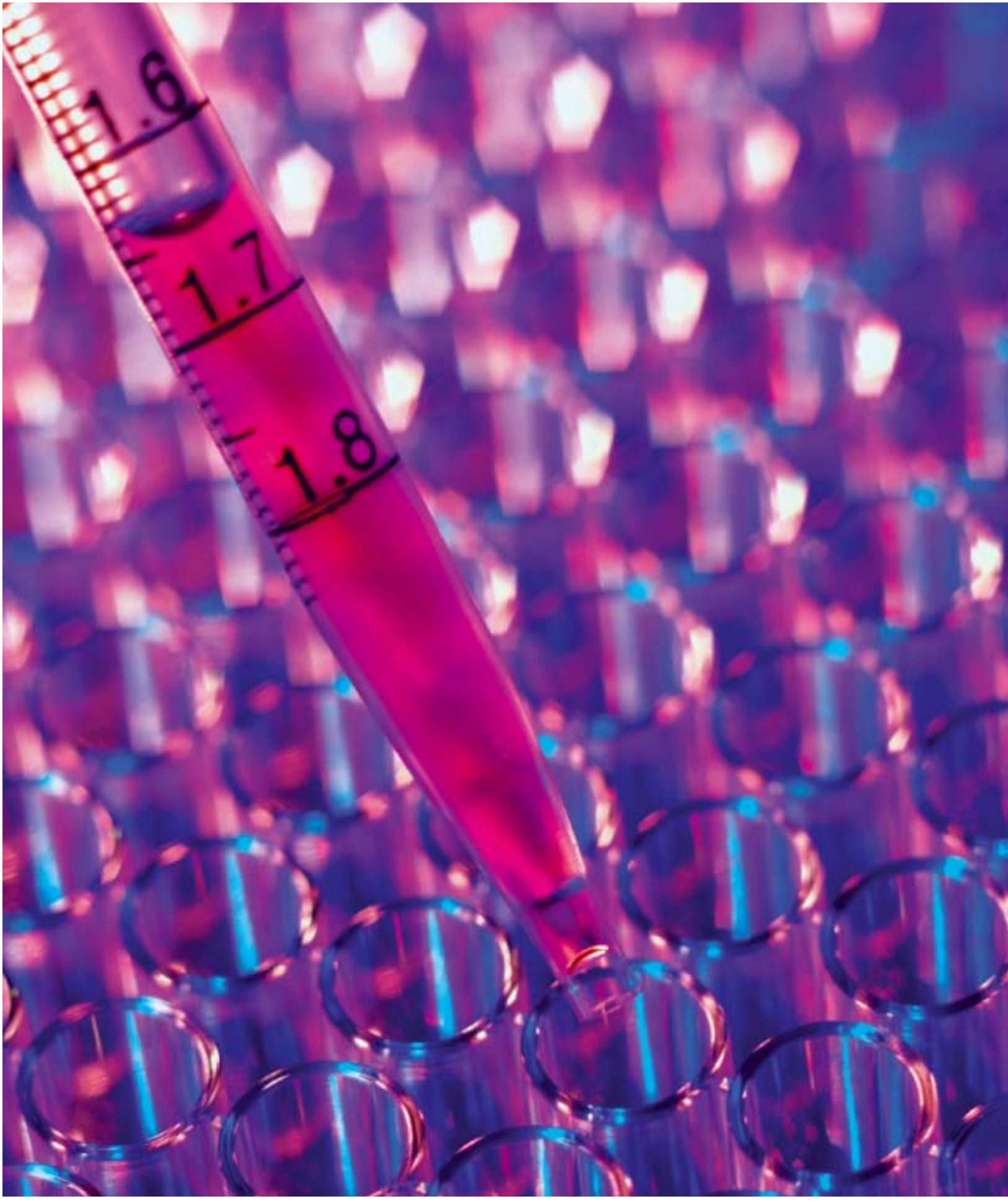
• Francisco Culiáñez (Instituto de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas. **CSIC-U. Politécnica de Valencia**).

INTERNACIONALES

• Malcolm Ferguson-Smith (Molecular Cytogenetics Group. **Cambridge University Department of Clinical Veterinary Medicine. Cambridge/Reino Unido**).

• Richard C. Scarpulla (Department of Cell and Molecular Biology. **Northwestern University Medical School. Chicago/USA**).

• Alan McNeil (**Dorevitch Pathology. Victoria. Australia**).


1.6
1.7
1.8

PROGRAMA DE GENÓMICA Y FARMACOPROTEÓMICA

1

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA MÉDICA

Laboratorio de Péptidos y Desarrollo de Ensayos

Responsable	Investigadores	Becarios	Técnicos
Enrique Pérez Payá	M. M. Sánchez del Pino	Mar Orzáez Calatayud	Ana Giménez Giner
		M. Puig Mora Muñoz	Alicia García Jareño
		Gema Malet	Elia Ana Sirvent Segura
		David Serquera Peyró	Inmaculada Micó Mateu
		Raúl Blasco Yepes	

La investigación en el grupo se centra en el estudio y desarrollo de moduladores de procesos biológicos en los que intervienen mecanismos de reconocimiento molecular. En el desarrollo de moduladores se utilizan distintas estrategias entre las que cabe destacar la química combinatoria y la puesta a punto de ensayos biológicos de alto rendimiento. En el estudio de los mecanismos de reconocimiento molecular (a modo de ejemplo, proteína/RNA, proteína/endotoxinas bacterianas) y dada su complejidad se recurre al estudio individualizado de dominios proteicos que además nos brinda la oportunidad de adentrarnos en la optimización mediante diseño racional y combinatorio de la estructura y función de dichos dominios.

En el laboratorio, desde su constitución en 1997 en la Universitat de València, se han establecido distintas líneas de investigación alguna de las cuales no se continuará en el nuevo emplazamiento del laboratorio en la FVIB.

Las quimiotecas sintetizadas en el grupo se han utilizado para la identificación, entre otros, de péptidos que inhiben el crecimiento de hongos de importancia en procesos de post-cosecha de cítricos (López-García et al., 2003). También se han identificado nuevos peptoides con interesante actividad antimicrobiana (Humet et al., 2003) y en colaboración con el Dr. Ferrer Montiel se ha abordado la identificación de bloqueadores de canal abierto del receptor de NMDA (Planell-Cases et al., 2003). En el grupo se estudian proteínas implicadas en ciclo celular. La proteína p21Cip1 es un inhibidor ciclinas dependientes de quinasas y se ha propuesto que puede tener distintas funciones en el ciclo celular. Se ha descrito que el dominio C-terminal de p21Cip1 interacciona con otras proteínas como el antígeno nuclear de proliferación celular, calmodulina y con la oncoproteína SET. En el laboratorio hemos demostrado que la capacidad de interaccionar con distintas proteínas se debe a la plasticidad estructural del dominio C-terminal de p21Cip1 (Esteve et al., 2003). Por otra parte en colaboración con el grupo del Dr. Bachs y el Laboratorio de Bioinvestigación de Merck Farma y Química, se ha diseñado un ensayo biológico dirigido a la identificación de inhibidores de la formación del complejo proteico que forman la ciclina dependiente de quinasa-2 (Cdk-2) y la ciclina A (com-

plejo Cdk-2/cycA). Este ensayo ha permitido la identificación no solo de nuevos inhibidores sino también la definición de un nuevo sitio de unión para estos inhibidores (Pérez-Payá et al., 2003).

En el apartado de diseño de péptidos hemos participado en la identificación de dominios proteicos responsables de la unión a RNA de proteínas de la cápsida de virus que infectan plantas (Aparicio et al., 2003), en el análisis conformacional del péptido de fusión del virus del Ébola (Suárez et al., 2003) y en la definición de los determinantes para la estabilización de estructuras beta minimizadas (Santiveri et al., 2003).

En nuestro grupo se ha definido y desarrollado el concepto de quimiotecas conformacionalmente definidas (CDL). Las CDL se insertan en péptidos diseñados para adoptar una determinadas estructura secundaria y ofrecen la posibilidad de deconvolución estructural (Pastor y Pérez-Payá, 2003) y deconvolución dirigida a la identificación de péptidos bioactivos. Así, se han identificado moduladores de del complejo SNARE que inhiben la exocitosis neuronal que se pueden considerar como nuevos cabeza de serie para el desarrollo de nuevos fármacos antiespasmódicos (Blanes-Mira et al., 2003).

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

• Identificación de moduladores de interacciones proteína-proteína en el proceso de muerte celular programada.

• Identificación de moléculas con capacidad para neutralizar endotoxinas bacterianas.

• Mecanismo molecular de GPBP.

