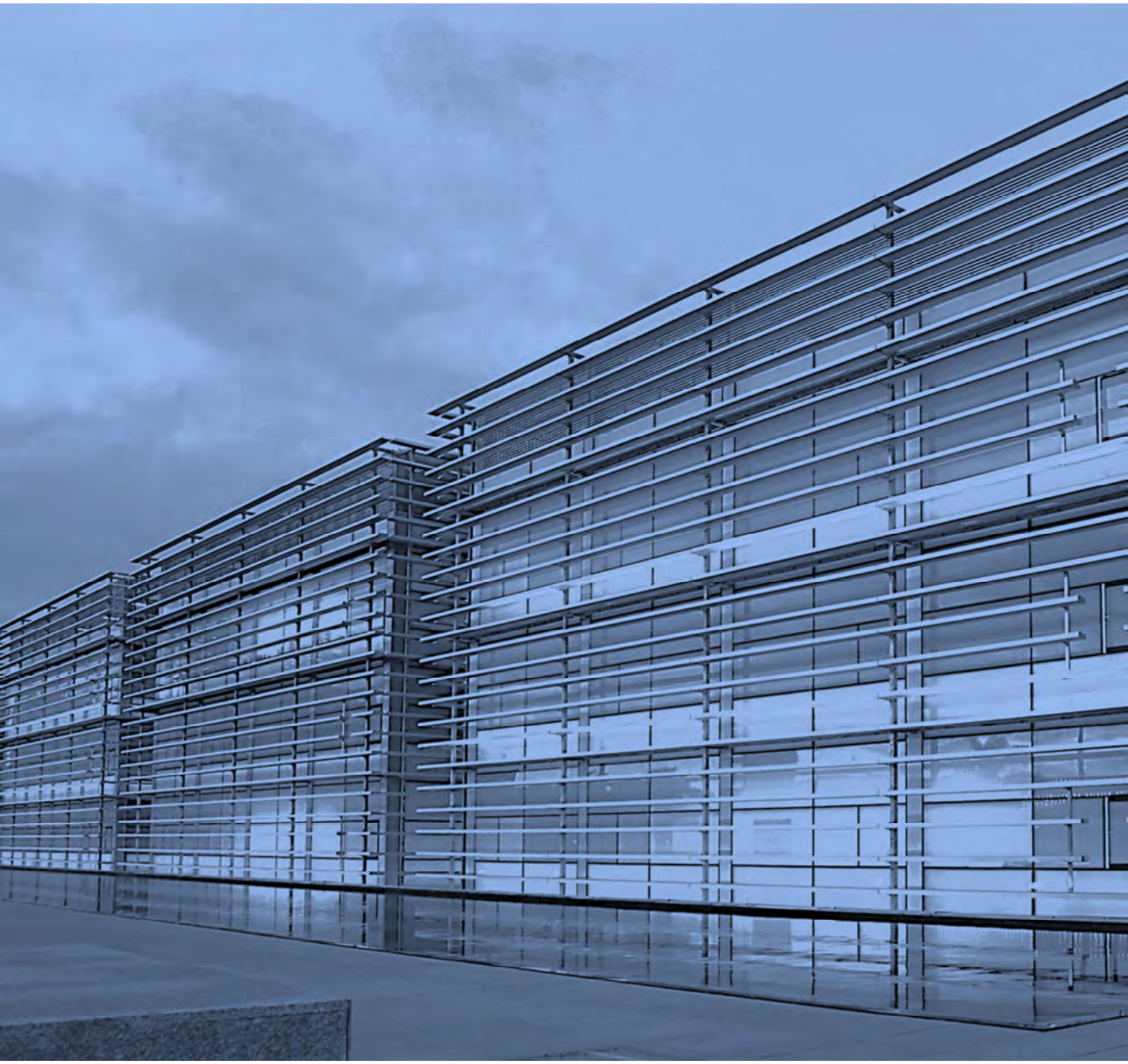
PRINCIPE FELIPE
CENTRO DE INVESTIGACION

CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRINCIPE FELIPE
MEMORIA 2016

CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRINCIPE FELIPE
C/ Eduardo Primo Yúfera 3
Valencia 46012 España
Tel. +34 963 289 680 Fax. +34 963 289 701
www.cipf.es

ÍNDICE

Presentación del Director 5
Organización 10
Nuestros objetivos: 13
I PROGRAMAS CIENTÍFICOS 15
PROGRAMA DE BASES MOLECULARES DE LAS PATOLOGÍAS HUMANAS 17
Degradación intracelular de proteínas y enfermedades raras..... 19
Expresión génica y metabolismo de RNA..... 23
Genética y genómica de enfermedades neuromusculares..... 29
Modificación del RNA y enfermedades mitocondriales..... 37
Neuroendocrinología molecular 43
Señalización oncogénica 47
Patología molecular e investigación traslacional en oncología. *Unidad Mixta CIPF-UCV*..... 53
Mecanismos de enfermedades y nanomedicina. *Unidad mixta CIPF-UPV*..... 57
Enfermedades Raras. *Unidad mixta CIPF-IIS La Fe*. 59
Enfermedades Raras. *Unidad mixta CIPF- INCLIVA*. 61
PROGRAMA DE NEUROINFLAMACIÓN Y DETERIORO NEUROLÓGICO..... 65
Neurobiología..... 67
Patología celular y molecular del alcohol 77
Imagen biomédica. *Unidad Mixta CIPF-FISABIO*. 83
Deterioro neurológico. *Unidad Mixta CIPF-Incliva* 85
PROGRAMA DE NUEVAS TECNOLOGÍAS DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA 89
Genómica computacional 91
Genómica de la expresión génica 97
Metabolómica. *Unidad Mixta CIPF-IIS La Fe*.....103
Citómica. *Unidad Mixta CIPF-UV* 107
PROGRAMA DE TERAPIAS AVANZADAS.....109
Polímeros terapéuticos.....111
Química de péptidos y proteínas 119
Regeneración tisular y neuronal 123
Terapias con células madre en enfermedades neurodegenerativas.....129
Moléculas orgánicas. *Unidad Mixta CIPF-UV*.....133
Reparación cardiovascular. *Unidad Asociada CIPF-IIS La FE* 137
II SERVICIOS TECNOLÓGICOS..... 141
Unidad de Animalario 143
Unidad de Microscopía Óptica Avanzada y Confocal.....144
Unidad de Citómica.....144
Unidad de Microscopía Electrónica.....145
Unidad de Genómica y Genética Traslacional ...145
Unidad de Resonancia Magnética nuclear 146
Unidad de Proteómica 146
Unidad de Cribado Farmacológico 147
Publicaciones SSTT.....147
III OTRAS ACTIVIDADES.....149
IV CIFRAS Y DATOS 163



Presentación del Director

Constituye para mí un motivo de satisfacción y un honor presentar un año más la Memoria Anual de Actividades del Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), del que soy su Director.

La elaboración de la Memoria Anual brinda la ocasión para hacer balance de lo acontecido en los 12 meses anteriores, dejando constancia de los logros conseguidos e identificar retos y objetivos aún no alcanzados hacia los que dirigir la estrategia el siguiente año.

El CIPF es una fundación privada, adscrita a la Conselleria de Sanitat Universal y Salut Pública, cuyo objetivo es la investigación básica relevante en biomedicina con una orientación traslacional. Debemos, pues, considerar dos aspectos distintos en éste objetivo: por una parte, la generación de avances del conocimiento biomédico que supongan verdaderos hitos en las áreas en las que investigamos y, por otra parte, la traslación de la investigación bien al sistema sanitario para la mejora de la salud de los ciudadanos, bien al sistema productivo en forma de resultados patentables o explotables.

Al aceptar la Dirección asumí como objetivo dar un nuevo impulso al Centro de Investigación Príncipe Felipe en su camino hacia la excelencia. Los planteamientos científicos los concretaba en: 1) Una Dirección científica definida, con planteamientos sólidos, estables y productivos, realineando las líneas de investigación del CIPF en 3-4 programas en los que el Centro pueda ser referente, 2) Una orientación aún más traslacional de la actividad investigadora, 3) Mejora de la interconexión entre los grupos del Centro, y 4) Mayor aproximación entre los grupos del Centro a los de otras instituciones como la Universidad, INCLIVA, La Fe, CSIC...

Lo primero que hicimos fue establecer los **objetivos estratégicos**, que incluyen:

1) **Reestructuración** de las líneas y los programas de investigación de forma acorde a la misión y visión del Centro,

2) **Desarrollo** de estrategias de incentivación para la mayor integración y potenciación de los programas y

3) Captación de **nuevo talento** externo y recursos para reforzar éstos programas de investigación.

Con el fin de conocer la idoneidad de éste plan estratégico se programó la visita del **Comité Asesor Científico Externo del Centro**, que tuvo lugar los días 22 y 23 de Febrero de 2016. En su informe tras la visita dicho Comité hacía costar que los objetivos estratégicos establecidos por la Dirección del CIPF son considerados adecuados y pertinentes, y concluían afirmando:

"*Ello nos hace ser optimistas en relación con el futuro del Centro de Investigación Príncipe Felipe*".

Con el respaldo que suponía el informe del Comité Asesor Científico iniciamos la implementación de los objetivos y el plan estratégico.

Durante el año 2016 nos hemos centrado en dos actuaciones: la reestructuración de la actividad científica en torno a unos programas, y el reforzamiento de estos programas estableciendo acuerdos de colaboración con Centros e Instituciones de nuestro entorno.

La actividad científica del Centro se ha estructurado en torno a cuatro programas: Dos de éstos programas están relacionados con una investigación más básica (aunque sin descuidar su traslacionalidad) como son el programa 1 acerca del estudio de las bases moleculares de Patologías humanas relacionadas con enfermedades raras, enfermedades metabólicas y cáncer y el programa 2 acerca de la investigación sobre neuroinflamación y deterioro neurológico. Los otros dos programas tienen una orientación más aplicada (sin descuidar la vertiente básica de su investigación) ya que se centran el Programa 3 en nuevas tecnologías en investigación biomédica, estando relacionados con bioinformática, genómica de sistemas y de expresión génica, metabolómica y citómica, y el programa 4 sobre terapias avanzadas, que incluyen la nanomedicina, la terapia celular y la medicina regenerativa.

La segunda actuación emprendida ha estado dirigida a incrementar la colaboración del Centro con entidades e instituciones de nuestro entorno, a través de la constitución de Unidades Mixtas de Investigación. A éste respecto, debe mencionarse que durante el presente año hemos formalizado la constitución de 6 Unidades Mixtas. Quiero señalar el hecho de que 4 de estas 6 Unidades Mixtas formalizadas durante éste año lo han sido con Hospitales, de acuerdo con el planteamiento de que la investigación del Centro tenga una orientación aún más traslacional, y las otras dos con la Universidad de Valencia y la Universidad Politécnica de Valencia.

Durante el año 2016 el personal del CIPF fue de 149 personas entre personal fijo (70) y contratado con cargo a proyectos (79). El 83% de éste personal realiza una actividad científica como investigador o técnico, mientras que el 17% es personal de apoyo a la investigación. Quisiera mencionar también que del total de personas del CIPF el 65% con mujeres y el 35% son hombres.
A éste personal del CIPF habría que añadir el personal de las Unidades Mixtas, los colaboradores y los estudiantes. Gracias al programa formativo del Centro durante 2016 un total de 125 estudiantes (entre estudiantes de grado, doctorado, máster y formación profesional) realizaron sus prácticas y/o su labor investigadora en el CIPF, lo que pone de manifiesto el gran atractivo que el Centro tiene para las futuras generaciones de investigadores.

Se han firmado convenios con diferentes Universidades e Instituciones nacionales y europeas, con el fin de que sus estudiantes realicen estancias formativas en el CIPF financiadas por diferentes programas, lo que implica una mayor proyección y visibilidad del Centro. Entre las Universidades europeas podemos mencionar la Universidad de Gent, la Universidad de Roma. La Universidad de Luxemburgo, la Universidad de Lorraine, etc.

En cuanto a la producción científica, uno de los principales indicadores de la actividad de un centro de investigación, hay que señalar que durante 2016 se han publicado 103 artículos en revistas indexadas en el JCR, estando el 79% de las mismas en el primer cuartil y siendo el factor impacto medio de ellas de 5.23, lo que pone de manifiesto la calidad de las mismas.
Por otra parte, resultado de ésta actividad científica se han presentado y defendido 8 Tesis Doctorales realizadas en el Centro y cuyos directores eran personal científico del mismo.

Además, durante éste año han tenido lugar en el Centro un total de 59 eventos científicos, entre los que se incluyen los seminarios impartidos por personal del CIPF (27) las conferencias impartidas por relevantes científicos nacionales y extranjeros dentro del ciclo Future of Biomedical Research CIPF Lecture series (13), cursos (10), jornadas (6) y congresos (3). Entre éstos eventos podríamos mencionar la celebración de la primera edición de la Jornada de Investigadoras en Enfermedades Raras, la tercera edición del programa DESCUBRE (que pretende acercar la investigación a jóvenes estudiantes), el I Congreso Nacional de Jóvenes investigadores en Biomedicina y III Congreso de Biomedicina Predocs Valencia, el XI Symposium Internacional sobre Polímeros Terapéuticos, etc…

Respecto a la financiación del Centro ésta depende en gran parte de la aportación que realiza la Generalitat valenciana a través de la Conselleria de Sanitat Universal y Salut Pública, a quien queremos expresar nuestro agradecimiento por su apoyo no solamente en el aspecto económico sino también en los planteamientos estratégicos de carácter científico. Otra parte significativa del presupuesto del Centro proviene de la obtención de recursos a través de la participación en convocatorias públicas y privadas para la adjudicación de distintas ayudas en régimen de concurrencia competitiva. A éste respecto hay que señalar que el número total de proyectos y contratos activos en 2016 fue de 87. De ellos 81 corresponden a proyectos (11 internacionales, 51 nacionales y 19 regionales) y 6 a contratos.

Otra procedencia de recursos económicos del CIPF corresponde a la explotación de las plataformas tecnológicas, que año tras año van incrementando su actividad. Por último, quisiera mencionar las aportaciones realizadas por donaciones o Fundaciones sin ánimo de lucro como la Fundación per Amor a l´Art para investigar la enfermedad de Wilson, la Asociación Dravet para investigar dicho síndrome, la AECC de la Comunidad valenciana para el desarrollo de nanofármacos para el tratamiento de metástasis cerebrales, la Asociación Francesa de Distrofia de retina hereditaria, y la "Ayuda a la investigación Fundación Bancaja " para jóvenes investigadores que realicen su actividad en el CIPF.

Como he comentado al principio de ésta presentación la elaboración de la **Memoria Anual además de brindar la ocasión de dejar constancia de los logros conseguidos sirve para identificar retos y objetivos no alcanzados** hacia los que dirigir la estrategia el año próximo.
Al asumir la Dirección del Centro de Investigación Príncipe Felipe iniciamos un proceso, y en éste año 2016 hemos avanzado fundamentalmente en lo referente a la reestructuración científica del Centro y al establecimiento de colaboraciones mediante Unidades Mixtas. Ahora bien, hemos de tener en cuenta que es un proceso en desarrollo, en el que todavía quedan muchas cosas por hacer, y que constituyen nuestros retos y nuestros objetivos para el año 2017.

El principal objetivo es profundizar y consolidar la estructura científica del Centro, para lo que vamos a implementar una serie de actuaciones como fomentar las sinergias entre los diferentes grupos de investigación, formalizar nuevas Unidades Mixtas e incorporar grupos de investigación que refuercen nuestros programas.

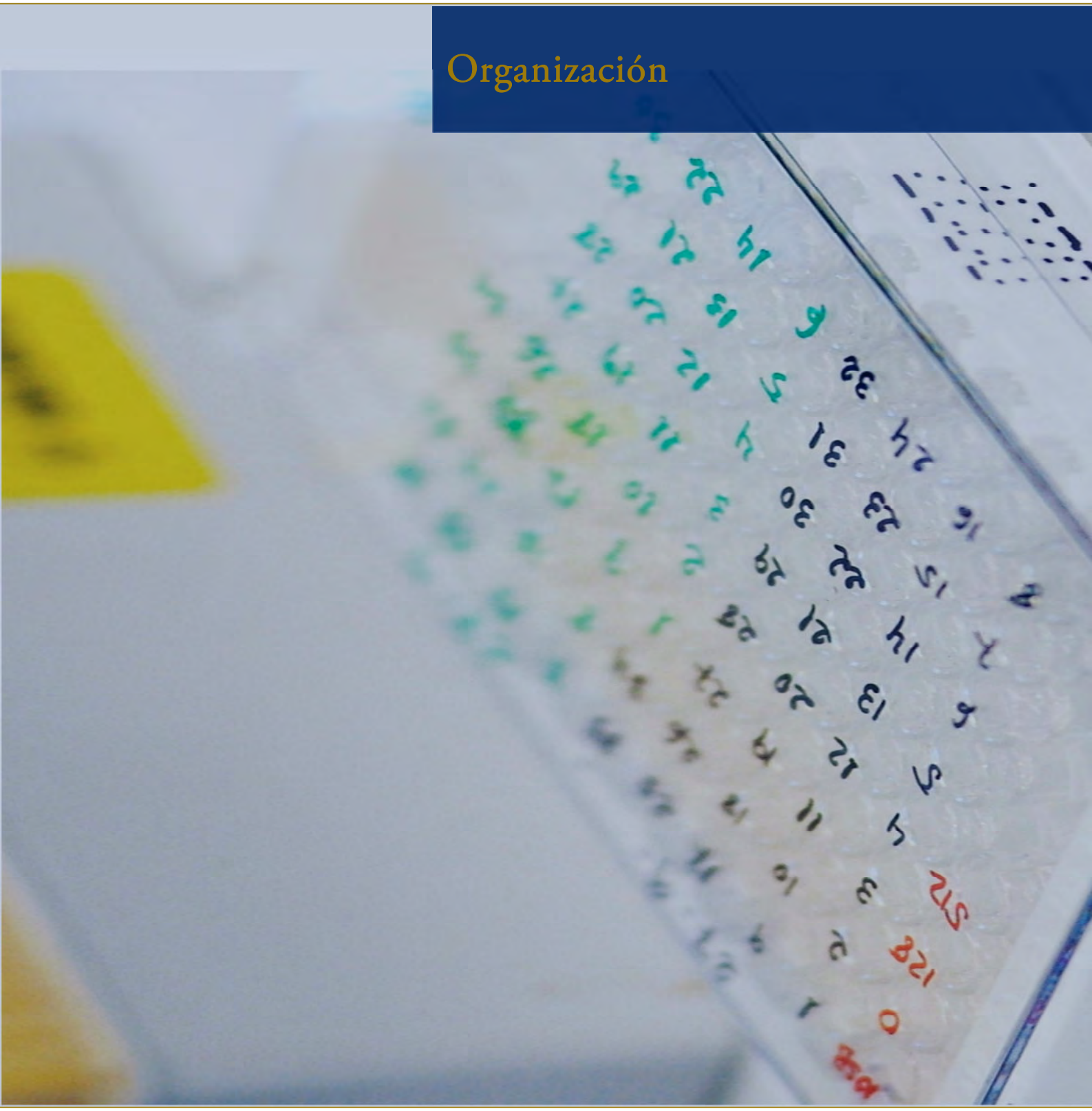
El segundo gran objetivo es conseguir que el Centro tenga los recursos económicos necesarios para poder desarrollar plenamente su actividad investigadora. Para alcanzar éste objetivo es necesario,

por una parte, conseguir una mayor captación de recursos y, por otra parte, la optimización del rendimiento de los recursos de los que se dispone.

Con la satisfacción del trabajo realizado durante 2016**, gracias a la dedicación, esfuerzo, competencia y compromiso de todo el personal del Centro**, afrontamos los nuevos retos y objetivos cuyo logro contribuirá a situar al Centro de Investigación Príncipe Felipe en unos mayores niveles de excelencia, comparable a los mejores Centros dedicados a la investigación biomédica.

Enrique Alborch Dominguez

Organización



Organización

Director
Prof. Dr. Enrique Alborch Domínguez

Director Económico
D. Alejandro Corell Dolz

Responsable de la OTRI
D. Oscar Sánchez Jiménez

Responsable del Servicio Jurídico
Mª Pilar Martínez Camara

Responsable de Recursos Humanos
Ana Rodrigo Wiiliamson

Responsable de los Servicios Tecnológicos
Ernesto de la Cueva

Responsables de Programas

1.- Programa de Bases Moleculares de patologías humanas
Dra. Carmen Espinós

2.- Programa de Neuroinflamación y Deterioro neurológico
Dr. Vicente Felipo Orts

3.- Programa de Nuevas tecnologías en investigación biomédica
Dr. Joaquín Dopazo Blázquez

4.- Programa de Terapias avanzadas
Dra. Mª Jesús Vicent

Patronato

Presidenta
Hble. Sra. Carmen Montón Giménez
Consejera de Sanidad de Sanidad Universal y Salud Pública Generalitat Valenciana

Vicepresidente
Exmo. Sr. Santiago Grisolía
Presidente del Consejo Valenciano de Cultura y la Fundación Valenciana de Estudios Avanzados

Vocal
Exma. Sra. Dolores Salas Trejo
Secretaria Autonómica de Salud Pública y del Sistema Sanitario Público
(Hasta el 11 de julio de 2016)

Vocal
Exmo. Sr. Narcís Vázquez Romero
Secretario Autonómico de Salud Pública y del Sistema Sanitario Público
(Desde el 29 de noviembre de 2016)

Vocal
Exmo. Sr. Rafael Sotoca Covaleda
Director General de Asistencia Sanitaria

Vocal
Exmo. Sr. Oscar Zurriaga LLoréns
Director General de Investigación, Innovación, Tecnología y Calidad
(Hasta el 10 de septiembre de 2016)

Vocal
Exma. Sra. Ana María Ávila Peñalver
Directora General de Investigación, Innovación, Tecnología y Calidad
(Desde el 29 de noviembre de 2016)

Vocal
Prof. José Vte. Castell Ripoll
Director de la Fundación de Investigación del Hospital La Fe y vocal en el Consejo Valenciano de Cultura
(Hasta el 18 de mayo de 2016)

Vocal
Prof. Rafael Carmena Rodríguez
Director de la Fundación de Investigación del Hospital Clínico

Vocal
Prof. Federico V. Pallardó Calatayud
Decano de la Facultad de Medicina en la Universidad de Valencia

Vocal
Dr. Antonio Pellicer Martínez
Director del Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI)

Vocal
Mr. Vicente Boluda Fos
Presidente de la Fundación Valenciana de Estudios Avanzados

Vocal
Dr. Manuel Llombart Bosch
A título personal

Vocal
Dr. José Mir Pallardó
A título personal

Secretario no Patrono
D. Salvador Peiró Moreno,
Subdirector General de Investigación e Innovación

Consejo Científico

Prof. Jesús Ávila de Grado
"Severo Ochoa" Centro de Biología Molecular

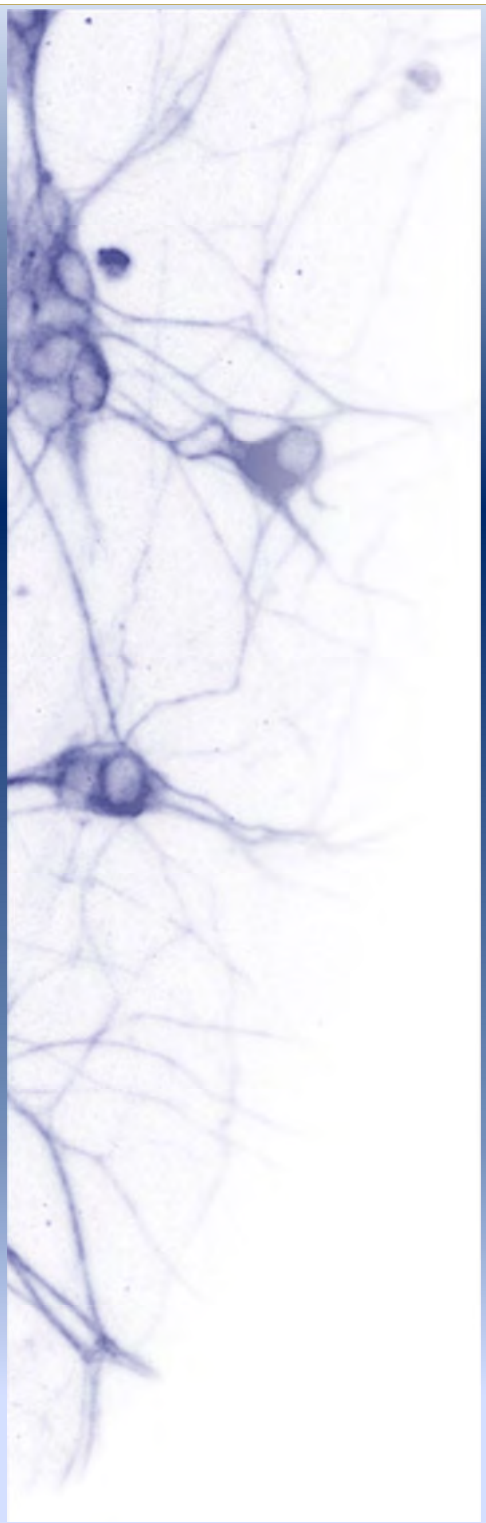
Prof. Claudio Stern
Universidad College London

Prof. Jesus Jimenez Barbero
Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC)

Prof. Antonio Vidal Puig
Universidad de Cambridge

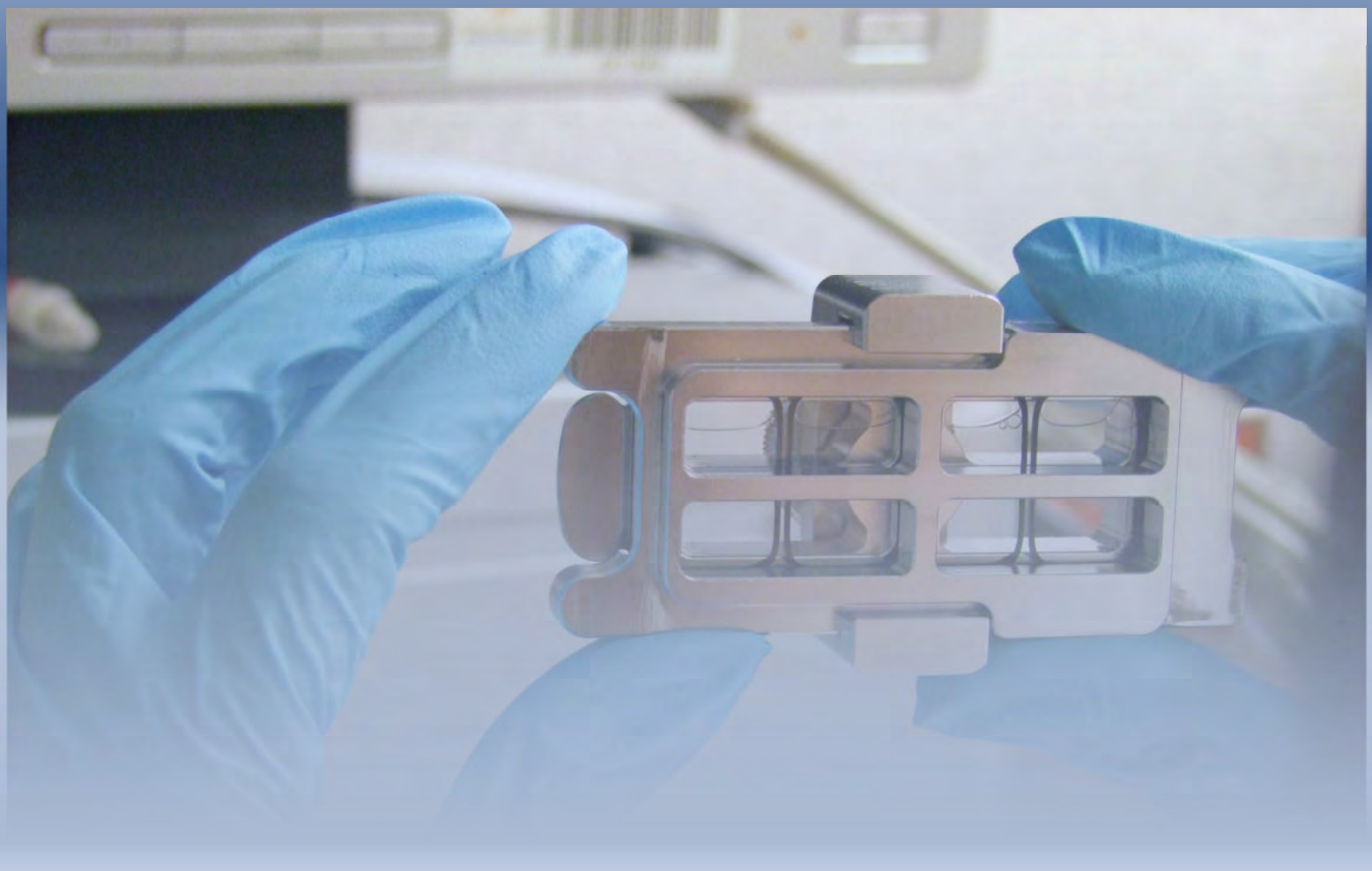
Prof. Ángel Carracedo Álvarez
Universidad de Santiago de Compostela

Nuestros objetivos:

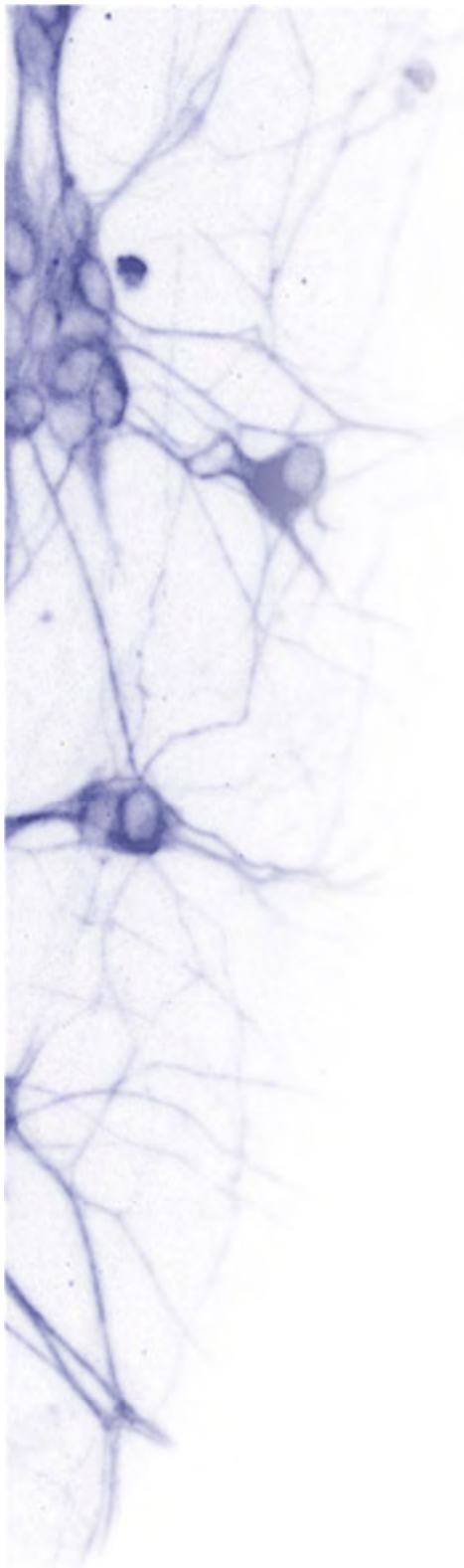


El CIPF es una fundación privada, adscrita a la Conselleria de Sanitat Universal y Salut Pública, cuyo ***objetivo*** *es la investigación básica relevante en biomedicina con una orientación traslacional.*

Debemos, pues, considerar dos aspectos distintos en éste objetivo: por una parte, la generación de avances del conocimiento biomédico que supongan verdaderos hitos en las áreas en las que investigamos y, por otra parte, la traslación de la investigación bien al sistema sanitario para la mejora de la salud de los ciudadanos, bien al sistema productivo en forma de resultados patentables o explotables.



PROGRAMAS CIENTÍFICOS



La actividad científica del Centro se estructura en 4 programas:

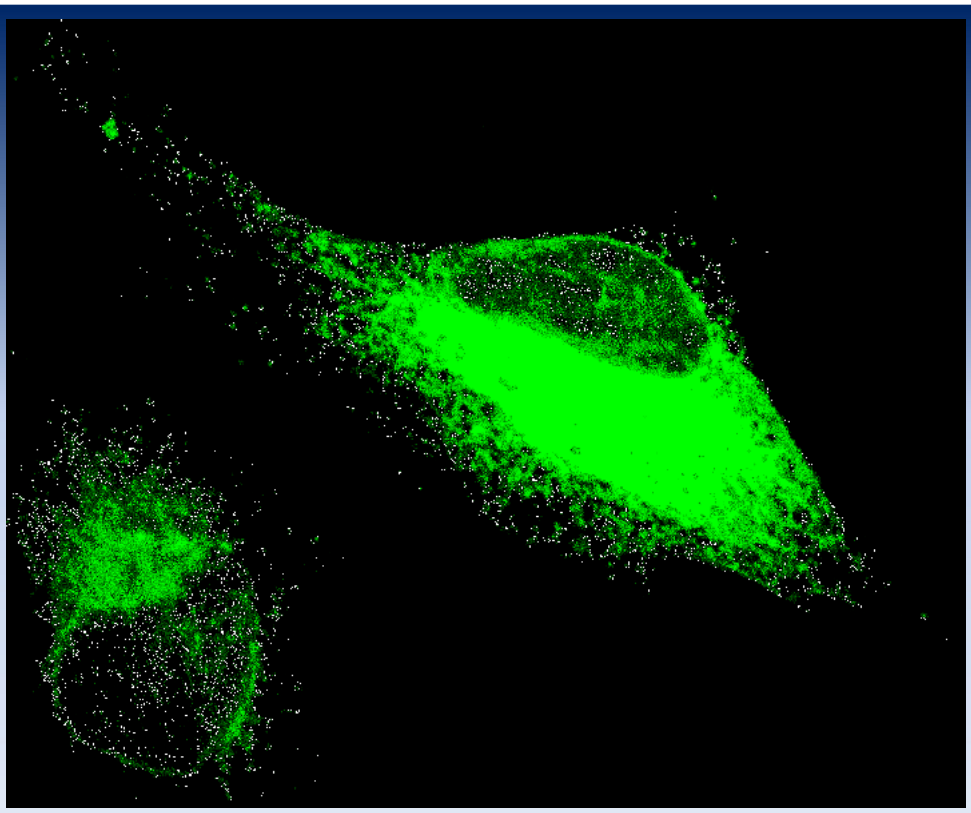
1. Programa de Bases Moleculares de Patologías Humanas.
   Responsable: Dra. Espinós.

2. Programa de Neuroinflamación y Deterioro neurológico.
   Responsable: Dr. Felipo.

3. Programa de Nuevas Tecnológias en Investigación Biomédica.
   Responsable: Dr. Dopazo.

4. Programa de Terapias avanzadas.
   Responsable: Dra. Vicent.

PROGRAMA DE BASES MOLECULARES DE LAS PATOLOGÍAS HUMANAS



Responsable del programa: Dra. Carmen Espinós

Grupos de investigación:

1. **Degradación intracelular de proteínas y enfermedades raras. Investigador principal: Dr. Erwin Knecht.**
2. **Expresión génica y metabolismo del RNA. Investigadora principal: Dra. Susana Rodríguez-Navarro.**
3. **Genética y genómica de enfermedades neuromusculares. Investigadora Principal: Dra. Carmen Espinós.**
4. **Modificación del RNA y enfermedades mitocondriales. Investigadora principal: Dra. MªEugenia Armengod**
5. **Neuroendocrinología molecular. Investigadores principales: Dra. Deborah Burks y Dr. Luke Noon .**
6. **Señalización oncogénica. Investigadora principal: Dra. Farrás.**
7. **Mecanismos de enfermedades y nanomedicina. Unidad mixta CIPF-UPV. Investigador principal: Dr. Ibo Galindo.**

8 **Enfermedades raras. Unidad mixta CIPF-INCLIVA. Investigador principal: Federico Pallardo.**

9 **Enfermedades raras. Unidad mixta CIPF-IIS La Fe. Investigador Principal: Jose María Millán.**

10 **Patología molecular e investigación traslacional en oncología. Unidad mixta CIPF-UCV. Investigador principal: Dr. Jerónimo Forteza**

Degradación intracelular de proteínas y enfermedades raras

Investigador principal: Dr. Erwin Knecht

Investigadores Asociados:

- Carmen Aguado (CIBERER)

Investigadores Postdoctoral:

- Alihamze Fatinajafabadi

Investigadores Predoctorales:

- Marcos Lahuerta Ferreres

Técnicos

- María Paz Rubio Rodríguez

Colaboradores:

- Alba Insa Ibars (UPV)

1. Resumen

El laboratorio investiga la regulación de los principales mecanismos de degradación intracelular de proteínas: ubicuitina-proteasomas y autofagias. Puesto que formamos parte del consorcio público español CIBER-ER (Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras), también estudiamos la relevancia de alteraciones en esa regulación para la fisiopatología de esas enfermedades. En particular nos centramos en aquellas enfermedades raras donde se acumula intracelularmente material sin degradar, para desarrollar, en último término, nuevos métodos de diagnóstico y terapias. Aunque esas enfermedades tienen baja prevalencia, su estudio puede permitir comprender mejor la patogenia de enfermedades más frecuentes. De hecho, alteraciones en esos procesos se asocian con varias de estas patologías, incluyendo las neurodegenerativas, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares.
Los mecanismos degradativos intracelulares están regulados de manera compleja por factores ambientales, como nutrientes, hormonas, estrés oxidativo, etc., que inician diferentes cascadas de señalización para mantener la homeostasis celular. En este sentido, buscamos nuevas vías para esta regulación, como por ejemplo las desencadenadas por glucosa. En cuanto a enfermedades raras, este año hemos trabajado sobre todo en la enfermedad de Lafora, X-adrenoleucodistrofia y lipofuscinosis ceroideas neuronales (donde se acumulan, respectivamente, una forma anormal de glucógeno, ácidos grasos de cadena muy larga o proteínas hidrofóbicas) y también en retinosis pigmentaria.