PUBLICACIONES

• Santiveri, C.M, Pastor, M.T., Pérez-Payá, E., Rico, M. y Jiménez, M.A. Insights into the determinants of b-sheet stability: 1H and 13C NMR conformational investigation of three-stranded antiparallel b-sheet-forming peptides. Journal of Peptide Research 61(4), 177-188 (2003).

• Suarez, T., Gomara, M.J., Goñi, F.M., Mingarro, I., Muga, A., Pérez-Payá, E. y Nieva, J.L. Calcium-dependent conformational changes of membrane-bound ebola fusion peptide drive vesicle fusion. FEBS Lett 26891, 1-6 (2003).

• Esteve, V., Canela, N., Rodríguez-Vilarrupla, A., Aligué, R., Agell, N., Mingarro, I., Bachs, O. y Pérez-Payá, E. Structural plasticity of the C-terminus of p21Cip1 is determinant for target protein recognition. ChemBioChem 4(9), 863-869 (2003).

• Humet M., Carbonell, T., Masip, I., Sanchez-Baeza, F., Mora, P., Cantón, E., Gobernado, M., Abad, C., Pérez-Payá, E., Messeguer, A. A positional scanning combinatorial library of biological active molecules: Identification of antimicrobials. J. Combi. Chem. 5, 597-605 (2003).

• López-Garcia, B., Veyrat, A., Pérez-Payá, E., González-Candelas, L. y Marcos, J. Comparison of the activity of antifungal hexapeptides and the fungicides thiabendazole and imazalil against postharvest fungal pathogens. Int. J. Food Microbiol. 89, 163-170 (2003).

• Blanes-Mira, C., Pastor, M.T., Valera, E., Fernández-Ballester, G., Merino, J.M., Pérez-Payá, E., y Ferrer-Montiel, A. Identification of snare complex modulators that inhibit exocytosis from an a-helix-constrained combinatorial library. Biochem. J. 375, 159-166 (2003).

• Aparicio, F., Vilar, M., Pérez-Payá, E., y Pallás, V. The coat protein of Prunus Necrotic Ringspot Virus specifically binds to and regulates the conformation of its genomic RNA. Virology 313, 213-223 (2003).

• Pastor, M.T. y Pérez-Payá, E. Combinatorial Chemistry of beta-hairpins. Molecular Diversity 6, 149-155 (2003).

• Planells-Cases, Pérez-Payá, E., R., Messeguer, A. Carreño, C. y Ferrer-Montiel, A. Small molecules targeting the NMDA receptor complex as drugs for neuropathic pain. Mini Reviews in Medicinal Chemistry 3, 749-756 (2003).

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Título del proyecto: Caracterización de dianas moleculares para la regulación de la apoptosis celular. Desarrollo de ensayos de alto rendimiento para la identificación de moduladores con fines terapéuticos en cáncer y neurodegeneración.

Centro de aplicación: Universitat de València.

Entidad financiadora: Fundación SALVAT Inquifarma.

Duración desde: Abril 2001-2003.

Investigador principal: Enrique Pérez Payá.

Título del proyecto: Caracterización de dianas moleculares para la regulación de la apoptosis celular. Desarrollo de ensayos de alto rendimiento para la identificación de moduladores con fines terapéuticos en cáncer y neurodegeneración.

Centro de aplicación: Universitat de València.

Entidad financiadora: Ministerio Ciencia y Tecnología. SAF2001-2811

Duración desde: Enero 2002 hasta Diciembre 2004

Investigador principal: Enrique Pérez Payá.

Título del proyecto: Análisis retroestructural de proteínas de movimiento de virus vegetales.

Centro de aplicación: Universitat de València.

Entidad financiadora: Generalitat Valenciana.

Duración desde: Novbre 2001 hasta Noviembre 2003.

Investigador principal: Enrique Pérez Payá.

Ayudas grupos de investigación

Centro de aplicación: Universitat de València.

Entidad financiadora: Generalitat Valenciana.

Investigador principal: Enrique Pérez Payá.

Título del proyecto: Quimiotecas conformacionalmente restringidas

Centro de aplicación: Universitat de València.

Entidad financiadora: Fundación Ramón Areces.

Duración desde: Octubre 2002 hasta octubre 2005.

Investigador principal: Enrique Pérez Payá.

ACUERDOS CON EMPRESAS

Título del contrato/proyecto: Inhibidores de CDK-2, caracterización de compuestos y proteínas reguladoras.

Empresa/Administración financiadora: Merck Farma y Química, SA.

Entidades participantes: Universitat de Barcelona, CSIC, Merck

Farma y Química, SA.

Duración: 2003

Investigador responsable: Angel Messeguer

Número de investigadores participantes: 3

PATENTES

Pérez Payá, E., Bachs, O., Canela, N., Messeguer, A., Masip, I., Tarrasón, G., Cases, C. y Piulats, J.
Identification of cyclin A/ckd2 inhibitors.
PATENTE Nº DE REGISTRO: I03/044. Data of file: 10/03/03 by Merck KGaA (Darmstadt, GE).

TESIS DOCTORALES DIRIGIDAS O EN DESARROLLO

En desarrollo:

• **Gemma Malet.** Becario pre-doctoral asociado a los proyectos: FEDER y Contrato Merck Farma y Química, S.A.

• **Puig Mora.** Becario pre-doctoral asociado a los proyectos: FEDER y Fundación Ramón Areces.

• **Ana Saurí Péris.** Becario pre-doctoral FPI MECD.

• **David Serquera.** Becario pre-doctoral. Contrato Instituto Carlos III.

LABOR EDITORIAL

• Biochimica et Biophysica Acta,

• Peptide Research,

• Regulatory Peptides,

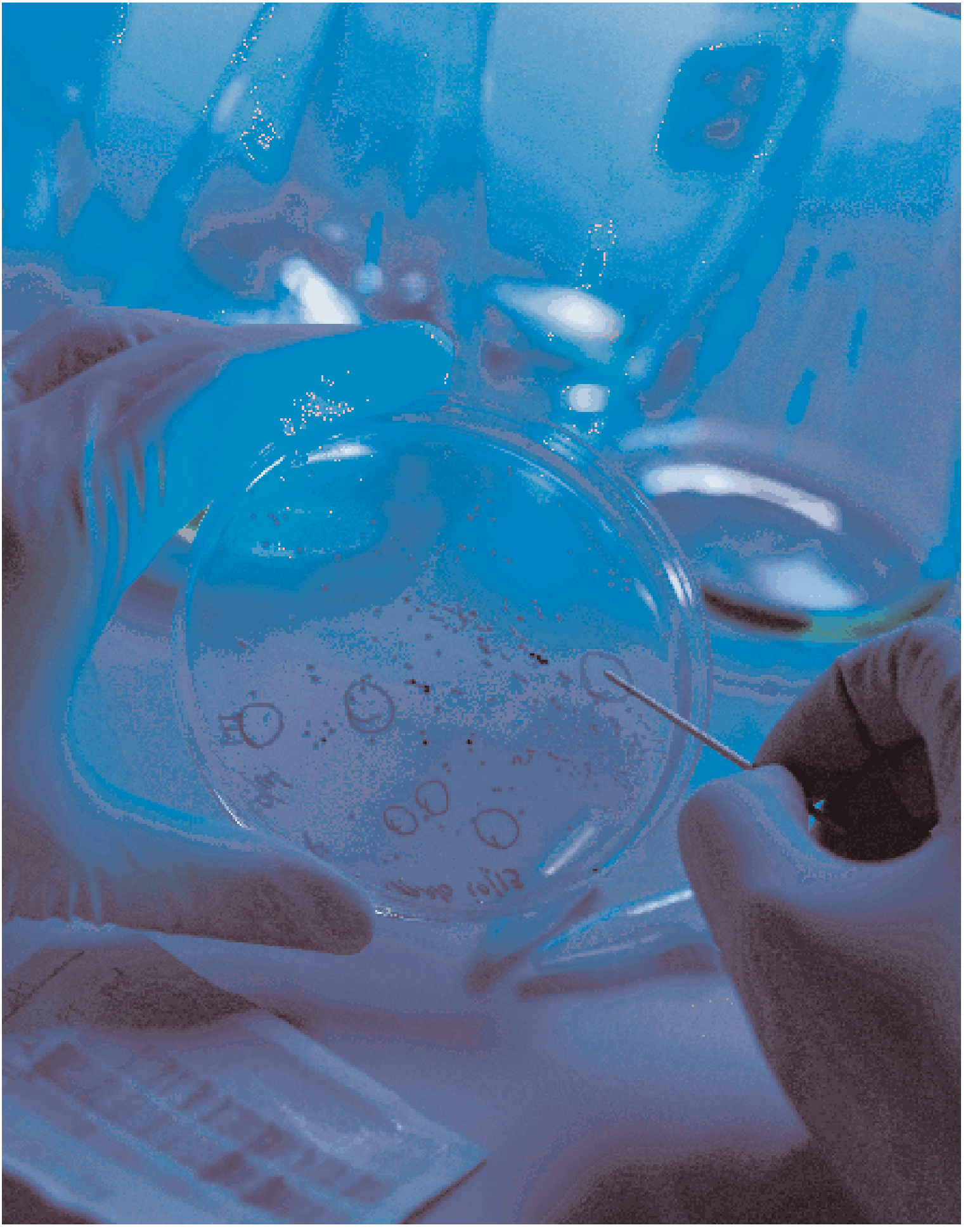
• J. Peptide Research.

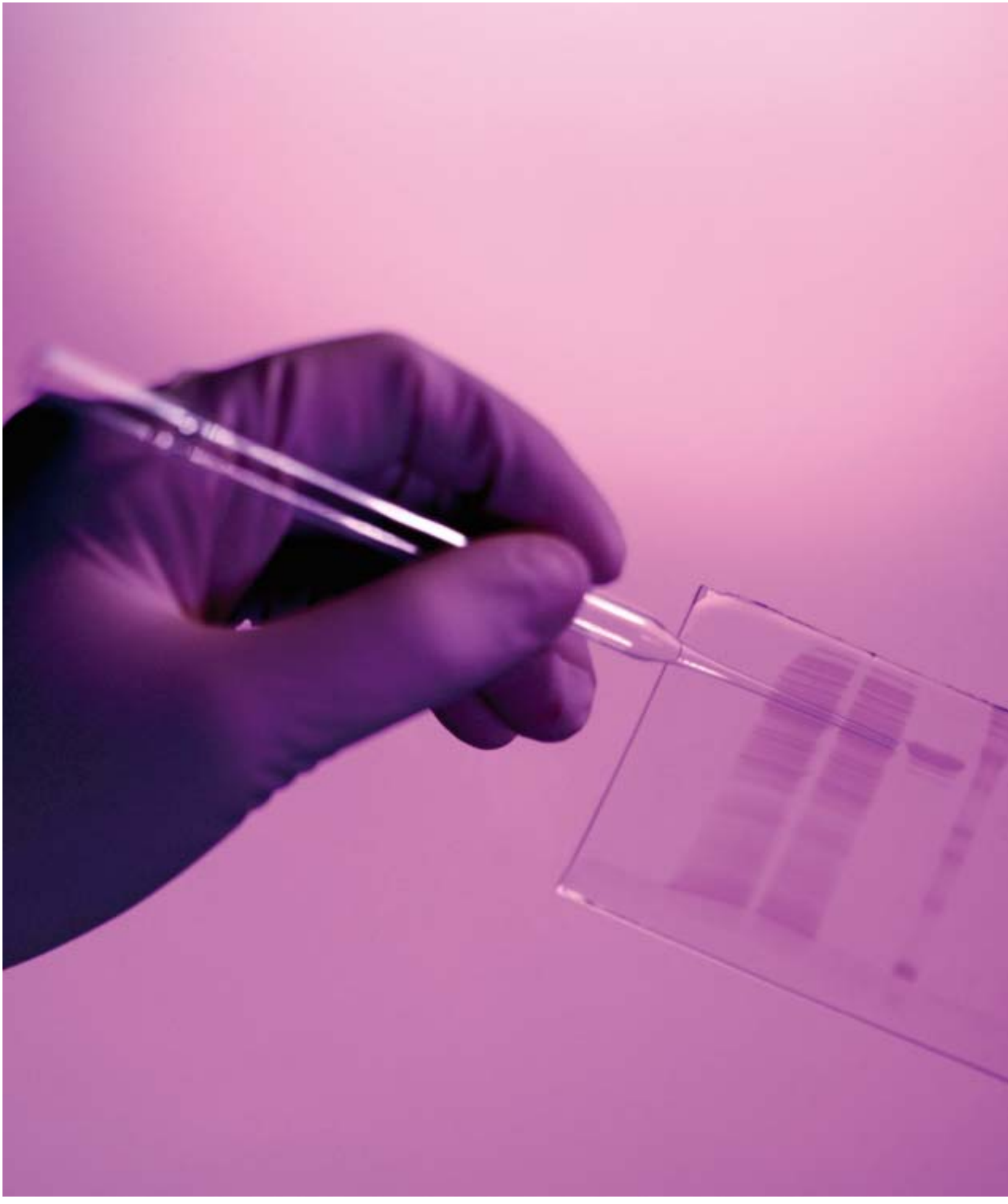
EVALUACIÓN DE PROYECTOS

• Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (Ministerio de Ciencia y Tecnología).

• Fundación Séneca (Comunidad Autónoma de Murcia).

• V y VI Programa Marco UE.





DATOS COMPLEMENTARIOS

1

CONTRATOS RAMÓN Y CAJAL

Convocatoria 2001*

Nombre		Centro Procedencia	Área Temática
Sánchez del Pino	Manuel M.	Universidad de Navarra	Biología Molecular, Celular y Genética

Convocatoria 2003

Nombre		Centro Procedencia	Área Temática
Carbajo Martínez	Rodrigo J.	MRC-Dunn Human Nutrition Unit, Cambridge (Reino Unido)	Química
Fernández-Capetillo	Oscar	National Cancer Institute, Bethesda (EE.UU.)	Biología Molecular, Celular y Genética
Gallego Salas	José	Medivir UK Ltd. (Reino Unido)	Biología Molecular, Celular y Genética
García-Horsman	J. Arturo	Universidad de Kuopio (Finlandia)	Biología Molecular, Celular y Genética
Murga Costa	Matilde	Bethesda (EE.UU.) National Cancer Institute,	Biología Molecular, Celular y Genética
Planells Cases	Rosa	IBMC-Universidad Miguel Hernández de Elche	Fisiología y Farmacología
Vergés Aiguaviva	Marcel	Universidad de California-San Francisco (EE.UU.)	Biología Molecular, Celular y Genética

2

Predoctorales

Nombre		Tipo de beca	Programa
Alcántara	Cristina	MCYT	Reconocimiento Molecular
Andrés	Amparo	FVIB (hasta 31-05-03) MCYT (desde 01-06-03)	Biología Molecular del Cáncer
Blanco	Ana Mª	FVIB (hasta 31-08-03) AVCIT (desde 03-09-03)	Patología Celular
Blanco	Mario	FVIB	Patología Molecular
Buendía	Mónica	ATOM/FVIB (hasta 31-12-03)	Patología Celular
Carmona	Francisco	FVIB	Reconocimiento Molecular
Caulí	Omar	FVIB	Neurobiología
Cortina	María	FVIB (de 04-03 hasta 6-03)	Organización Celular
Erzeg	Slaven	FVIB	Neurobiología
Escudero	Juan C.	FVIB	Toxicología Genética
Esteban	Inmaculada	AVCIT (desde 01-09-03)	Biología Celular: Proteólisis
Fuertes	Graciela	FVIB	Biología Celular: Proteólisis
García	Santiago	FEDEM-FVIB	Microscopía Confocal
Hernández	Alberto	FVIB	Microscopía Confocal
Hernández	Mª Luz	AVCIT (hasta 31-12-03)	Neurobiología
Jiménez	Jorge	FVIB (hasta 31-05-03) MCYT (desde 01-06-03)	Biología Celular: Proteólisis
Lacalle	Mª Luz	FVIB	Organización Celular
Lafuente	Eva	FVIB	Microscopía Confocal
Lainez	Sergio	FVIB	Patología Molecular
Macías	Jesús	MCYT	Patología Molecular
Martínez	Iván	FVIB	Microscopía Confocal
Martínez	Marta	FVIB	Genética Molecular
Martínez	Pilar	FVIB (hasta 31-07-03)	Patología Molecular
Miñambres	Rebeca	FVIB	Patología Celular
Mora	María del Puig	FVIB (desde 11-03)	Péptidos y Desarrollo de Ensayos
Muñoz	Juan José	MCYT	Biología Molecular del Cáncer
Pekala	Satu	FVIB	Reconocimiento Molecular
Pérez	David	FVIB	Genética Molecular
Prieto	Jesús	FVIB	Organización Celular
Ríos	Pablo	FVIB (hasta 6-03) AVCIT (desde 7-03)	Biología Molecular del Cáncer
Rubert	Gemma	FVIB	Patología Celular
Rubio	Luis A.	ROCHE-ATOM/FVIB (hasta 5-03)	Patología Celular
Salvador	Natalia	FVIB	Biología Celular: Proteólisis

BECAS

Nombre		Tipo de beca	Programa
Sánchez	Carlos	FVIB	Patología Molecular
Yefimenko	Igor	FVIB	Reconocimiento Molecular
Villanova	Magdalena	FVIB (hasta 2-03)	Genética Molecular