2. Resultado de la Investigación

Durante esta anualidad nos hemos centrado fundamentalmente en el estudio de la **enfermedad de Lafora** donde colaboramos desde hace años con otros grupos del consorcio público español CIBER-ER (Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras), en especial, con el del Dr. P. Sanz (Instituto de Biomedicina de Valencia-CSIC, Valencia). Ahora hemos abordado dos aspectos.

En el primero, investigamos el papel de laforina y malina en el núcleo. Hemos encontrado que la malina se encuentra mayoritariamente allí, mientras que la laforina, que es citosólica, se localiza en el núcleo de manera significativa sobre todo en situaciones de estrés, como la ausencia de glucosa. Hemos descartado que la laforina se dirija allí para degradarse tras su poliubicuitinación por la malina así como una posible función en el transporte de RNAs mensajeros. Por otro lado, nuestros resultados sugieren un papel de la laforina nuclear en la regulación de la transcripción de genes relacionados con el metabolismo de azúcares y la autofagia que están por identificar. Aunque descartamos que la laforina pueda ser un factor de transcripción, ya que encontramos que tiene una vida media bastante larga, creemos que podría actuar como una proteína intermediaria regulada por ubicuitinación en un complejo transcripcional.

En segundo lugar, hemos profundizado en el estudio de la disminución de la autofagia descrita previamente por nosotros en esa enfermedad (Aguado C, Sarkar, K *et al.* 2010. Laforin, the most common protein mutated in Lafora disease, regulates autophagy. Hum Mol Genet. 19(14): 2867-2876). Hemos confirmado de varias maneras que en fibroblastos de pacientes deficientes tanto en laforina como en malina está activada la vía AKT-mTORC1-ULK1, que inhibe la macroautofagia. En cambio, otras vías de señalización donde participan proteínas tales como GSK3beta, FOXO1, AMPK o MAPKs no presentan cambios o lo hacen de forma menos consistente. Hemos puesto de manifiesto también que el defecto en la macroautofagia afecta esencialmente a la formación del fagoforo y, consecuentemente, a la eliminación de las proteínas y de componentes celulares que debían degradarse por macroautofagia. Esto lo hemos estudiado en células tratadas con desacoplantes químicos de la fosforilación oxidativa, como FCCP, CCCP y otros, comprobando que alguna forma de mitofagia es defectuosa en esta enfermedad.

En relación con la **X-adrenoleucodistrofia**, colaboramos con el laboratorio de enfermedades Neurometabólicas del IDIBELL, liderado por la Dra. A. Pujol, que también forma parte del CIBER-ER. En 2016 la Agencia Europea del Medicamento (EMA) aceptó nuestra solicitud conjunta para la denominación del *temsirolimus* como medicamento huérfano para el tratamiento de la X-adrenoleucodistrofia. Este es un derivado de la rapamicina que inhibe a la proteína mTORC1 y que activa a la macroautofagia. La solicitud para el reposicionamiento de este fármaco como terapia para el tratamiento de la X-adrenoleucodistrofia se presentó en base a una patente europea de ambos grupos del CIBER-ER (EP14382353.2) y a una publicación de 2015 (Launay N, Aguado C, *et al.* 2015. Autophagy induction halts axonal degeneration in a mouse model of X-adrenoleukodystrophy. Acta Neuropathol, 29(3): 399-415).

En **lipofuscinosis ceroideas neuronales** hemos colaborado con el grupo liderado por el Dr. J.M. Millán, miembro también del CIBER-ER, en un trabajo final de grado de Dª. Alba Insa sobre el sistema CRISPR/Cas9, dirigido por la Dra. Carmen Aguado y el Dr. Rafael Vázquez. En concreto, se ha obtenido una línea celular modificada genéticamente con la deleción de 1,02 kb en el gen *CLN3*, que es la mutación más frecuente en esta enfermedad. Las líneas obtenidas presentan una morfología alterada, con inclusiones citoplasmáticas similares a las de las células de pacientes con esta variante, CLN3, de lipofuscinosis ceroidea neuronal. Estas líneas celulares, obtenidas mediante tecnología CRISPR/Cas9, podrán ser utilizadas para confirmar si las alteraciones observadas previamente por nosotros y por otros en fibroblastos de pacientes se deben a esta deleción y permitirán también profundizar más en el estudio de la enfermedad.

Continuando el trabajo sobre **retinosis pigmentaria**, hemos confirmado por PCR cuantitativa que los RNAs mensajeros mayoritarios que se unen a la proteína CERKL, implicada en esta enfermedad, son los que codifican para humanina y otros péptidos similares a la humanina (humanin-like peptides). Puesto que se ha descrito una función antiapoptótica y citoprotectora de algunos de esos péptidos, parece que CERKL desempeñaría un papel protector frente a apoptosis de las células retinales.

Finalmente, queremos destacar que este año, y junto a otros grupos de la Comunidad Valenciana, participamos en un Convenio Marco para establecer una Alianza en Investigación Traslacional en enfermedades raras (DOGV, Núm. 7654, pp. 29208-29216) y también que formamos parte de dos Unidades Mixtas sobre enfermedades raras entre el Centro de Investigación Príncipe Felipe y dos Institutos de Investigación Sanitaria en Valencia, el INCLIVA y La Fe.

Publicaciones

1. Klionsky DJ, et al. (2016). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). Autophagy. 12(1):1-222.
2. Launay N, Ruiz M, Grau L, Ortega FJ, Ilieva EV, Martínez JJ, Galea E, Ferrer I, Knecht E, Pujol A, Fourcade S (2017). Tauroursodeoxycholic bile acid arrests axonal degeneration by inhibiting the unfolded protein response in X-linked adrenoleukodystrophy. Acta Neuropathol. 133(2):283-301.
3. Lupo V, Aguado C, Knecht E, Espinós, C (2016). Chaperonopathies: spotlight on hereditary motor neuropathies. Front Mol Biosci. 3:81.
4. Macías-Vidal J, Guerrero M, Estanyol JM, Aguado C, Knecht E, Coll MJ, Bachs O (2016). Identification of lysosomal Npc1-Binding Proteins: Cathepsin D activity is regulated by NPC1. Proteomics, 16(1):150-158

Capitulos de libro:

1. Título: Proteostasis: methods and protocols. Capítulo: Isolation of lysosomes from mammalian tissues and cultured cells. Aguado C, Pérez-Jiménez E, Lahuerta M, Knecht E. (2016) Methods in molecular biology. 1449: 299-311.

Conferencias y congresos

1. Primer Congreso de Investigación Traslacional de Enfermedades Raras de la Comunidad Valenciana, Valencia. 25-26 de febrero de 2016. Conferencia: Knecht E. "Alteraciones de la autofagia en una enfermedad rara, la X-adrenoleucodistrofia".
2. Novena Reunión Anual del CIBERER. Castelldefels, Barcelona. 7-8 de marzo de 2016: Póster 1: Aguado, C., Lahuerta-Ferreres, M., Sánchez-Martín, C., Sanz, P., Knecht. "Estudio de la mitofagia en fibroblastos de pacientes de Lafora". Poster 2: León M., Torres, J., Aguado, C., Esmoris, I., García-Giménez, J.L., García-Gimeno M.A., Lahuerta-Ferreres, M., Romá-Mateo, C. Knecht, E., Pallardó, F.V., Sanz, P. "Obtención y caracterización de células madre inducidas de origen murino como sistema modelo de la enfermedad de Lafora".
3. XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Inmunología, Alicante. 5-7 de mayo de 2016. Conferencia invitada: Knecht, E. "Regulation of autophagy and alterations in rare diseases".
4. I Congreso Nacional de Biomedicina de Jóvenes Investigadores, Valencia. 28-29 de noviembre de 2016. Póster: Lahuerta, M., Knecht, E., Aguado, C. "Transport of laforin between nucleus and cytosol".
5. Workshop sobre "The History of Autophagy" organizado por la Universidad de Tübingen. Tübingen (Alemania). 14-16 de diciembre de 2016. Conferencia invitada: Knecht, E. "My basic and translational research in autophagy".

Expresión génica y metabolismo de RNA

Investigadora principal: Dra. Susana Rodríguez-Navarro

Investigadores Asociados:

- Mª Eugenia Gas López

Investigadores Predoctorales:

- Ali AbuQattam (UCV)
- Paula Oliete-Calvo
- Manuel Martín Expósito
- Carme Nuño Cabanes
- Joan Serrano Quíles

Técnicos

- Eloisa Barber

Colaboradores:

- Tamara Pujol (TFM)
- Pierre A. Heredia (FCT)
- Concepción Garcés (UPV, prácticas)
- Ángel Fenollar (UV, ADEIT)

1. Resumen

La actividad científica del grupo se centra en entender los *mecanismos moleculares que son responsables de la coordinación de las distintas etapas de la expresión génica y su posible relación con enfermedades humanas*.
Una cuestión clave en el avance del conocimiento biológico es entender cómo a partir de una misma dotación genómica, las células pueden diferenciarse, especializarse o adaptarse a distintas condiciones ambientales. El papel de la expresión génica en este proceso es fundamental. La expresión génica en células eucariotas depende de la acción coordinada de numerosos complejos multiprotéicos que actúan a distintos niveles del proceso tanto en el núcleo como en el citoplasma. Estas etapas engloban la remodelación de la cromatina, la transcripción, el procesamiento de los RNAs mensajeros y su exportación al citoplasma. Estudios realizados en la última década demuestran, sin lugar a duda, la existencia de un *acoplamiento físico y funcional entre las maquinarias responsables de las distintas etapas*. Por ello, el nuevo reto que plantea el estudio de la expresión génica es conocer los **mecanismos que a nivel molecular permiten la transición entre sus etapas**. Las líneas de investigación de mi laboratorio se enmarcan en abordar este reto. Para ello utilizamos principalmente la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo eucariota, así como cultivos celulares y pretendemos extender nuestros estudios funcionales a otros modelos animales. Las aproximaciones técnicas y metodológicas del laboratorio son principalmente las de la biología molecular, bioquímica, genética, microbiología y biología celular. Nuestras aproximaciones son de carácter molecular y celular y seguimos tanto estrategias de tipo "concreto", como estrategias de tipo "global" haciendo uso de las técnicas –omicas.

2. Resultado de la Investigación

1. Estudio de la localización subcelular de la desubicuitinasa Ubp8 *(Figura 1)*

El complejo SAGA participa en diferentes etapas de proceso de expresión génica. Durante más de una década, distintos estudios han aumentado nuestro conocimiento sobre la estructura y arquitectura de dicho complejo multiprotéico. En particular, la estructura del submodulo de desubicuitinación (DUBm) ha despertado mucho interés, ya que es necesario para la desubicuitinación de la histona H2B que es necesaria para un posterior acoplamiento con la formación y exportación de las mRNPs. Sin embargo, quedan muchas cuestiones por resolver sobre como actúa este complejo in vivo. En este trabajo hemos identificado distintos escenarios moleculares en los que liberamos el submodulo DUBm del complejo SAGA y hemos estudiado distintos fenotipos en estas condiciones. Las conclusiones más relevantes son las siguientes i) El DUBm con sus cuatro componentes (Sus1, Ubp8, Sgf11 y Sgf73) se ensambla independientemente de SAGA. ii) aunque el DUBm estas condiciones interacciona con H2B lo hace preferentemente fuera del contexto de la cromatina. iii) Spt7, participa en la localización nuclear del DUBm y en su interacción con cromatina. iv) Pese a deslocalizarse mayoritariamente al citoplasma en ausencia de Spt7, el pool minoritario nuclear de Ubp8 es suficiente para realizar su actividad enzimática in vivo, lo que sugiere que solo una fracción de la enzima nuclear es necesaria para acometer sus funciones.

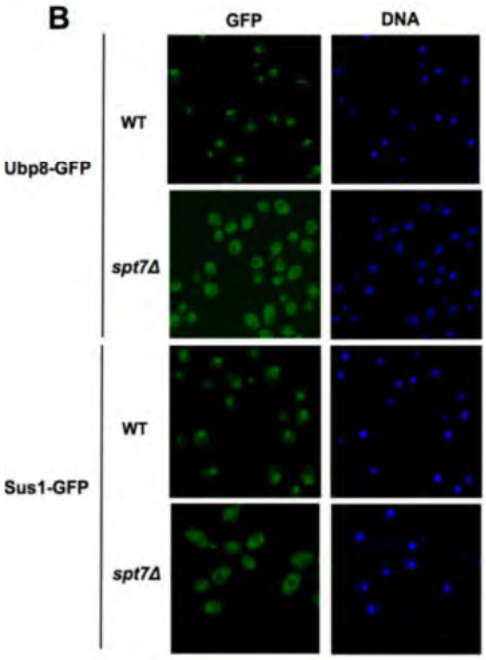


Figura 1. Nucleo-cytoplasmatic redistribution of Ubp8 and Sus1 in cells lacking SAGA structural subunit Spt7

2. La ausencia de Aim4 retrasa la salida de la MAP quinasa Hog1 del núcleo en estrés osmótico alterando la inducción transcripcional de sus genes diana *(Figure 2)*

En nuestro laboratorio identificamos Aim4 como un factor no esencial que interacciona genéticamente con Sus1 y hemos ahondado en su función celular. Hemos descubierto que Aim4 es una proteína nuclear que posee un NLS funcional donde los 3 residuos de lisina son claves para su entrada al núcleo. Mutantes aim4 muestran fenotipos severos de crecimiento y morfológicos en condiciones estándar de cultivo así como en condiciones de estrés osmótico y oxidativo. Nuestros resultados demuestran una interacción funcional entre Aim4 y el regulador de la respuesta a estrés osmótico Hog1 el homólogo en levadura de la MAP quinasa p38 humana. Hog1 es el factor clave en la ruta de señalización HOG1/p38. En presencia de choque osmótico Hog1 viaja al núcleo donde activa los genes de respuesta estrés. Experimentos realizados en el laboratorio demuestran que en ausencia de Aim4 la importación de Hog1 al núcleo está retrasada lo que concuerda con un retardo en la activación transcripcional de los genes diana de Hog1 afectando a la adaptación a distintos estreses. Parte de estos resultados se incorporaron en el TFM de Tamara Pujol codirigido por las Dras. S. Rodríguez-Navarro y ME Gas-López. Como Hog1,Aim4 y Urn1 están conservados en la evolución siendo sus homólogos humanos WBP11 y TGERG1 respectivamente. La proteína humana TGERG1 participa en transcripción y splicing de pre-mRNAs. Además se ha demostrado que interacciona con huntingtina proponiéndose un papel para la misma en la fisiopatología de la Enfermedad de Huntington (HD).

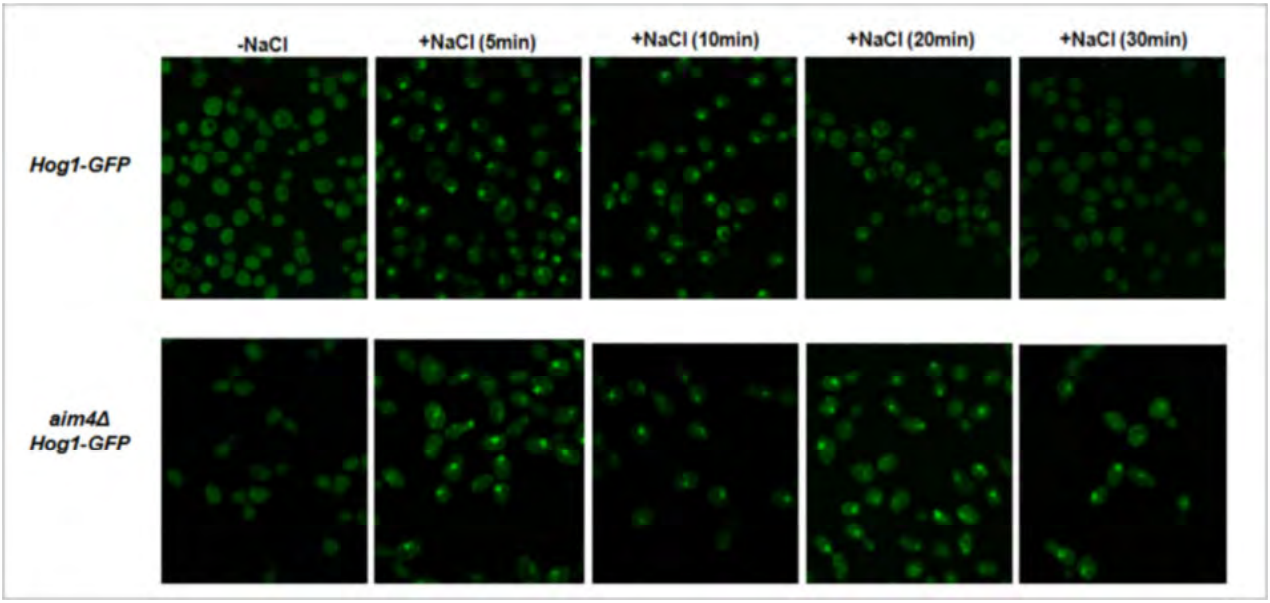


Figura 2. Nucleo-cytoplasmatic redistribution of Hog1 after osmotic stress in wild-type and aim4Δ. Samples were taken before (-NaCl) and after NaCl (+NaCl) addition at the indicated times.

3. El bloqueo en la exportación núcleo-citoplasma de transcritos no inducidos por estrés depende del complejo SAGA *(Figure 3)*

En células de levadura existen 2 complejos muy similares SAGA y SLIK que comparten todas sus subunidades a excepción de Spt8 y extremo C-terminal de Spt7, ausentes en SLIK. Aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento sobre las funciones de SAGA, se desconoce si existe algún mecanismo regulador que permita la conversión de SAGA en SLIK y si este último tiene funciones diferentes a SAGA. En el laboratorio hemos identificado la tasa de transcripción naciente (TR) detectando un aumento general en los mutantes que solo expresan SLIK. Esta mayor TR se compensa con una mayor tasa de degradación ya que la concentración relativa de transcritos no varía en estos mutantes. Estos resultados demuestran por vez primera una función específica en transcripción para estas subunidades distintivas de SAGA en el control del inicio de la

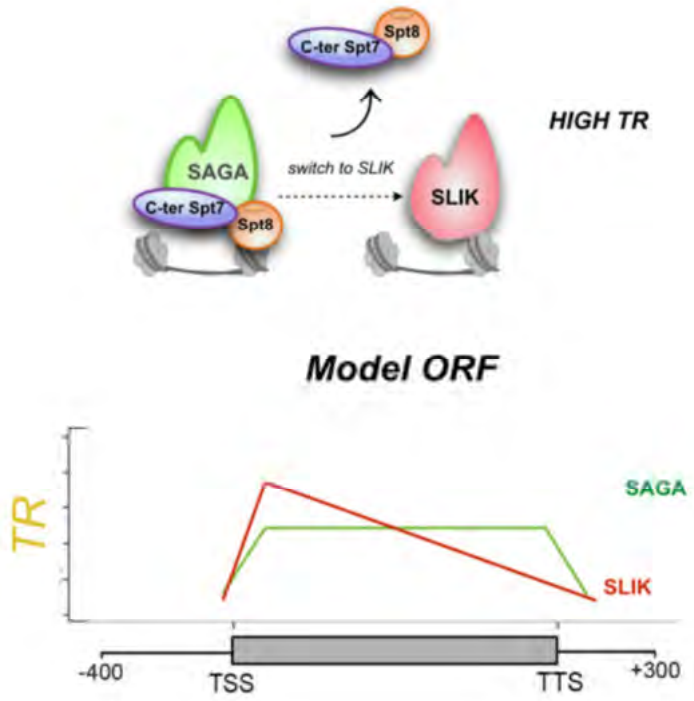


Figura 3. Yeast cells expressing only SLIK have higher transcriptional rates (TR) than the wild-type.

transcripción. Además hemos identificado que el equilibrio SAGA/SLIK podría estar regulado por componentes del complejo TREX-2 que acopla transcripción con exportación de RNAs mensajeros. En distintas situaciones de estrés, las células bloquean la salida de los transcritos que codifican para proteínas que no se necesitan en esa situación, promoviendo la salida eficiente de los transcritos específicos. Curiosamente hemos identificado un papel esencial para SAGA, pero no para SLIK en la retención de estos transcritos generales. Parte de estos resultados se incorporaron en el TFM de Carmen Nuño dirigido por la Dra. S. Rodríguez-Navarro.

Publicaciones

1. AbuQattam A, Gallego J, Rodríguez-Navarro S. "An intronic RNA structure modulates expression of the mRNA biogenesis factor Sus1". RNA 22(1) 75-86 (2016)

Estancias

1. Dra. ME Gas-López (Agosto-Noviembre 2016) Estancia como investigador, Ayudas postdoctorales GV, en el laboratorio de la Dra Maria K. Vartiainen, University of Helsinki, Helsinki (Finlandia).

Organización de Conferencias

1. I Reunión de la RED de excelencia RNA LIFE, 24 y 25 de Febrero 2016, Valencia

Conferencias y congresos

1. Invitada ponente en la Jornada de Investigadoras en Enfermedades Raras de la CV, 2 de Marzo 2016
2. Invitada ponente en el congreso: International SMBE Satellite Meeting (RNA editing)
3. Invitada ponente: Seminario Instituto de Biomedicina de Valencia 25 de Mayo 2016

4. EMBO Conference Gene transcription in yeast: From chromatin to RNA and back. Poster: *Mog1p, a new coordinator of H2B ubiquitination and mRNA export*. P. Oliete-Calvo, C. uño-Cabanes, S. Rodríguez-Navarro. Sant Feliu de Guixols, España.
5. EMBO Conference Gene transcription in yeast: From chromatin to RNA and back. Poster: *Mip6 interacts with Mex67 and targets specific mRNAs to stress-granules*. M. Martín-Expósito, M. E. Gas, J. Corden, S. Rodríguez-Navarro. Sant Feliu de Guixols, España.
6. EMBO Conference Gene transcription in yeast: From chromatin to RNA and back. Poster: *Nuclear localization and functionality of the SAGA deubiquitination module depend on Spt7*.V. García-Molinero, Mª E. Gas-López, P. Oliete-Calvo, C. Nuño-Cabanes, E. García-Oliver, S. Rodríguez-Navarro. Sant Feliu de Guixols, España.

Tesis doctorales defendidas:

1. Doctorando: Bernardo Cuenca Bono. "Identificación y caracterización de elementos reguladores de la expresión de SUS1 y nuevas funciones celulares para la proteína Sus1 en Saccharomyces cerevisiae." Directora: RODRIGUEZ NAVARRO, SUSANA. Universidad Politécnica de Valencia, UPV, 27 Enero 2016

Tesis doctorales en curso:

2. Doctorando: Ali Abuqattam. "*Factors involved in Messenger ribonucleic acid biogenesis*". Directores: S. Rodriguez Navarro & J. Gallego Sala. Universidad Politécnica de Valencia, UPV
3. Doctorando: Paula Oliete Calvo. "*Estudio del control de la expresión génica como base molecular de enfermedades raras*." Directora: S. Rodriguez Navarro. Universidad Politécnica de Valencia, UPV
4. Doctorando: Manuel Martín Expósito. "*Estudio de la función de factores implicados en la expresión génica y metabolismo del ARNm*". Directora: S. Rodriguez Navarro. Universidad de Valencia, UV
5. Doctorando: Joan Quilés Serrano. Directora: S. Rodriguez Navarro. Universidad de Valencia, UV

Otras

1. Panel de expertos: Ramon y Cajal, MINECO 2016.
2. Profesora del master biotecnología biomédica asignatura Sistemas Modelo.

Genética y genómica de enfermedades neuromusculares

Investigadora principal: Dra. Carmen Espinós

Investigadores Asociados:

- Vincenzo Lupo

Investigadores Predoctorales:

- Paula Sancho Salmerón
- Cristina Tello
- Ana Sánchez-Monteagudo

Técnicos:

- Lola Martínez Rubio

Estudiantes:

- Sandra Fernández-Rodríguez (UV)

Colaboradores:

- Isabel Hinarejos
- Antonio Collado

1. Resumen.

Las líneas de investigación de la Unidad de Genética y Genómica de Enfermedades Neuromusculares y Neurodegenerativas (http://espinos.cipf.es) se centran en la caracterización de nuevos genes y nuevas mutaciones implicados en tres grupos de patologías: enfermedad de Charcot-Marie-Tooth y neuropatías relacionadas, enfermedad de Wilson y enfermedades neurodegenerativas con acumulación en cerebro de hierro. Mediante herramientas basadas en secuenciación masiva, panel de genes y secuenciación de exoma, determinamos las causas genéticas que subyacen en estas enfermedades. Nuestra investigación es claramente traslacional y estamos interesados en el desarrollo de nuevas herramientas para el diagnóstico genético.

Los hallazgos logrados en los estudios genéticos hacen que realicemos aproximaciones para determinar la patogeneidad de los cambios identificados e investiguemos cómo la mutación afecta la función correcta de la proteína.

Además de la mutación causal, otros factores genéticos contribuyen al fenotipo y modifican la gravedad y la progresión de una enfermedad. En este sentido, trabajamos para identificar modificadores genéticos que expliquen la variabilidad intra e interfamiliar observada en algunas formas clínicas.

Con el fin de elucidar los mecanismos de enfermedad y de establecer la relación entre el gen y neuropatía trabajamos principalmente en un gen recientemente descrito implicado en una forma axonal de neuropatía de Charcot-Marie-Tooth, MORC2. Utilizamos para ello, diferentes estrategias: estudios de expresión e interactoma, entre otros.

2. Resultado de la Investigación.

Caracterización de las bases moleculares de enfermedades neurodegenerativas con acumulación cerebral de hierro (ENACH; NBIA, acrónimo en inglés).
Los trastornos NBIA comprenden un grupo de enfermedades del movimiento que presentan depósitos de hierro en el cerebro, principalmente en los ganglios basales. Se trata de enfermedades raras con una prevalencia de 1-3/1.000.000. Actualmente se conocen 10 genes relacionados con NBIAs. En el marco de un proyecto coordinado por la Dra. B. Pérez-Dueñas, investigamos las bases genéticas de las enfermedades NBIA. Contamos con una colección de 191 DNAs de pacientes y familiares pertenecientes a 96 familias. Hemos analizado las regiones codificantes de los genes más frecuentemente implicados (*PANK2* y *PLA2G6*) mediante secuenciación Sanger, y la posible existencia de grandes deleciones y/o duplicaciones mediante MLPA. Hemos logrado el diagnóstico en el 44% de los casos. Los pacientes que resultan negativos para estos análisis son analizados mediante un panel que comprende 500 genes implicados en NBIAs y patologías asociadas (ataxias, coreas, distonías, parkinson y paraparesias espásticas). Actualmente están bajo estudio 21 pacientes mediante esta metodología.

Epidemiología genética, identificación de modificadores genéticos y detección del perfil de microRNAs de la enfermedad de Wilson.
La enfermedad de Wilson (EW) es una enfermedad rara con una prevalencia estimada de 1/30.000. La investigación comprende tres objetivos: (i) Caracterizar genéticamente los pacientes con EW de la Comunitat Valenciana y ahondar en su epidemiología genética; (ii) Caracterización de modificadores genéticos que puedan contribuir al fenotipo de los pacientes Wilson; y (iii) Identificación de la firma de microRNAs que pueda actuar como biomarcador de la enfermedad útil para el pronóstico de la misma y valoración de nuevos fármacos. Esta investigación comenzó en enero de 2016 y hasta la fecha, hemos realizado el estudio genético de *ATP7B* de 44 casos índice. Este estudio comprende el análisis de las regiones codificantes, intrónicas flanqueantes y

promotora mediante secuenciación Sanger; y el estudio de grandes deleciones y duplicaciones por MLPA. Se ha logrado el diagnóstico genético en 24 casos, en 5 casos sólo se ha identificado un único cambio, y en 9 casos no se han detectado mutaciones patológicas. Los restantes casos están siendo estudiados. Los casos no concluyentes se investigarán mediante secuenciación completa del gen *ATP7B* mediante secuenciación masiva con el fin de analizar si en éstos existen mutaciones intrónicas profundas.

Bases genéticas que subyacen en la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth y neuropatías relacionadas.

Este grupo de enfermedades cursa con una amplia heterogeneidad genética: se ha descrito más de 80 genes y esta cifra no cesa de crecer. La caracterización de las bases genéticas de estas neuropatías se investiga a tres niveles: análisis gen a gen de aquéllos más frecuentemente implicados o genes candidatos mediante secuenciación de Sanger; panel de genes que posibilita el análisis de un número relevante de genes mediante secuenciación masiva (*Figura 1*); y secuenciación de exoma y con el fin de identificar nuevos genes implicados en este grupo de trastornos.

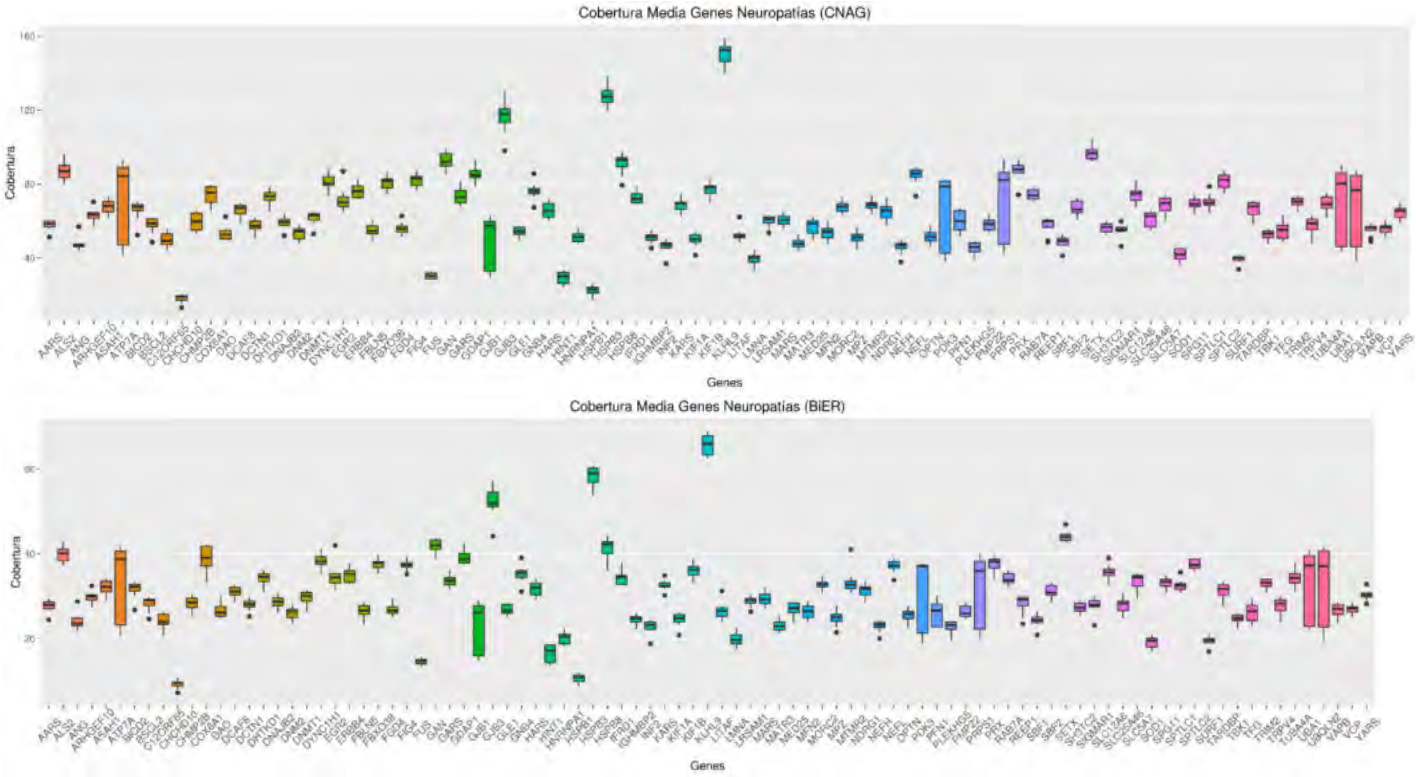


Figura 1. Distribución de la cobertura media obtenida en los pipelines del CNAG y BiER para un grupo representativo del total de genes asociados a neuropatías de interés. Los boxplots muestran las coberturas media obtenida entre ocho muestras de pacientes a quienes se secuenció el exoma. Se observa que la distribución de coberturas por gen es similar en ambos pipelines, siendo el rango de valores entre los que se sitúan las coberturas medias en el pipeline del CNAG mayor que en el BiER. Además, se detectan amplias diferencias de cobertura media entre las muestras en aquellos genes localizados en el cromosoma X, como GJB1 o ASH1, debido a la diferencia de dosis entre hombres y mujeres.

Con un carácter evidentemente traslacional, hemos diseñado e implementado herramientas para el diagnóstico genético basadas en secuenciación masiva: panel de 119 genes para la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth y neuropatías relacionadas. Este panel está disponible en el Servicio de Genómica y Genética Traslacional del CIPF. La caracterización de nuevas variantes nucleotídicas de significado incierto nos conducen a desarrollar estudios genéticos, *in silico* y funcionales con el objetivo de investigar si éstas son realmente las causantes de la enfermedad (*Figura 2*).

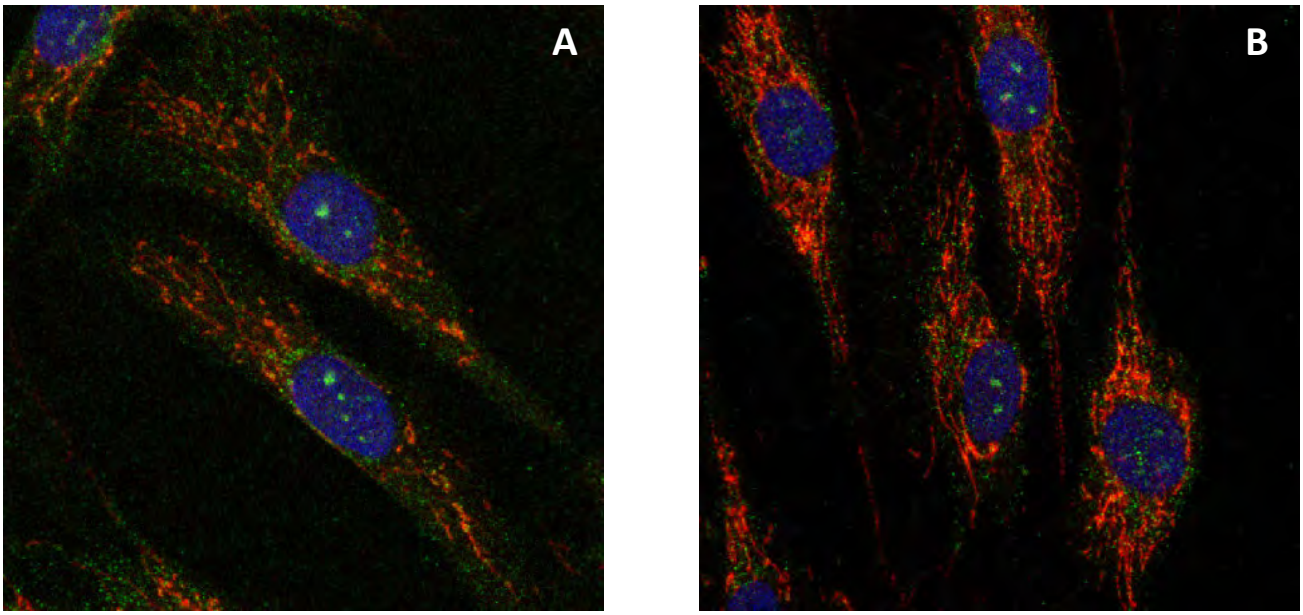


Figura 2. Caracterización de la expresión de una mutación implicada en una neuropatía hereditaria motora. Inmunofluorescencia de fibroblastos de un control (A) y de un paciente (B) que es portador de una mutación en el gen AIFM1. En azul DAPI (marcador de núcleos), en verde AIFM1, y en rojo Tomm20 (marcador de mitocondrias). Se aprecia que AIFM1 se expresa en citoplasma, núcleo y en mitocondria. Además, se observa que el paciente presenta fragmentación de mitocondrias comparado con el control.