Postdoctorales

Nombre		Tipo de beca	Programa
Ascencio	Gilberto	BANCAIXA (hasta 31-12-03)	Patología Molecular
Cejudo	Rocío	BANCAIXA	Biología Molecular del Cáncer
García	Mª Salud	BANCAIXA (hasta 31-12-03)	Neurobiología
Guasch	Rosa	BANCAIXA (hasta 31-12-03)	Patología Celular
Hernández	J. Miguel	FVIB (hasta 31-12-03)	Organización Celular
Martínez	J. Ignacio	FVIB (hasta 31-10-03)	Genética Molecular
Moukadiri	Ismaïl	BANCAIXA	Genética Molecular
Pérez	Mª Isabel	BANCAIXA	Reconocimiento Molecular
Sánchez	Ana Mª	BANCAIXA (hasta 09-01-03)	Biología Celular: Proteólisis
Sánchez	Isabel	BANCAIXA	Biología Celular: Proteólisis
Urios	Amparo	FVIB	Toxicología Genética

Técnicos Superiores

Nombre		Tipo de beca	Programa
Gomar	Beatriz	AVCIT	Biología Molecular del Cáncer
Pérez	Mª Amparo	AVCIT	Patología Celular
Rejas	Virginia	AVCIT	Neurobiología
Soriano	Miguel A.	AVCIT	Biología Celular: Proteólisis
Ventura	Ignacio	AVCIT	Patología Molecular

Técnicos

Nombre		Tipo de beca	Programa
Blasco	Raúl	FVIB (desde 01-11-03)	Péptidos y Desarrollo de Ensayos
Boneda	Irene	FVIB	Patología Molecular
Castro	Mª Carmen	FVIB (hasta 31-05-03)	Neurobiología
		AVCIT (desde 02-06-03)	
Catalá	Mª Dolores	AVCIT (desde 05-06-03)	Biología Celular: Proteólisis
Fernández	Elena	AVCIT	Biología Molecular del Cáncer
García	Mª Carmen	AVCIT	Patología Celular
Garzón	Zahara	AVCIT	Patología Molecular
Jordan	Andreu	FVIB	Patología Molecular
Jiménez	Ana	FVIB (hasta 05-03)	Patología Molecular
Juan	Eva	FVIB	Patología Molecular
Martínez	Mª del Mar	FVIB	Neurobiología
Mellado	Maravillas	AVCIT (desde 09-06-03)	Genética Molecular
Ordaez	Mª Mar	FVIB (desde 01-09-03)	Péptidos y Desarrollo de Ensayos
Ruiz	Verónica	FVIB	Toxicología Genética
Selles	Francisca	FVIB (desde 01-10-03)	Neurobiología
Serquera	David	FVIB (hasta 01-09-03)	Péptidos y Desarrollo de Ensayos
Sirvent	Eliana	FVIB (desde 01-10-03)	Péptidos y Desarrollo de Ensayos

Estudiantes en prácticas

Nombre		Periodo	Laboratorio
Alama	Rocío A.	Julio y Septiembre	Organización Celular
Peinado	Alberto	Abril, Mayo y Junio	Biología Celular
Asma	Latif	Mayo, Junio y Julio	Biología Celular
Faus	Mª Amparo	Marzo, Abril, Mayo y Junio	Organización Celular
Yessica	Ramsey	Mayo, Junio y Julio	Organización Celular

3 PREMIOS Y DISTINCIONES

Rubén Moreno Palanques	Gran Cruz de la Orden de Isabel la Católica.
Pilar Monfort	Medalla García Blanco para investigadores jóvenes
Mariluz Hernández	International Neurotoxicology Assotiation. 9th Meeting Young Researcher Award.

4 ACUERDOS INSTITUCIONALES

Karolinska Institutet, Estocolmo, Suecia.
Vanderbilt University, Nashville, Tennessee, Estados Unidos de América.
Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España.
Fundación para la Investigación Biomédica, la Docencia y la Cooperación Internacional y el Desarrollo del Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia, España.

5 SEMINARIOS

Fecha: 10 Enero 2003 **Ponente:** Dr. Hugo Cabedo
Instituto de Neurociencias, Universidad Miguel Hernández-CSIC y Unidad de Investigación Hospital Universitario de San Juan, Alicante.
NEURREGULINAS Y MIELINIZACIÓN.

Fecha: 17 Enero 2003 **Ponente:** Dr. Vicente Rubio
Instituto de Biomedicina de Valencia. CSIC.
MÁQUINAS MOLECULARES PARA FABRICAR ACILFOSFATOS: LA FAMILIA AMINOÁCIDO-QUINASA.

Fecha: 24 Enero 2003 **Ponente:** Dra. Margarita Díaz-Guerra
Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
FISIOPATOLOGÍA DEL RECEPTOR NMDA: CARACTERIZACIÓN DE LA APOPTOSIS INDUCIDA POR ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN EXCITOXICIDAD E ISCHEMIA NEURONAL.

Fecha: 31 Enero 2003 **Ponente:** Dra. Agustina García
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Instituto de Biología Fundamental "Villar Palasí", Universidad Autónoma de Barcelona.
ALTERACIONES EN LA EXPRESIÓN DE LA GUANILIL CICLASA SOLUBLE EN PROCESOS NEUROINFLAMATORIOS.

Fecha: 7 Febrero 2003 **Ponente:** Dr. Marcel Vergés
Department of Anatomy, University of California School of Medicine, San Francisco, CA (USA).
EL RETRÓMERO CONTROLA LA TRANSCITOSIS DEL RECEPTOR DE LAS IMMUNOGLOBULINAS POLIMÉRICAS.

Fecha: 14 Febrero 2003 **Ponente:** Dr. Peter Eriksson
Department of Mental Health and Alcohol Research, National Public Health Institute, Helsinki, Finlandia.
THE ROLE OF ACETALDEHYDE IN THE ACTIONS OF ALCOHOL.

Fecha: 21 Febrero 2003 **Ponente:** Dr. Juan Hidalgo
Unidad de Fisiología Animal, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra, Barcelona.
RESPUESTA INFLAMATORIA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL: PAPEL DE LA IL-6 Y DE LAS PROTEÍNAS ANTIOXIDANTES METALOTIONEINAS.

Fecha: 28 Febrero 2003 **Ponente:** José Ignacio Martínez
Instituto de Investigaciones Citológicas, FVIB.
ANÁLISIS MUTACIONAL DE LOS GENES BRCA1 Y BRCA2 EN MUJERES CON CÁNCER DE MAMA PRECOZ.

5

Fecha: 24 Abril 2003 **Ponente:** Dr. Alberto Muñoz Terol
Instituto de Investigaciones Biomédicas. CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
MECANISMO DE ACCIÓN DE APLIDIN, UN NUEVO ANTITUMORAL EN EXPERIMENTACIÓN CLÍNICA.

Fecha: 16 Mayo 2003 **Ponente:** Dr. Juan Saus
Instituto de Investigaciones Citológicas, FVIB.
GPBP, UNA PROTEÍNA CLAVE EN ENFERMEDADES DEGENERATIVAS Y AUTOINMUNIDAD.

Fecha: 23 Mayo 2003 **Ponente:** Regina Rodrigo
Instituto de Investigaciones Citológicas, FVIB.
ALTERACIONES EN EL CONTENIDO Y EN LA REGULACIÓN DE LA GUANILATO CICLASA SOLUBLE EN HIPERAMONEMIA Y FALLO HEPÁTICO.

Fecha: 30 Mayo 2003 **Ponente:** Dra. Anne J. Ridley
Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Ludwig Institute for Cancer Research, University College of London, UK.
RHO GTPASES: SIGNALLING IN CELL ADHESIÓN AND MIGRATION.

Fecha: 6 Junio 2003 **Ponente:** Dr. Rafael Garesse
Departamento de Bioquímica, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
FISIOPATOLOGÍA DE LA BIOGÉNESIS MITOCONDRIAL EN DROSOPHILA MELANOGASTER.

Fecha: 13 Junio 2003 **Ponente:** Dr. Jaime Font de Mora
Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer, Universidad de Salamanca.
FUNCIÓN DE COACTIVADORES DE LA TRANSCRIPCIÓN EN EL CÁNCER DE MAMA.

Fecha: 20 Junio 2003 **Ponente:** Dr. Enrique Pérez-Payá
FVIB-CSIC. Instituto de Investigaciones Citológicas, FVIB.
SIETE AÑOS DE QUÍMICA COMBINATORIA.