Caracterización del gen MORC2 implicado en una nueva forma de Charcot-Marie-Tooth (CMT).

En colaboración con los Dres. T. Sevilla y F. Palau, describimos el gen *MORC2* implicado en una nueva forma CMT tipo axonal, CMT2Z. Actualmente tenemos censadas siete familias con mutaciones en *MORC2* y en otras series, se han detectado más familias, de forma que este gen es relativamente frecuente en formas axonales de CMT. Con el fin de investigar cómo mutaciones en *MORC2* conducen a una neuropatía axonal, hemos demostrado que se expresa en sistema nervioso periférico (SNP) de ratón. A nivel celular, hemos detectado que se expresa en el axoplasma de los axones periféricos y en células de Schwann, empleando como marcadores SMI-321 (neurofilamento) y MBP (mielina compacta). Trabajando con biopsia de piel de pacientes, hemos observado que la expresión de MORC2 colocaliza con SMI-321 con una expresión más marcada en el paciente respecto al control sano. Hemos investigado la expresión temporal de Morc2 observando que está sometida a una regulación estricta de expresión, lo que indicaría que Morc2 podría jugar un papel en la diferenciación de los nervios periféricos. Continuamos trabajando en la caracterización histopatológica de Morc2 y en determinar su función mediante arrays de expresión y la generación de su interactoma.

Publicaciones

1. Sevilla T#, Lupo V#, Martínez-Rubio D, Sancho P, Sivera R, Chumillas MJ, García-Romero M, Pascual-Pascual SI, Muelas N, Dopazo J, Vílchez JJ, Palau F§, Espinós C§*. Mutations in the MORC2 gene cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. Brain 2016; 139:62-72. (#,§These authors have contributed equally; *Corresponding author).

2. Lupo V, García-García F, Sancho P, Tello C, García-Romero M, Villarreal L, Alberti A, Sivera R, Dopazo J, Pascual-Pascual SI, Márquez-Infante C, Casasnovas C, Sevilla T, Espinós C*. Assessment of targeted next generation sequencing as a tool for the diagnosis of Charcot-Marie-Tooth and hereditary motor neuropathy. J Mol Diagn 2016 Mar;18(2):225-34 (*Corresponding author).

3. Frasquet M, Chumillas MJ, Vílchez JJ, Márquez-Infante C, Palau F, Vázquez-Costa JF, Lupo V, Espinós C, Sevilla T. Phenotype and natural history of inherited neuropathies caused by HSJ1 c.325+1G⇢A mutation. J Neurol Neurosurg Ps 2016; 87: 1265-8.

4. Yubero D, Montero R, Martín MA, Montoya J, Ribes A, Grazina M, Trevisson E, Rodriguez-Aguilera JC, Hargreaves IP, Salviati L, Navas P, Artuch R; CoQ deficiency study group, Jou C, Jimenez-Mallebrera C, Nascimento A, Pérez-Dueñas B, Ortez C, Ramos F, Colomer J, O'Callaghan M, Pineda M, García-Cazorla A, Espinós C, Ruiz A, Macaya A, Marcé-Grau A, Garcia-Villoria J, Arias A, Emperador S, Ruiz-Pesini E, Lopez-Gallardo E, Neergheen V, Simões M, Diogo L, Blázquez A, González-Quintana A, Delmiro A, Domínguez-González C, Arenas J, García-Silva MT, Martín E, Quijada P, Hernández-Laín A, Morán M, Rivas Infante E, Ávila Polo R, Paradas Lópe C, Bautista Lorite J, Martínez Fernández EM, Cortés AB, Sánchez-Cuesta A, Cascajo MV, Alcázar M, Brea-Calvo G. Secondary coenzyme Q10 deficiencies in oxidative phosphorylation (OXPHOS) and non-OXPHOS disorders. Mitochondrion 2016; 30: 51-8.

5. Lupo V, Aguado C, Knecht E, Espinós C*. Chaperonopathies: spotlight on hereditary motor neuropathies. Front Mol Biosci 2016; 3:81. http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2016.00081 (Review; *Corresponding author)

Conferencias y Congresos

Comunicaciones Orales

1. Sivera R, Frasquet M, García-Sobrino T, Pardo J, Fernández-Torrón R, López de Munaín A, Márquez-Infante C, Rojas-García R, Segovia S, Nascimiento A, Córtez C, García M, Pascual-Pascual SI, Guerrero-Sola A, Casasnovas C, Esteban J, Vázquez-Costa FJ, Barreiro M, Chumillas MJ, Díaz C, Palau F, Vílchez JJ, Espinós C, Sevilla T (2016) GDAP1 mutations in Spain: a nation wide study. The 2nd Congress of the European Academy of Neurology. Copenhagen, Denmark.

2. Darling A, Garrido C, Aguilera S, Tomás-Vila M, Gastón I, Madruga M, González-Gutiérrez L, Ramos-Lizana J, Pujol M, Tustin K, Lin JP, Martorell L, Tello C, Lupo V, Espinós C, Stefanis L, Sanz L, Gutiérrez F, García PJ, Vela L, Temudo T, Pons R, Martí MJ, Pérez-Dueñas B (2016) Pantotenate-kinase associated neurodegeneration (PKAN): proposal dor a clinical rating scale. The MDS 20th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. Berlín , Germany.

3. Sancho P, Lupo V, Sevilla T, Vílchez JJ, Palau F, Chrast R, Espinós C (2016) Mutations in MORC2 gene cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. The 6th International Charcot-Marie-Tooth and related neuropathy Consortium (CMTR) meeting. Venice-Mestre, Italy.

4. Aguilera S, Gastón I, Darling A, Tello C, Lupo V, Espinós C, Jarauta F, Soriano G, Timiraos JJ, Pérez-Dueñas B (2016) Neurodegeneración asociada a pantotenato quinasa (PKAN): perfil clínico atípico en pacientes con mutación c.1583C⇢T en homocigosis. XXXIX pantotenato quinasa (PKAN): perfil clínico atípico en pacientes con mutación c.1583C⇢T en homocigosis. XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología Pediátrica. Toledo, españa.

5. Lupo V, Sánchez-Monteagudo A, Barreiro M, Frasquet M, Sevilla T, Espinós C (2016) Secuenciación masiva de 105 genes asociados a neuropatías periféricas hereditarias. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.
6. Sánchez-Monteagudo A, Lupo V, Martínez I, Sastre I, Berenguer M, Espinós C (2016) Epidemiología clínica y molecular de la enfermedad de Wilson. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.
7. Tello C, Lupo V, Darling A, Pérez-Dueñas B, Espinós C (2016) Bases genéticas de enfermedades neurodegenerativas con acumulación cerebral de hierro en población española. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.
8. Sivera R, Frasquet M, Barreiro ML, García-Sobrino T, Pardo J, Fernández R, López de Munaín A, Márquez-Infante C, Rojas R, Segovia S, Illa I, Lia A, Nascimiento AE, Órtez CI, García-Romero M, Pasual-Pascual SI, Berciano J, Lara A, Guerrero A, Casasnovas C, Esteban J, Díaz C, Camacho A, Chumillas MJ, Vázquez JF, Vílchez JJ, Lupo V, Palau F, Espinós C, Sevilla T (2016) Mutaciones en GDAP1 en España. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.
9. García-Romero M, Lupo V, Espinós C, Pascual-Pascual SI (2016) Neuropatía sensitivo-motora axonal por IGHMBP2: presentación de tres casos. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.
10. Frasquet M, Lupo V, Soler-Algarra S, Espinós C, Sevilla T (2016) Descripción de un paciente afecto de síndrome de PHARC (polyneuropathy, hearing loss, ataxia, retinitis pigmentosa and cataract) con nueva mutación en homozigosis en el gen ABHD12. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.

Comunicaciones Escritas

11. Darling A, Aguilera S, Poó P, O'Callaghan M, Nascimiento A, Candau R, Madruga M, Camino R, Tomás M, Jiménez-Escrig A, Garrido C, Tello C, Lupo V, Temudo T, Espinós C, Pérez-Dueñas B (2016) PLA2G6-associated neurodegeneration (PLAN): Clinical spectrum and genetic characterization by means of a Spanish Multi-Centre Research Network. 14th International Child Neurology Congress. Amsterdam , Holanda.
12. Tello C, Lupo V, Darling A, Pérez-Dueñas B, Espinós C (2016) Genetic basis of neurodegeneration with brain iron accumulation in Spanish population. The European Human Genetics Conference. Barcelona.
13. Frasquet M, Barreiro M, Sivera R, Vázquez-Costa FJ, Espinós C, Álamo-Arenas A, Sevilla T. (2016) Description of a Family with autosomal dominant spastic paraparesis and peripheral neuropathy caused by a novel KIF1A mutation. The 2nd Congress of the European Academy of Neurology. Copenhagen, Denmark.
14. Frasquet M, Muelas N, Sivera R, Barreiro M, Vázquez-Costa JF, Chumillas MJ, Espinós C, Lupo V, Sevilla T (2016) Description of a cluster ofpatients with the HSPB1 p.R140G mutation. The 6th International Charcot-Marie-Tooth and related neuropathy Consortium (CMTR) meeting. Venice-Mestre, Italy.
15. Barreiro M, Sivera R, Casasnovas C, Márquez C, Pascual SI, Frasquet M, Alberti MA, Homedes C, Villarreal L, García-Romero M, Arpa J, Vázquez-Costa JF, Chumillas MJ, Vílchez JJ, Lupo V, Palau F, Espinós C, Sevilla T (2016) Genetic distribution in the Spanish TREAT-CMT Consortium. The 6th International Charcot-Marie-Tooth and related neuropathy Consortium (CMTR) meeting. Venice-Mestre, Italy.

16. Lupo V, Sanchis C, Sánchez-Monteagudo A, Domínguez C, Camacho A, Espinós C (2016) Novel AIFM1 mutation causes anb early childhood onset polyneuropathy with exclusive motor involvement. The 6th International Charcot-Marie-Tooth and related neuropathy Consortium (CMTR) meeting. Venice-Mestre, Italy.
17. Sivera R, Frasquet M, Barreiro M, García-Sobrino T, Pardo J, Fernández R, López de Munaín A, Márquez C, Rojas R, Segovia S, Nascimiento A, Córtez C, Lia A, García-Romero M, Pascual SI, Berciano J, Pelayo AL, Guerrero A, Casasnovas C, Esteban J, Díaz C, Camacho A, Chumillas MJ, Vázquez-Costa JF, Vílchez JJ, Lupo V, Espinós C, Palau F, Sevilla T (2016) Ganglioside induced differentiation associated protein 1 mutations in Spain, a nationwide study. The 6th International Charcot-Marie-Tooth and related neuropathy Consortium (CMTR) meeting. Venice-Mestre, Italy
18. Soldevilla B, Cuevas-Martín C, Ibáñez C, Alberti MA, Simó C, Santacatterina F, Casasnovas C, Márquez C, Sevilla T, Pascula SI, Sánchez-Aragó M, Espinós C, Palau F, Cuezva JM, the TREAT-CMT Consortium (2016) Plasma-metabolite and skin-protein signatures of CMT1A provide molecular markers of disease and suggest future therapeutic interventions. The 6th International Charcot-Marie-Tooth and related neuropathy Consortium (CMTR) meeting. Venice-Mestre, Italy.
19. Vázquez-Costa JF, Frasquet M, Sánchez-Monteagudo A, Espinós C, Sevilla T (2016) The SOD1 c.65A→G mutation causes a distal hereditary motor neuropathy phenotype. The 27th International Symposium on ALS/MND. Dublin, Ireland.
20. Sivera R, Frasquet M, Barreiro M, García-Sobrino T, Pardo J, Fernández R, López de Munaín A, Márquez-Infante C, Rojas R, Segovia S, Nascimiento A, Córtez C, García-Romero M, Pascual-Pascual SI, Guerrero A, Cassnovas C, Esteban J, Chumillas MJ, Espinós C, Palau F, Vílchez JJ, Sevilla T. Características e historia natural de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth por mutaciones del gen GDAP1. IX Reunión Anual CIBERER. Castelldefells, 7-8 de marzo de 2016.
21. Tello C, Lupo V, Darling A, Pérez-Dueñas B, Espinós C. Genetic basis of neurodegeneration with brain iron accumulation in Spanish population. I National Congress of Young Researchers in Biomedicine – III Congress of Biomedicine of PhD students. Valencia, 28-29 de noviembre de 2016.
22. Sánchez-Monteagudo A, Lupo V, Martínez I, Sastre I, Berenguer M, Espinós C. Clinical and molecular epidemiology of Wilson's disease. I National Congress of Young Researchers in Biomedicine – III Congress of Biomedicine of PhD students. Valencia, 28-29 de noviembre de 2016.
23. Sancho P, Lupo V, Sevilla T, Vílchez JJ, Palau F, Chrast R, Espinós C. The role of MORC2 in axonal Charcot-Marie-Tooth. I National Congress of Young Researchers in Biomedicine – III Congress of Biomedicine of PhD students. Valencia, 28-29 de noviembre de 2016.
24. Lupo V, Sanchis C, Sánchez-Monteagudo A, Domínguez C, Camacho A, Espinós C (2016) Mutación novel en AIFM1 causa una polineuropatía axonal con afectación exclsuivamente motora. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.
25. Frasquet M, Vílchez JJ, Sivera R, Barreiro ML, Vázquez-Costa JF, Palau F, Chumillas MJ, Lupo V, Álamo A,Espinós C, Sevilla T (2016) Descripción de una familia con neuropatía periférica y paraparesia espástica causada por una mutación novel en el gen KIF1A. LXVII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología. Valencia.

Ponencias

26. Espinós C. "Descubriendo genes de enfermedades raras". IV Congreso de Investigación Biomédica (CIB), organizado por la Facultad de Medicina y Odontología de la Universitat de València. Valencia, 10-12 de febrero de 2016.
27. Espinós C. "Genética y Fisiopatología de EERR". 1º Congreso de Investigación Traslacional de EERR de la Comunidad Valenciana. Valencia, 25-26 de febrero de 2016.
28. Espinós C. "Enfermedad de Wilson y ENACH: Enfermedades con acumulación de metales". Jornada por el día mundial de las Enfermedades Raras: "Las Enfermedades Raras una visión global: La oportunidad de ser visibles", organizado por la Fundación por el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica (FISABIO). Valencia, 29 de febrero de 2016.
29. Espinós C. "Genes y modificadores genéticos de neuropatías periféricas hereditarias". Sesión de la Unidad de Genética del Hospital U. i P. La Fe. Valencia, 7 de abril de 2016.
30. Espinós C. "Modificadores genéticos como respuesta a la variabilidad fenotípica en las enfermedades rares". Instituto de Enfermedades Minoritarias. Valencia, 13 de octubre de 2016.
31. Lupo V. "Complejidad clínico-genética de las neuropatías periféricas hereditarias". Sesión de la Unidad de Genética del Hospital U. i P. La Fe. Valencia, 20 de octubre de 2016.

Tesis doctorales defendidas

1. Doctorando: Eduardo L. Calpena Corpas. *"Bases genéticas y Fisiopatología Celular de la Neuropatía de Charcot-Marie-Tooth."* Directores: Carmen Espinós y Francesc Palau. Universidad de Valencia, Facultad de Biotecnología. 21 de marzo de 2016. Calificación: Sobresaliente cum laude.

Tesis doctorales en curso

1. Doctorando: Paula Sancho Salmerón. "*Caracterización de MORC2, nexo de unión de neuropatías hereditarias sensitivo-motoras."* Directores: Carmen Espinós y Vincenzo Lupo. Universitat de València, Facultad Bioquímica y Ciencias Biomédicas
2. Doctorando: Cristina Tello Vicente. "*Bases genéticas de enfermedades neurodegenerativas con acumulación cerebral de hierro.*" Directores: Carmen Espinós y Vincenzo Lupo. Universitat de València, Facultad de biológicas.
3. Doctorando: Ana Sánchez Monteagudo. "*Clínica y epidemiologia molecular de la enfermedad de Wilson."* Directores: Carmen Espinós y Vincenzo Lupo. Universitat Politècnica de València , Facultad de Biotecnología

Modificación del RNA y enfermedades mitocondriales

Investigadora principal: Dra. Mª Eugenia Armengod

Investigadores Asociados:

- Magda Villarroya
- Salvador Meseguer
- Carmen Navarro González

Investigadores Predoctorales:

- Rachid Boutoual

Técnicos

- María Paz Rubio Rodríguez

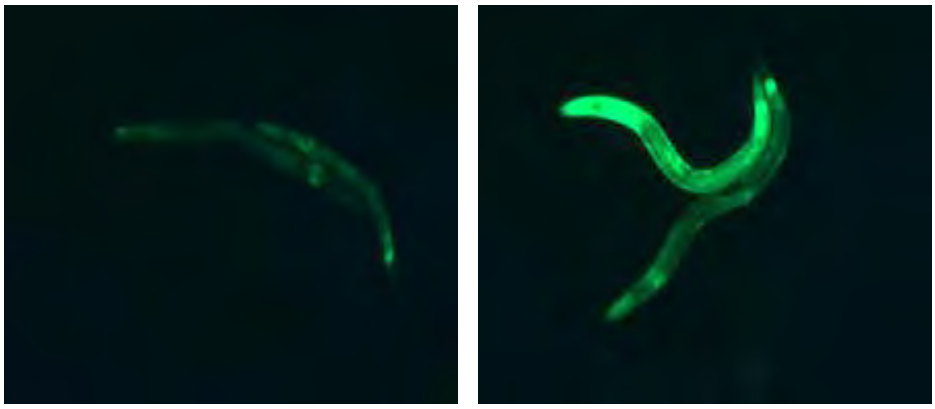
1. Resumen.

Las mitocondrias son orgánulos bioenergéticos y biosintéticos críticos de las células eucariotas. Por medio de la fosforilación oxidativa (OXPHOS) proporcionan la mayoría del ATP celular; por medio del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (ciclo TCA o ciclo de Krebs) y de la -oxidación de los ácidos grasos proporcionan metabolitos y equivalentes reductores (NADH y $FADH_2$) necesarios para multitud de reacciones, incluyendo las implicadas en la OXPHOS. La coordinación entre mitocondria y núcleo se logra mediante rutas de señalización anterógradas (núcleo-mitocondria) y retrógradas (mitocondria-núcleo). Estas últimas dependen de la homeostasis de metabolitos (tales como ROS, Ca^{2+}, ATP/AMP, NAD/NADH) y proteínas (como las que constituyen el sistema OXPHOS). El conocimiento que tenemos de las rutas de señalización retrógrada es muy limitado, aunque hay cada vez más evidencias de que esas rutas juegan un papel crucial en los mecanismos moleculares que subyacen en las enfermedades asociadas con la disfunción de la fosforilación oxidativa. Dilucidar estas rutas puede ayudar a diseñar estrategias terapéuticas racionales para estas enfermedades que carecen de tratamientos específicos.

2. Resultado de la Investigación

Línea 1: Utilización del nemátodo Caenorhabditis elegans como modelo animal para estudiar los patomecanismos de enfermedades humanas debidas a mutaciones en los genes TRMU, GTPBP3 y MTO1.

El sistema OXPHOS está constituido por más de un centenar de proteínas agrupadas en cinco complejos (CI-CV), embebidos en la membrana interna mitocondrial, y dos transportadores de electrones, Coenzima Q y citocromo *c*. El genoma mitocondrial codifica 13 subunidades claves del sistema OXPHOS y los dos rRNAs y 22 tRNAs necesarios para la síntesis intramitocondrial de proteínas. El resto de factores necesarios para esta síntesis (5S RNA, proteínas ribosomales, factores de elongación, aminoacil-sintetasas, proteínas modificadoras de los RNAs mitocondriales, etc) son codificados por el núcleo. En consecuencia, mutaciones tanto en el genoma mitocondrial (mtDNA) como nuclear (nDNA) afectan la síntesis mitocondrial de proteínas y producen enfermedades que cursan con defectos OXPHOS y, curiosamente, con una gran variedad de fenotipos. Precisamente, no se comprende por qué si una traducción mitocondrial defectuosa es la causa común de todas estas enfermedades, las manifestaciones clínicas son



A B

Figura 1. Diferencias en la expresión de la chaperona mitocondrial HSP-6 en una cepa de C. elegans silvestre (A) y en un mutante GTPBP3 (B).

diferentes. Nuestro grupo estudia las enfermedades ligadas a mutaciones en los genes nucleares *TRMU*, que causan fallo hepático infantil agudo, y *GTPBP3* y *MTO1*, que causan cardiomiopatía infantil con acidosis láctica y, en un 50% de casos, trastornos neurológicos.
Es importante decir que los tres genes están conservados evolutivamente desde bacterias a humanos. A partir de los datos obtenidos con bacteria y levaduras, se asume que las proteínas GTPBP3 y MTO1 forman un complejo que introduce un grupo taurinometil en la posición 5 de la uridina de tambaleo (U34) en los tRNAs mitocondriales (mt-tRNAs) que descodifican Lys, Glu, Gln, $Leu^{(UUR)}$ y Trp. La proteína TRMU se encarga de introducir un grupo tiol en la posición 2 de la U34 en los mt-tRNAs que descodifican Lys, Glu y Gln. Ambas modificaciones optimizan la función de los mt-tRNAs en la síntesis mitocondrial de proteínas. Sin embargo, se desconoce por qué las mutaciones *TRMU* producen fallo renal mientras que las mutaciones *GTPBP3* y *MTO1* producen fallo cardiaco.

Nosotros hemos utilizado cepas de *C. elegans* portadoras de mutaciones (en homozigosis) que inactivan cada uno de los genes mencionados. Nuestros resultados indican que mientras que cada uno de los tres mutantes simples exhibe una disfunción OXPHOS relativamente suave, las mutaciones en los ortólogos de *GTPBP3* y *MTO1* causan cambios en la expresión de genes metabólicos y de respuesta a estrés que son diferentes a los producidos por las mutaciones *TRMU*. Estos datos sugieren que la señalización retrograda promueve una reprogramación metabólica que es específica para cada defecto (hipomodificación de la posición 2 o 5 de la U34). Esta reprogramación es capaz de rescatar parcialmente la disfunción OXPHOS de los simples mutantes estimulando el flujo de electrones del ciclo TCA a través del CII. Sin embargo, hay un coste biológico ya que los mutantes tienen fertilidad disminuida y termosensibilidad y, en el caso del mutante TRMU, un ciclo reproductivo más largo. Además, hemos demostrado que los dobles mutantes TRMU/GTPBP3 y TRMU/MTO1 muestran defectos de crecimiento muy severos y esterilidad. Los modelos animales construidos apoyan la idea de que los estados patológicos en humanos se pueden desarrollar no como consecuencia directa de un defecto bioenergético sino de la respuesta mal-adaptativa al estado de hipomodificación de los tRNAs. Postulamos que el rol jugado por las modificaciones introducidas por TRMU, por un lado, y GTPBP3 y MTO1, por otro, es diferente y su defecto tiene consecuencias diferentes en la síntesis mitocondrial de proteínas, por lo que las señales retrógradas que se generan y la reprogramación de la expresión nuclear también son diferentes.

Colaboraciones: Dr. Simon Tuck (Umeå University, Umeå, Sweden).

Línea 2: Mecanismos moleculares de enfermedades debidas a mutaciones en el genoma mitocondrial: rol de microRNAs y de las enzimas modificadoras de mt-tRNAs.

Las enfermedades mitocondriales debidas a mutaciones en el genoma mitocondrial (mtDNA) son heterogéneas en sus manifestaciones clínicas pero, por lo general, incluyen disfunción de la fosforilación oxidativa (OXPHOS). Los mecanismos por los que la disfunción OXPHOS contribuye al fenotipo implican, además de un déficit energético, una respuesta mal-adaptativa a la señalización retrógrada mitocondria-núcleo. Hemos utilizado cinco modelos cíbridos diferentes de enfermedades mtDNA para demostrar que: 1) cada mutación genera una respuesta al estrés proteostático diferente; 2) la expresión de las enzimas modificadoras de mt-tRNAs TRMU, GTPBP3 y MTO1, codificadas por el núcleo, está alterada en todos los modelos celulares y varía de manera específica dependiendo de la mutación, lo que afecta al estado de modificación de los mt-tRNAs. Además, hemos demostrado que la expresión de estas enzimas está regulada por microRNAs que se inducen como respuesta a señales retrógradas, tales como ROS y Ca^{2+}, a través de diferentes rutas. Nuestros datos sugieren que esta regulación es parte de una respuesta celular para afrontar un desequilibrio estequiométrico entre las subunidades OXPHOS codificadas por el mtDNA y el nDNA y que es la causa del estrés proteostático observado en todos los modelos de enfermedad analizados. Sin embargo, la respuesta mediada por los microRNAs no es capaz de proporcionar una protección completa frente a la disfunción OXPHOS. Más bien parece agravar el

fenotipo ya que el tratamiento con antagonistas de los microRNAs mejora el estado energético de las células, lo cual abre la posibilidad de usar los microRNAs como dianas terapéuticas en este tipo de enfermedades.

Colaboraciones: Dra. Elena García-Arumí (Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, y CIBER de Enfermedades Raras); Dr. Julio Montoya (Universidad de Zaragoza, Zaragoza, y CIBER de Enfermedades Raras.

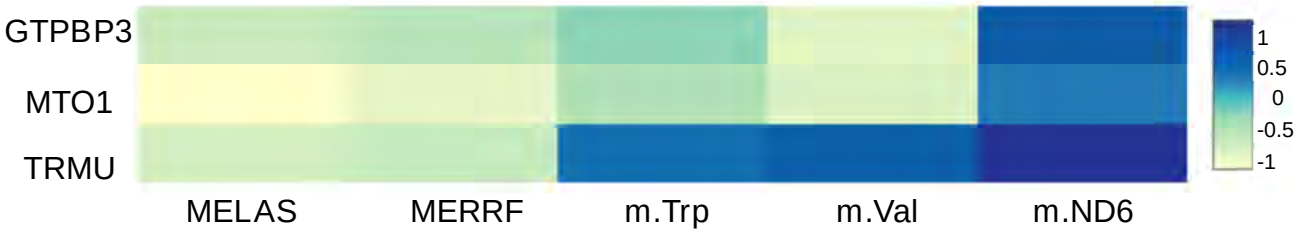


Figura 2. Expresión de las proteínas modificadoras de mt-tRNAs en las líneas celulares portadoras de las mutaciones en el mtDNA que se indican.

Publicaciones

1. Cervera J, Meseguer S, Mafe S. The interplay between genetic and bioelectrical signaling permits a spatial regionalisation of membrane potentials in model multicellular ensembles. Sci Rep. 2016 Oct 12;6:35201. doi: 10.1038/srep35201.

Conferencias y congresos

1. Congreso: VII Reunión de la Red Temática Española de RNA. Comunicación Oral: microRNA control of mitochondrial-tRNA modification in mechanisms of disease and stress-response. S. Meseguer*; A. Martínez-Zamora; M. Villarroya; R. Boutoual; E. García-Arumí; J. Montoya; ME. Armengod. (*Oral presenter). 02-03 jun 016. Madrid.
2. VII Reunión de la Red Temática Española de RNA. Poster: Adaptive and maladaptive responses triggered by defects in mitochondrial tRNA modifying enzyme MTO1. R. Boutoual*; S. Meseguer; M. Villarroya; M A. Martín; ME. Armengod (*Poster presenter). 02-03 jun 016 Madrid.
3. I Congreso de Investigación Translacional de enfermedades Raras de la Comunidad Valenciana. Invited/keynote talk. Enfermedades mitocondriales asociadas con defectos en la modificación de los tRNAs . ME. Armengod*, S. Meseguer; A. Martínez-Zamora, M. Villarroya, R. Boutoual, R. Ruiz-Partida, S. Pardo.(*Oral presenter). 25-26 feb 2016. Valencia.
4. IX REUNIÓN ANUAL DEL CIBERER. Comunicación Oral: Regulation of mitochondrial-tRNA modification enzymes by microRNAs: role in mechanisms of OXPHOS disease. S. Meseguer*, A. Martínez-Zamora; M. Villarroya, R. Boutoual, C. Aguado, E. Knecht and M.-E. Armengod. (*Oral presenter). 07-08 mar 2016. Castelldefels, Catalunya.
5. 5th Spanish Worm Meeting. Comunicación Oral: ''Consequences of mitochondrial tRNA hypomodification in C. elegans: mitochondrial dysfunction, penetrant sterility, developmental arrest and lifespan extension". C. Navarro, I. Moukadiri, E. López, S. Tuck, ME. Armengod (Salamanca, España)

6. 2016 Satellite Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution. Invited/keynote talk: Stress response mediated by mitochondrial-tRNA modification enzymes and their microRNA regulators. S. Meseguer*, A. Martínez-Zamora, M. Villarroya, R. Boutoual and; ME. Armengod (*Oral presenter). 17-20 may 2016. Valencia, España.
7. 2016 Satellite Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution. Poster: Understanding the pathogenic effects of clinical MTO1 mutations using the bacterial tRNA modification enzyme MnmG. M. Villarroya*, R. Ruiz-Partida, R. Boutoual, S. Meseguer; ME. Armengod (*Poster presenter). 17-20 may 2016. Valencia, España.
8. 2016 Satellite Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution. Poster: Adaptive and maladaptive responses triggered by MTO1-dependent hypomodification of mitochondrial tRNAs. R. Boutoual*, S. Meseguer, M. Villarroya, MA. Martín, ME. Armengod (*Oral presenter). 17-20 may 2016. Valencia, España.

Tesis doctorales en curso:

1. Doctorando: María José Garzón Garzón. *"Caracterización bioquímica y funcional de MnmC, una proteína modificadora de tRNAs de Escherichia coli"*. Directora: Dra. M.Eugenia Armengod González. Universidad de Valencia, UV. Manuscritos en preparación.

Neuroendocrinología molecular

Investigadora principal: Dra. Deborah Burks
Co-Investigador principal: Luke Noon, Investigador Ramon y Cajal (CIBERDEM)

Investigadores Asociados:

- Carlos Acosta Umanzor (CIBERDEM)
- Amparo Galán Albiñana

Investigadores Predoctorales:

- Fatima Manzano Nuñez (CIBERDEM)
- Maria Jose Arambul (CIBERDEM)

Técnicos:

- Aránzazu Leal Tassias

Colaboradores:

- Anna Quirant Pellin (TFM,UPV)
- Alberto Martinez Miralles, (TFG)
- Lidia Almenara (TFG)

1. Resumen

La investigación del Laboratorio de Endocrinología Molecular se centra en el papel de la insulina y del receptor de transducción de señal IGF-1 en la regulación de varios sistemas fisiológicos, con el objetivo principal de comprender cómo los defectos en la transducción de señal pueden provocar enfermedades humanas tales como la obesidad, diabetes, enfermedades hepáticas, y neurodegeneración. Nuestra investigación se centra en las proteínas sustrato receptor de insulina (insulin receptor substrate; IRS) que son las principales dianas intracelulares del receptor de insulina activado. La pérdida de Irs2 tanto en humano como en ratón está asociado con una reducción de la masa de células beta pancreáticas y la aparición de resistencia periférica a insulina, señas de identidad de la diabetes de tipo 2. En estudios realizados con el modelo de ratón portador de la mutación (Knockout) de Irs2, se ha comprobado que esta molécula juega un papel clave en el desarrollo y función del cerebro, ya que la deficiencia de Irs2 causa una disminución del desarrollo del tamaño del cerebro. Además, hemos observado que en los cerebros adultos la ausencia de IRS2 da lugar a una acumulación de tau fosforilado, característica de los ovillos neurofibrilares, asociada con la enfermedad de Alzheimer, y consistente con la hipótesis de que los defectos en la acción de la insulina pueden ocasionar trastornos neurodegenerativos. Nuestra meta es utilizar la información de los estudios de investigación básica de señalización de la insulina para comprender las enfermedades metabólicas. El desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para prevenir y tratar la obesidad y la diabetes es una prioridad del sistema de salud pública.

2. Resultado de la investigación

Los cambios de sensibilidad de nuestros tejidos a insulina y al factor de crecimiento tipo-insulina (insulin-like growth factor 1; IGF1) están asociados con la edad, enfermedades metabólicas, y cáncer. Utilizando el hígado como órgano modelo, nuestro grupo de investigación ha estudiado el patrón celular de este eje insulina/IGF1 para poder testar la influencia en homeostasis del tejido, la respuesta a daño celular y tisular, y la desregulación de estos procesos en enfermedades metabólicas y hepatocarcinogénesis provocados por cambios locales en la sensibilidad a estos factores de crecimiento. Tanto en la obesidad como en la diabetes de tipo II, en las que la alteración de la vía de señalización insulina/IGF1 tiene un papel clave en implicaciones patogénicas, se aumenta el riesgo de enfermedad hepática crónica y carcinoma hepatocelular (HCC), la tercera causa de muerte por cáncer a nivel mundial. No obstante, se conoce muy poco sobre responden, o están influenciadas, las células madre (stem) hepáticas en el parénquima dañado a alteraciones sistémicas en la señalización de insulina/IGF que ocurre en pacientes obesos o diabéticos. Para estudiar la respuesta de las células madre a factores de crecimiento metabólico, hemos desarrollado una serie de herramientas moleculares nuevas que nos permiten visualizar y estudiar aspectos clave de la vía de señalización de insulina/IGF a nivel celular. De esta forma, estamos utilizando estas nuevas herramientas en combinación con las técnicas clásicas de citometría de flujo del CIPF y plataformas de análisis de imagen de alta densidad para descubrir nuevos aspectos de cómo la señalización de insulina/IGF1 y la resistencia a insulina puede afectar a la capacidad de supervivencia, proliferación y diferenciación de las células madre. En este sentido, estamos estudiando la respuesta de células “stem-like” en el contexto de HCC a insulina/IGF1 y como el patrón espacial de sensibilidad a insulina/IGF1 puede subyacer en la heterogeneidad de este neoplasma incurable, la influencia en el destino celular, la resistencia a terapias químicas, el crecimiento tumoral y la supervivencia celular. Nuestro trabajo de investigación también pretende explorar el papel de la vía de insulina/IGF1 en la diferenciación de novo de células madre humanas pluripotentes a hepatocitos, las células funcionales del hígado. El trasplante de hepatocitos parece una alternativa potencial segura al transplante de hígado, por lo que estamos trabajando para optimizar las estrategias actuales que generen este tipo de células para aplicaciones terapéuticas.

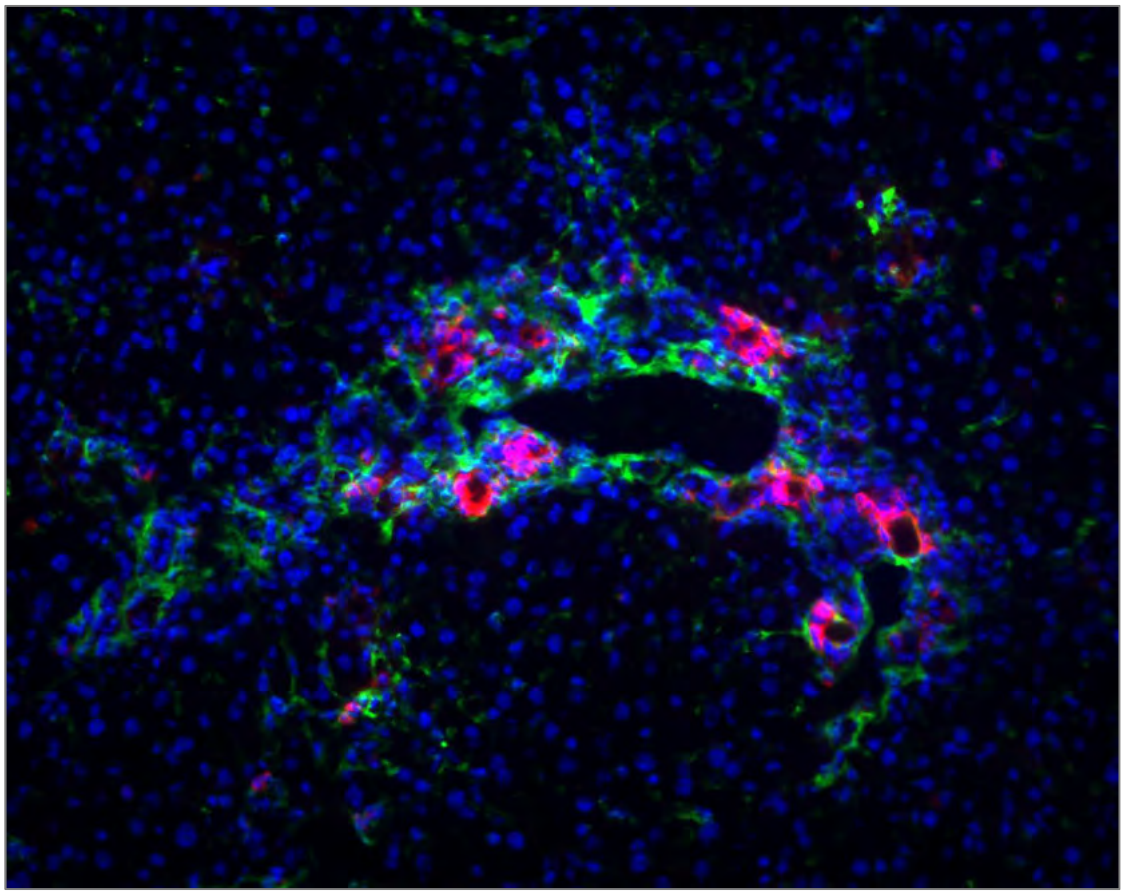


Figura 1. Detección marcadores de regeneración hepática en modelo animal

Publicaciones

1. Lao-Peregrín C, Ballesteros JJ, Fernández M, Zamora-Moratalla A, Saavedra A, Gómez Lázaro M, Pérez-Navarro E, Burks D, Martín ED. Caffeine-mediated BDNF release regulates long-term synaptic plasticity through activation of IRS2 signaling. Addict Biol. 2016 Jul 25. doi: 10.1111/adb.12433.
2. Andrés-Blasco I, Vinué Á, Herrero-Cervera A, Martínez-Hervás S, Nuñez L, Piqueras L, Ascaso JF, Sanz MJ, Burks DJ, González-Navarro H. Hepatic lipase inactivation decreases atherosclerosis in insulin resistance by reducing LIGHT/Lymphotoxin β-Receptor pathway. Thromb Haemost. 2016 Aug 1;116 (2):379-93.
3. Carretero J, López F, Catalano-Iniesta L, Sanchez-Robledo V, Garcia-Barrado MJ, Iglesias-Osma MC, Carretero-Hernandez M, Blanco EJ, Burks DJ. Pituitary Aromatase P450 May Be Involved in Maintenance of the Population of Luteinizing Hormone-Positive Pituitary Cells in Mice. Cells Tissues Organs. 2016; 201(5):390-8.
4. García-Barrado MJ, Blanco EJ, Catalano-Iniesta L, Sanchez-Robledo V, Iglesias-Osma MC, Carretero-Hernández M, Rodríguez-Cobos J, Burks DJ, Carretero J. Relevance of pituitary aromatase and estradiol on the maintenance of the population of prolactin-positive cells in male mice. Steroids. 2016. 111:121-6.

5. Gongrich, C; Garcia-Gonzalez, D; Le Magueresse, C; Roth, LC; Watanabe, Y; Burks, DJ; Grinevich, V; Monyer, H. Electrotonic Coupling in the Pituitary Supports the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in a Sex Specific Manner. Frontiers in Molecular Neuroscience, 9:65. 2016

Congresos y ponencias

1. Targeting aberrant hepatocellular growth using a novel allosteric inhibitor of IRS proteins: NT-157. Manzano Núñez F., Acosta Umanzor C., Leal Tassias A., Levitzki A., White M., Burks D.J., Noon L.A. CIBERDEM Annual Meeting, May 2016, Universidad Autonoma Barcelona.
2. Cellular patterning of insulin/IGF1 signalling by insulin receptor substrate 2 gene expression. Manzano Núñez F., Acosta Umanzor C., Leal Tassias A., Burks DJ., Noon LA. CIBERDEM Annual Meeting, May 2016, Universidad Autonoma Barcelona.

Tesis doctorales defendidas

1. Doctorando: Fatima Manzano Nuñez. Universidad de Valencia, Valencia (España)

Señalización oncogénica

Investigadora principal: Dra. Rosa Farrás

Investigadores asociados:

- Beatriz Pérez Benavente

Investigadores Predoctorales

- José Miguel Pardo Sánchez
- Juan Diego de Mayas Gironés

Técnicos:

- Carolina Gandia

Colaboradores

- Mónica Gorbe Moya (IDM)

1. Resumen

El Cáncer es, por su incidencia y su mortalidad, un problema de salud pública de enorme magnitud. La elucidación de los mecanismos moleculares que subyacen en el desarrollo del tumor sigue siendo un enorme desafío para la ciencia básica, además de representar un paso esencial en el desarrollo de nuevos fármacos. Así mismo, un reto importante de la medicina actual es el desarrollo de terapias personalizadas en el tratamiento del cáncer. Nuestro grupo trabaja en dos líneas de investigación destinadas a la mejor comprensión del cáncer y mejora de sus tratamientos. (i) Estudiamos los mecanismos moleculares y rutas de señalización involucrados en la transición epitelio-mesenquima y células madre; y (ii) realizamos una investigación orientada hacia la biomedicina traslacional, para estudiar la heterogeneidad intratumoral de tumores primarios; concretamente estudiamos la biología de células madre de carcinoma de pulmón.

2. Resultado de la Investigación

1. Mecanismos moleculares y vías de señalización implicadas en la transición epitelio-mesenquimal y células madre de cáncer.

La transición epitelio-mesenquima (EMT) es un proceso fundamental evolutivamente conservado en el que las células epiteliales experimentan la conversión a células mesenquimales. La EMT es esencial para el desarrollo embrionario y también está involucrado en la reparación de tejidos, fibrosis de órganos y la progresión del cáncer. Durante la EMT, las células de carcinoma pierden sus características epiteliales y adquieren propiedades invasivas. Estas células tumorigénicas de origen epitelial necesitan realizar cambios profundos para adoptar un perfil mesenquimal, incluyendo alteraciones en sus propiedades de adhesión y modificaciones del citoesqueleto, que les permiten aumentar su motilidad. Algunas de las proteínas clave implicadas en este proceso de diferenciación reversible han sido identificadas. Por ejemplo, la expresión de marcadores biológicos para la integridad del epitelio celular, tal como E-cadherina, se reprimen estabilizando así la pérdida de las uniones epiteliales durante la EMT, con posterior activación de la señalización de -catenina. Por otra parte, la activación de los factores de transcripción de las familias SNAIL, ZEB o AP-1 estimulan la represión de marcadores epiteliales y activan la transcripción de genes asociados con el fenotipo mesenquimal como N-cadherina, vitronectina, fibronectina, vimentina, etc. Recientemente, el factor de traducción eIF5A2 ha sido incluido en la red de elementos reguladores positivos que activan la EMT, con funciones oncogénicas definidas.

Nuestra investigación se centra en estudiar la regulación y función del factor de transcripción JunB/AP-1 y el factor de traducción eIF5A durante la EMT en células de cáncer epitelial:

a) El factor de transcripción AP-1 consiste en una familia de homo- y heterodímeros de proteínas bZip que incluye, entre otros, los miembros de la familia Jun (c-Jun, JunB y JunD). Este factor es esencial para que las células integren una amplia gama de estímulos y, en particular, la estimulación mediada por el factor de crecimiento mitogénico. JunB actúa como un supresor de tumores o un oncogén dependiendo del contexto celular. Puede ser inducido por TGF- en células epiteliales, y se sobreexpresa en células en estadio mesenquimal parcial. Sin embargo, el papel de JunB en respuesta a TGF- y/o la EMT están poco caracterizados. En nuestro laboratorio hemos realizado experimentos de inmunoprecipitación de cromatina seguida de secuenciación masiva en paralelo del ADN (ChIP-seq) para identificar nuevas dianas transcripcionales de JunB. Los resultados han revelado nuevas dianas directas de JunB involucradas en procesos de diferenciación, como la EMT. La regulación de estos genes mediada por JunB representa un nuevo mecanismo por el cual JunB puede contribuir a la progresión del cáncer.

b) eIF5A es un factor de traducción específico conservado evolutivamente, y es la única proteína conocida que experimenta una modificación post-traduccional que genera el residuo *hipusina*, que es necesario para su actividad. La sobreexpresión de la isoforma eIF5A2 se observa con frecuencia en cáncer, lo que sugiere que la expresión aberrante de eIF5A2 puede ser responsable del comportamiento maligno de las células cancerosas. En nuestro laboratorio hemos observado que la inactivación genética de eIF5A2 en células de cáncer de pulmón da lugar a una disminución de vimentina y un aumento de la expresión de E-cadherina, lo que indica que las células adoptan un fenotipo más epitelial. Además, la inactivación del factor eIF5A2 perjudica la organización del citoesqueleto de actina y la migración de células de carcinoma de pulmón. Teniendo en cuenta estos resultados, junto con la naturaleza altamente selectiva de la modificación hipusina y su susceptibilidad a la inhibición farmacológica, hace que eIF5A2 sea una diana terapéutica muy atractiva.

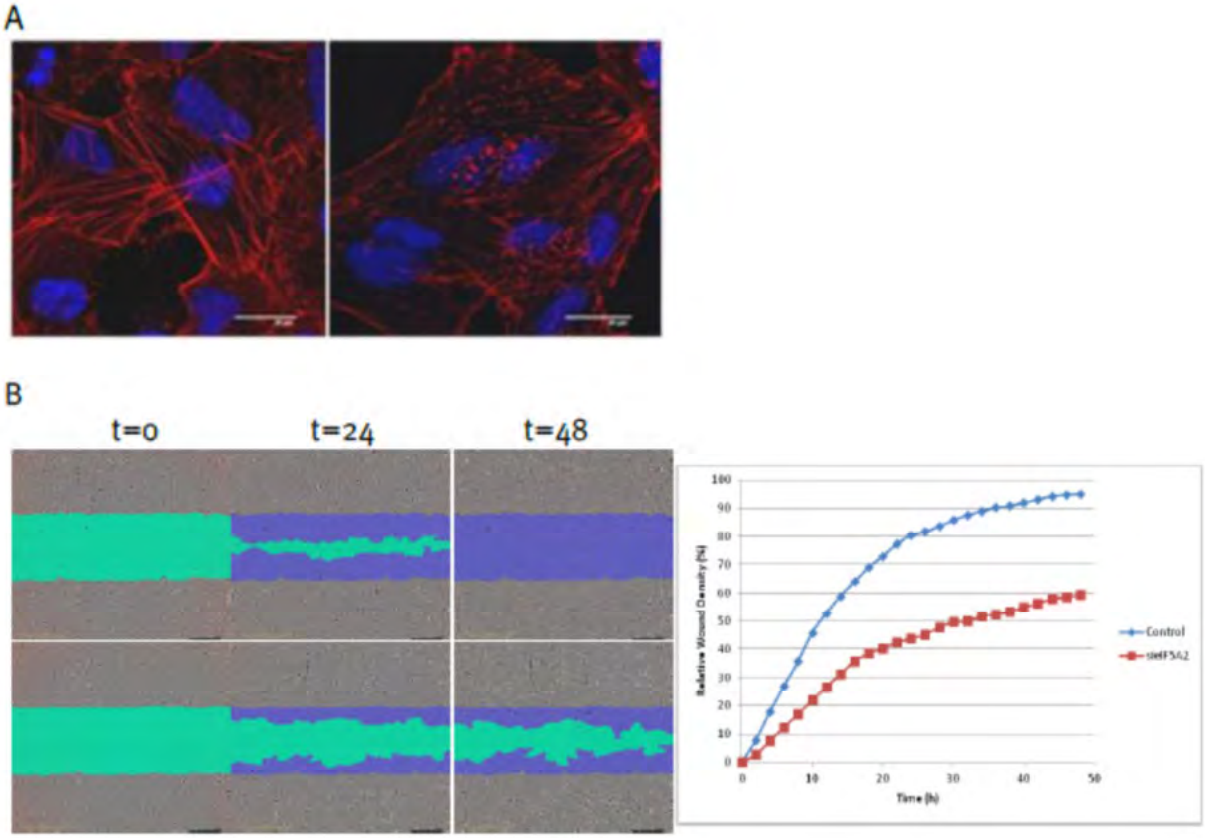


Figura 1. La inactivación genética de eIF5A2 perjudica la organización del citoesqueleto de actina. A. Células de cáncer de pulmón A549 no tratadas (panel izquierdo) o tratadas durante 48 horas con sieIF5A2 (panel derecho) se tiñeron con falodina rodamina y se observaron al microscopio confocal. En el panel de la izquierda observamos la desorganización de las fibras de actina (en rojo). B. Cuantificación de la migración celular con el método de herida. La región azul muestra la máscara de la herida durante el tiempo (t=0, t=24, t=48 horas) a medida que las células A549 migran hacia la región de la herida (verde). El cierre completo de la herida se observa a t=48 horas en las células A549 control (panel superior), sin embargo, la inactivación genética de eIF5A2 en células A549 ralentiza la migración celular (panel inferior).

2. Desarrollo de modelos de cáncer de pulmón para estudiar la heterogeneidad y plasticidad tumoral

A pesar de los rápidos avances en el desarrollo de fármacos y procedimientos quirúrgicos, el cáncer de pulmón sigue siendo la principal causa de muerte relacionada con el cáncer en todo el mundo. La tasa global de supervivencia a 5 años es de aproximadamente el 15%. La cirugía todavía se considera la mejor opción para el tratamiento de cáncer de pulmón no microcitico (CPNM), sin embargo, el cáncer de pulmón se diagnostica generalmente en una etapa avanzada, y menos del 25% de pacientes con CPNM se consideran candidatos para la terapia quirúrgica. La quimioterapia es otra estrategia terapéutica importante para el tratamiento del cáncer, pero no puede eliminar todas las células tumorales debido a la resistencia a los fármacos. En los últimos años, se han identificado mutaciones oncogénicas en tumores de pulmón y por lo tanto se ha desarrollado terapias dirigidas contra ellas. Sin embargo, incluso proporcionando terapias individualizadas, la adquisición de resistencia al tratamiento es una de las principales causas de la alta mortalidad del cáncer de pulmón. De hecho, las metástasis y la resistencia terapéutica son las principales causas de fracaso en el tratamiento del cáncer de pulmón. Esta resistencia está mediada por múltiples y complejos mecanismos tanto genéticos como epigenéticos. Está claro que se requieren nuevas estrategias terapéuticas para tratar esta devastadora enfermedad. Las células madre tumorales (cancer stem cell, CSC) representan una subpoblación minoritaria de células distinguibles de la mayoría del tumor por su capacidad única de conducir la tumorigénesis y metástasis. Tienen un papel crucial en la recaída debido a su resistencia inherente a las terapias actuales. En nuestro laboratorio investigamos la biología de las CSCs y analizamos si estas células específicas de cada tumor dictan la respuesta al tratamiento. En particular, nuestra investigación se ha centrado en: i) aislamiento y caracterización de CSCs de biopsias tumorales humanas de pulmón; i) identificación de vías de señalización activadas en estas células; (iii) identificación de nuevos biomarcadores para CSCs; iv) estudios in vivo de la biología de CSCs en modelos de xenoinjerto de ratón; y v) la búsqueda de nuevas terapias dirigidas contra las CSCs.

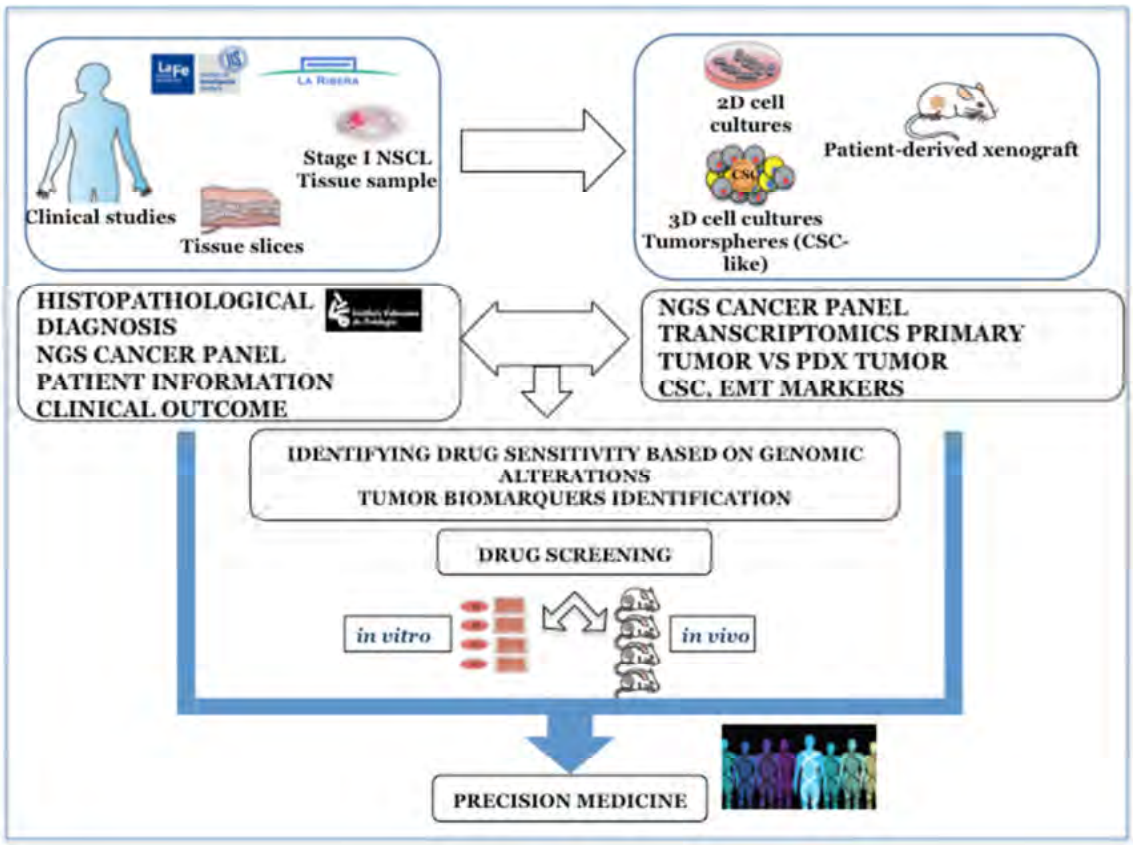


Figura 2. Esquema de trabajo para el estudio de biopsias procedentes de pacientes con CPNM mediante generación de modelos PDX y cultivos celulares.

Para investigar la biología de tumores de pulmón, en colaboración con el Hospital Universitari i politècnic La Fe y el Hospital Universitario de La Ribera, estamos desarrollando modelos de cáncer de pulmón que pueden representar adecuadamente la heterogeneidad tumoral y predecir la sensibilidad a los fármacos *in vivo*. En concreto estamos desarrollando **Modelos de xenoinjertos derivados de pacientes (PDX)**. Esta aproximación experimental consiste en la generación de un modelo animal que funciona a modo de "avatar" del paciente. Para ello, se obtiene una muestra del tumor de un paciente y se trasplanta a un ratón inmunodeficiente, lo que permite la propagación del tumor sin necesidad de manipulación de las células en cultivo. El modelo PDX retiene en gran medida las características histológicas y genéticas del tumor original. El hecho de amplificar el tejido tumoral del paciente en varios ratones y analizarlo a diferentes tiempos, de manera relativamente rápida, permite una mejor comprensión de los cambios moleculares que impulsan la metástasis y la resistencia a las terapias. Por ello, este modelo puede utilizarse como un sistema *in vivo* para ensayos de eficacia de compuestos con actividad antitumoral, para orientar en el diseño de un tratamiento personalizado, o para la identificación de nuevos biomarcadores.

Publicaciones:

1. Jantus Lewintre E.; Farràs R.; Guijarro R.; Blasco Cordellat A.; Calabuig-Fariñas S.; Lafuente B.; Munera Maravilla E.; Herreros Pomares A. 114P: Expression analysis of tumorspheres from non-small cell lung cancer show significant differences in CSC-markers and signaling pathways. J Thorac Oncol. 2016 Apr;11(4 Suppl):S105
2. Munera-Maravilla, E; Herreros-Pomares, A; Martinez-Romero, A; Tejedor, S; Calabuig-Farinas, S; Jantus-Lewintre, E; Lucas, R; Escorihuela, E; Farras, R; Camps, C. Characterization of lung tumorspheres by gene expression and flow cytometry: differential expression in CSC-related markers and signaling pathways. Cancer Res 2016;76 (14 Suppl):Abstract nr 3354.

Capitulos de libro:

3. Título: Cyclin-Dependent Kinase (CDK) Inhibitors. Protein Tyrosine Phosphatases: methods and protocols. Capítulo: Cell Synchronization Techniques to Study the Action of CDK Inhibitors. Perez-Benavente, Beatriz; Farràs, Rosa. Methods in molecular biology. 1336, pp. 85 - 93. 2016.
4. Título: Proteostais: Methods and protocols. Capítulo: Belda Palazón Borja; Ferrando Alejandro; Farràs Rosa. Capítulo: Quantitation of Protein Translation Rate in Vivo with. Bioorthogonal Click-Chemistry. Methods in molecular biology. 1449, pp. 369 - 382. 2016.

Congresos:

1. COST Action BM1307 Proteostasis and its biological implications. Presentación oral. Regulation of epithelial-mesenchymal transition mediated by translation factor eIF5a. Pardo Sánchez J.M.; Martínez Ferriz A.; Diego De Maya J.; Pérez-Benavente B.; Ferrando A.; Farràs R. (Lisboa, Portugal)
2. COST Action CM1106 Chemical Approaches to Targeting Drug Resistance in Cancer Stem Cells. Presentación Oral. Facilitated anion transport induces hyperpolarization of the cell membrane that triggers differentiation and cell death in cancer stem cells. Quesada R., Soto-Cerrato V., Manuel-Manresa P., Hernando E., Calabuig-Fariñas S., Martínez-Romero A., Fernández-Dueñas V., Sahlholm K., Knöpfel T., García-Valverde M., Rodilla A. M., Jantus- Lewintre E., Farràs R., Ciruela F., Pérez-Tomás R.(Chioggia, Italia)
3. 6th EuCheMS Chemistry Congress. Poster. Ionophoric activity of small molecule transmembrane anion carriers induces cell death in cancer stem cells. Hernando E., Soto-Cerrato V., Manuel-Manresa P., Calabuig-Fariñas S., Martínez-Romero A., Fernández-Dueñas V., Sahlholm K., Knöpfel T., García-Valverde M., Rodilla A.M., Jantus-Lewintre E., Farràs R., Ciruela F., Pérez-Tomás R., Quesada R. (Sevilla, España)

4. AACR 107th Annual Meeting on Bioinformatics and Systems Biology. Poster. Characterization of lung tumorspheres by gene expression and flow cytometry: differential expression in CSC-related markers and signaling pathways. Munera-Maravilla, E.; Herreros-Pomares, A.; Martinez-Romero, A.; Tejedor, S. (Tejedor, Sandra); Calabuig-Farinas, S.; Jantus-Lewintre, E.; Lucas, R.; Escorihuela, E.; Farras, R.; Camps, C. (New Orleans, LA, USA)
5. ELCC 2016 European Lung Cancer Conference. Poster. Expression analysis of tumorspheres from non-small cell lung cancer show significant differences in CSC-markers and signaling pathways. Camps C.; Jantus Lewintre E.; Farràs R.; Guijarro R.; Blasco Cordellat A.; Calabuig-Fariñas S.; Lafuente B.; Munera Maravilla E.; Herreros Pomares A. (Geneva, Suiza).
6. I National Congress of Young Researchers in Biomedicine. III Congress of Biomedicine of PhD Students in Valencia. Presentación Oral. Regulation of epithelial-mesenchymal transition mediated by translation factor eIF5A. Pardo-Sánchez J.M., Martínez A., Diego de Maya J., Pérez-Benavente B., Ferrando A. and Farràs R.
7. I National Congress of Young Researchers in Biomedicine. III Congress of Biomedicine of PhD Students in Valencia. Tumor initiating cells and oncogenic signalling in lung cancer. De Maya J.D., Pardo Sánchez J.M., Tito A.M., Tejedor S., Bisbal V., Marín N., Martínez-Romero A., de la Cueva E., Forteza J.and Rosa Farràs.

Trabajos de Fin de Máster:

1. Ana Maria Tito Álvarez. “Caracterización inmunofenotípica de células madre tumorales de cáncer de pulmón no microcítico”. Universitat Politècnica de Valencia

Trabajos de Fin de Grado:

1. Arantxa Martínez Férriz. “Regulación de la transición epitelio-mesenquimal mediada por eIF5A2”. Universitat Politècnica de Valencia

Patología molecular e investigación traslacional en oncología. *Unidad Mixta CIPF-UCV.*

Investigador principal: Dr. Jerónimo Forteza

Investigadores Asociados:

- María Campos Segura (UCV)

Investigadores Predoctorales

- Pablo Sánchez Vela (UCV)

Técnicos

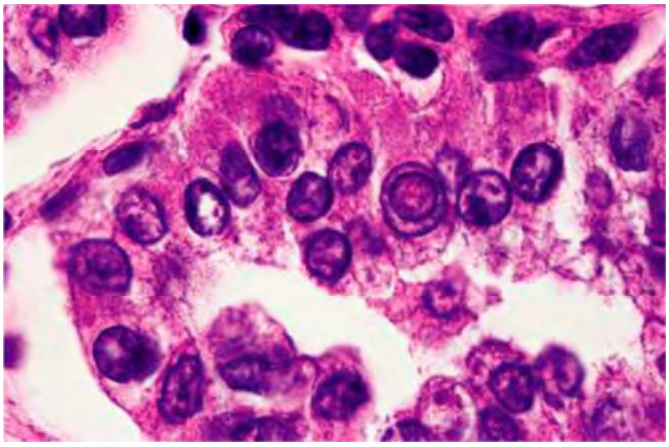
- Irene Borredá (UCV)
- Mayte Casado (UCV)
- Mario Soriano Navarro

Colaboradores

- José Manuel García Verdugo (UV)

1. Resumen

El Cáncer es uno de los mayores desafíos a nivel global, 14M de nuevos casos por año. Entre 2010-2014 se evidencia un descenso de muertes en pacientes con Cáncer, lo que no había sucedido hasta ahora a pesar del avance terapéutico.
El progreso en la curación del Cáncer está en función de las aportaciones de la Investigación Biomédica, Básica y Aplicada. Es necesario un conocimiento de las enfermedades Neoplásicas que aporte nuevos criterios que permitan el diagnóstico no los a través de criterios morfológicos sino moleculares, definiendo entidades clínico-patológicas, dianas terapéuticas y marcadores pronósticos.



Carcinoma papilar de tiroides. Imagen morfológica que aporta gran información clínica.

La estrategia de este planteamiento necesita conocer exhaustivamente no solo, las entidades clínico patológicas, sino las mutaciones genéticas que han producido la neoplasia, así como las diferentes combinaciones de mutaciones que pueda existir en un mismo tumor, que son definitorias de éste. Aspecto nuevo es el conocimiento de la existencia de "immune chekpoint", que aportan nuevas herramientas terapéuticas, como la Inmunoterapia.

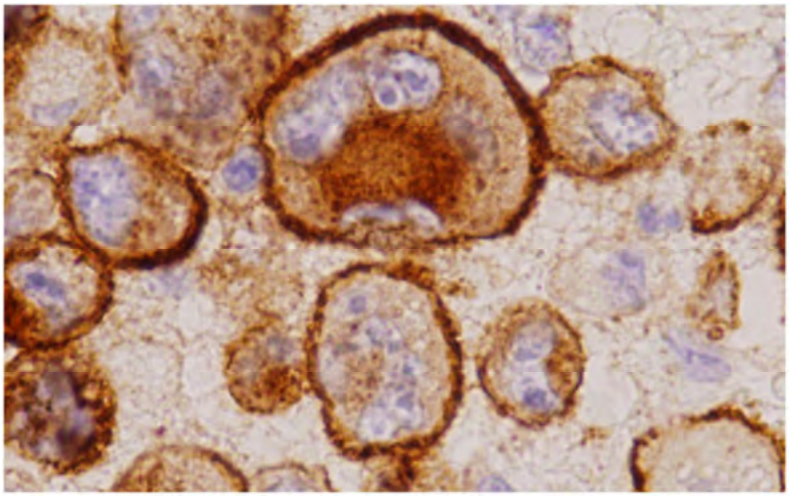
Finalizada una fase en la Investigación que exigía la clasificación de entidades clínicas concretas sobre bases moleculares, necesitamos un estudio interdisciplinar a un nivel de datos que englobe las múltiples mutaciones que los tumores presentan. Dentro de estas nuevas herramientas diagnósticas por secuenciación está la Next Generation Sequening (NGS), posibilidad por la que apostamos.

2. Resultado de la investigación

Dentro del marco de la temática, de la Investigación Biomédica, el curar el Cáncer ha sido la preocupación preferente de nuestros proyectos de Investigación. Esto ha exigido, el tener acceso a muestras y el conocimiento de la evolución de los pacientes, y por consiguiente, un acercamiento a la Clínica. Esto se ha conseguido en el marco de la Unidad Mixta en Patología Molecular y Oncología Traslacional, a través del Instituto Valenciano de Patología. Ha sido necesario un mayor acercamiento a la Clínica y a las nuevas terapias para poder desarrollar nuestra línea de investigación.
En concreto, hemos dado preferencia al intento de conocer los inhibidores que pueden actuar sobre "checkponit" concretos. Estas nuevas terapéuticas conseguirán cambiar la evolución de casos neoplásicos más agresivos.
Recientemente, hay nuevas terapéuticas que pueden usarse en algunas neoplasias hematológicas como el linfoma de Hodgkin. El conocimiento de la muerte celular permite conocer el "pathway" del PDL-1 y la importancia del PD1, que constituyen la base de nuevas líneas terapéuticas de la Inmunoterapia.

Para el éxito de estas nuevas terapéuticas son imprescindibles los datos genómicos ya que cada tumor tiene o una mutación genética o una combinación de mutaciones genéticas que lo caracterizan, siendo esta combinación de mutaciones la firma genética del tumor. El conocimiento de la Genómica del tumor hay que aplicarlo en el marco de la heterogeneidad tumoral que toda

neoplasia tiene, y de ahí, la necesidad del conocimiento genómico como base para la selección de la terapéutica adecuada para cada enfermedad neoplásica.



Linfoma de Hodgkin. CD30 positivo. Valor diagnóstico y terapéutico.

Por esa razón, nuestro proyecto ha evolucionado de la plataforma diagnóstica a poner en marcha el programa de una plataforma genómica, en concreto la de NGS.
Estamos teniendo los primeros resultados de la secuenciación por NGS de neoplasias de mala evolución, cuya información ayudara a robustecer esta línea y abrir nuevas expectativas.

Para comprender estas enfermedades concretas como el Hodgkin nos hemos interesado por algunas EERR, y focalizado en una enfermedad como la de Rosai-Dorfman en la que entran en juego mecanismos de emperipolesis y de autofagia que son menos complejas y nos pueden ayudar a entender las enfermedades neoplásicas más agresivas.

La multidisciplinariedad del CIPF en su línea de investigación básica y aplicada hacen que la Unidad Mixta tenga proyección en varios campos, y así ha colaborado con la línea de Neuroinflamación aportando datos y conceptos morfológicos.

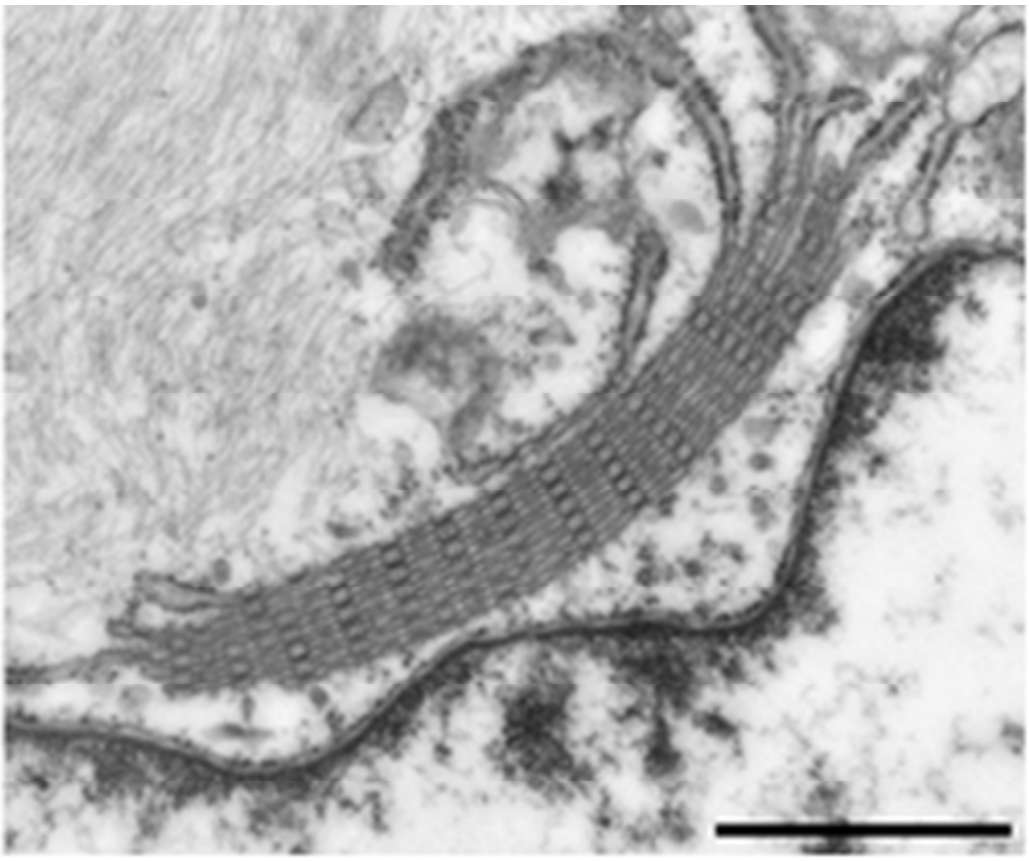
La Unidad Mixta realiza también servicios tecnológicos. En concreto en el campo de la Patología se convierte en una plataforma de consulta y diagnóstico por medio de la recepción de muestras de casos consulta procedentes de hospitales de todo el ámbito nacional.

Publicaciones

1. Alfaro C, Soriano M, Cebrian A, Forteza J. **Annulate lamellae in a desmoplastic small round cell tumor.** Int J Surg Pathol. 2016 OCT; 24 (7): 623.4. doi: 10.1177/1066896944324.
2. Dadsetan S, Balzano T, Forteza J, Agusti A, Cabrera A, Taoro L, Hernandez V, Gomez B, Felipo V. Infliximab reduces peripheral inflammation, neuroinflammation, and extracelular GABA in the cerebellum and improves learning and motor coordination in rats with hepatic encephalopathy. January 2016. Journal of Neuroinflammation. 2016 Sep 13; 13 (1): 245. Doi: 10.1186/s 12974-016-0710-8.
3. Usó M, Jantus-Lewintre E, Bremnes R, Calabuig S, Blasco A, Pastor E, Borreda I, Molina-Pinelo S, Paz- Ares L, Guijarro R, Martorell M, Forteza J, Camps C, Sirera R.
4. Analysis of the immune microenvironment in resected non-small cell lung cancer: the prognostic value of different T lymphocyte markers. Oncotarget. 2016 JUL 24. Doi: 10.18632/oncotarget. 10811.

Conferencias y congresos

1. LXXV Reunion del Club Español de Linfomas. Sociedad Española de Anatomía Patológica. Conferencia: “El Club Español de Linfomas (CEL), aprendiendo juntos a diagnosticar”. Dr. J. Forteza. 3 y 4 de Noviembre de 2016. Sevilla, España.
2. Meeting "The Convergence of Immunotherapy and Epigenetics for the treatment of B-cell Malignancies". Dr. E. Sotomayor. , MD: Director, George Washington Cancer Center. Dr. J. Forteza, Instituto Valenciano de Patología (UCV), Dr. F. Vidal, Instituto Valenciano de Patología (UCV).



Annulated lamellae. Tumor desmoplástico de células redondas.

Mecanismos de enfermedades y nanomedicina. *Unidad mixta CIPF-UPV*

Investigador principal: Dr. M. Ibo Galindo

Investigadores Predoctorales

- Víctor López del Amo
- Andrea Tapia González
- Tamara Ovejero Martínez (UCV)

Estudiantes

- Sandra Fernández Rodríguez (UPV)
- Miriam Oliver Tos (UV)

Colaboradores

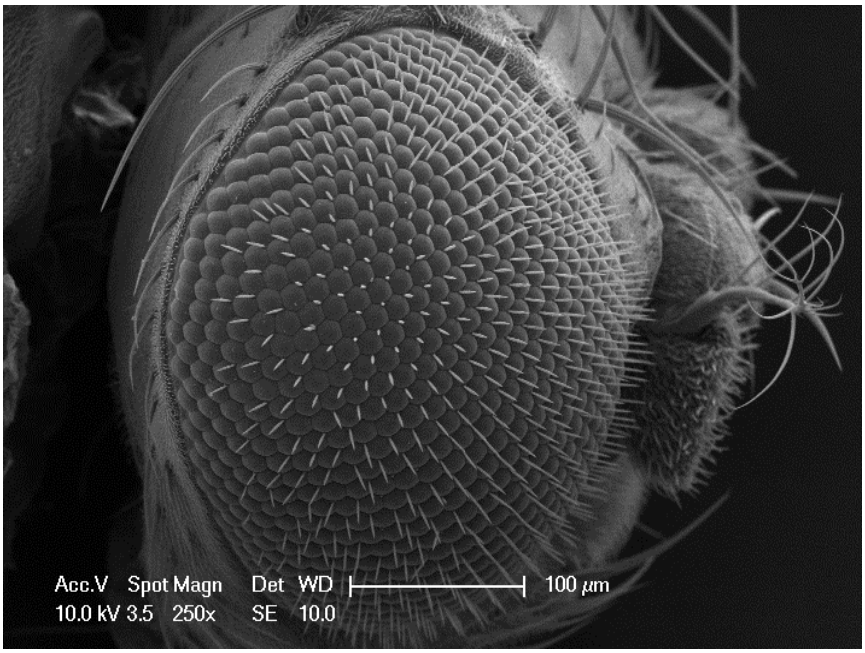
- Prof. Federico Pallardó (INCLIVA, UV)
- Dr. Elisa Oltra (UCV)
- Prof. Axel Methner (Universitat Johannes Gutenberg, Mainz)

1. Resumen.

La Unidad Mixta UPV-CIPF se ha establecido en 2016 con el objetivo de incentivar la colaboración entre investigadores de ambas instituciones en los campos de la fisiopatología y la nanomedicina. Nuestro grupo utiliza el insecto *Drosophila melanogaster* para estudiar los mecanismos biológicos básicos en desarrollo y en enfermedades. Durante el desarrollo animal hay una comunicación continua entre la polaridad del tejido y las rutas de señalización celular. Estamos interesados en particular en la regulación de la ruta de Notch por parte de las rutas de polaridad de tejido para comprender como contribuyen a delinear la anatomía del animal, así como su posible relación con sorderas sindrómicas y hereditarias.