Fecha: 11 Julio 2003 **Ponente:** Dr. Suso Platero
Tripath Oncology North Carolina, USA.
EVALUACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES, OBTENIDOS POR MICROARRAYS, PARA UN DIAGNÓSTICO MÁS EFICAZ DEL CÁNCER DE MAMA.

Fecha: 15 Julio 2003 **Ponente:** Dr. Antonio Pineda-Lucena
Structural Biology Department, AstraZeneca Research and Development, UK.
RMN: ALGUNAS APLICACIONES EN BIOLOGÍA MOLECULAR DEL CÁNCER, GENÓMICA ESTRUCTURAL Y DISEÑO DE FÁRMACOS.

Fecha: 28 Julio 2003 **Ponente:** Dra. Paloma Pérez
Instituto de Biomedicina de Valencia-CSIC.
MODELOS TRANSGÉNICOS PARA EL ESTUDIO DE LA INFLAMACIÓN Y TUMORIGÉNESIS DE PIEL.

Fecha: 24 Septiembre 2003 **Ponente:** Dr. Antonio Postigo
División of Molecular Oncology, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO (USA)
ANTAGONISM BETWEEN ZEB1/DELTAEF1 AND ZEB2/SIP1 REGULATES TGFBETA SIGNALING.

Fecha: 26 Septiembre 2003 **Ponente:** Dr. Jesús Balsinde
Instituto de Biología Molecular y Genética. CSIC-Universidad de Valladolid.
UNA NUEVA APROXIMACIÓN TERAPÉUTICA A LA ESQUIZOFRENIA: BÚSQUEDA DE INHIBIDORES DE FOSFOLIPASA A2.

SEMINARIOS

Fecha: 3 Octubre 2003 **Ponente:** Dr. Ramón Trullas
Unidad de Neurobiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Barcelona. CSIC, IDIBAPS.
MECANISMOS DE MUERTE NEURONAL EXCITOTÓXICA Y PROGRAMADA.

Fecha: 16 Octubre 2003 **Ponente:** Dr. Eduardo Moreno
Instituto de Biología Molecular, Universidad de Zurich.
COMPETICIÓN CELULAR Y CÁNCER: D-MYC Y LA HIPÓTESIS DE LOS SUPERCOMPETIDORES.

Fecha: 17 Octubre 2003 **Ponente:** Rebeca Miñambres
Instituto de Investigaciones Citológicas, FVIB.
LAS ALTERACIONES DEL CITOESQUELETO DE ACTINA INDUCIDAS POR EL ETANOL CONDUCEN A LA MUERTE POR APOPTOSIS EN ASTROCITOS.

Fecha: 24 Octubre 2003 **Ponente:** Dra. Anna M. Planas
Departament de Farmacologia i Toxicologia, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Barcelona. CSIC, IDIBAPS.
EFECTO PROTECTOR DE TGF-ALFA FRENTE A LA ISQUEMIA CEREBRAL Y EXCITOXICIDAD.

Fecha: 31 Octubre 2003 **Ponente:** Dr. José Penadés
Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia.
TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE GENES EN STAPHYLOCOCCUS AUREUS COMO MECANISMO DE PATOGENICIDAD.

Fecha: 7 Noviembre 2003 **Ponente:** Dr. Luis Miguel Gutiérrez
Instituto de Neurociencias, Alicante.
UNA VISIÓN DINÁMICA DE LA FUNCIÓN DEL CITOESQUELETO DURANTE LA SECRECIÓN EN UN MODELO ENDOCRINO.

Fecha: 14 Noviembre 2003 **Ponente:** Dr. José Miguel Hernández Andreu
Departamento de Neurología (Prof. José Masdeu) Universidad de Navarra.
TRANSPORTE DE PROTEÍNAS A MITOCONDRIAS: MECANISMOS TRANSCRIPCIONALES DE INTERACCIÓN NÚCLEO-MITOCONDRIA.

Fecha: 14 Noviembre 2003 **Ponente:** Dr. Alejandro Mira
Departamento de Microbiología, Universidad Miguel Hernández, Alicante.
GENOMAS MINIMALISTAS Y ADN BASURA.

Fecha: 21 Noviembre 2003 **Ponente:** Dr. Juan Pedro García Ballesta
Centro de Biología Molecular (CBM), CSIC, Madrid.
UN PARADIGMA DE LA ADQUISICIÓN DE NUEVAS FUNCIONES EN LA EVOLUCIÓN DEL RIBOSOMA: EL TALLO RIBOSÓMICO.

Fecha: 24 Noviembre 2003 **Ponente:** Dra. Mª Jesús Vicent
Center for Polymer Therapeutics, Welsh School of Pharmacy, Cardiff University, UK.
DISEÑO DE CONJUGADOS POLIMÉRICOS PARA EL TRANSPORTE ESPECÍFICO DE AGENTES ANTITUMORALES.

Fecha: 28 Noviembre 2003 **Ponente:** Dr. Alfonso Valencia
Centro Nacional de Biotecnología (CNB). CSIC, Madrid.
GENÓMICA, PREDICCIÓN DE FUNCIÓN Y REDES DE INTERACCIÓN.

Fecha: 5 Diciembre 2003 **Ponente:** Dr. Javier Cervera
Instituto de Investigaciones Citológicas, FVIB.
CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE MUTACIONES QUE CAUSA HIPERAMONEMIA EN LA DEFICIENCIA DE CARBAMIL FOSFATO SINTETASA I.

Fecha: 12 Diciembre 2003 **Ponente:** Magdalena Villarroya
Instituto de Investigaciones Citológicas, FVIB.
Regulación de genes E.coli implicados en replicación del DNA: dependencia de RpoS y caracterización de MnmE.

6

CURSOS Y JORNADAS

Fecha: Del 30 de Junio al 4 Julio 2003
XXXI Curso de microscopía electrónica en biología
Dirección: Dres. José Hernández Yago y Erwin Knecht
Instituto de Investigaciones Citológicas. FVIB.

Fecha: Del 14 al 18 Julio 2003
VII Curso de técnicas de biología molecular aplicadas al análisis de las interacciones entre proteínas
Dirección: Dr. Rafael Pulido
Instituto de Investigaciones Citológicas. FVIB.

Fecha: Del 14 al 18 Julio 2003
XIV Curso de sondas magnéticas y PCR en diagnóstico clínico
Dirección: Dres. Mª Eugenia Armengod y J.I. Martínez-Ferrandis
Instituto de Investigaciones Citológicas. FVIB.

Fecha: Del 21 al 25 Julio 2003
VII Curso de técnicas avanzadas en diagnóstico molecular
Dirección: Dres. J.J. Martín de Llano (Universidad Cardenal Herrera-CEU), Mª Eugenia Armengod, Erwin Knecht, J.I. Martínez-Ferrandis
Instituto de Investigaciones Citológicas. FVIB.

Fecha: Del 21 al 25 Julio 2003
XXIX Curso de cultivo de células animales
Dirección: Dr. Javier Cervera
Instituto de Investigaciones Citológicas. FVIB

IV Jornadas de Medicina Molecular, asociado a Cursos de Sondas Genéticas y PCR en Diagnóstico Clínico y Técnicas Avanzadas en Diagnóstico Molecular.
Dirección: Mª Eugenia Armengod, Erwin Knecht.

Fecha: 15 de Julio 2003 **Ponente:** Dr. M. Baiget
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.
Bases genéticas de los síndromes talasémicos.

Fecha: 17 de Julio 2003 **Ponente:** Dr. Miguel Ángel Martín
Hospital 12 de Octubre, Madrid.
Nuevos avances en el diagnóstico molecular de las enfermedades mitocondriales.

Fecha: 18 de Julio 2003 **Ponente:** Dr. Ángel Carracedo
Facultad de Medicina, Santiago de Compostela.
Genética forense: la identificación mediante ADN.

Fecha: 22 de Julio 2003 **Ponente:** Dr. Jesús Paramio
CIEMAT, Madrid.
Proliferación, diferenciación y carcinogénesis en epidermis de ratón.

Fecha: 23 de Julio 2003 **Ponente:** Dr. Jesús García-Foncillas
Clínica Universitaria de Navarra.
Análisis bioinformático de microarrays de expresión.

Fecha: 24 de Julio 2003 **Ponente:** Dr. Javier Benítez
Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas Carlos III, Madrid.
Clasificación molecular de tumores.

Fecha: 25 de Julio 2003 **Ponente:** Dr. J. Luis Jorcano
CIEMAT, Fundación Genoma España, Madrid.
La piel como vehículo de terapia celular y terapia genética.