Además, estamos utilizando *Drosophila* para generar nuevos modelos de enfermedades raras, con particular interés en neuropatías periféricas hereditarias. Nuestros objetivos son comprender los mecanismos de la enfermedad y generar nuevas herramientas para la búsqueda de nuevos biomarcadores y tratamientos. Para ello, tenemos una red de colaboraciones con otros grupos que trabajan en genética de *Drosophila*, fisiología y enfermedades raras; y estamos estableciendo nuevas colaboraciones con grupos clínicos.

Con el fin de obtener modelos biomédicos útiles en el estudio de mecanismos de enfermedad y para el descubrimiento de nuevos biomarcadores y tratamientos, estamos utilizando técnicas de edición genómica. El objetivo es reemplazar el gen de *Drosophila* por su equivalente humano portando mutaciones clínicas descritas en pacientes. De esta forma, es posible llevar a cabo estrategias de medicina personalizada y de precisión.



Enfermedades Raras. *Unidad mixta CIPF-IIS La Fe.*

Investigador principal: Dr. Jose M. Millán.

Investigadores

- Elena Aller Mañas (IIS La Fe)
- Teresa Jaijo Sanchis(IIS La Fe)

Investigadores Post-Doctorales

- Regina Rodrigo Nicolás (IIS La Fe)
- Rafael Vázquez Manrique (IIS La Fe)
- Gema García García(IIS La fe)
- María José Aparisi Navarro (IIS La Fe)

Investigadores Predoctorales

- Carla Fuster García (IIS La Fe)
- Lorena Olivares González(IIS La Fe)
- Elisa González Romero (IIS La Fe)
- Ana Rodríguez Muñoz (IIS La Fe)
- Ana Pilar Gómez Escribano (IIS La Fe)

Técnicos

- Mª Dolores Sequedo Pérez (IIS La fe)

1. Resumen

Este grupo de investigación surge con el objetivo de, mediante la colaboración de investigadores clínicos y básicos, profundizar en el conocimiento de la fisiología, la genética y la clínica de las enfermedades de baja prevalencia.
El grupo tiene una clara vocación traslacional, buscando la aplicación inmediata de los resultados de la investigación a la práctica clínica.
Además, pretendemos profundizar en el conocimiento de la patogenia subyacente a otras enfermedades raras en general y, muy especialmente, a las enfermedades que afectan a los órganos de los sentidos, las neurodegenerativas y neuromusculares.
Los objetivos principales del grupo son:

1. Determinar el defecto genético subyacente a enfermedades que afectan a la audición y la visión mediante el rastreo de las mutaciones responsables en los genes implicados.
2. Contribuir al conocimiento de los mecanismos biológicos implicados en estos procesos.
3. Desarrollar bases de datos de pacientes para la creación de grupos homogéneos de pacientes susceptibles de participar en futuros ensayos clínicos y que permitan establecer las correlaciones genotipo-fenotipo y un pronóstico correcto.
4. Identificar nuevos genes implicados en dichas enfermedades.
5. Desarrollar modelos animales de las mismas. Evaluación de moléculas con posible efecto terapéutico en estos modelos animales

Publicaciones

1. Olivares-González L, Martínez-Fernández de la Cámara C, Hervás D, Marín MP, Lahoz A, Millán JM, Rodrigo R. CGMP-Phosphodiesterase Inhibition Prevents Hypoxia-Induced Cell Death Activation in Porcine Retinal Explants. PLoS One. 2016 Nov 18;11(11):e0166717.
2. Vázquez-Manrique RP, Farina F, Cambon K, Dolores Sequedo M, Parker AJ, Millán JM, Weiss A, Déglon N, Neri C. AMPK activation protects from neuronal dysfunction and vulnerability across nematode, cellular and mouse models of Huntington's disease. Hum Mol Genet. 2016 Mar 15;25(6):1043-58

Enfermedades Raras. *Unidad mixta CIPF- INCLIVA.*

Investigador principal: Dr. Federico V. Pallardo Calatayud.

Investigadores Post-Doctorales:

- José Luis García Giménez (INCLIVA)
- Pilar González Cabo (INCLIVA)
- Giselle Pérez Machado (INCLIVA)
- Carlos Romá Mateo (INCLIVA)

Investigadores Predoctorales:

- Jesús Beltrán García (INCLIVA)
- Ester Berenguer Pascual (INCLIVA)
- José Santiago Ibañez Cabellos (INCLIVA)
- Marta Seco Cervera (INCLIVA)

Collaborators /Colaboradores

Eva Mª García López (INCLIVA)

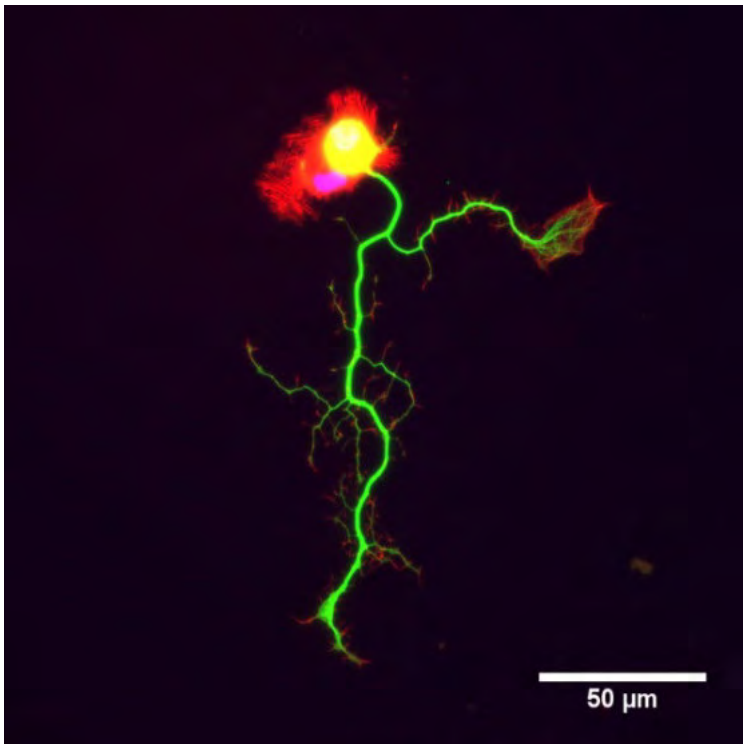
1. Resumen

Entre la actividad científica del grupo de investigación destaca la patente europea "Mass spectrometry-based methods for the detection of circulating histones H3 and H2B in plasma from sepsis or septic shock (ss) patients (EP 16 382 509.4)", así como la extensión a fase PCT (PCT/EP2016/063935) y transferencia de la patente "Kit and method for the diagnosis/prognosis of idiophatic scoliosis" a la spin-off del CIBER EpiDisease S.L.

En el apartado de financiación y captación de recursos, se han obtenido fondos provenientes de los siguientes programas y convocatorias: VLC-Bioclinic (1 proyecto, 2016), Grupo Español de Estudio del Raquis (1 proyecto, 2016-2017), Plan Nacional I+D+i del Mineco (1 proyecto, 2016-2019), AES 2016 (2 proyectos, 2017-2019), Fundación Ramón Areces (1 proyecto, 2017-2019).

Respecto a la actividad docente se ha seguido impartiendo docencia en la asignatura "Enfermedades raras" en el plan de estudios del grado de medicina y en el Máster de Enfermedades Raras de la Universitat de València, que dirige el Dr. Pallardó. Además se organizó en colaboración con la Escuela Valenciana de Estudios de la Salud y el CIBERER, la 1ª edición del curso on-line "Introducción a las EE.RR: investigación y atención clínica" dirigido a residentes de especialidades médicas del sistema sanitario público valenciano. En el ámbito de la divulgación científica, el Dr. Romá ha publicado el libro "¿Qué sabemos de? La epigenética" (ISBN: 978-84-00-10073-5).

En el marco de la Alianza en investigación traslacional en EE.RR. de la CV el Dr. Pallardó ha coordinado la petición conjunta de fondos FEDER para la adquisición infraestructura para investigación. Recientemente la Conselleria de Sanitat ha confirmado la disponibilidad de dichos fondos (3.000.000 €) para el ejercicio 2017. Así mismo, los días 25 y 26 de febrero de 2016 se organizó el "I Congreso de Investigación Traslacional en EE.RR. de la CV" en la Facultad de Medicina de la UV.



Neurona sensitiva tipo unipolar de un cultivo primario de ganglio dorsal de un ratón Y47R (Ataxia de Friedreich) de 3 meses. Inmunofluorescencia para β-tub-III (verde, AF488), activa filamentosa (rojo, Phalloidin-TRITC) y núcleos (azul, DAPI Fluoromount-G®). En el extremo distal de cada uno de los axones se observa el cono de crecimiento, una estructura mótil y de forma ovalada especializada en guiar el crecimiento del axón. El cono de crecimiento esta enriquecido en actina filamentosa (rojo) y microtúbulos (verde).

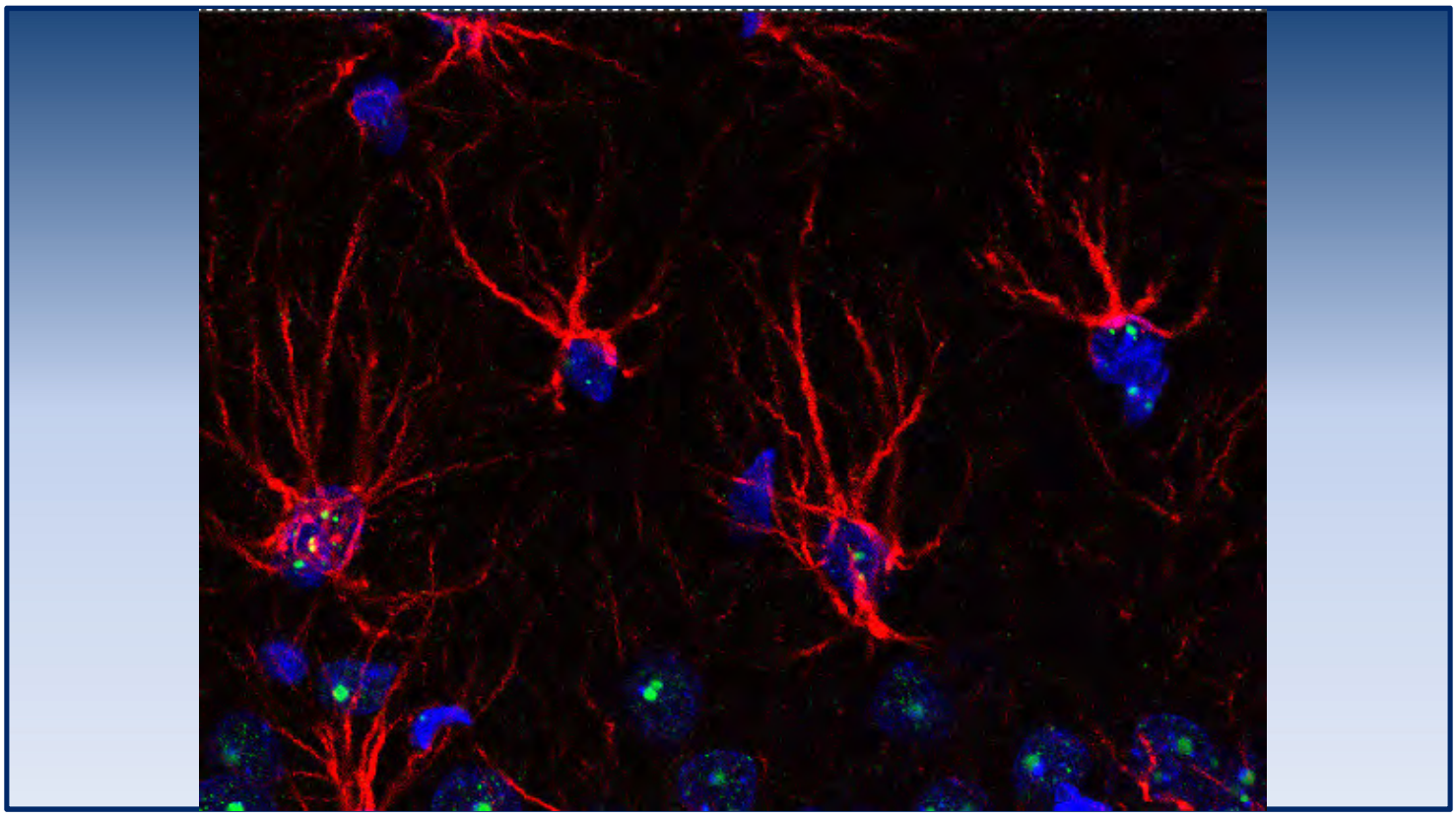
Publicaciones

1. Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, (et al) Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). Autophagy. 2016;12(1):1-222.IF: 11,753
2. Mollá B, Riveiro F, Bolinches-Amorós A, Muñoz-Lasso DC, Palau F, González-Cabo P. Two different pathogenic mechanisms, dying-back axonal neuropathy and pancreatic senescence, are present in the YG8R mouse model of Friedreich's ataxia. Dis Model Mech. 2016 Jun 1 ;9(6):647-57.IF: 4,973
3. Jose Luis Garcia Gimenez, Nieves Edurne Carbonell, Carlos Roma Mateo, Eva Garcia López, Lorena Palacios, Lorena Peiro Chova, Ester Berenguer, Carla Giménez Garzo, Federico V Pallardó, and Jose Blanquer. Epigenetics as the Driving Force in Long Term Immunosuppression. Journal of Clinical Epigenetics. 2016; 2(9):1-15.

Libros y capítulos de libro

1. Título: ¿Qué sabemos de? La epigenética. Romá-Mateo, C. Edit.: CSIC – La Catarata, 2016. ISBN: 9788400100735
2. Título: Protein Tyrosine Phosphatases: methods and protocols. Capítulo: Assessing the Biological Activity of the Glucan Phosphatase Laforin. Romá-Mateo C, Raththagala M, Gentry MS, Sanz P. Edit.: Springer, 2016. ISBN: 978-1-4939-3744-8

PROGRAMA DE NEUROINFLAMACIÓN Y DETERIORO NEUROLÓGICO



Responsable del programa: Dr. Vicente Felipo

Grupos de investigación:

1. **Neurobiología. Investigador principal: Dr. Vicente Felipo.**
2. **Patología celular y molecular del alcohol. Investigadora principal: Dra. Consuelo Guerri**
3. **Deterioro neurológico. Unidad mixta CIPF-INCLIVA. Investigadores principales: Dra. Carmina Montoliu y Dr. Vicente Felipo.**
4. **Imagen Biomédica. Unidad mixta CIPF-Fisabio. Investigadores principales: Dra. María de la Iglesia y Dr. Vicente Felipo.**

Neurobiología

Investigador principal: Dr. Vicente Felipo

Investigadores Asociados:

- Marta Llansola
- Andrea Cabrera
- Michele Malaguarnera
- Ana Agustí
- Amparo Urios

Investigadores Predoctorales:

- Belén Gómez García
- Raquel García García
- Lucas Taoro
- Tiziano Balzano

Técnicos

- Mar Martínez García
- MariCarmen Castro Quero

Colaboradores:

- Carmina Montoliu (Incliva)
- Alba Mangas (Incliva)
- Paula Izquierdo(Incliva)
- Miriam Herrainz(Incliva)

Visitantes:

- Julia Carbone (Argentina)
- Nisrin ElMlili

Estudiantes:

Prácticas Técnicos

- Lola Vázquez Bondia
- Isidro Cánoves Higón
- Jose Garnería Roca

Prácticas Grado:

- Meritxell Roig (UV)
- Rafael Ballesteros (UV)
- Adrián Polo(UV)
- Arancha Mora (UCLM)
- Rocío Redondo Álvarez (UV)
- Antonio Almenar(UV)
- Esperanza López Merino(UPV)
- Francisco Graciá Quiles

Trabajo final de grado

- David Canet López(UPV)
- Paula Antón Prieto(UPV)
- Elena Bernabeu Gómez
- Andrea Ibáñez Grau(UPV)
- Águeda Castro Quintas (UV)

Trabajo final de Master

- Verónica Aliaga(UV)
- Noelia Cuñat Tamarit(UPV)
- Hanna Vila Merkel(UV)
- Diana Coral Narváez(UV)
- Yaiza Mª Arenas Ortíz (UV)

1. Resumen

NEUROCIPF realiza investigación básica y traslacional sobre las alteraciones cognitivas, motoras, del sueño y en ritmos circadianos en diferentes situaciones patológicas, incluyendo: encefalopatía hepática (EH) mínima y clínica, hiperamonemia y exposición a contaminantes ambientales y alimentarios. También aplicamos un amplio rango de metodologías en otras situaciones patológicas. Nuestros objetivos son:

En modelos animales

1. Identificar mecanismos moleculares del deterioro neurológico.
2. Identificar nuevas dianas terapéuticas para su tratamiento.
3. Diseñar y ensayar nuevos procedimientos terapéuticos para revertir el deterioro neurológico.

En pacientes

1. Estudiar los mecanismos, diagnóstico y tratamiento del deterioro neurológico.
2. Trasladar a la clínica los tratamientos terapéuticos identificados en modelos animales.
3. Identificar nuevos procedimientos diagnósticos tempranos
4. Llevar a la práctica clínica los procedimientos diagnósticos identificados.

Una vez identificada la alteración molecular, intentamos restaurar la función cerebral y neurológica mediante tratamientos farmacológicos. Hemos conseguido: 1) prevenir la muerte inducida por intoxicación aguda por amonio; 2) prolongar y aumentar la supervivencia en modelos de fallo hepático agudo; 3) restaurar la capacidad de aprendizaje en ratas con encefalopatía hepática; 4) revertir su hipoquinesia; 5) identificar y patentar el primer marcador en sangre (3-nitro-tirosina) útil para el diagnóstico temprano de la EH mínima en cirróticos

2. Resultado de la investigación

1. El tratamiento con sulforafano reduce la neuroinflamación en hipocampo de ratas con hiperamonemia y normaliza la neurotransmisión y el aprendizaje espacial.

Comprobamos que la hiperamonemia induce la activación de microglía y astrocitos en hipocampo, aumentando las interleucinas pro-inflamatorias IL-1b e IL-6. Esto va asociado a alteraciones en la expresión en membrana de subunidades de receptores AMPA, NMDA y GABA que alteran la neurotransmisión y disminuyen la capacidad de aprendizaje espacial.

El tratamiento con sulforafano promueve la diferenciación de la microglia en hipocampo de ratas hiperamonémicas de la forma pro-inflamatoria M1 a la anti-inflamatoria M2, disminuye los niveles de IL-1b e IL-6 y aumenta los de Arg1 e YM-1. Esto va asociado a una desactivación de los astrocitos y una disminución de la neuroinflamación y a la normalización de la expresión en membrana de los receptores AMPA, NMDA y GABA y la recuperación de la capacidad de aprendizaje espacial.

Estos datos indican que la hiperamonemia induce neuroinflamación en hipocampo que altera la neurotransmisión glutamatérgica y GABAergica alterando la expresión en membrana de los receptores, lo que conduce al deterioro cognitivo. El sulforafano revierte todos estos efectos y podría ser útil para mejorar la función cognitiva en pacientes cirróticos.

Publicado en: Hernandez-Rabaza et al. Journal of Neuroinflammation;2016;13(1):41

2. El GMP cíclico extracelular modula la capacidad de aprendizaje de modo bifásico modulando el receptor de glicina, el cloro y calcio intracelulares y la vía glutamato-óxido nítrico-GMPc.

Demostramos que el GMPc extracelular modula el aprendizaje en el laberinto en Y de forma bifásica y que esto está mediado por la modulación de la vía glutamato-óxido nítrico-GMPc en cerebelo. El GMPc extracelular reduce la activación de los receptores de glicina lo que aumenta el calcio en las células de Purkinje y modula la fosforilación (y actividad) de la CaMKII de forma bifásica (Fig.1).

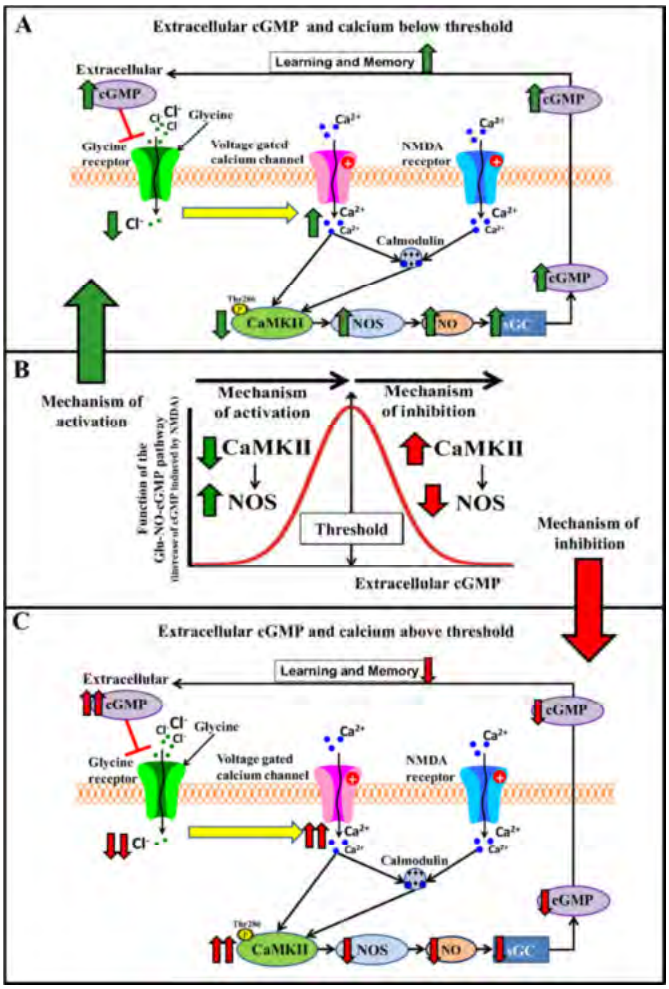


Figura 1. Modelo propuesto de los mecanismos implicados en la modulación bifásica de la vía glutamato-çoxido nítrico-GMPc y de la capacidad de aprendizaje por el GMPc extracelular.
De: Cabrera-Pastor et al. Scientific Reports 2016;6:33124

Cuando la concentración calcio es baja, el GMPc extracelular reduce la fosforilación y actividad de CaMKII y la fosforilación por la misma de la Ser847 de la óxido nítrico sintasa, aumentando su actividad y la formación de óxido nítrico, que activa la guanliato ciclasa, aumentando la función de la vía glutamato-óxido nítrico-GMPc, los niveles de GMPc y la capacidad de aprendizaje.

Cuando la concentración de calcio es normal, el GMPc extracelular aumenta la fosforilación y actividad de la CaMKII y la fosforilación por la misma de la Ser847 de la óxido nítrico sintasa, disminuyendo su actividad y el óxido nítrico. Esto reduce la activación de la guanliato ciclasa, la vía glutamato-óxido nítrico-GMPc y los niveles de GMPc, disminuyendo capacidad de aprendizaje en el laberinto en Y.

En ratas con hiperamonemia y encefalopatía hepática la función de la vía glutamato-óxido nítrico-GMPc y los niveles de GMPc en cerebelo están disminuidos. Esto disminuye su capacidad de aprendizaje. El aumento de los niveles de GMPc extracelular aumenta la función de la vía y los niveles de GMPc y restaura la capacidad de aprendizaje en ratas hiperamonémicas.

Estos resultados desvelan nuevos mecanismos que modulan el aprendizaje e identifica dianas terapéuticas para mejorar la función cognitiva en situaciones patológicas asociadas con niveles de GMPc alterados, como la hiperamonemia y la encefalopatía hepática.

Publicado en: Cabrera-Pastor et al. Scientific Reports 2016;6:33124.

3. La reducción de la inflamación periférica por tratamiento con anti-TNFa reduce la neuroinflamación, normaliza la expresión en membrana de transportadores de GABA y el GABA extracelular en cerebelo y restaura la coordinación motora y el aprendizaje en el laberinto en Y en ratas con encefalopatía hepática (EH).

Comprobamos que las ratas con EH debida a anastomosis porta-cava (PCS) presentan inflamación periférica y neuroinflamación en cerebelo, con activación de microglía y astrocitos y aumento de los niveles de IL-1b y TNFa. La expresión en membrana del transportador de GABA GAT-3 y la concentración de GABA extracelular están aumentados en ratas con EH, que también presentan incoordinación motora en el test "beam walking" y disminución de la capacidad de aprendizaje en el laberinto en Y (Fig.2).

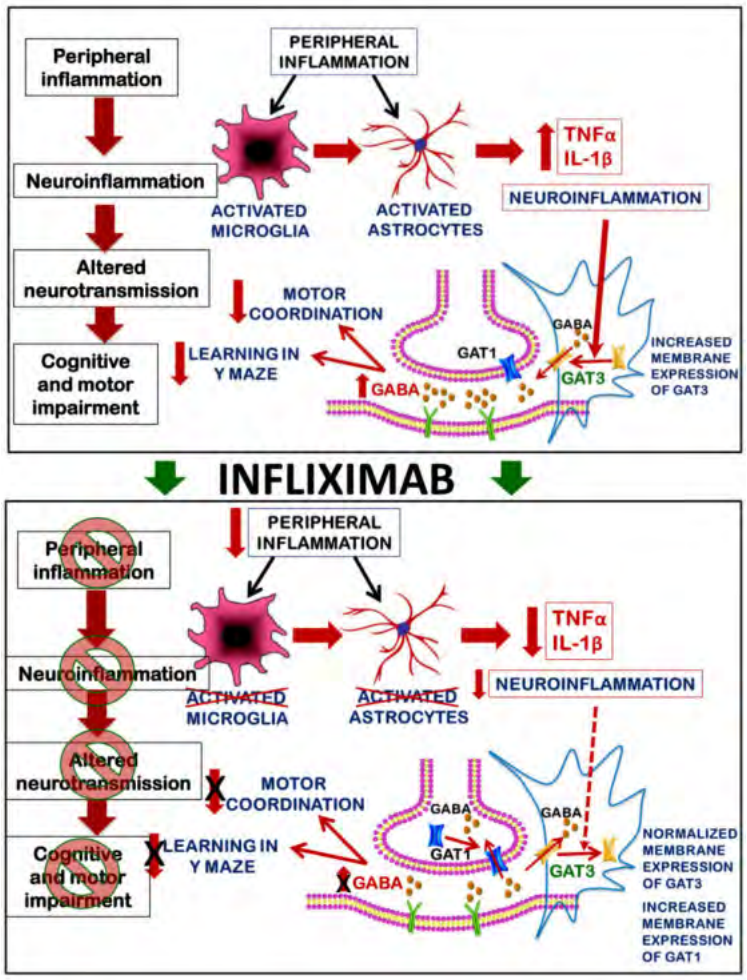


Figura 2. Modelo propuesto de los mecanismos implicados en el deterioro de la coordinación motora y del aprendizaje en ratas con encefalopatía hepática y su restauración por anti-TNFa (infliximab). De: Dadsetan et al. Journal of Neuroinflammation 2016;13(1):245

El tratamiento con infliximab (anti-TNFa) reduce la inflamación periférica, la activación de astrocitos y microglía y los niveles de IL-1b y TNFa en cerebelo. Esto va asociado a la normalización de la expresión en membrana de GAT-3 y de la concentración de GABA extracelular y a la recuperación de la coordinación motora y de la capacidad de aprendizaje.

Estos datos indican que:

1) la neuroinflamación altera la neurotransmisión GABAérgica aumentando la expresión en membrana de GAT-3 en astrocitos activados, lo que aumenta el GABA extracelular conduciendo a la incoordinación motora y el deterioro cognitivo;
2) la inflamación periférica contribuye de forma importante a la inducción de la neuroinflamación y el deterioro neurológico en EH; c) la reducción de la inflamación periférica por procedimientos seguros puede ser una nueva aproximación terapéutica para el tratamiento de las alteraciones neurológicas en pacientes con EH.

Publicado en: Dadsetan et al. Journal of Neuroinflammation 2016;13(1):245

Publicaciones

3. Agusti A, Llansola M, Hernandez-Rabaza V,Cabrera-Pastor A, Montoliu C, Felipo V. (2016) Modulation of $GABA_A$ receptors by neurosteroids. A new concept to improve cognitive and motor alterations in hepatic encephalopathy" Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology;160:88-93
4. Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L and Felipo V (2016) Hyperammonemia alters glycinergic neurotransmission and modulation of the glutamate-nitric oxide-cGMP pathway by extracellular glycine in cerebellum in vivo. Journal of Neurochemistry 137(4):539-48.
5. Hernandez-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Malaguarnera M, Agusti A, Llansola M and Felipo V (2016) Hyperammonemia induces glial activation, neuroinflammation and alters neurotransmitter receptors in hippocampus, impairing spatial learning. Reversal by sulforaphane. Journal of Neuroinflammation;13(1):41
6. Hernandez-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Gonzalez-Usano A, Agusti A, Balzano T, Llansola M and Felipo V. (2016) Neuroinflammation increases GABAergic tone and impairs cognitive and motor function in hyperammonemia by increasing GAT-3 membrane expression. Reversal by sulforaphane by promoting M2 polarization of microglia. Journal of Neuroinflammation;13(1):83.
7. Cabrera-Pastor A, Hernandez-Rabaza V, Taoro-Gonzalez L, Balzano T, Llansola M and Felipo V (2016) In vivo administration of extracellular cGMP normalizes TNF-a and membrane expression of AMPA receptors in hippocampus and spatial reference memory but not IL-1b, NMDA receptors in membrane and working memory in hyperammonemic rats. Brain Behavior and Immunity 57:360-70
8. Cabrera-Pastor A, Malaguarnera M, Taoro-Gonzalez L, Llansola M and Felipo V. (2016) Extracellular cGMP modulates learning ability in a biphasic way by modulating glycine receptors, Cl^- and Ca^{2+} and CaMKII. Scientific Reports 6:33124.
9. Dadsetan S, Balzano T, Forteza J, Agusti A, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Hernandez-Rabaza V, Gomez-Gimenez B, ElMlili, N., Llansola M, Felipo V. (2016) Infliximab reduces peripheral inflammation, neuroinflammation and extracellular GABA in cerebellum and improves learning and motor coordination in rats with hepatic encephalopathy. Journal of Neuroinflammation 13(1):245
10. Felipo V, Montagnese S. (2016) A rare and revealing glimpse of the cerebrospinal fluid of patients with hepatic encephalopathy. Journal of Hepatology; 65(6):1077-1078
11. Dadsetan S, Balzano T, Forteza J, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Hernandez-Rabaza V, Gil-Perotín S, Cubas-Núñez L, García-Verdugo JM, Agusti A, Llansola M, Felipo V. (2016) Reducing peripheral inflammation with infliximab reduces neuroinflammation and improves cognition in rats with hepatic encephalopathy. Frontiers in Molecular Neurosciences 9: 106
12. Montoliu C, Felipo V. (2016) Current state of knowledge of hepatic encephalopathy (part II): changes in brain white matter tracts integrity are associated with cognitive deficits in minimal hepatic encephalopathy. Metab Brain Dis. 31(6):1359-1360
13. Cabrera-Pastor A, Llansola M, Felipo V. (2016) Extracellular protein kinase A modulates intracellular calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, nitric oxide synthase and the glutamate-nitric oxide-cGMP pathway in cerebellum. Differential effects in hyperammonemia. ACS Chem Neurosci. 7(12):1753-1759

14. Belghiti M, Agusti A, Hernandez-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Llansola M, and FelipoV. Sildenafil treatment eliminates pruritogenesis and thermal hyperalgesia in rats with portacaval shunts. Neurochemical Research
15. Gomez-Gimenez, B; Llansola, M; Hernandez-Rabaza, V; Cabrera-Pastor, A; Malaguarnera, M; Agusti, A; Felipo, V. (2017) Sex-dependent effects of developmental exposure to different pesticides on spatial learning. The role of induced neuroinflammation in the hippocampus. Food and Chemical Toxicology, V99, p 135-148. Ahead of print 2016

Conferencias y congresos

1. Ponente invitado en Symposium: Current concepts of understanding and handling hepatic encephalopathy: The liver, inflammation and brain. Neuroinflammation in Hepatic Encephalopathy. V. Felipo. University Hospital Copenhagen. Denmark. October 7th, 2016
2. Ponente en Visit-Colloquium with the Nobel Prize Aaron Ciechanover. A. Cabrera-Pastor. Program on Neuroinflammation and Neurological impairment. June 6th, 2016. Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia.
3. Ponente invitado en el 17th ISHEN Symposium (International Society for Hepatic Encephalopathy, Delhi, India, March 9-11, 2017.
4. 10th FENS Forum of Neuroscience. Federation of European Neuroscience Societies. Hyperammonemia alters glycinergic neurotransmission and modulation of the Glutamate-Nitric oxide-cGMP pathway by extracellular glycine in cerebellum in vivo. Cabrera-Pastor A; Taoro-Gonzalez L; Llansola M; Felipo V. 2-6 July 2016, Copenhagen, Denmark.
5. EASL - The International Liver Congress™ 2016. European Association for the Study of the liver. Sildenafil reduces neuroinflammation and restores spatial learning in rats with hepatic encephalopathy. Underlying mechanisms. V. Hernandez-Rabaza, A. Agusti, A. Cabrera-Pastor, L. Taoro-Gonzalez, C. Montoliu, M. Llansola, V. Felipo. Barcelona. 13-17 April 2016.
6. 26th Annual Meeting Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Europe. Developmental neurotoxicity assessment of chemical exposure in children: weight of evidence combining in vivo behaviour effects with metabolomic and proteomic studies. P. Leonards, S. Tufi, M. Llansola, B. Gomez-Gimenez, S. Jung, V. Felipo. 22–26 May 2016, Nantes, France
7. 41º Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). El aumento de 3-nitrotirosina en suero está asociado a una reducción en la integridad microestructural de la sustancia blanca cerebral y a déficits cognitivos en la encefalopatía hepática mínima. C. Gimenez-Garzó, A. Urios, A. Agustí, A. Mangas-Losada, R. García-García, C. Forn, C. Avila, A. Escudero-Sanchis, J. Tosca, D. Escudero, O. González, R. Giner, M.A. Serra, J. L. León, V. Belloch, V. Felipo, C. Montoliu. 4- 17-19, Febrero 2016, Madrid
8. 41º Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). El sildenafilo reduce la neuroinflamacion en hipocampo y restaura el aprendizaje espacial en ratas con encefalopatia hepatica minima. Mecanismos moleculares. V. Felipo, V. Hernandez Rabaza, A. Agusti, A. Cabrera Pastor, S. Fustero, L. Taoro Gonzalez,C. Montoliu, M. Llansola. 17-19, Febrero 2016, Madrid

9. Spanish Symposium on Bioinformatics, JBI2016. Integration of multi-omics data to describe link between developmental exposure to pesticides and impaired neurodevelopment. E. Bernabeu, M. Llansola, V. Felipo, S. Tarazona, A. Conesa. 10-13 May 2016. Valencia
10. XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica. Sistema de obtención y procesado de Mismatch Negativity en modelo animal de encefalopatía hepática mínima. M. Lavilla; R. Magdalena; V. Felipo; F. Ordoño; C.a Montoliu; R. García García; J. Guerrero Martínez. 23-25/10/2016, Valencia
11. SICI (Spanish Ion Channel Initiative) Consolider International Workshop. Extracellular cGMP modulates learning biphasically by modulating glycine receptor, CaMKII and Glutamate-Nitric oxide-cGMP pathway. Cabrera-Pastor, A.; Malaguarnera, M.; Taoro-Gonzalez, L.; Cuñat, N.; Canet, D.; Santamaría, R.; Llansola, M.; Felipo, V. 20-22 October 2016, Torrecaballeros-Segovia (Spain).
12. I Congreso Nacional de Jóvenes Investigadores en Biomedicina – III Congreso de Biomedicina Predocs Valencia, Spain. Effects of rifaximin treatment in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. P. Izquierdo-Altarejos, M. Herranz-Notario, A. Mangas-Losada, R. García-García, A. Urios, V. Felipo, C. Montoliu. 28-29 November 2016. Valencia, Spain
13. I Congreso Nacional de jóvenes investigadores en Biomedicina. Infliximab reduces peripheral inflammation, neuroinflammation and extracellular GABA in cerebellum and improves learning and motor coordination in rats with hepatic encephalopathy. T. Balzano, S. Dadsetan, J. Forteza, M. Llansola, V. Felipo. 28-29 de Noviembre 2016, Valencia.
14. I Congreso Nacional de Jóvenes Investigadores en Biomedicina. III Congreso Biomedicina Predocs Valencia. Minimal hepatic encephalopathy is associated with increased capacity to eliminate superoxide and peroxynitrite in lymphocytes. A. Mangas-Losada, R. Garcia-Garcia, C. Gimenez-Garzó, P. Izquierdo-Altarejos, A. Urios, O. González-López, D. Escudero-García, Joan Tosca, M. A. Serra, R. Giner-Durán, V. Felipo, C. Montoliu. 28 – 29, Noviembre 2016, Valencia.
15. I Congreso Nacional de Jóvenes Investigadores en Biomedicina. III Congreso Biomedicina Predocs Valencia. Altered Mismatch Negativity in hyperamonemic rats. R. García García; F. Ordoño; J. Guerrero; M. Lavilla; R. Magdalena; C. Montoliu; V. Felipo. 28-29/11/2016, Valencia.
16. I Congreso Nacional de Jóvenes Investigadores en Biomedicina. III Congreso Biomedicina Predocs Valencia. Reversibility of neuroinflammation in rats with chronic hyperammonemia after removal of hyperammonemia. Y. Arenas, V. Felipo, M. Llansola. 28-29 Nov 2016, Valencia, España
17. I Congreso Nacional de Jóvenes Investigadores en Biomedicina. Glycine receptor role in membrane expression of glutamate ionotropic receptors in cerebellum and hippocampus. Alterations in animal models of hepatic encephalopathy. Canet-López, D.; Cuñat-Tamarit, N.; Taoro-Gonzalez, L.; Cabrera-Pastor, A.; Felipo V. 28-29 November 2016, Valencia (Spain).
18. I Congreso nacional Jóvenes Investigadores en Biomedicina. Modulation of glutamate and GABA ionotropic membrane receptors in cerebellum by cGMP. Impairments in Hepatic Encephalopathy animal models. Noelia Cuñat; Canet-López, D.; Taoro-Gonzalez, L.; Cabrera-Pastor, A.; Felipo V. 28-29 November 2016, Valencia (Spain).