7 INSTITUCIONES COLABORADORAS

- Asociación para la Investigación en Hematología y Oncología médica Servicio de Oncología del Hospital Clínico Universitario
- Cell Biology Unit, Division of Genomic Medicine, University of Sheffield, UK
- Centro de Citometría y Citómica, Dept. Bioquímica, Facultad de Medicina de Valencia
- Centro de Ecología Química Agrícola, Universidad Politécnica de Valencia
- Centro de Investigación, Hospital "La Fe".
- Centro Nacional de Biotecnología. CSIC. Madrid.
- CNIO, Madrid
- Cold Spring Harbor Laboratory, USA
- Conselleria de Bienestar Social de la Generalitat Valenciana
- Consorzio Mario Negri SUD, Italia
- Departamento de Anatomía Patológica, Hospital General de Castellón
- Departamento de Biología Celular y Genética. Facultad de Biología. Universidad de Alcalá de Henares.
- Departamento de Biología Celular. Universidad de Barcelona
- Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Valencia
- Departamento de Ciencias Biomédicas Básicas, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia
- Departamento de Ciencias Médicas. Universidad de Castilla la Mancha. Albacete

7

- Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia.
- Departamento de Medicina Preventiva. Facultad de Medicina. Valencia
- Departamento de Neurología. Hospital Clínico Universitario de Valencia.
- Departamento de Neurología. Hospital la Fe de Valencia.
- Departamento de Química Física, Universidad de Valencia.
- Departamento de Química Orgánica Biológica, IIQAB, CSIC, Barcelona
- Department of Environmental Toxicology, Uppsala University, Uppsala, Suecia.
- Department of Pharmacology. Trinity College. Dublin. Irlanda
- Department of Pharmacology. University Clinic Hamburg Eppendorf. Hamburgo. Alemania.
- Department of Urology. David Geffen School of Medicine at UCLA.
- Dipartimento di Clinica Medica, Nefrologia e Scienze della Prevenzione. Parma. Italia
- Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale. Università degli Studi di Roma "La Sapienza" Roma. Italia
- Division of Toxicology and Neurotoxicology, Institute of Environmental Medicine. Karolinska Institute. Suecia.
- Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid
- Fondazione Clinica del Lavoro IRCCS. Centro Medico di Pavia. Centro Ricerche. Sezione di Tossicologia Sperimentale. Pavia, Italia
- Harvard University, USA
- Hospital 12 de Octubre, Madrid
- Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela
- Hospital Ramón y Cajal, Madrid
- Hospital Santa Cruz y San Pablo, Barcelona
- Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, Gif-sur-Yvette, Francia
- Institut of Biochemistry, University of Kiel, GER
- Institute for Biochemical Pharmacology, University Innsbruck, Austria
- Institute of Neurobiology. Slovak Academy of Sciences. Kosice. Eslovaquia
- Institute of Theoretical and Experimental Biophysics. Russian Academy of Sciences. Pushchino, Rusia
- Instituto de Biomedicina de Valencia. CSIC
- Instituto de Bioquimica. CSIC- Universidad Complutense. Madrid.
- Kansas University Medical Center
- Laboratoire de Chimie Analytique et Electrochimie de la Facultad de Farmacia, París, Francia
- Laboratorio de Resonancia Magnética, Instituto Investigaciones Biomedicas. CSIC. Madrid
- Laboratorio di Tossicologia Industriale. Universita degli Studi di Parma.
- Laboratorios Salvat
- Lipotec, SA
- Lodwig Institute of Cancer, London, UK.
- Med.Inst.Environm.Hyg. at the Heinrich Heine University. Duesseldorf. Alemania.

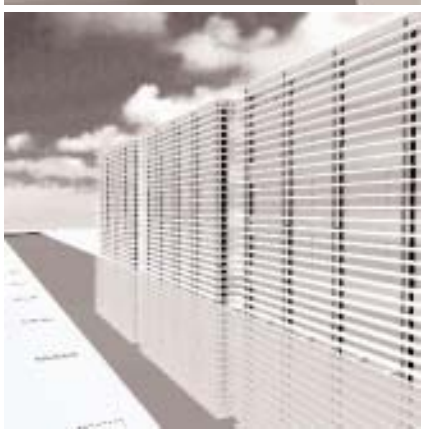
INSTITUCIONES COLABORADORAS

- Merck Farma y Química, SA
- National Centre for Scientific Research "Demokritos", Grecia
- Neurología Experimental. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.
- Neuroscience Research Unit. Hopital Saint Luc. Montreal, Canada
- School of Biological Sciences, Manchester, UK
- Servicio de Endocrinología, Hospital Clínico Universitario, Valencia
- Servicio de Hematología y Oncología, Hospital Clínico Universitario, Valencia
- Servicio de Hepatologgía. Hospital de Valme. Sevilla
- Servicio de Medicina Interna / Hepatología. Hospital Universitari Vall d'Hebrón. Barcelona
- Servicio de Medicina Interna, Hospital Clínico Universitario, Valencia
- Servicio de Neuropediatría del Hospital Universitario "La Fe" . Valencia
- Unidad de Hepatología, Hospital Clínico de Valencia
- Unidad de Hepatología. Hospital Clínico. Alicante
- Universidad de Cantabria
- Universidad de Tetuán. Marruecos
- Universidad de Zaragoza
- Universität Zürich. Institut für Pharmakologie und Toxikologie. Zürich, Suiza
- University of Bristol, UK
- University of Nijmegen, The Netherlands
- URA-CNRS, Toulouse, Francia
- Vanderbilt University, USA

EL CSAT HOY

1

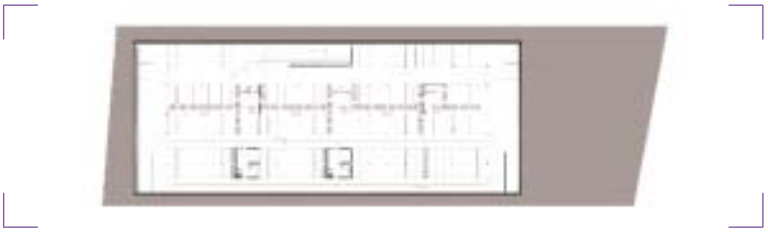
EL EDIFICIO



PROPIETARIO	Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas (FVIB)
ARQUITECTO	Ramón Esteve
DISEÑO DE PROYECTO Y DESARROLLO	Ramón Esteve Estudio de Arquitectura, S.L. SIDEC, S.L.
EJECUCIÓN DE LA OBRA	UTE Biomedicina (ROVER ALCISA – ACS)
SUPERFICIE PARCELA	12.000 m²
TOTAL SUPERFICIE CONSTRUIDA	32.612,49 m²
TOTAL SUPERFICIE ÚTIL	28.267,77 m²
ALTURA DEL EDIFICIO	17 m.
PLANTAS	7 (3 sobre rasante + 4 bajo rasante)
SUPERFICIE DE FACHADA	7.152,98 m²
CAPACIDAD	300 personas
DURACIÓN ESTIMADA DE LA CONSTRUCCIÓN	30 meses
COMIENZO DE LA CONSTRUCCIÓN	5 de diciembre de 2001

SÓTANO – 3

Superficie construida 7.246,57 m²
Superficie útil 6.534,27 m²
Aparcamiento
Almacenes