Miembro del consejo editorial de las siguientes revistas científicas:

1. International Journal of Molecular Medicine
2. World Journal of Gastroenterology,
3. Open Gastroenterology Journal,
4. Journal of Hepatology,
5. Review Editor de Frontiers in Neuroenergetics,
6. World Journal of Experimental Medicine,
7. Neuroimmunology and Neuroinflammation,
8. New Horizons in Translational Medicine,
9. The Open Journal of Medicine,
10. International Journal of Neurology Research

Participación en Comités internacionales

1. Action Group A3 on "Prevention and early diagnosis of frailty and functional decline, both physical and cognitive, in older people" del European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing (EIP on AHA) de la Comisión Europea.
2. Expert Panel on Neuroscience of the European Society for Translational Medicine, Management Activities

Actividades de gestión

1. Comisión Académica del Programa de Doctorado en Neurociencias de la Universidad de Valencia
2. Comité de Expertos de la Comunidad Valenciana de Asesores para el Museo de las Ciencias “Príncipe Felipe”.

Actividades de Formación

1. Profesor del “Master de Enfermedades Neurológicas” Biotecnología. Universidad Politécnica de Valencia
2. Profesor del “Master en Neurociencias Básicas y Aplicadas”. Universidad de Valencia”

Colaboraciones

1. Dr. R. Pastorelli. Istituto de Recerche di Farmacologiche Mario Negri. (Milan, Italy)
2. Dr. J. Albrecht and Dr. M. Zielinska. Medical Research Centre of Warsaw, Dept. of Neurotoxicology. (Varsovia, Polonia)
3. Dr. J.A. García-Horsman. University of Helsinky, Division of Pharmacology and Toxicology. (Helsinki, Finlandia)
4. Dr. M. Errami y Dr. N. El Mlili. Universidad de Abdelmalik Essadi-Tetuan, Dept. de Biologie. (Tetouan, Morocco)
5. Dr E. Soria-Juanjo Garces. IDAL, Intelligent Data Analysis Laboratory, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Valencia, Spain
6. Dr. J. Guerrero, Dr. R. Magdalena, Dr. M. Lavilla. Dpto. Ingeniería Electrónica. Escuela Técnica Superior de Ingeniería. Univ. de Valencia. España.
7. Dr. J. Arias. Univ. de Oviedo, Facultad de Psicología, Departamento de Psicologia. (Oviedo, Spain)
8. Dr. J.L. Cantero. Univ. de Sevilla, Laboratory of Functional Neuroscience. Department of Physiology, Anatomy, and Cellular Biology. (España)
9. Dr. V. Yusá y Dra. M.T. Rebagliat. Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP). (Valencia, Spain)
10. Dr. V. Belloch. Exploraciones Radiologicas Especiales (ERESA). (Valencia, Spain)
11. Dr. O. González y Dra. R. Giner. Hospital Arnau de Vilanova, Digestivo. (Valencia, Spain)
12. Dr. F. Ordoño y Dra. M. Rueda. Hospital Arnau de Vilanova, Neurofisiología. (Valencia, Spain)
13. Dr. M. Serra, Dr. J. del Olmo y Dr. A. Wassel. Hospital Clinico de Valencia, Hepatología. (Valencia, Spain)
14. Dr. J.Martínez Valls y Dr. M. Civera. Hospital Clinico de Valencia, Endocrinología. (Valencia, Spain)

15. Dra. E. Jordá, Dra. E. Montesinos y Dra. I.Molina. Hospital Clinico de Valencia, Dermatología. (Valencia, Spain)
16. Dr. A. Ferrandez. Hospital Clinico de Valencia, Anatomía Patológica. (España)
17. Dr. J. Ortega y Dr. N. Casinello. Hospital Clinico de Valencia, Cirugía. (España)
18. Dr. A. Miguel y Dr. I. Torregrosa. Hospital Clinico de Valencia, Nefrología. (España)
19. Dr. J.L. León y Dr. R. Aliaga. Hospital Clinico de Valencia, Resonancia Magnética. (España)
20. Dr. E. Noé. Hospital NISA Valencia al Mar, Neuro-Rehabilitación. (España)
21. Dr. C. Montoliu. INCLIVA. (España)
22. Dr. M. Perez Alonso y Dr. J. García Planells. Instituto de Médicina Genómica (IMEGEN), (España)
23. Dr. García Verdugo. Univ. de Valencia, Neurobiología Comparativa, Instituto Cabanilles. (Valencia, Spain) (España)
24. Dr. C. Avila y Dra. C. Forn. Univ. Jaime I, Departamento de Psicología Básica, Clínica y Psicobiología. (Castellón, Spain)
25. Dr. B. Rey. Univ. Politécnica de Valencia, Instituto de Investigación en Bioingeniería y Tecnología Orientada al Ser Humano–I3BH. (Valencia, Spain)
26. Dra. C. Carda y Dra. A. Ruíz. Univ. de Valencia, Histología. (Valencia, Spain)

Tesis doctorales defendidas

1. Doctorando: Nicolás Peñaranda Sarmiento. *"Alteraciones del ritmo del sueño en modelos animales de encefalopatía hepática"*. Directores: Carmina Montoliu, Vicente Felipo; María Ángeles Lloret Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, 23 de Diciembre de 2016.

Tesis doctorales en curso

1. Doctorando: Tiziano Balzano: "Bases moleculares de las alteraciones neurológicas (cognitivas y motoras) en hiperamonemia y en encefalopatía hepática. Implicaciones terapéuticas"
2. Doctorando:Lucas Taoro: "Mecanismos moleculares de las alteraciones cognitivas y motoras en encefalopatía hepática mínima. Implicaciones terapéuticas".
3. Doctorando: Raquel García: "Mismatch Negativity y Encefalopatía Hepática".
4. Doctorando:Alba Mangas
5. Doctorando:Ruth Victorio

Trabajos finales de máster dirigidos

1. Verónica Aliaga Gálvez. "*Progresión de la neuroinflamación en modelos animales de encefalopatía hepática*." Tutores: V. Felipo y M. Llansola. Máster en Investigación en biología molecular, celular y genética, Univ. de Valencia, 20 de julio de 2016. Calificación: Sobresaliente 8.5.
2. Amparo Noelia Cuñat Tamarit. "Estudio de la modulación por GMPc de la expresión en membrana de receptores ionotrópicos de glutamato y GABA en cerebelo. Alteraciones en modelos animales de encefalopatía hepática." Tutores: V. Felipo y A. Cabrera-Pastor. Máster en Biotecnología Biomédica, Univ. Politécnica de Valencia, 19 de Julio de 2016. Calificación: Sobresaliente 9.5
3. Yaiza Mª Arenas Ortiz. *"Reversibilidad de la neuroinflamación en ratas con hiperamonemia crónica tras la eliminación de la hiperamonemia."* Tutores: V. Felipo y M. Llansola. Máster en Neurociencias Básicas y Aplicadas. Univ. de Valencia, 21 de julio de 2016. Calificación: Sobresaliente 9.2
4. Hanna Vila Merkle."*Neuroinflamación y alteraciones en la neurotransmisión en ratas expuestas a pesticidas durante el desarrollo*." Tutores: V. Felipo y M. Llansola. Máster en Neurociencias Básicas y Aplicadas. Univ. de Valencia, 21 de septiembre de 2016. Calificación: Sobresaliente 9.5
5. Diana Coral Narváez. *"Alteraciones en la inflamación periférica en pacientes con EHM. Efectos del tratamiento con Tadalafilo o Rifaximina."* Tutores: A. Agustí. Máster en Neurociencias Básicas y Aplicadas. Univ. de Valencia, 21 de julio de 2016. Calificación: Sobresaliente 9.0

Trabajos finales de grado dirigidos

1. Paula Antón Prieto. "*Progresión de la neuroinflamación en hiperamonemia crónica y encefalopatía hepatica*". Tutores: T. Balzano y M. Llansola. Grado en Biotecnología-Univ. Politécnica de Valencia, 15 de junio de 2016. Calificación: Sobresaliente 9.5
2. Andrea Ibañez Grau. *"Efecto del sildenafilo sobre la neuroinflamación en ratas con encefalopatía hepática."* Tutores: A. Agustí y T. Balzano. Grado en Biotecnología-Univ. Politécnica de Valencia, 21 de septiembre de 2016. Calificación: Sobresaliente 9.0
3. David Canet López. "Papel del receptor de glicina en la expresión en membrana de receptores ionotrópicos de glutamato en cerebelo e hipocampo. Alteraciones en modelos animales de encefalopatía hepatica." Tutores: A. Cabrera Pastor, L. Taoro González y V. Felipo. Grado en Biotecnología-Univ. Politécnica de Valencia, 2016. Calificación: Sobresaliente 9.5
4. Elena Bernabeu Gómez. *"Integration of multi-omics data to describe link between developmental exposure to pesticides and impaired neurodevelopment."* Tutores: S. Tarazona Campos, A. Conesa Cegarra y V. Felipo. Grado en Biotecnología-Universidad Politécnica de Valencia, Julio de 2016. Calificación: matrícula de Honor 10.

Patología celular y molecular del alcohol

Investigadora principal: Dra. Consuelo Guerri

Investigadores Asociados:

- María Pascual

Investigadores Postdoctorales:

- Silvia Alfonso Loeches

Investigadores Predoctorales:

- Jorge Montesinos
- Juan Ureña Peralta

Técnicos:

- Mª Jose Morillo Bargues

Estudiantes:

- Javier Cuitavi Martin (UPV)
- Luis Gómez Saiz. (UPV)

Colaboradores:

- Dr. Jose Miñarro (UV)
- Dr. Carlos González Aragón, (U. Jaume I)
- Dra. Mª Isabel Colado, (U. Complutense de Madrid)
- Dr. Fernando Rodríguez de Fonseca, (Inst. de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), Hospital Regional Universitario de Málaga)
- Dr. Javier Laso Guzmán, (Inst. de Investigación Biomédica-Hospital Clínico de Salamanca)
- Ulises Gómez Pinedo, (Department of Regenerative Medicine/Neurology and Neurosurgery, Neuroscience Institute, Hospital Clínico de San Carlos Hospital, IdISSC)
- Dra. Olga Valverde, Neurobiology of Behavior Research Group (GReNeC), Department of Experimental and Health Sciences, Universitat Pompeu Fabra)

1. Resumen

Bases moleculares de la neurotoxicidad y alteraciones neurológicas asociadas con el consumo de alcohol.

Estamos interesados en las bases moleculares y celulares de las acciones del alcohol sobre el cerebro adulto y en desarrollo. La exposición prenatal al etanol es la principal causa, prevenible, de defectos en el nacimiento, retraso mental y deficiencias cognitivas y conductuales, incluyendo el Síndrome alcohólico fetal (SAF). Así mismo, el nuevo patrón de consumo de alcohol en los jóvenes, altas cantidades en pocas horas durante los fines de semana, no solo puede inducir neurotoxicidad y alteraciones cognitivas, sino que también puede aumentar la vulnerabilidad al alcohol y a su dependencia. Finalmente, puesto que el abuso de alcohol puede inducir daño cerebral y neurodegeneración, estamos interesados en investigar los mecanismos moleculares de las acciones del etanol sobre el cerebro adulto. Utilizamos células neurales en cultivo primario y modelos animales que reproducen las patologías asociadas al consumo de alcohol. Nuestros objetivos son:

i) Investigar los mecanismos moleculares de las acciones del etanol sobre los receptores del sistema inmunitario (TLRs, NLRs) en cultivos primarios de células gliales. *(Fig.1)*

ii) Establecer los mecanismos de activación del sistema inmune innato en el daño cerebral y cognitivo que induce el abuso del alcohol en el cerebro. Estudio del papel de los receptores TLRs y NLRs/inflamasoma en la neuroinflamación.

iii) Evaluar marcadores biológicos que nos permitan detectar la neuroinflamación y el daño cerebral para poder prevenir un mayor daño y las disfunciones neurológicas y cognitivas.

iv) Investigar nuevos tratamientos que puedan bloquear la neuroinflamación y neurodegeneración causada por el abuso de alcohol.

Con nuestros estudios esperamos contribuir a esclarecer las bases moleculares de los efectos del etanol sobre el cerebro, para poder desarrollar estrategias que puedan prevenir e incluso curar y restaurar el daño que induce el etanol en el cerebro.

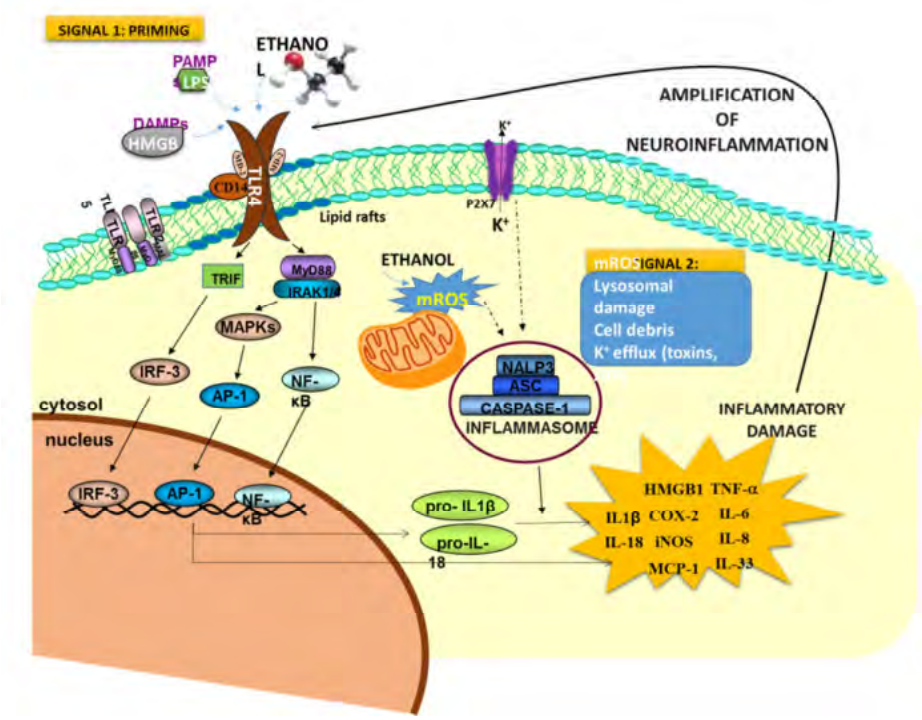


Figura 1. El esquema muestra los mecanimos por los que la activacion de los TLR4 y el inflamasoma NLRP3 por el consumo de alcohol causan neuroinflamacion en cerebro

2. Resultado de la investigación

1-Diferencias de género en la expresión de citocinas y quimiocinas inflamatorias inducidas altas dosis de alcohol durante la adolescencia: Estudios clínicos y preclínicos *(Fig.2)*

El consumo de alcohol tipo "binge driking" o atracón durante la adolescencia puede causar alteraciones cognitivas y comportamentales a largo plazo. Evidencias recientes demuestran la participación del sistema inmune en los efectos del alcohol en el cerebro adolescente, y sugieren la existencia de diferencias de género. Hemos analizado los niveles de citocinas y quimiocinas en el plasma de chicos y chicas adolescentes tras una intoxicación aguda de alcohol, y si estos resultados se han relacionado con la activación del receptor TLR4. La activación del receptor TLR4 se analizó en el plasma y corteza prefrontal (CPF) de ratones adolescentes, machos y hembras, salvajes o control y deficientes en este receptor tratados o no con altas dosis de etanol. Los resultados muestran que la intoxicación aguda del alcohol produce un aumentos de los niveles de citocinas y quimiocinas en plasma [interferon-γ, interleucina (IL)-10, IL-17A, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, fractalquina, monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) and macrophage inflammatory protein 1α (MIP-1α)] y un aumento en la expresión del ARNm del TLR4 en chicas intoxicadas con alcohol, mientras que en los chicos intoxicados con alcohol solo incrementó el colony-stimulating factor (CSF). Además, se observó aumentos de ciertas citocinas y quimiocinas en CPF (IL-17A, IL-1β, MCP-1, MIP-1α y fractalquina) y en suero (IL-17A, MCP-1 y MIP-1α) de animales hembra tratados con etanol, mientras que en los machos se observó solo aumentos en la fractalquina de CPF. No se observó diferencias significativas en los niveles de citocinas y quimiocinas en la corteza prefrontal (CPF) o en suero procedente de animales macho y hembra deficientes en el TLR4. Nuestros resultados ponen de manifiesto que las chicas son más vulnerables que los chicos a los efectos inflamatorios producidos por altas dosis de alcohol, y sugieren que el receptor TLR4 podría ser un importante objetivo y diana en la neuroinflamación inducida por el abuso de alcohol durante la adolescencia.

2-Papel del TLR4 en los cambios epigenéticos, de refuezo y de ansiedad a largo plazo inducidos por el tratamiento de alcohol durante la adolescencia.

Estudios en humanos y en animales han demostrado la vulnerabilidad del cerebro adolescente a las acciones del etanol y sus consecuencias a largo plazo, incluyendo alteraciones cognitivas debido a la neurotoxicidad del etanol, y de las conductas de riesgo y de dependencia a esta sustancia, asociadas con el abuso de alcohol y en la dependencia. Aunque los mecanismos que participan en estos efectos se desconocen, hemos demostrado que el etanol es capaz de activar la respuesta inmune innata a través de los receptores TLR4, induciendo neuroinflamación, alterando las proteínas relacionadas con la mielina y causando disfunciones cognitivas in ratones adolescentes. Puesto que el sistema neuroinmune está involucrado en el abuso del alcohol, el objetivo de este trabajo es demostrar si el tratamiento de etanol durante la adolescencia es capaz de promover alteraciones sinápticas a largo plazo relacionadas con el abuso y dependencia a esta droga. Para este estudio se utilizaron corteza prefrontal de ratones salvajes o control y deficientes en el TLR4 (TLR4-KO) tratados o no intermitentemente con etanol (3g/kg) durante 2 semanas. Los resultados demostraron que el tratamiento de alcohol producía alteraciones a corto y a largo plazo, tanto en la plasticidad sináptica como en los cambios epigenéticos en la zona promotora de los genes *bdnf* y *fosb*, que conducían a un aumento en su expresión en animales adultos tratados durante la adolescencia con etanol. Estos cambios moleculares se asociaron con alteraciones a largo plazo en los mecanismos de recompensa y en la ansiedad, así como con un aumento de la preferencia por el alcohol. Los resultados también demostraron que la activación del sistema neuroinmune y de la respuesta del receptor TLR4, puesto que en los TLR4-KO mostraron cierta protección a las alteraciones moleculares y conductuales inducidas por el alcohol en el cerebro adolescente. Estos resultados muestran el papel de la función neuroinmune en los efectos a largo plazo del alcohol, y permite la posibilidad del diseñar nuevos fármacos para paliar estos efectos, e incluso el abuso al alcohol.

3-La autofagia constituye un mecanismo protector contra la toxicidad del etanol en astrocitos y neuronas de ratón.

El etanol es capaz de inducir daño cerebral y neurodegeneración, a través de procesos inflamatorios y activación de los receptores TLR4 en las células gliales. Estudios recientes relacionan la función de la degradación de proteínas en los procesos neurodegenerativos y en la hepatopatía alcohólica, aunque se desconoce cómo afectan estos procesos al cerebro. Nuestros estudios previos indican que el consumo crónico de alcohol altera los procesos proteolíticos en el cerebro de ratón, y de la respuesta inmunitaria mediada por el receptor TLR4 . Hemos evaluado, si una única dosis de altos niveles de etanol afecta la vía autofagia-lisosoma en células astrogliales en cultivo procedentes de animales salvajes o control y deficientes en el TLR4, y como estos efectos participan en la supervivencia celular. Nuestros resultados demostran que el etanol induce la expresión de varias proteínas autofágicas (ATG12, LC3-II, CTSB), y aumenta el número de lisosomas en los astrocitos control, efectos que estaban acompañados por un aumento del pH lisosomal y por una disminución de los niveles de fosforilación de mTOR (inhibidor de la autofagia) junto con la activación de los complejos de beclin-1 y ULK1. Cabe destacar, que solo unos pequeños cambios se observaron en astrocitos procedentes de animales deficientes en el TLR4 tratados o no con etanol. El etanol también indujo la expresión de los mediadores inflamatorios, iNOS y COX-2, y una causo muerte celularr. El bloqueo de la autofagia mediante inhibidores específicos aumenta la inflamación y la muerte celular. Por el contrario, en neuronas, el etanol disminuye la autofagia y aumenta la muerte neuronal, que es parcialmente revertida por activadores de la autofagia. Estos resultados sugieren que el sistema de la autofagia tiene un papel protector en el daño producido por el etanol en los astrocitos, y que es dependiente del receptor TLR4, y por tanto, proporciona un nuevo mecanismo para entender el daño cerebral producido por el etanol.

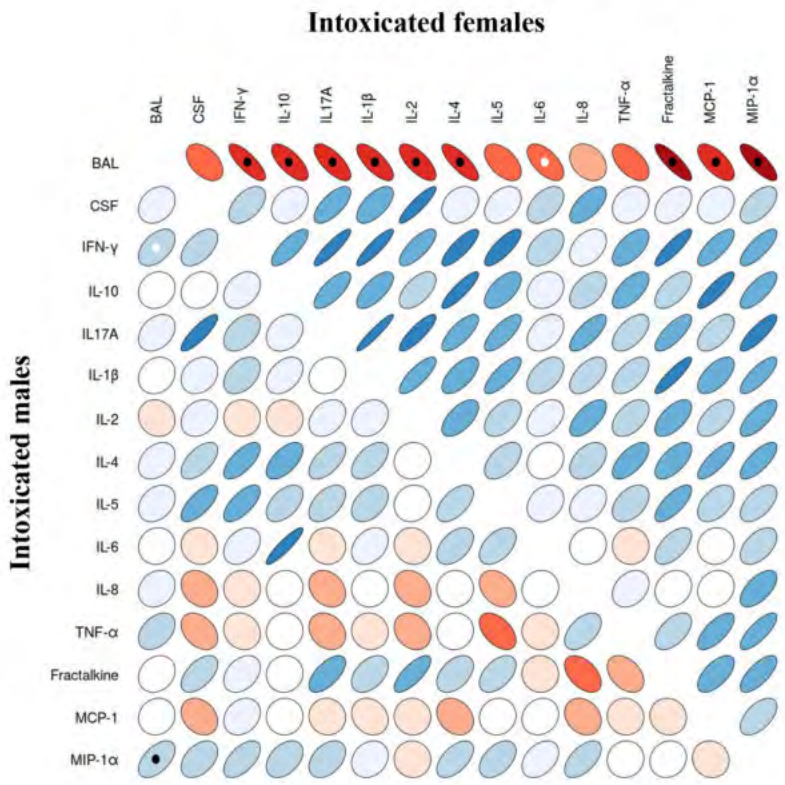


Figura 2. Correlación entre los niveles de alcoholemia y las concentraciones de citocinas y quimiocinas plasmáticas en chicas y chicos con intoxicación por etanol. A menor amplitud y mayor intensidad de color indica una mayor correlación entre ambas variables. Las elipses azules o rojas representan las correlaciones de chicos y chicas, respectivamente. Los puntos negros indican correlación mientras que los puntos blancos indicant tendencia

Publicaciones

1. Montesinos J, Alfonso-Loeches S, Guerri C. Impact of the Innate Immune Response in the Actions of Ethanol on the Central Nervous System Alcohol Clin Exp Res. 40(11):2260-2270, 2016
2. Pascual M, Montesinos J, Marcos M, Torres JL, Costa-Alba P, García-García F, Laso FJ, Guerri C. Gender differences in the inflammatory cytokine and chemokine profiles induced by binge ethanol drinking in adolescence; Addict Biol. 2016 (IF:4.9)
3. Montesinos J, Pascual M, Rodríguez-Arias M, Miñarro J, Guerri C. Involvement of TLR4 in the long-term epigenetic changes, rewarding and anxiety effects induced by intermittent ethanol treatment in adolescence. Brain Behav Immun.53:159-71,2016 (IF:5.9)
4. Pla A, Pascual M, Guerri C. Autophagy Constitutes a Protective Mechanism against Ethanol Toxicity in Mouse Astrocytes and Neurons. PLoS One. 11(4):e0153097, 2016. (IF.3.2)
5. Alfonso-Loeches S, Ureña-Peralta J, Morillo-Bargues MJ, Gómez-Pinedo U, Guerri C. Ethanol-Induced TLR4/NLRP3 Neuroinflammatory Response in Microglial Cells Promotes Leukocyte Infiltration Across the BBB. Neurochem Res. 41(1-2):193-209, 2016.(IF.2.6)
6. Rubio-Araiz A, Porcu F, Pérez-Hernández M, García-Gutiérrez MS, Aracil-Fernández MA, Gutierrez-López MD, Guerri C, Manzanares J, O'Shea E, Colado MI. Disruption of blood-brain barrier integrity in postmortem alcoholic brain: preclinical evidence of TLR4 involvement from a binge-like drinking model Addict Biol. doi: 10.1111/adb.1,2016 (IF.4.6)
7. Montagud-Romero S, Montesinos J, Pascual M, Aguilar MA, Roger-Sanchez C, Guerri C, Miñarro J, Rodríguez-Arias M. `Up-regulation of histone acetylation induced by social defeat mediates the conditioned rewarding effects of cocaine. Prog Neuropsy- chopharmacol Biol Psychiatry. 3;70:39-48, 2016 (IF: 4.4)
8. Montagud-Romero S, Reguilon MD, Roger-Sanchez C, Pascual M, Aguilar MA, Guerri C, Miñarro J, Rodríguez-Arias M. Role of dopamine neurotransmission in the long-term effects of repeated social defeat on the conditioned rewarding effects of cocaine. Prog.Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry ;71:144-54, 2016 (IF:4.4)
9. González-Guerrero C, Cannata-Ortiz P, Guerri C, Egido J, Ortiz A, Ramos AM. TLR4-mediated inflammation is a key pathogenic event leading to kidney damage and fibrosis in cyclosporine nephrotoxicity Arch Toxicol. 2016

Actividades de divulgación

1. Semana Mundial del Cervell, SENC, March 16, 2016. C. Guerri "Alcohol and Adolescence". Falla Jesús
2. Semana Saludable, UV, 11-18 Nov., 2016. C.Guerri "Efectos perjudiciales del alcohol en la adolescencia" Facultad de Farmacia, UV

Conferencias y congresos

1. International Congress of ISBRA, 2-5 September, 2016. Chair (C.Guerri) and speaker of the symposium: Discovering New and Resolving Old Challenges.
2. International Congress of ISBRA, 2-5 September, 2016. **"**Role of the TLR4 Immune response in ethanol-induced neurodevelopmental alterations" Guerri C., Montesinos J., Miñarro J, Pascual M.
3. International Congress of ISBRA, 2-5 September, 2016 Poster: Montesinos J , Pascual M, Marcos M, García-García F, Torres J.L , Costa-Alba P, Laso F.J., Guerri C. *"Gender Differences in the inflammatory cytokines and chemokine in the inflammatory profiles induced by binge drinking in adolescence"*
4. Simposium de pediatría medioambiental y síndrome alcohólico fetal**,** September7-9, 2016. Conferencia: Molecular and celular mechanisms of fetal alcohol espectrum dysorders l.

5. Congress of Socidrogalcohol, March. Symposium. C Guerri. Talk: “Modelos animales de exposición prenatal al alcohol: Papel del sistema neuroinmunitario en las alteraciones asociadas a la exposición prenatal al alcohol (FASD)”

Imagen biomédica. *Unidad Mixta CIPF-FISABIO*

Investigadores principales: Dr. Vicente Felipo- Dra. María de la Iglesia Vaya

Investigadores Predoctorales:

- Ángel Fernández-Cañada Vilata (Fisabio)

Técnicos

- Jorge Isnardo Altamirano (Fisabio)
- Jose Miguel Calderón Terol (Fisabio)

Colaboradores:

- Maria José Escartí Fabra (Fisabio)
- José Molina Mateo (Fisabio)
- Carlos Martínez Riera (Fisabio)

1. Resumen

La investigación de la Unidad Mixta se centra esencialmente en el estudio de la Conectividad Cerebral. El cerebro es una compleja red de regiones interconectadas tanto estructural como funcionalmente. La comunicación funcional entre regiones del cerebro juega un papel clave en los procesos cognitivos. Las actividades mentales implican la activación de redes neuronales en las que participan áreas cerebrales diferentes creando circuitos para la realización de funciones cognitivas complejas. El análisis de la conectividad cerebral permite entender la organización del cerebro humano, cómo se activan distintas redes neuronales para realizar distintas tareas o cómo se alteran los patrones de activación en situaciones patológicas.
La Unidad utiliza y desarrolla metodologías para detectar y cuantificar estos tipos de conectividad y su relación con la función cerebral. Combina distintas técnicas matemáticas para analizar las imágenes, las interpreta y las integra con el conocimiento biológico y médico para obtener modelos que expliquen y predigan el funcionamiento cerebral en condiciones normales y patológicas. Los objetivos son avanzar en el conocimiento de los mecanismos implicados en el deterioro neurológico en distintas situaciones patológicas, entender mejor sus causas, desarrollar procedimientos diagnósticos tempranos del deterioro cognitivo y evaluar la utilidad de procedimientos terapéuticos para revertirlo o prevenirlo.

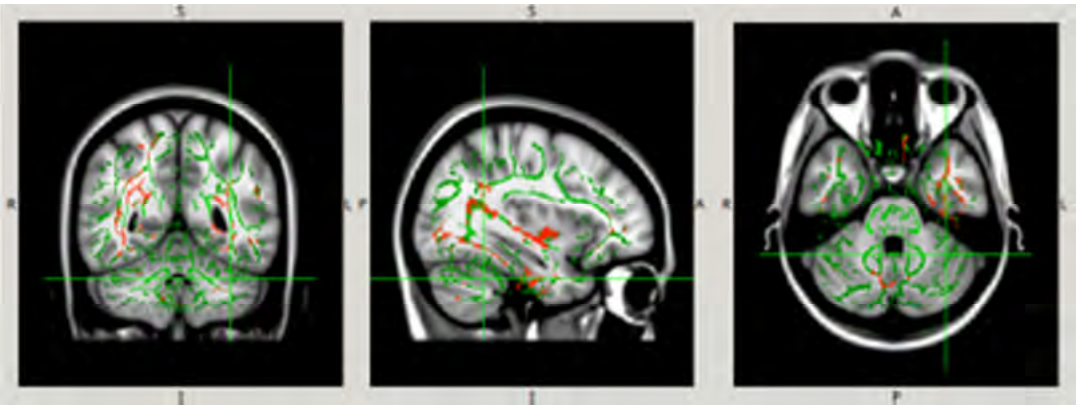


Figura 1. Análisis de Anisotropía Fracional en Imagen de Resonancia Magnética potenciada en Difusión.

Deterioro neurológico. *Unidad Mixta CIPF-Incliva*

Investigadores principales: Dra. Carmina Montoliu- Dr. Vicente Felipo

Todos los miembros del Laboratorio de Neurobiología del CIPF y, además, del INCLIVA:

Investigadores asociados y Clínicos

- Miguel Ángel Serra Desfilis (INCLIVA)
- Amparo Escudero García (INCLIVA)
- María Luisa García Torres (INCLIVA)
- Joan Tosca Cuquerella (INCLIVA)
- Cristina Montón Rodríguez (INCLIVA)
- José Ballester Fayos (INCLIVA)

Investigadores Postdoctorales

- Ana Agusti

Investigadores Predoctorales

- Alba Mangas Losada (INCLIVA)
- Paula Izquierdo
- Miriam Herrainz (INCLIVA)
- Yaiza Arenas

Colaboradores

- Fermín Ordoño (INCLIVA)
- Remedios Giner (INCLIVA)
- Olga Gonzalez (INCLIVA)

1. Resumen

Un porcentaje elevado de pacientes con cirrosis hepática sufren encefalopatía hepática mínima (EHM) con enlentecimiento psicomotor, déficits cognitivos leves y de concentración e incoordinación motora que disminuyen su calidad de vida y aumentan su riesgo de padecer accidentes. Los mecanismos que conducen a estas alteraciones no son bien conocidos y no existen tratamientos específicos para revertirlas. Las alteraciones del sueño en estos pacientes no se han estudiado adecuadamente. Por otra parte, una caracterización más detallada de las alteraciones neurológicas más tempranas en EHM permitiría estudiar mejor los mecanismos implicados y diseñar y ensayar nuevos tratamientos.
Vamos a caracterizar en detalle las alteraciones neurológicas y a analizar por resonancia magnética estructural y funcional (RMf) y por técnicas de neurofisiología las alteraciones cerebrales que pueden ser responsables de las alteraciones neurológicas. También estamos analizando la contribución de la inflamación y del estrés oxidativo a la aparición de la EHM. Los cambios identificados pueden permitir avanzar en el conocimiento de los mecanismos de la EHM y ser útiles como procedimiento diagnóstico.
Nuestros **objetivos** son:

- Caracterizar en detalle las alteraciones en atención, coordinación, percepción, memoria espacial y de trabajo y en otros aspectos de la función cognitiva y motora en pacientes con EHM
- Caracterizar las alteraciones del sueño en pacientes con EHM
- Analizar la contribución de la inflamación y del estrés oxidativo y noitrosativo a la EHM y a alteraciones neurológicas concretas.
- Estudiar por RMf:
- El patrón de activación de áreas cerebrales durante la realización de tests de atención y del potencial evocado “mismatch negativity”
- La conectividad neuronal en reposo
- Los mecanismos cerebrales de las alteraciones cognitivas y motoras en pacientes con EHM.
- Las principales líneas de investigación son:
- Identificación de marcadores periféricos de EHM. Identificación de metabolitos útiles para el diagnóstico temprano de EHM. Búsqueda de marcadores relacionados con la inflamación como posibles indicadores de la presencia de EHM.
- Caracterización detallada de las alteraciones en atención, coordinación, percepción, memoria espacial y de trabajo y en otros aspectos de la función cognitiva y motora en pacientes con EHM
- Identificación de alteraciones de la función cerebral utilizando resonancia magnética estructural y funcional (edema, atrofia cerebral, alteraciones en estructura y conectividad de tractos neurales) en pacientes con EHM.
- Identificación de alteraciones de la función cerebral utilizando técnicas neurofisiológicas (EEG, cartografía cerebral, ..) en pacientes con EHM. Análisis de su utidad para el diagnóstico de EHM.
- Estudio de las alteraciones en el patrón y calidad de sueño de los pacientes cirróticos son EHM.
- Análisis del efecto sinérgico de hiperamonemia e inflamación en la inducción del deterioro cognitivo y motor.
- Caracterización de los cambios en el inmunofenotipo asociados a la aparición de EHM en pacientes cirróticos Implicaciones diagnósticas.

Publicaciones

1. Agusti A, Llansola M, Hernández-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Montoliu C, Felipo V. Modulation of GABAA receptors by neurosteroids. A new concept to improve cognitive and motor alterations in hepatic encephalopathy. J Steroid Biochem Mol Biol. 2016 160:88-93.
2. Belghiti M, Agusti A, Hernandez-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Llansola M, Felipo V. Sildenafil Treatment Eliminates Pruritogenesis and Thermal Hyperalgesia in Rats with Portacaval Shunts. Neurochem Res. 2016 Jun 20
3. Ampuero, J; Gil-Gomez, A; Viloria, MD; Montoliu, C; Simon-Talero, M; Rico, MD; Camacho, IM; Serra, MA; Vilar-Gomez, E; Romero-Gomez, M. Oral glutamine challenge predicts and identifies long-term ammonia-related overt hepatic encephalopathy. Hepatology 2016; 63: 713A-713A.
4. Montoliu C, Felipo V. Current state of knowledge of hepatic encephalopathy (part II): changes in brain white matter tracts integrity are associated with cognitive deficits in minimal hepatic encephalopathy. Metab Brain Dis. 2016 Sep 20
5. Dadsetan S, Balzano T, Forteza J, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Hernandez-Rabaza V, Gil-Perotín S, Cubas-Núñez L, García-Verdugo JM, Agusti A, Llansola M, Felipo V. Reducing Peripheral Inflammation with Infliximab Reduces Neuroinflammation and Improves Cognition in Rats with Hepatic Encephalopathy. Front Mol Neurosci. 2016 Nov 2 ;9:106.
6. Urios A, Mangas-Losada A, Gimenez-Garzó C, González-López O, Giner-Durán R, Serra MA, Noe E, Felipo V, Montoliu C. Altered postural control and stability in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy correlate with cognitive deficits. Liver Int. 2016 Dec 18 ;.IF: 4,47
7. Perelló C, Carrión JA, Ruiz-Antorán B, Crespo J, Turnes J, Llaneras J, Lens S, Delgado M, García-Samaniego J, García-Paredes F, Fernández I, Morillas RM, Rincón D, Porres JC, Prieto M, Lázaro Ríos M, Fernández-Rodríguez C, Hermo JA, Rodríguez M, Herrero JI, Ruiz P, Fernández JR, Macías M, Pascasio JM, Moreno JM, Serra MÁ, Arenas J, Real Y, Jorquera F, Calleja JL, Spanish Collaborative Group for the Study of the Use of Hepatitis C Direct-Acting Drugs. Effectiveness and safety of ombitasvir, paritaprevir, ritonavir ± dasabuvir ± ribavirin: An early access programme for Spanish patients with genotype 1/4 chronic hepatitis C virus infection.J Viral Hepat. 2016 Dec 15

Congresos

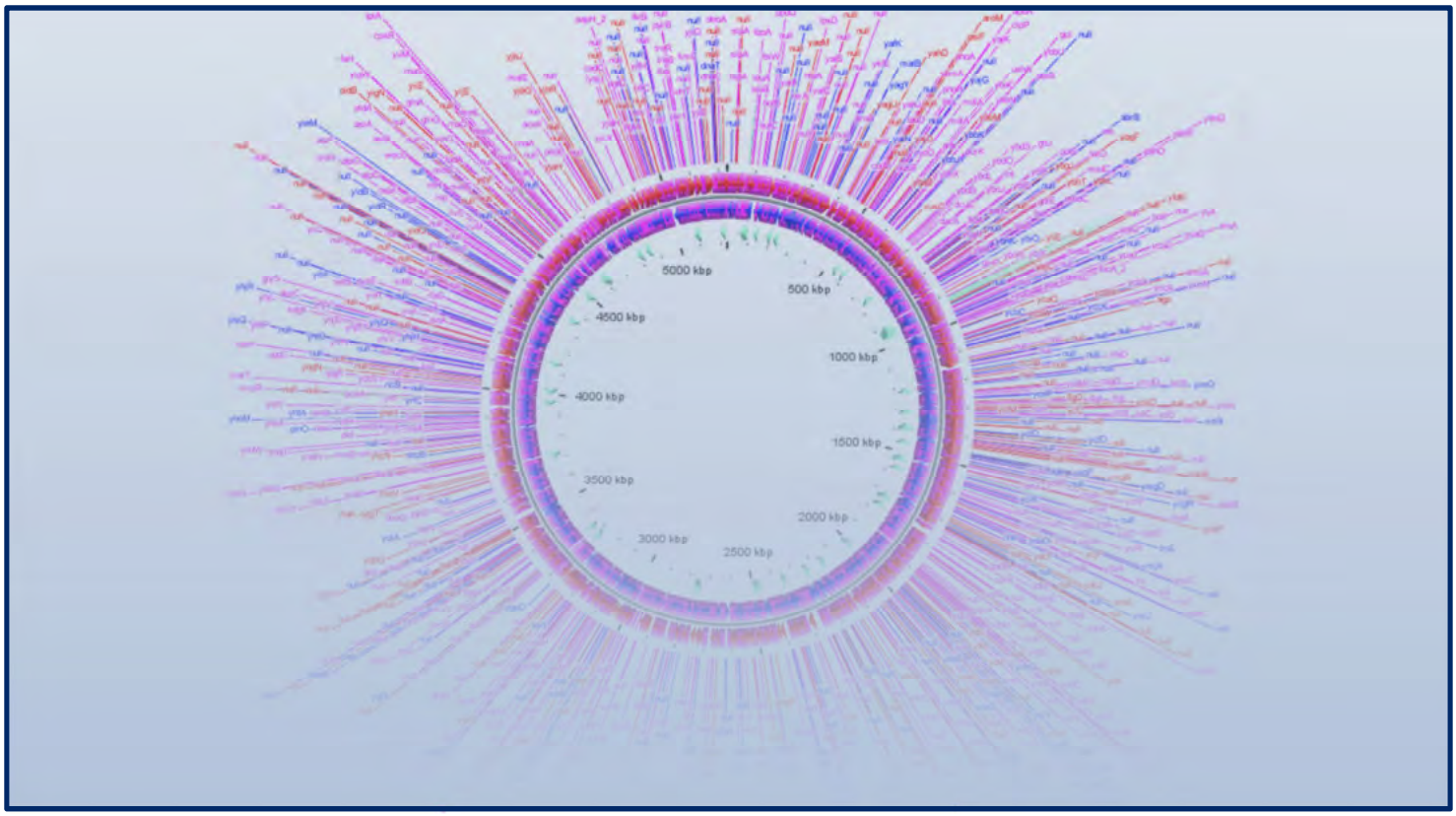
1. 41 congreso anual de la asociación española para el estudio del hígado (aeeh) Autores: Carla Gimenez-Garzó, Amparo Urios, Ana Agustí, Alba Mangas-Losada, Raquel García-García, Cristina Forn, Cesar Avila, Amparo Escudero-Sanchis, Joan Tosca, Desamparados Escudero, Olga Gonzalez, Remedios Giner, Miguel A. Serra, José L. León, Vicente Belloch, Vicente Felipo, and Carmina Montoliu. El aumento de 3-nitrotirosina en suero está asociado a una reducción en la integridad microestructural de la sustancia blanca cerebral y a déficits cognitivos en la encefalopatía hepática minima. Madrid del 17 al 19 de febrero de 2016.
2. XXXIV Congreso anual de la sociedad española de ingeniería biomédica (CASEIB). Autores: M. Lavilla Miyasato, R. Magdalena Benedito, V. Felipo Ortz, J.F. Ordoño Domínguez, C. Montoliu, Félix, R. García García, J. Guerrero Martínez. Sistema de obtención y procesado de Mismatch Negativity en modelo animal de encefalopatía hepática minima. Valencia, 23, 24 y 25 de Noviembre de 2016

3. I Congreso nacional de jóvenes investigadores en Biomedicine/ III Congreso Biomedicina predocs valencia Autores: Alba Mangas-Losada, Raquel Garcia-Garcia, Carla Gimenez-Garzó, Paula Izquierdo-Altarejos, Amparo Urios, Olga González-López, Desamparados Escudero-García, Joan Tosca, Miguel Angel Serra, Remedios Giner-Durán, Vicente Felipo and Carmina Montoliu. Minimal hepatic encephalopathy is associated with increased capacity to eliminate superoxide and peroxynitrite in lymphocytes. Valencia, 28 – 29 Noviembre 2016
4. I Congreso nacional de jóvenes investigadores en Biomedicina/ III Congreso biomedicina predocs Valencia. Autores: Raquel García García, Fermín Ordoño, Juan Guerrero, Manuel Lavilla, Rafael Magdalena, Carmina Montoliu, Vicente Felipo. Altered mismatch negativity (mmn) in hyperammonemic rats. Valencia, 28 – 29 Noviembre 2016
5. I Congreso nacional de jóvenes investigadores en Biomedicina/ III Congreso biomedicina predocs Valencia. Autores: Paula Izquierdo-Altarejos, Alba Mangas-Losada, Raquel García-García1, Miriam Herranz-Notario, Amparo Urios, Vicente Felipo, Carmina Montoliu. Effects of rifaximin treatment in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. Valencia, 28 – 29 Noviembre 2016

Tesis doctorales

1. Doctorando: Felipe Ordoño Domingez. “Evaluación de los efectos del tratamiento con tadalafilo sobre las funciones cerebrales, neurológicas y bioquímicas en pacientes con hiperplasia benigna de próstata y disfunción eréctil”. Director/es: Carmina Montoliu/Felipe Ordoño/Cristina Domenech. Facultad de Medicina, Universidad de Valencia. 26/01/2016. Calificación: Sobresaliente - Cum Laude
2. Doctorando: Nicolás Peñaranda Sarmiento. “Alteraciones del ritmo del sueño en modelos animales de encefalopatia hepática”. Director/es: Carmina Montoliu/Vicente Felipo/Mª Ángeles Lloret. Facultad de Medicina, Universidad de Valencia. 23/12/2016. Calificación: Sobresaliente - Cum Laude

PROGRAMA DE NUEVAS TECNOLOGÍAS DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

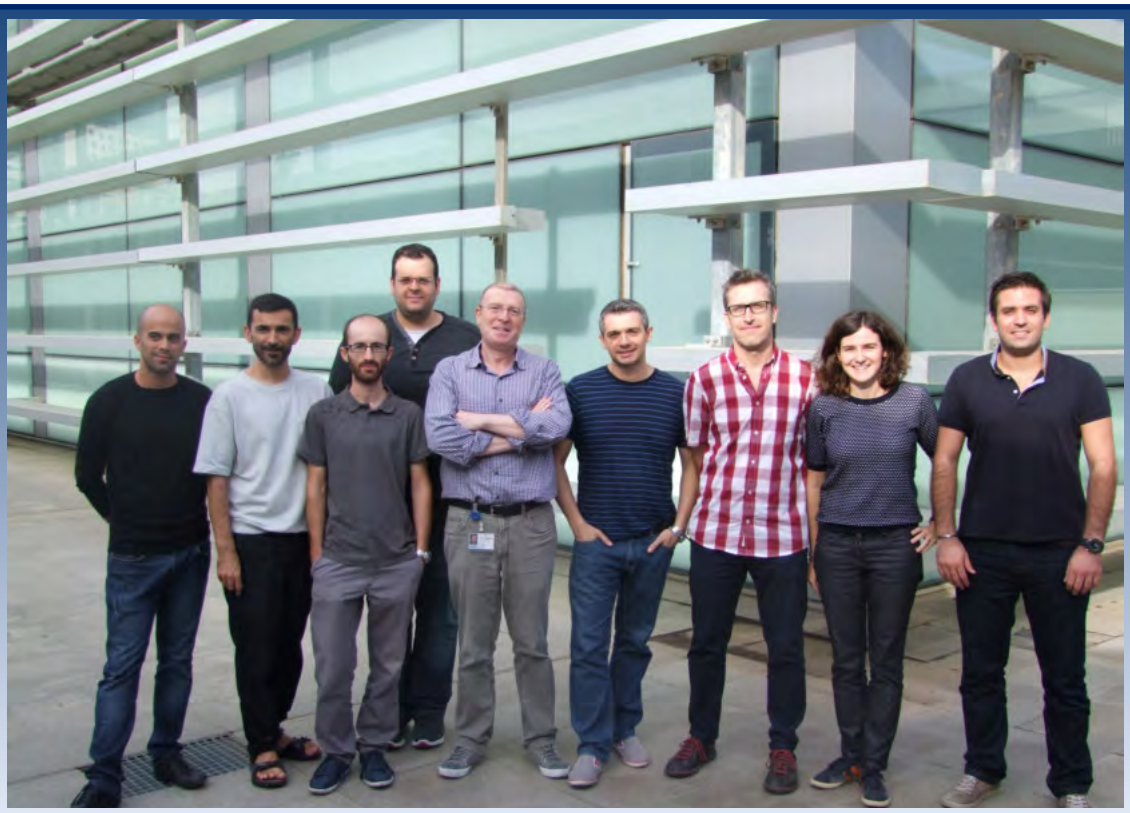


Responsable del programa: Dr. Joaquín Dopazo

Grupos de investigación:

1. **Genómica computacional. Investigador principal: Dr. Joaquín Dopazo.**
2. **Genómica de la Expresión Génica. Investigadora principal: Dra. Ana Conesa.**
3. **Metabolómica. Unidad mixta CIPF-IIS La Fe. Investigador Principal: Dr. Antonio Pineda-Lucena.**
4. **Citómica. Unidad mixta CIPF-UV. Investigador principal: Dr. Enrique O´Connor.**

Genómica computacional



Investigador principal: Dr. Joaquín Dopazo

Investigadores Asociados:

- Joaquín Tárraga Giménez
- Francisco García García

Investigadores Postdoctorales:

- Marta Hidalgo García
- Alicia Amadoz Navarro

Investigadores Predoctorales:

- Cankut Cubuk
- José Carbonell carbonell

Técnicos

- Francisco Salavert (CIBERER)
- Alejandro Alemán (CIBERER)
- Rubén Sánchez García
- Laura Galisteo
- Asunción Gallego Ortega
- Mercedes Medina García
- Daniel Crespo Belenguer
- Matías Marí Falcó

Estudiantes:

- Carolina Monzó Cataluña (UV)
- Pau Nebot Forcada(UPV)
- Julen Mendieta Esteban (UV)
- Edgar Sanchez Hurtado(IES Maria Enriquez)
- Alicia Guilló Recuerda (UV)
- Víctor Doménech Lopez (UV)
- Jordi Blasco Carrasco(UPV)
- Ivan Ansari Toledano (UV)
- Fatma Ezgi Can (Uludag University Turkey)
- Sema Atis(Uludag University Turkey)
- Almudena Devesa Peiró (UV)
- Ayelén Rojas Benedicto (UV)
- Antonio Trassierra Fresco(UV)
- Sandra Alandes Esteve(UPV)
- Anna Bailach Adsuara(UPV)
- Sancho Blanco Fernandez (UV)
- Kinza Rian (Univ. Abdelmalek Essaâdi-Tetouan Tanger)
- Naima Belmokhtar (Univ. Abdelmalek Essaâdi-Tetouan Tanger)
- Fabiana Pittalis(Univ. Roma Torvergata)

Colaboradores:

- Cesim Erten (Kadir Has University of Turkey)
- Daniel Prieto Arribas (Universitary Hospital "La Paz")
- Yunlong JIAO (Armines ParisTech)
- Matias Morin Rodríguez (U715 CIBERER)
- Sara Pastor Puente (INCLIVA)
- Jose M. Juanes Tebar (INCLIVA)
- David Dos Santos Alburquerque(Hosp. General Hospital de Valencia)
- Tao Qing Fudan (Univ. Shanghai
- Vicente Arnau (UV)

1. Resumen

Las ciencias de la vida se están transformando en disciplinas basadas en datos debido a la adopción imparable de tecnologías *omicas* cada vez más baratas. La consecuente profusión de *Big Data* genómico ha incentivado la aparición de nuevas aproximaciones metodológicas basadas en la Biología de Sistemas. En este escenario, pretendemos relacionar el genotipo (variantes puntuales o estructurales y la expresión génica) con el fenotipo, con especial interés en enfermedad y respuesta a fármacos, usando para ello modelos del funcionamiento celular que expliquen los mecanismos moleculares de la enfermedad y los mecanismos de acción de los fármacos.
Nuestro grupo lleva a cabo una investigación puntera aplicando bioinformática traslacional y genómica integrativa a la medicina personalizada. Las herramientas bioinformáticas que desarrollamos permiten convertir datos *ómicos* poco informativos en conocimiento biomédico útil que puede ser usado con propósitos diagnósticos o pronósticos. El resultado de esta investigación lo aplicamos al estudio de enfermedades raras, cáncer y farmacogenómica, principalmente. Nuestro grupo es parte del Instituto Nacional de Bioinformática (INB), a través de la unidad de genómica funcional y del CIBERER (Centro de Investigación en Biomédica Red sobre Enfermedades Raras) a través del grupo de Bioinformática de las Enfermedades Raras (BiER).

2. Resultado de la Investigación

El motor de la innovación en la investigación en biología computacional en los próximos años viene de la predecible generación de enormes cantidades de datos genómicos, la disponibilidad de un conocimiento cada vez más detallado de la función celular y la aparición de nuevas soluciones computacionales para el manejo de *big data* genómico. El objetivo de nuestro grupo es trabajar en aquellos aspectos, provenientes de la revolución del *big data*, con mayor potencial transformador de la forma en la que entendemos las relaciones entre genotipo y fenotipo, y su aplicación a la medicina de precisión y la farmacogenómica.
Una importante parte de nuestra actividad nos ha hecho líderes en el desarrollo de algoritmos y soluciones de software avanzadas para la genómica funcional. Proyectos de gran escala como el Babelomics (ver http://www.babelomics.org), la tercera herramienta más citada para el análisis funcional de experimentos genómicos, nos ha permitido participar en importantes iniciativas internacionales como el SEQC (FDA) o el proyecto ENCODE.

Algoritmos para datos genómicos

El potencial de descubrimiento que tienen las nuevas tecnologías de secuenciación es obstaculizado por las dificultades asociadas al almacenamiento, manejo e interpretación de los datos que generan. Consecuentemente, hemos invertido un gran esfuerzo en desarrollar herramientas que faciliten estas tareas, cubriendo desde el procesamiento primario de datos (Medina et al., DNA Res, 2016; Tarraga et al., BMC Bioinformatics, 2016) hasta su análisis avanzado (Salavert et al., NAR, 2016; Salavert et al., Bioinformatics, 2016; Garcia-Garcia et al., Bioinformatics 2016)

Estudios genómicos en enfermedades raras y cáncer

Gracias a nuestros desarrollos para análisis de datos genómicos y debido a que somos miembros del CIBERER, hemos participado en el análisis de numerosos estudios de secuenciación exómica de diferentes enfermedades como: Charcot-Marie-Tooth (Lupo et al., 2016 J Mol Diag), Chronic Skin Inflammatory Diseases. (Carretero et al., 2016 J Inflam Dis), Optiz (Urreizti et al., 2016 Am J Med Genet), Retinitis pigmentosa (Bravo-Gil et al., 2016, Sci Rep; Corton et al., 29016, Sci Rep),

Rett syndrome (Lucariello et al., 2016 Hum Genet). También hemos estudiado enfermedades relacionads con defectos en el metabolismo (Sanchez-Mut et al., Transl Psychiatry 2016)..
El cáncer es otra área de investigación de gran interés para el grupo. Hemos publicado el primer catálogo de la actividad patogénica regulatoria en el cáncer (Falco et al., 2016, Sci rep). Otra contribución interesante es nuestro estudio de los determinantes del color del pelo y su relación con el melanoma (Puig-Butille et al., 2016, Oncotarget).
También hemos estudiado las implicaiones de la variabilidad genética de la población española (Dopazo et al., Mol Biol Evol, 2016).

Farmacogenómica.

Nuestra contribución es una detallada revisión sobre Farmacogenómica (Maroñas et al., 2016, Drug Metabol Personal Ther)

Otros estudios genómicos.

Hemos realizado estudios sobre lnRNAs en colaboración con el proyecto ENCODE que han producido una publicación de alto impacto (Lagarde et al., 2016 Nat Comm)

Biología de sistemas.

El aspecto más estratégico de nuestro trabajo en genómica es el desarrollo de modelos de funcionalidad celular suficientemente realistas como para explicar aspectos importantes de los mecanismos de la enfermedad y de acción de fármacos. Hemos demostrado que modelos *ejecutables* de la señalización celular son capaces de generar biomarcadores basados en mecanismo que pueden predecir con precisión fenotipos complejos como la supervivencia en pacientes de cáncer (Hidalgo et al., 2016, Oncotarget). Además, estos modelos son *accionables* y hemos desarrollado un entorno virtual donde se puede simular las consecuencias que KOs o sobre-expresiones pueden tener sobre la señalización celular (y los correspondientes acciones celulares desencadenadas por los estímulos) (Salavert et al., 2016, NAR). Este tipo de modelos es extremadamente útil para la interpretación clínica de datos genómicos complejos y sientan las bases del futuro del diagnóstico y el tratamiento personalizado en medicina de precisión.
También hemos estudiado desde la perspectiva de la biología de sistemas los mecanismos moleculares que hay detrás de ciertos tipos de obesidad (Razzoli et al., Mol Metab, 2016; Sanghez te al., Stress, 2016). Por otra parte, hemos descubierto una red de interaccion con mutaciones recurrentes en lecucemia promielocítica aguda ((Ibáñez et al., PLoS One, 2016).
Hemos aplicado conceptos de biología de sistemas a otros campos como las interacciones entre plantas y virus (Hillung et al., 2016, Sci Rep).

Proyectos y participación en iniciativas internacionales.

Los proyectos en activo del grupo (BIO2014-57291-R, PROMETEOII/2014/025 and Fundació la Marató TV3 20133134) tratan de aspectos funcionales de las enfermedades e intentan relacionar defectos o desregulaciones génicas con los mecanismos de enfermedad usando una perspectiva de biología de sistemas. También participamos en una ITN Marie Curie on Machine Learning for Personalized Medicine (http://www.mlpm.eu/) y el proyecto europeo ELIXIR-EXCELERATE H2020 (676559). Los objetivos anuales de los proyectos han sido completados con éxito y su resultado han sido 24 artículos publicados en revistas internacionales durante 2016.
El grupo es un miembro activo de ELIXIR (miembro del comité “Infrastructure for Tools Integration” committee, European initiative for the future of Bioinformatics in Europe, http://www.elixir-europe.org/). También participamos en las iniciativas SEQC y ENCODE. Por último, hemos sido promotores de la iniciativa HPC4G (http://www.hpc4g.org) para portar aplicaciones genómicas a un entorno computacional de alto rendimiento (HPC) y así acelerar el proceso de análisis de datos. Esta iniciativa ha producido numerosas herramientas y publicaciones (sólo este año Medina et al., DNA Res, 2016; Tarraga et al., BMC Bioinformatics, 2016).

Publicaciones

1. Medina I, Tárraga J, Martínez H, Barrachina S, Castillo MI, Paschall J, Salavert-Torres J, Blanquer-Espert I, Hernández-García V, Quintana-Ortí ES, Dopazo J. 2016 Highly sensitive and ultrafast read mapping for RNA-seq analysis. DNA Res. 23:93-100. IF: 5.477
2. Lupo V, García-García F, Sancho P, Tello C, García-Romero M, Villarreal L, Alberti A, Sivera R, Dopazo J, Pascual-Pascual SI, Márquez-Infante C, Casasnovas C, Sevilla T, Espinós C. 2016 Assessment of Targeted Next-Generation Sequencing as a Tool for the Diagnosis of Charcot-Marie-Tooth Disease and Hereditary Motor Neuropathy. J Mol Diagn. S1525-1578(15)00261-5. IF: 4.851
3. Carretero M, Guerrero-Aspizua S, Illera N, Galvez V, Navarro M, García-García F, Dopazo J, Jorcano JL, Larcher F, Del Rio M. 2016 Differential Features between Chronic Skin Inflammatory Diseases Revealed in Skin-Humanized Psoriasis and Atopic Dermatitis Mouse Models. J Invest Dermatol.136(1):136-45. IF:7.216
4. Dopazo J, Amadoz A, Bleda M, Garcia-Alonso L, Alemán A, García-García F, Rodriguez JA, Daub JT, Muntané G, Rueda A, Vela-Boza A, López-Domingo FJ, Florido JP, Arce P, Ruiz-Ferrer M, Méndez-Vidal C, Arnold TE, Spleiss O, Alvarez-Tejado M, Navarro A, Bhattacharya SS, Borrego S, Santoyo-López J, Antiñolo G. 2016. 267 Spanish exomes reveal population-specific differences in disease-related genetic variation. Mol Biol Evol. 33(5):1205-1218. IF: 9.105
5. Urreizti R, Roca-Ayats N, Trepat J, Garcia-Garcia F, Aleman A, Orteschi D, Marangi G, Neri G, Opitz JM, Dopazo J, Cormand B, Vilageliu L, Balcells S, Grinberg D. 2016 Screening of CD96 and ASXL1 in 11 patients with Opitz C or Bohring-Opitz syndromes. Am J Med Genet A. 170(1):24-31. IF: 2.159
6. Sanchez-Mut JV, Heyn H, Vidal E, Moran S, Sayols S, Delgado-Morales R, Schultz MD, Ansoleaga B, Garcia-Esparcia P, Pons-Espinal M, de Lagran MM, Dopazo J, Rabano A, Avila J, Dierssen M, Lott I, Ferrer
7. I, Ecker JR, Esteller M. 2016 Human DNA methylomes of neurodegenerative diseases show common epigenomic patterns. Transl Psychiatry. 6:e718. IF: 5.62
8. Razzoli M, Frontini A, Gurney A, Mondini E, Cubuk C, Katz LS, Cero C, Bolan PJ, Dopazo J, Vidal-Puig A, Cinti S, Bartolomucci A. 2016 Stress-induced activation of brown adipose tissue prevents obesity in conditions of low adaptive thermogenesis. Mol Metab. 5(1):19-33. IF –
9. Puchades-Carrasco L, Jantus-Lewintre E, Pérez-Rambla C, García-García F, Lucas R, Calabuig S, Blasco A, Dopazo J, Camps C, Pineda-Lucena A. 2016 Serum metabolomic profiling facilitates the non-invasive identification of metabolic biomarkers associated with the onset and progression of non-small cell lung cancer. Oncotarget. IF: 6.359
10. Ibáñez M, Carbonell-Caballero J, García-Alonso L, Such E, Jiménez-Almazán J, Vidal E, Barragán E, López-Pavía M, LLop M, Martín I, Gómez-Seguí I, Montesinos P, Sanz MA, Dopazo J, Cervera J. 2016 The Mutational Landscape of Acute Promyelocytic Leukemia Reveals an Interacting Network of Co-Occurrences and Recurrent Mutations. PLoS One. 11(2):e0148346 IF: 3.234
11. Maroñas O, Latorre A, Dopazo J, Pirmohamed M, Rodríguez-Antona C, Siest G, Carracedo Á, LLerena A. 2016 Progress in pharmacogenetics: consortiums and new strategies. Drug Metabol Personal Ther. 31(1):17-23. IF: 0.487
12. Tarraga J, Gallego A, Arnau V, Medina I, Dopazo J. 2016 HPG pore: an efficient and scalable framework for nanopore sequencing data. BMC Bioinformatics. 17(1):107. IF: 2.576
13. Sanghez V, Cubuk C, Sebastián-Leon P, Carobbio S, Dopazo J, Vidal-Puig A, Bartolomucci A. 2016 Chronic subordination stress selectively downregulates the insulin signaling pathway in liver and skeletal muscle but not in adipose tissue of male mice. Stress. [Epub ahead of print] IF: 3.252

14. Bravo-Gil N, Méndez-Vidal C, Romero-Pérez L, González-del Pozo M, Rodríguez-de la Rúa E, Dopazo J, Borrego S, Antiñolo G. 2016 Improving the management of Inherited Retinal Dystrophies by targeted sequencing of a population-specific gene panel Sci Rep. 6:23910. IF:5.578
15. Hillung J, García-García F, Dopazo J, Cuevas JM, Elena SF 2016 The transcriptomics of an experimentally evolved plant-virus interaction.Sci Rep. 6:24901 IF:5.578
16. Salavert F, Hidago MR, Amadoz A, Çubuk C, Medina I, Crespo D, Carbonell-Caballero J, Dopazo J. 2016 Actionable pathways: interactive discovery of therapeutic targets using signaling pathway models. Nucleic Acids Res. 44(W1):W212-6. IF:9.112
17. Garcia-Garcia F, Panadero J, Dopazo J, Montaner D. 2016. Integrated gene set analysis for microRNA studies. Bioinformatics. 32(18):2809-16. IF: 5.766
18. Salavert F, García-Alonso L, Sánchez R, Alonso R, Bleda M, Medina I, Dopazo J. 2016. Web-based network analysis and visualization using CellMaps Bioinformatics. [Epub ahead of print] IF: 5.766
19. Lagarde J, Uszczynska-Ratajczak B, Santoyo-Lopez J, Gonzalez JM, Tapanari E, Mudge JM, Steward CA, Wilming L, Tanzer A, Howald C, Chrast J, Vela-Boza A, Rueda A, Lopez-Domingo FJ, Dopazo J, Reymond A, Guigó R, Harrow J. 2016. Extension of human lncRNA transcripts by RACE coupled with long-read high-throughput sequencing (RACE-Seq). Nat Commun. 7:12339. IF: 11.329
20. Lucariello M, Vidal E, Vidal S, Saez M, Roa L, Huertas D, Pineda M, Dalfó E, Dopazo J, Jurado P, Armstrong J, Esteller M. 2016. Whole exome sequencing of Rett syndrome-like patients reveals the mutational diversity of the clinical phenotype. Hum Genet. [Epub ahead of print] IF: 4.633
21. Hidalgo MR, Cubuk C, Amadoz A, Salavert F, Carbonell-Caballero J, Dopazo J. 2017 High throughput estimation of functional cell activities reveals disease mechanisms and predicts relevant clinical outcomes. Oncotarget. 8(3):5160-5178 IF: 5.00
22. Puig-Butille JA, Gimenez-Xavier P, Visconti A, Nsengimana J, Garcia-García F, Tell-Marti G, Escamez MJ, Newton-Bishop J, Bataille V, Del Río M, Dopazo J, Falchi M, Puig S. 2016 Genomic expression differences between cutaneous cells from red hair color individuals and black hair color individuals based on bioinformatic analysis. Oncotarget. [Epub ahead of print] IF:5.00
23. Falco MM, Bleda M, Carbonell-Caballero J, Dopazo J. 2016 The pan-cancer pathological regulatory landscape.Sci Rep. 6:39709 IF:5.22
24. Prieto J, León M, Ponsoda X, García-García F, Bort R, Serna E, Barneo-Muñoz M, Palau F, Dopazo J, López-García C, Torres J. 2016 Dysfunctional mitochondrial fission impairs cell reprogramming.Cell Cycle. 15(23):3240-3250 IF:3.952
25. Corton M, Avila-Fernández A, Campello L, Sánchez M, Benavides B, López-Molina MI, Fernández-Sánchez L, Sánchez-Alcudia R, da Silva LR, Reyes N, Martín-Garrido E, Zurita O, Fernández-San José P, Pérez-Carro R, García-García F, Dopazo J, García-Sandoval B, Cuenca N, Ayuso C. 2016. Identification of the Photoreceptor Transcriptional Co-Repressor SAMD11 as Novel Cause of Autosomal Recessive Retinitis Pigmentosa. Sci Rep. 6:35370. IF:5.22
26. Sevilla T, Lupo V, Martínez-Rubio D, Sancho P, Sivera R, Chumillas MJ, García-Romero M, Pascual-Pascual SI, Muelas N, Dopazo J, Vílchez JJ, Palau F, Espinós C. Mutations in the MORC2 gene cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. Brain 2016; 139:62-72.
27. Moschen S, Bengoa Luoni S, Di Rienzo JA, Caro MD, Tohge T, Watanabe M, Hollmann J, González S, Rivarola M, García-García F, Dopazo J, Hopp HE, Hoefgen R, Fernie AR, Paniego N, Fernández P, Heinz RA. 2016. Integrating transcriptomic and metabolomic analysis to understand natural leaf senescence in sunflower. Plant Biotechnol J.

28. Alic, AS; Ruzafa, D; Dopazo, J; Blanquer, I. Objective review of de novo stand-alone error correction methods for NGS data. 2016. Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science.6:2, P111

Conferencias y congresos

1. Bridging the gap between genotype and phenotype with a new generation of mechanism-based biomarkers. Karolinska Institute, Stockholm, Sweden January13th, 2016
2. Mechanism-Based Biomarkers and Its Use, Consistence Across Technologies. MAQC and JMAC Joint Workshop, February 11th, 2016
3. Muchas mutaciones y pocas muestras, el problema de encontrar los genes causantes de enfermedades raras. I Congreso de Investigación Traslacional de Enfermedades Raras, Valencia, 25 de febrero, 2016
4. Qué es la medicina de precisión y porqué es importante en enfermedades raras. II Congreso de Fiebre Familiar Mediterránea, Barcelona, 27 de febrero de 2016
5. Presente y futuro en la integración y análisis masivo de datos para la Medicina de Precisión. Retos actuales de la Medicina Personalizada, La Fe, Valencia, 1 Marzo, 2016
6. Mechanistic Biomarkers based on models of cell signaling. Fudan University, Shanghai, June 1st, 2016
7. Rethinking biomarkers: measurement of cell activity accurately predict phenotypes. Conferencia de clausura de la Jornadas UA*Bio*, UAB, 9 de Junio, 2016
8. Big data genómico: Presente y futuro en el manejo de datos genómicos en la práctica clínica. XXIII Jornadas Nacionales de Informática Sanitaria, Málaga, 16 junio, 2016
9. Modeling Pathway Activity with gene expression data accurately accounts for disease mechanisms and predicts clinical outcomes. University of Ferrara, 20th June, 2016
10. Mechanistic biomarkers derived from models of pathway activity predict clinical outcomes. CAMDA Conference, Orlando, Florida, 8th July, 2016
11. Multigenic (mechanistic) biomarkers. Advancing Precision Medicine and Cancer Genomics, Bethesda, MD, September 13-14, 2016
12. HPC contribution to Society challenges: Health. HPC Workshop, Bucaramanga, Colombia, 16 September, 2016
13. Converting genomic data into mechanistic biomarkers that provide insights into disease mechanisms. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III , 2nd November, 2016
14. Platforms CIBERER and INB-ELIXIR-es. Symposium: International platforms for biomedical research: A focus on rare diseases, Fundacion Ramón Areces, Madrid 3-4 November, 2016
15. Big Data en Genomica. FORO SANITAS. Big data y medicina de precisión, Madrid 17 November, 2016
16. Models of pathway activity accurately predict clinical outcomes. D-BSSE, ETHZ, Basel, Switzerland, 22nd November, 2016
17. Prognostic cancer biomarkers derived from models of pathway activity. IDIBELL, Barcelona, 19th December, 2016

Tesis doctorales dirigidas

1. Doctorando: Patricia Sebastian. "*Understanding disease mechanisms with statistical models of signaling pathway activities*". Universidad de Valencia.Facultad de Matemáticas, departamento de estadística. 5/02/2016.
2. Doctorando: Francisco García-García. "*Métodos de análisis de enriquecimiento funcional en estudios genómicos*". *Universidad de Valencia*. Facultad de Matemáticas, departamento de estadística. Date: 7/10/2016.

Genómica de la expresión génica

Investigadora principal: Dra. Ana Conesa

Investigadores Asociados:

- Sonia Tarazona Campos

Investigadores Predoctorales:

- Lorena de la Fuente Lorente
- Salvador Casaní

Técnicos

- Eugenia Flores de la Luna
- Cristina Martí Ibáñez
- Carlos Martínez Mira

Colaboradores:

- Luis Delaye (CINVESTAV)
- Jorge García (CINVESTAV)
- Milene Ferro
- Francisco J. Pardo (Univ. Luxemburgo)
- Víctor Sánchez (UPV)
- Paula Calderón (UCV)
- Iván Margaix (UPV)
- Filomeno Sánchez (UPV)
- José María Pérez
- Adrián Santiago (UPV)
- Elena Bernabeu (UPV)

1. Resumen

El laboratorio Genómica de la Expresión Génica trabaja en el estudio de los aspectos funcionales de la expresión génica a nivel de todo el genoma y su relación con las enfermedades y el fenotipo. Para ello desarrollamos métodos estadísticos y herramientas de software que analizan la dinámica del transcriptoma, integrando éstos con otros tipos de datos moleculares y anotándolos funcionalmente, todo ello haciendo uso de las tecnologías de secuenciación masiva (NGS). Las áreas actuales de investigación son:

- Integración de datos multi-ómicos para el estudio de patologías humanas y procesos moleculares básicos.
- El papel funcional del ARN largo no codificante y su asociación con la enfermedad.
- Papel funcional de la expresión alternativa de isoformas durante neurodiferenciación.