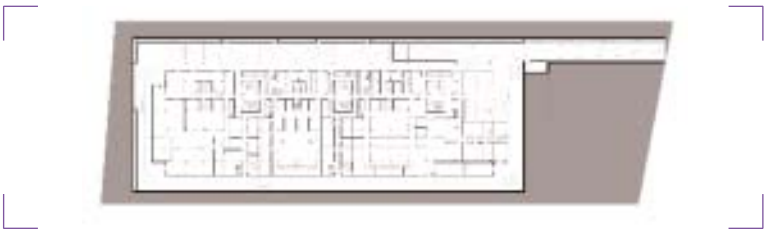


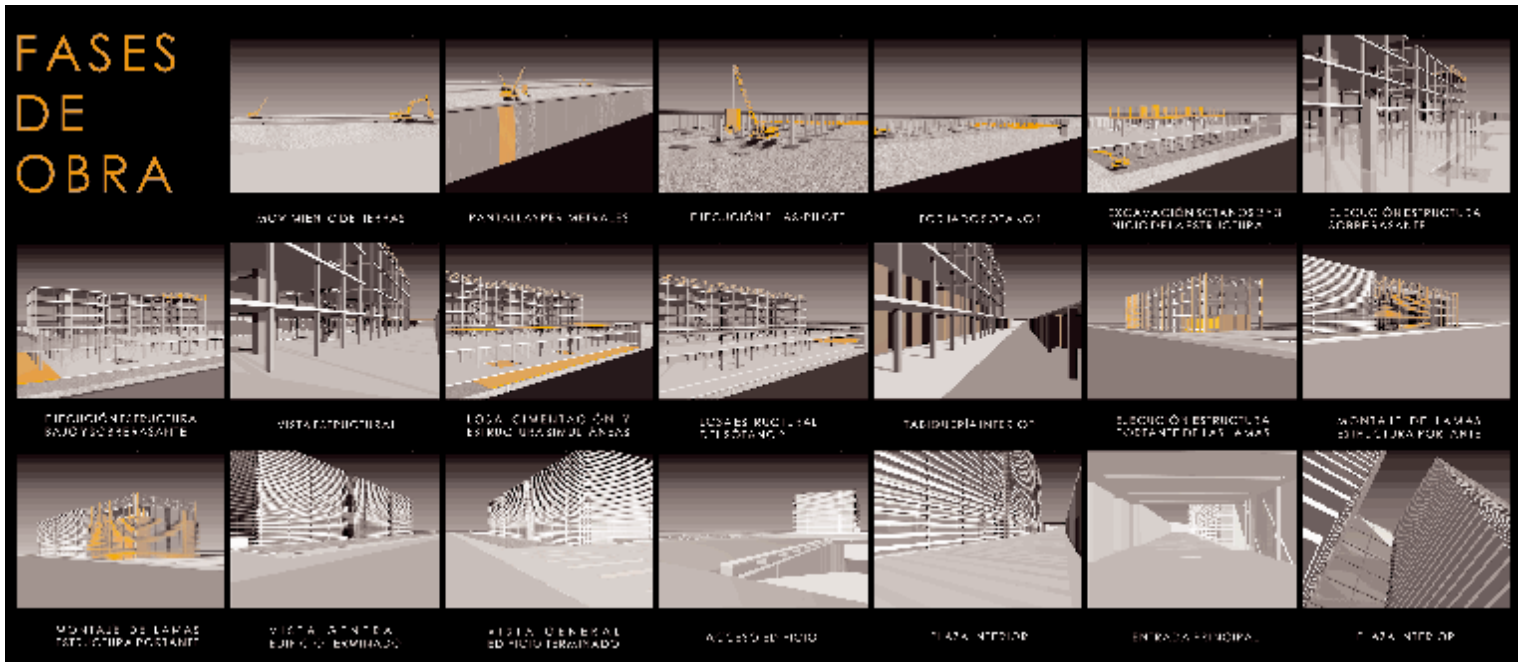
SÓTANO – 2

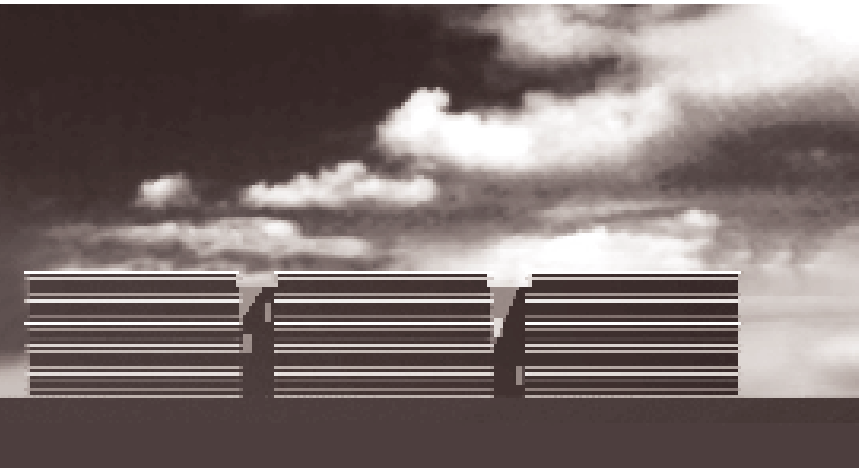
Superficie construida 7.246,57 m²
Superficie útil 6.359,89 m²
Aparcamiento
Salas de Máquinas

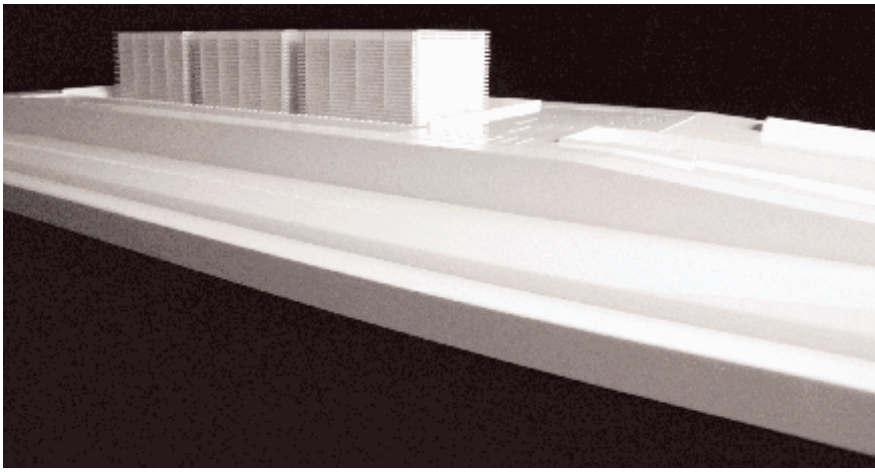
SÓTANO – 1

Superficie construida 7.321,33 m²
Superficie útil 6.156,25 m²
Animalario Convencional
Animalario de Trasplantes
Zonas Estériles
Unidades de Alta Tecnología









PLANTA BAJA

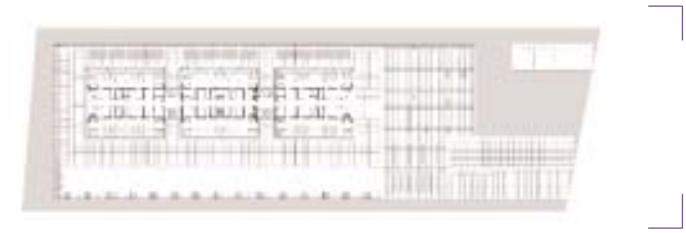
Superficie construida 5.033,79 m²
Superficie útil 4.130,05 m²
Vestíbulo
Salón de actos
Despachos
Laboratorios
Gerencia y Administración
Biblioteca
Cafetería

PLANTA 1

Superficie construida 1.921,41 m²
Superficie útil 1.695,77 m²
Despachos
Laboratorios

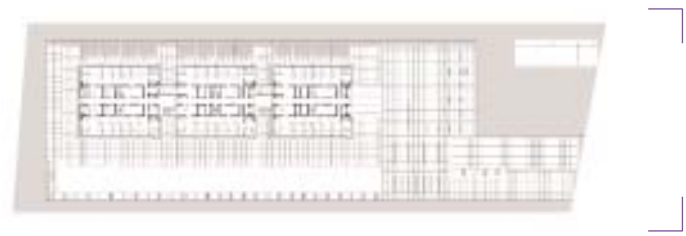
PLANTA 2

Superficie construida 1.921,41 m²
Superficie útil 1.695,77 m²
Despachos
Laboratorios



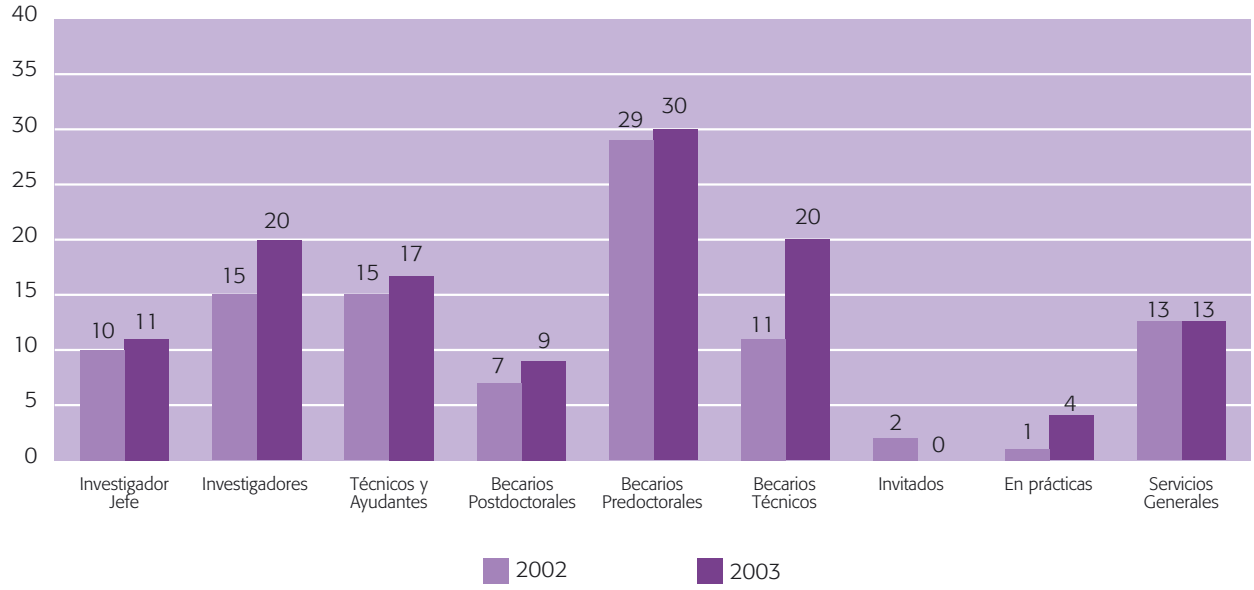
PLANTA 3

Superficie construida 1.921,41 m²
Superficie útil 1.695,77 m²
Despachos
Laboratorios



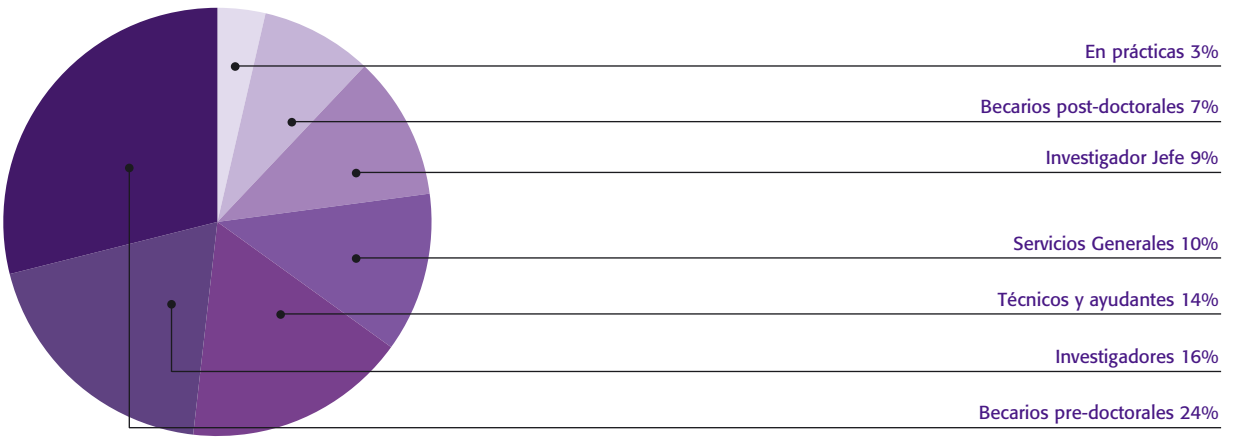
2

Distribución del personal por categoría (en nº absoluto) 2002-2003

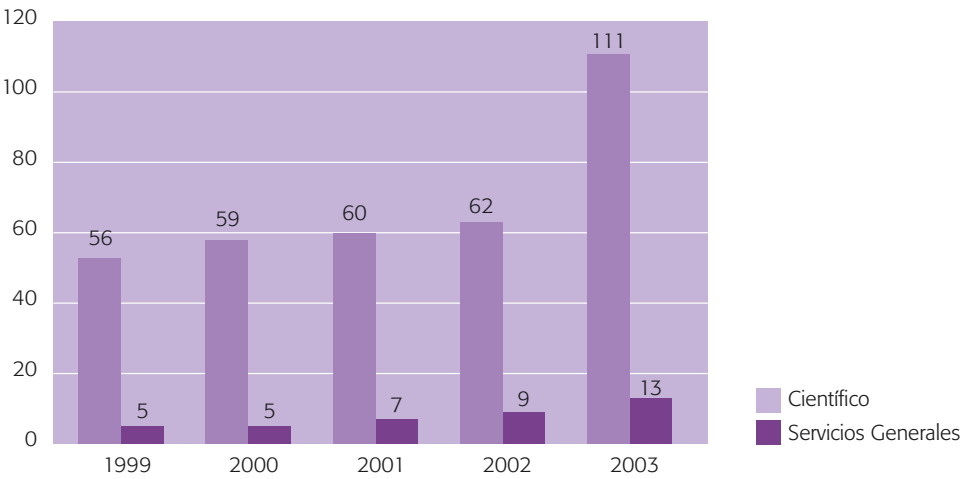


RECURSOS HUMANOS

Distribución del personal por categoría (en %) 2002-2003



Recursos humanos 1999-2003



3

DOSSIER DE PRENSA

El CSAT firma un acuerdo con la Universidad de Vanderbilt en EEUU

Ambos colaboran en el estudio de una proteína relacionada con las enfermedades autoinmunes

El CSAT se trasladará junto al Oceanográfico a partir de julio

Investigan un fármaco contra enfermedades degenerativas como el Alzheimer

Valencia, pionera. [illegible]

"Agricultura es [illegible] por las [illegible] en la [illegible]"

Valencia tendrá como Barcelona un centro de referencia en células madre

[illegible]

El Instituto de Citología de Valencia coordina la genómica de las bacterias de toda España

VALENCIA — El Instituto de Investigaciones Citológicas de Valencia albergará la sección correspondiente de la Red de Genómica Bacteriana (RGB) creada para coordinar a los investigadores, instituciones y empresas que estudian genomas de bacterias.

[illegible]

El CSAT es la mayor apuesta de la Generalitat por la investigación

El CSAT estudiará una proteína contra fenómenos autoinmunes

- El nuevo centro dispondrá de la más alta tecnología científica del momento
- Su construcción se está realizando en la CAC con ayuda de los fondos FEDER

El CSAT, [illegible] de la Ciudad de las Artes y las Ciencias

Estudian el funcionamiento de una proteína para tratar enfermedades degenerativas

[illegible]

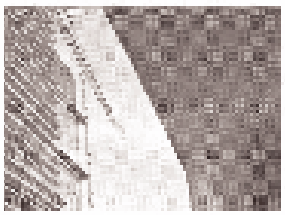
FARMACOLOGÍA

El Centro de Alta Tecnología Científica desarrollará nuevos fármacos

El Centro de Biomedicina empezará a investigar con células madre en septiembre y tendrá 175 científicos

El laboratorio de Valencia renunció a fichar a "investigadores de renombre" y potenciará equipos de jóvenes especialistas

"Nuestra esencia es trasladar la investigación a la cama del enfermo"



■ Cuarenta y un grupos de investigadores de todo el país construyeron en Valencia la red científica dedicada al estudio de los genomas de las bacterias, esos microorganismos que están por todas partes y que lo mismo se limpian como amigos del ser humano que le provocan graves enfermedades.

INVESTIGACIÓN

Una red de científicos analizará el desarrollo de las bacterias

TECNOLOGÍA

Científicos valencianos investigan un fármaco contra el mal de las vacas locas

Los investigadores del Centro de Alta Tecnología **colaboran con 70 grupos internacionales**

REUNIÓN DEL PATRONATO DE LA FUNDACIÓN. El conseller preside el organismo que

Pilar G. del Burgo, Valencia

Un grupo de cuatro investigadores del Centro Superior en Alta Tecnología (CSAT) de la Generalitat Valenciana estudia el comportamiento de una proteína (la GPI8) que puede estar relacionada con la aparición del síndrome de Creutzfeldt-Jacob, o mal de las vacas locas, según anunciaba ayer en rueda de prensa el director de la institución científica, Rubén Moreno.

Esta investigación se encuadra dentro del programa Biomedicina y Farmacoproteómica que abarca estudios de la biología del cáncer con supresores hormonales, nuevos agentes neuroprotectores y de

Células madre y nuevo

El conseller de Sanidad, Vicente Rambla, informó ayer que el Centro Superior de Alta Tecnología, cuya inauguración se prevé para finales de año, contará con tres programas de investigación: el de biomedicina que se realiza en el Instituto de Investigaciones Citológicas —donde trabaja la tercera parte de la plantilla del futuro CSAT—, el de Trasplantes y Medicina Regenerativa (terapia celular y células embrionarias) y el de Genómica y Farmacoproteómica (nuevos fármacos).

El presupuesto para el centro ascienden a 4,2 millones, de la Generalitat y el resto se financiará con la actividad investigadora.

Científicos valencianos estudiarán los genes de las bacterias

A medio de media docena de investigadores estadounidenses se agrupan para trabajar en proyectos

Los científicos pretenden investigar cómo funcionan **las bacterias y** [illegible] **para limpiar aguas contaminadas**

EDITA
Fundación Valenciana de Investigaciones Biomédicas

COORDINACIÓN, DISEÑO Y PRODUCCIÓN
Engloba Grupo de Comunicación

IMPRIME
Pliego Digital

Amadeo de Saboya, 4
46010 Valencia
Tel. 963 391 250
Fax 963 601 453
www.ochoa.fib.es

Depósito legal: V-2526-2004