La investigación genómica funcional se complementa con el desarrollo de software de bioinformática para el análisis de datos: **Blast2GO** (anotación funcional), **Paintomics** (visualización genómica), **Qualimap** (control de calidad de datos NGS), **maSigPro** y **SEA** (análisis de series temporales), **minAS** y **ASCA-genes** (análisis de la expresión génica), **NOIseq** (análisis RNA-seq), **STATegraEMS** (bases de datos), **spongeScan** (análisis de función de RNA no codificante), **Transcript2GO** (análisis funcional del splicing alternativo), y **SQANTI** (evaluación de la calidad en secuenciación de lecturas largas).

El laboratorio es actualmente coordinador de dos proyectos de investigación: **DEANN**, una Marie Curie IRSES para el desarrollo de una red de análisis de NGS entre Europa y Sudamérica, y un proyecto **Prometeo** en colaboración con la UPV y el grupo de la doctora Rodríguez-Navarro del CIPF. Además se disfruta de un proyecto financiado por el MINECO.

Durante 2016 hemos colaborado con unos 20 grupos de investigación tanto para el desarrollo de métodos bioinformáticos, como para la aplicación de nuestras metodologías a resolver problemas de diagnóstico y caracterización molecular en patologías humanas y en el ámbito agronómico.

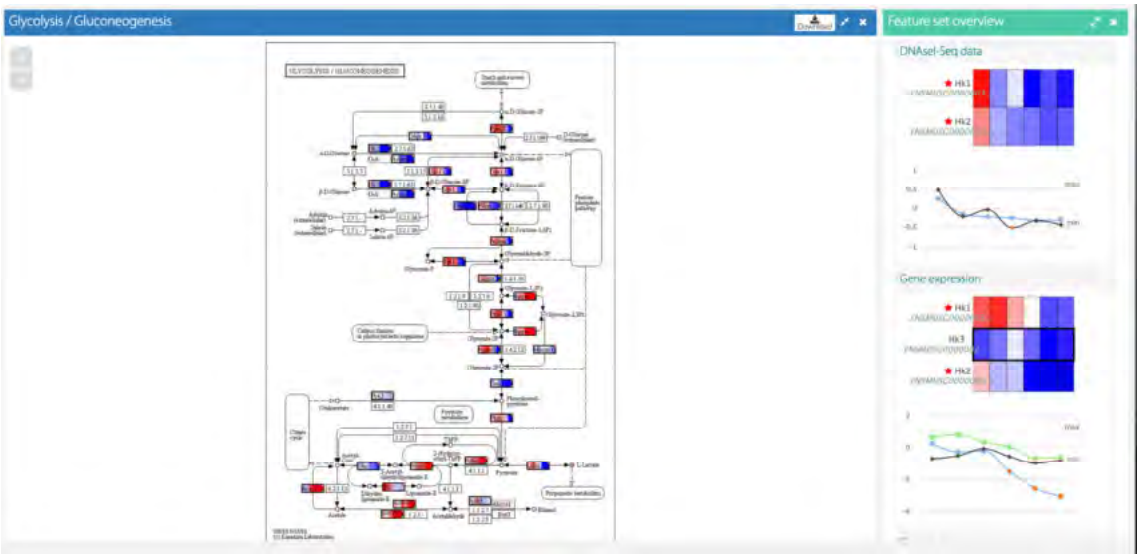
2. Resultado de la Investigación

En 2016 se publicaron 8 artículos en revistas indexadas. Los principales resultados de estos trabajos se resumen a continuación.

Integración de datos multiómicos

Dentro del proyecto STATegra, cuyo objetivo es el desarrollo de metodologías y software para la integración de datos multiómicos estamos implementando nuevas herramientas bioinformáticas:

- **MORE** es un algoritmo que infiere redes de regulación génica multi-capa, mediante la integración de datos de transcriptómica, metilación de RNA, unión de factores de transcripción a DNA y microRNA. El algoritmo usa una adaptación de Modelos Lineales Generalizados para encontrar el conjunto de reguladores de cada gen y así extender la red de regulación a pathways o conjuntos de genes más amplios con una funcionalidad común. Este método lo hemos aplicado al estudio de la diferenciación de células B del sistema inmune y para revelar el papel coordinado pero antagónico de factores de regulación con Ikaros, Myc, Pax5 y Foxo en la regulación de procesos inmunológicos, metabólicos y de ciclo celular durante la diferenciación de células B.
- **Paintomics 3.** Es una aplicación web que permite la visualización conjunta de datos multiómicos, sobre la base de pathways celulares de la base de datos KEGG. La aplicación también indica qué pathways están activados de acuerdo con cada tecnología ómica.



- **RGmatch.** Esta herramienta publicada en 2016 en **BMC Bioinformatics** permite vincular genes anotados en el genoma con datos de modificaciones de cromatina, como por ejemplo aquellos generados mediante ChIP-seq, DNase-seq o Methyl-seq. Permite estudiar cómo las modificaciones de cromatina afectan a la regulación de la expresión génica.
- **Qualimap 2.** Hemos publicado esta herramienta en **Bioinformatics**, que analiza la calidad del mapeo en datos de secuenciación multiómicos: RNA-seq, DNA-seq, Methyl-seq, y ChIP-seq. Qualimap es una herramienta fundamental en la pipelines de análisis de secuenciación masiva.
- **DENAMIC.** Es un proyecto desarrollado en colaboración con el grupo de Vicente Felipo donde hemos realizado el análisis integrativo de datos de transcriptómica, proteómica, metabolómica y microRNAs en el estudio de la respuesta molecular en cerebelo e hipocampo a varios agentes tóxicos. Tras el análisis, y valiéndonos de la aplicación web Paintomics 3, se detectaron cambios significativos en distintas rutas metabólicas. El resultado más interesante se obtuvo tras el estudio en profundidad de la sinapsis GABAérgica en cerebelo de crías de ratas expuestas al pesticida Endosulfan durante el embarazo y lactancia. Así, los cambios de expresión en algunos genes de esta ruta explicaría la peor coordinación motora, que fue medida en las ratas mediante tests clínicos.

Caracterización funcional del RNA no codificante

- **spongeScan**. En 2016 hemos publicado en **Nucleid Acid Research** la herramienta spongeScan. El RNAs no codificante largo (lncRNAs) es un tipo de molécula cuya funcionalidad se desconoce en muchos casos, pero que se sabe está a menudo relacionada con patologías y tipos celulares específicos. spongeScan es una herramienta web que identifica lncRNAs que tienen un función como secuestradores de microRNAs. Esta función se lleva a cabo mediante la unión del lncRNA al microRNA por complementariedad de secuencia e inactiva al microRNA diana en su papel de regulador de los niveles de expresión de RNA mensajeros específicos.

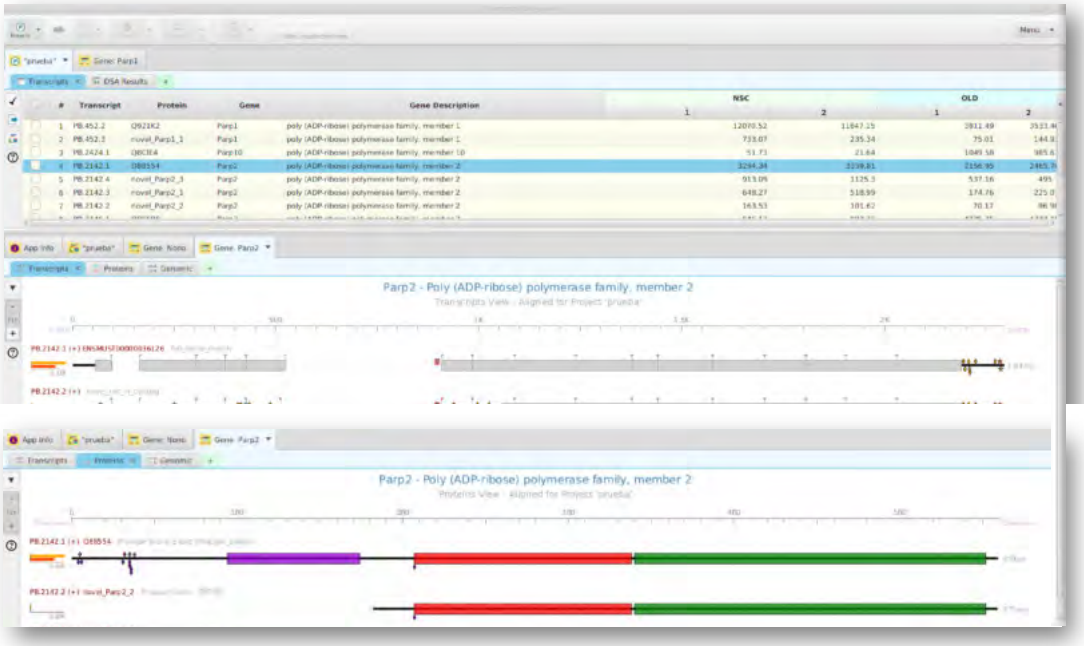
Caracterización funcional de la expresión alternativa de isoformas

Hemos continuado el desarrollo de la metodología del **Análisis de Impacto Funcional de la Expresión Alternativa de Isoformas**. Este trabajo se ha desarrollado sobre un modelo de diferenciación neuronal en ratón y se ha utilizado la tecnología PacBio para secuenciación de lecturas largas.
Durante 2016 hemos centrado nuestros esfuerzos en dos frentes:

- **SQANTI**. Hemos desarrollado un software para el análisis de calidad y la mejora de los datos de secuenciación de la plataforma PacBio que permite obtener transcritos completos. Este

estudio nos ha permitido identificar qué procesos artefactuales de la retrotranscriptasa están introduciendo la aparición errónea de muchos transcritos nuevos que en realidad no existen. También hemos identificado miles de lugares de poliadenilación alternativa que no están anotados en las bases de datos actuales. SQANTI permite identificar estas diferencias y proporcionar transcriptomas de gran calidad que pueden ser utilizados en el estudio del efecto funcional del splicing alternativo

- **Transcript2GO**. Se ha continuado el desarrollo de esta herramienta que anota funcionalmente transcritos a nivel de dominio, tanto codificante como no codificante. Transcript2GO combina 10 bases de datos distintas para ofrecer una caracterización funcional exhaustiva a nivel de isoforma. Además hemos implementado en esta herramienta nuevos métodos estadísticos para estudiar el enriquecimiento funcional en isoformas que se expresan de manera diferencial.



Colaboraciones

- Hemos liderado una iniciativa internacional para describir las mejores prácticas en el análisis de datos de RNA-seq. Este estudio revisa todos los pasos de la tecnología, desde el diseño experimental, análisis de calidad, expresión diferencial, interpretación y visualización. Además se revisó la integración de estos datos con otras ómicas y se discuten las nuevas perspectivas en secuenciación de célula única y con plataformas de lecturas largas. El trabajo fue publicado en la prestigiosa revista **Genome Biology**. También participamos en una iniciativa internacional promovida por la Unión Europea para discutir las necesidades de Big Data en el Ámbito de la Salud Humana, publicada en **Genome Medicine**.
- Con el grupo del Dr. Hasson de la Universidad de Buenos Aires, estudiamos la respuesta transcripcional en diferentes especies de Drosophila que se nutren en varias especies de cactus con niveles de alcaloides distintos y por lo tanto son un modelo para estudiar los procesos de detoxificación celular. Identificamos la activación no solo de procesos de detoxificación, oxido-reducción y respuesta a estrés, sino también muchos involucrados en diferenciación celular, desarrollo y procesos neuronales, lo que abre la puerta a la utilización de este modelo para investigar el impacto toxicológico en procesos fundamentales para la salud humana. Publicado en **Molecular Ecology**.
- Con el grupo del Dr. Domínguez-Viveros, de la Universidad Autónoma de Chihuahua hemos desarrollado una metodología para la caracterización de microRNAs en plantas y aplicado la

especie Bouteloua gracilis. Identificamos 31 nuevas familias de microRNAs con target genes involucrados en metabolismo, respuesta a estrés por sequía, crecimiento y desarrollo vegetal. Estos estudios indican un papel fundamental de los microRNAs en la regulación de los procesos de estrés celular en plantas. Publicado en **Computational Biology and Chemistry**.

- Con el laboratorio del Dr. Westerhuis, de la Universidad de Amsterdam, publicamos un estudio en **BMC Bioinformatics** que evalúa metodologías para el análisis de datos multiómicos. En este estudio nos centramos en aproximaciones que descomponen las fuentes de varianza entre aquellas que son compartidas por todas las ómicas, y por lo tanto revelan patrones moleculares coordinados, y aquellas que son exclusivas de cada ómica y por lo tanto describen una parte específica de la biología de los sistemas. El análisis se realizó sobre un set de datos en Glioblastoma Múltiple y observamos resultados distintos según el método de análisis utilizado. Estas diferencias responden a que la complejidad de los datos ómicos puede ser evaluada desde diferentes perspectivas y sugieren que la utilización de varios métodos analíticos a la vez es la mejor opción para capturar la máxima información contenida en los datos.

Publicaciones

1. Okonechnikov K, Conesa A, Garcia-Alcalde F. Qualimap 2: advanced multi-sample quality control for high-throughput sequencing data, Bioinformatics (Oxford, England), 2016.
2. Conesa A, Madrigal P, Tarazona S, Gomez-Cabrero D, Cervera A, McPherson A, Szczesniak MW, Gaffney DJ, Elo LL, Zhang XG, Mortazavi A. A survey of best practices for RNA-seq data analysis Genome Biology 2016.
3. Auffray C, Balling R, Barroso I, Bencze L, Benson M, Bergeron J, Bernal-Delgado E, Blomberg N, Bock C, Conesa A, Del Signore S, Delogne C, Devilee P, Di Meglio A, Eijkemans M, Flicek P, Graf N, Grimm V, Guchelaar HJ, Guo YK, Gut IG, Hanbury A, Hanif S, Hilgers RD, Honrado A, Hose DR, Houwing-Duistermaat J, Hubbard T, Janacek SH, Karanikas H, Kievits T, Kohler M, Kremer A, Lanfear J, Lengauer T, Maes E, Meert T, Muller W, Nickel D, Oledzki P, Pedersen B, Petkovic M, Pliakos K, Rattray M, Mas JRI, Schneider R, Sengstag T, Serra-Picamal X, Spek W, Vaas LAI, van Batenburg O, Vandelaer M, Varnai P, Villoslada P, Vizcaino JA, Wubbe JPM, Zanetti G. Making sense of big data in health research: Towards an EU action plan Genome medicine 2016.
4. Furio-Tari P, Tarazona S, Gabaldon T, Enright AJ, Conesa A. spongeScan: A web for detecting microRNA binding elements in lncRNA sequences Nucleic acids research 2016.
5. Van der Kloet FM, Sebastian-Leon P, Conesa A, Smilde AK, Westerhuis JA. Separating common from distinctive variation BMC BIOINFORMATICS 2016.
6. De Panis D.N., Padró J., Furió-Tarí P., Tarazona S., Milla Carmona P.S., Soto I.M., Dopazo H., Conesa A., Hasson E. Transcriptome modulation during host shift is driven by secondary metabolites in desert Drosophila. Molecular Ecology, 2016.
7. Furio-Tari P, Conesa A, Tarazona S. RGmatch: matching genomic regions to proximal genes in omics data integration. BMC Bioinformatics, 2016.
8. Ordonez-Baquera PL, Gonzalez-Rodriguez E, Aguado-Santacruz GA, Rascon-Cruz Q, Conesa A, Moreno-Brito V, Echavarria R, Dominguez-Viveros J. Identification of miRNA from Bouteloua gracilis a drought tolerant grass by deep sequencing and their in silico analysis, Computational Biology and Chemistry, 2016.

Metabolómica. *Unidad Mixta CIPF-IIS La Fe*

Investigador principal: Dr. Antonio Pineda-Lucena

Investigadores Asociados:

- Leonor Puchades-Carrasco
- Martina Palomino-Schätzlein

Investigadores Postdoctorales:

- Maria Arnedo Muñoz (IIS La Fe)

Investigadores Predoctorales

- Ayelén Rojas Benedicto(IIS La Fe)
- Nuria Gómez Cebrián(IIS La Fe)

Técnicos

- Leticia Ortí Pérez(IIS La Fe)

Colaboradores

- Agustín Lahoz Rodríguez(IIS La Fe)
- Arturo Albors Vaquer(IIS La Fe)
- Clara Pérez Rambla(IIS La Fe)

1. Resumen

Actualmente, la terapia oncológica sigue dominada por la estrategia clásica basada en tratamientos similares según el tipo de enfermedad. En este contexto, las decisiones sobre los tratamientos se basan en el estadio clínico de la enfermedad, pero no tienen en cuenta las características individuales del individuo y la importancia que éstan tienen en el desarrollo del proceso oncológico. En ese sentido, la identificación de mejores terapias para el tratamiento del cáncer está limitada por la falta de información suficiente relativa a la caracterización de firmas bioquímicas específicas asociadas con cada paciente o grupo de pacientes oncológicos.

Las aproximaciones metabolómicas pueden conducir a una mejor comprensión del cáncer, una enfermedad caracterizada por alteraciones significativas en el metabolismo bioenergético, mediante la identificación de cambios en los patrones de expresión metabólica, además de los cambios producidos en las concentraciones de metabolitos individuales y las alteraciones en las rutas bioquímicas. Estas aproximaciones tienen el potencial de poder conducir a la identificación de nuevos biomarcadores con aplicaciones clínicas diferentes, incluyendo el desarrollo de métodos diagnósticos más precisos basados en la caracterización de subtipos metabólicos, la monitorización de tratamientos oncológicos que permitan evaluar la respuesta y el pronóstico asociado a una terapia determinada, y la evaluación de los mecanismos implicados en las recidivas y la resistencia a los tratamientos.

En este contexto, la Unidad Mixta CIPF/IIS La Fe de Metabolómica Clínica trabaja en la aplicación de estas aproximaciones a distintos procesos oncológicos en colaboración con distintos Hospitales. Por otro lado, en un esfuerzo por extender las aplicaciones de esta metodología a la comprensón de otros procesos patológicos (p.ej., endometriosis, parto prematuro, tuberculosis, enfermedades raras, etc.), hemos establecido numerosas colaboraciones con otros grupos de investigación en el CIPF y el IIS La Fe, así como con otros grupos de investigación clínica nacionales e internacionales.

Publicaciones

1. Puchades-Carrasco, L., Jantus-Lewintre, E., Pérez-Rambla, C., García-García, F., Lucas, R., Calabuig, S., Blasco, A., Dopazo, J., Camps, C., Pineda-Lucena, A. Serum metabolomic profiling facilitates the non-invasive identification of metabolic biomarkers associated with the onset and progression of non-small cell lung cancer. Oncotarget 7, pp. 12904 - 12916. 2016.
2. Puchades-Carrasco, L., Palomino-Schätzlein, M., Pérez-Rambla, C., Pineda-Lucena, A. Bioinformatics tools for the analysis of NMR metabolomics studies focused on the identification of clinically relevant biomarkers. Brief. Bioinform. 17, pp. 541 - 552. 2016.
3. Palomino-Schätzlein, M., Mayer, H., Pfeffer, S., Pineda-Lucena, A., Burkhard, L., Hausberg, M., Muhle-Goll, C. Profiling human blood serum metabolites by NMR spectroscopy: A comprehensive tool for the evaluation of hemodialysis efficiency. Trans. Res. 171, pp. 71 - 82. 2016.
4. Vicente-Muñoz, S., Morcillo, I., Puchades-Carrasco, L., Payá, V., Pellicer, A., Pineda-Lucena, A. Pathophysiologic processes have an impact on the plasma metabolomic signature of endometriosis patients. Fertil. Steril. 106, pp. 1733 - 1741. 2016.
5. Ferruz, N., Tresadern, G., Pineda-Lucena, A., De Fabritiis, G. Multibody cofactor and substrate molecular recognition in the myo-inositol monophosphatase enzyme. Sci. Rep. 6, pp. 30275 - 30275. 2016.

Capitulos de libro:

1. Título: Cyclin-Dependent Kinase (CDK) Inhibitors. Protein Tyrosine Phosphatases: methods and protocols. Capítulo: Metabolomics applications to the characterization of the mode-of-action of CDK inhibitors. Palomino-Schätzlein, M., Pineda-Lucena, A. Methods Mol. Biol. 1336, pp. 211 - 223. 2016

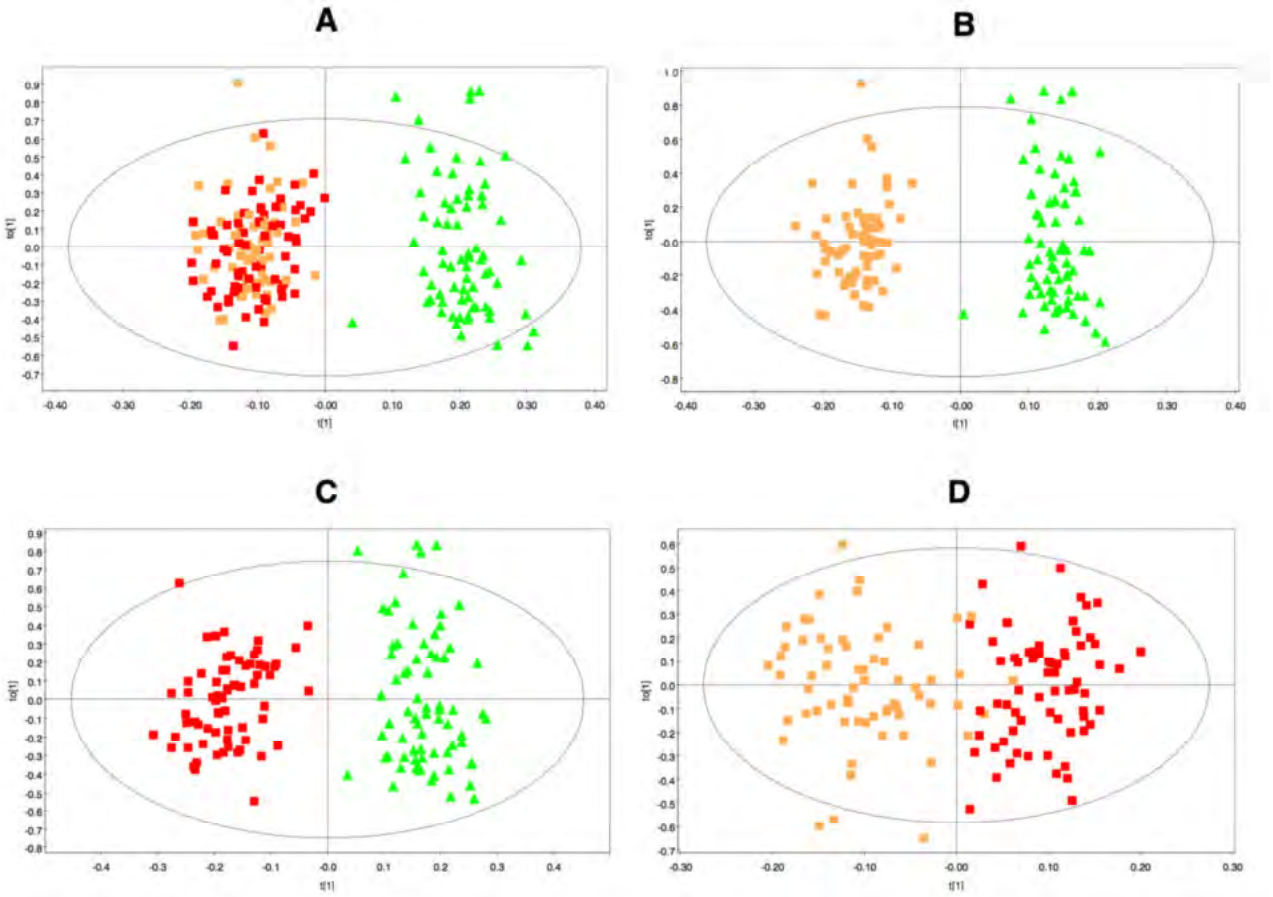
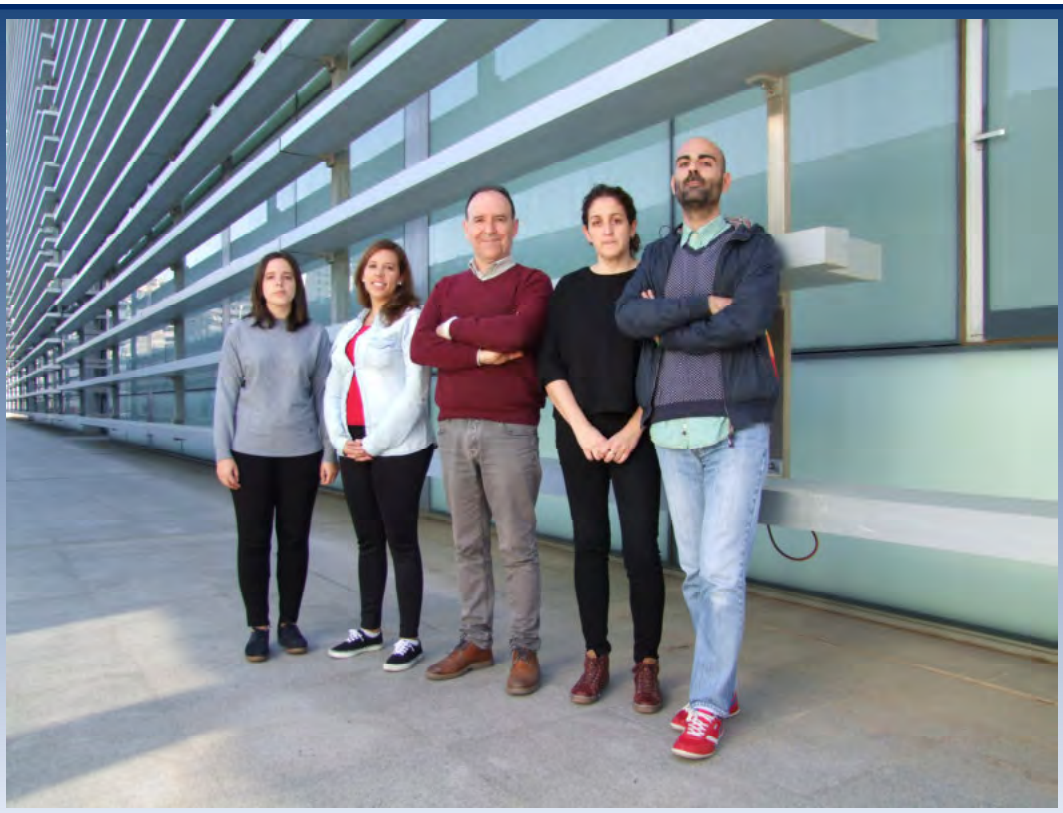


FIGURA: Modelo multivariante obtenido para el análisis de los espectros 1H-NMR de suero. "Score plots" correspondientes a las comparaciones entre: (**A**) individuos sanos (▲) vs. pacientes con cáncer de pulmón no-microcítico (CPNM) (estadios tempranos y estadios avanzados, ■ y ■, respectivamente); (**B**) individuos sanos (▲) vs. pacientes con CPNM en estadios tempranos (■); (**C**) individuos sanos (▲) vs. pacientes con CPNM en estadios avanzados (■) y (**D**) pacientes con CPNM en estadios tempranos (■) vs. pacientes con CPNM en estadios avanzados (■).

Citómica. *Unidad Mixta CIPF-UV*



Investigador principal: Dr. Enrique O´Connor

Investigadores Asociados:

- Alicia Mártinez Romero

Técnicos

- Domingo Gil Casanova

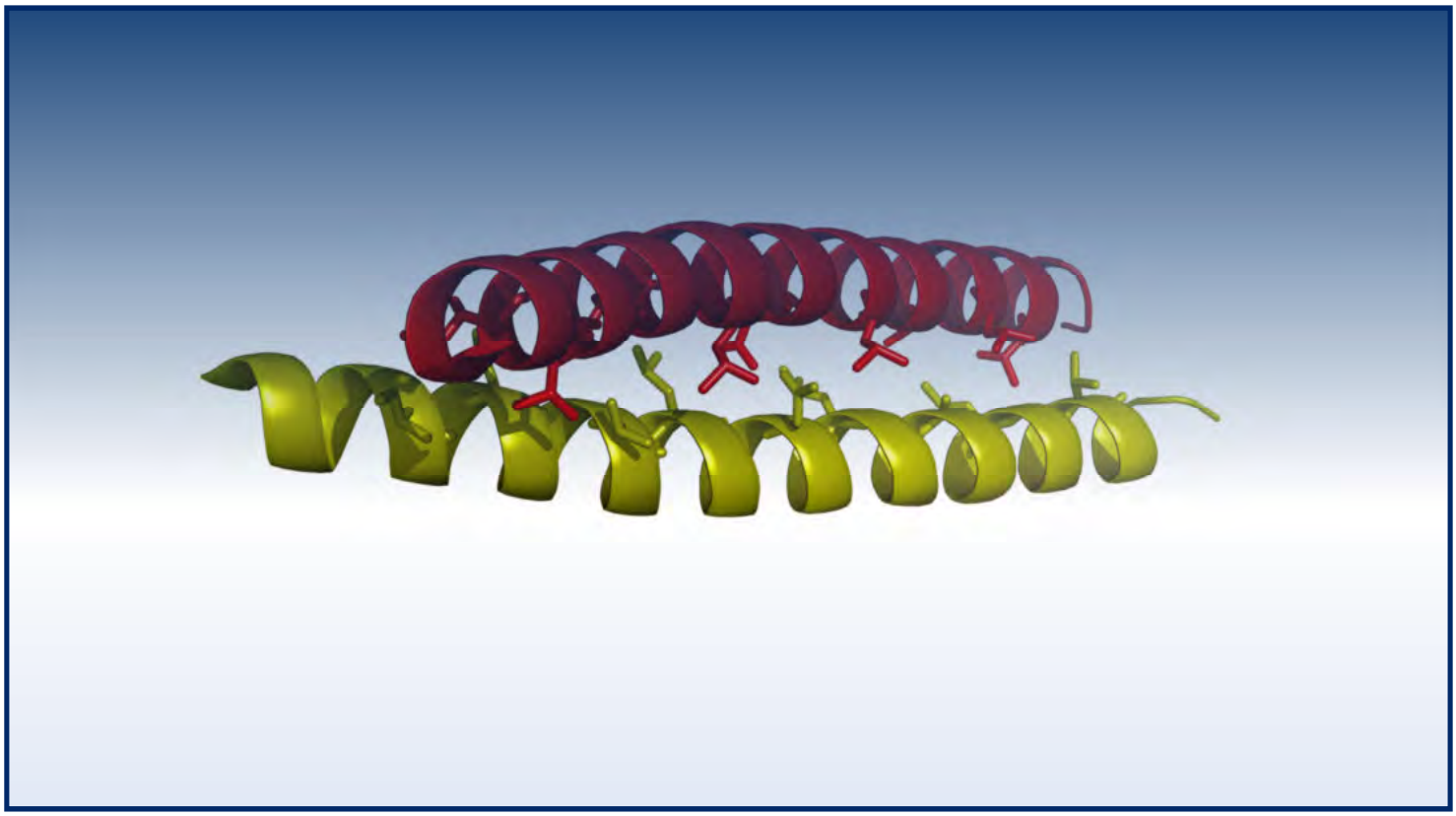
Colaboradores

- Beatriz Jávega Martínez (UV)
- Esther Abella del Álamo (UV)

1. Resumen

La Citómica es la disciplina que estudia los sistemas celulares heterogéneos a nivel de la célula individual, con la base metodológica de la citometría de flujo y la citometría de imagen de alto contenido. La Citómica, o Citometría de Sistemas, se orienta al conocimiento de la funcionalidad y la arquitectura de las células individuales y de sus componentes, permitiendo, además, la obtención de poblaciones altamente purificadas de células o partículas biológicas.
La Unidad Mixta CIPF-UVEG de Citómica continúa las actividades de la anterior Unidad Mixta CIPF-UVEG Laboratorio de Citómica que funcionó ininterrumpidamente desde 2005 a 2015 y permitió la creación del actual Servicio de Citómica, desarrollando con éxito diversos proyectos de investigación financiados por agencias europeas y nacionales y por empresas farmacéuticas. Gracias a esta sinergia, se ha conseguido disponer de personal experto y tecnologías avanzadas en citometría de flujo, separación celular y análisis de alto contenido, que se aplican a las líneas propias de investigación de la Unidad Mixta, fundamentalmente en estudios in vitro de predicción de riesgo tóxico de compuestos químicos. La Unidad Mixta desarrolla, además, colaboraciones con grupos de investigación del CIPF y otros OPIS y hospitales de la Comunidad Valenciana, así como con centros de investigación españoles y europeos.
La Unidad Mixta tambiélleva a cabo tareas de formación en Citometría, a través de cursos presenciales y a distancia

PROGRAMA DE TERAPIAS AVANZADAS



Responsable del programa: Dra. Mª Jesús Vicent

Grupos de investigación:

1. **Polímeros terapéuticos. Investigadora principal: Dra. Mª Jesús Vicent.**
2. **Química de péptidos y proteínas. Investigadora principal: Dra. Mª Mar Orzáez.**
3. **Regeneración tisular y neuronal. Investigadora principal: Dra. Victoria Moreno-Manzano.**
4. **Terapias con células madre en enfermedades neurodegenerativas. Investigador principal: Dr. Slaven Erceg**
5. **Moléculas orgánicas. Unidad mixta CIPF-UV. Investigador principal: Dr. Santos Fustero.**
6. **Reparación cardiovascular. Unidad asociada. Investigador principal: Dr. J. Anastasio Montero.**
7. **Cancer. Unidad mixta CIPF-FIVO. Investigadores principales: Dr. José Antonio López Guerrero y Dra. Mª Jesús Vicent.**

Polímeros terapéuticos

Investigadora principal: Dra. Mª Jesús Vicent

Investigadores Asociados:

- Ana Armiñan de Benito

Investigadores Postdoctorales

- Elena Gallón
- Vicent Josep Nebot Carda (PTS)
- Aroa Duro Castaño
- Inma Conejos Sánchez
- Stuart P. Atkinson
- Zoraida Andreu Martinez

Investigadores Predoctorales:

- Amaya Niño Pariente
- Juan Jose Arroyo Crespo
- Sonia Vicente Ruiz
- Oleksandr Zagorodko
- Irene Dolz Pérez (UV)
- Maria García Flores (FIVO)
- Fernanda Rodriguez Otormin

Técnicos:

- Esther Masiá Sanchis
- Maria Helena Ferrandis Jiménez
- David Charbonnier

Científicos Visitantes:

- Ruth Duncan (Visiting Professor, Cardiff (UK))
- Silvia Muro (Visiting Professor, Univ. Maryland, USA)
- Lik Voon Kiew (Visiting Professor, Univ. Malaya, Malaysia)

1. Resumen

El concepto "Polímeros Terapéuticos" consiguió su máxima valoración clínica en 2013, con 17 compuestos en el mercado, encontrándose dos de ellos entre los 10 fármacos más vendidos en EEUU (Copaxone y Neulasta). Aún existe la posibilidad de realizar nuevos avances y desarrollar esta plataforma tecnológica en diversas áreas como la liberación controlada de uno o varios fármacos dirigidos hacia nuevas dianas terapéuticas, el desarrollo de nuevos materiales poliméricos con arquitecturas definidas o el tratamiento de diversas patologías diferentes al cáncer. El laboratorio de Polímeros Terapéuticos en el Centro de Investigación Príncipe Felipe permanece centrado en estos interesantes campos.

Nuestra principal área de investigación abarca el desarrollo de conjugados poliméricos avanzados y su aplicación como nuevos productos farmacéuticos y/o de diagnóstico con aplicaciones en cáncer, neurodegeneración y regeneración tisular. Con el fin de conseguir terapias efectivas para distintas enfermedades y trastornos se siguen diferentes enfoques desde el diseño de transportadores biodegradables basados en polipéptidos hasta su aplicación en el desarrollo de terapias de combinación. Además, se han implementado nuevas herramientas cuantitativas con el propósito de evaluar cómo afectan diversas propiedades fisicoquímicas de estos nanosistemas en ambientes biológicos a la eficacia terapéutica final del compuesto, permitiendo así explorar una amplia gama de aplicaciones clínicas.

2. Resultado de la investigación

Mejora de la PDT en cáncer mediante Polímeros Terapéuticos.

La terapia fotodinámica (PDT) del cáncer presenta una baja capacidad de absorción de los fotosensibilizadores (tal como ftalocianina), y al mismo tiempo, la eficiencia de generación de oxígeno singlete se encuentra reducida, disminuyendo de este modo la eficacia del tratamiento.
Para evitar este problema, mediante la colaboración con el Dr. Lik Voon Kiew (Universidad de Malaya, Malasia) se diseñó un conjugado de ftalocianina-poli-L-ácido glutámico (1-PG) como un fotosensibilizador mejorado. 1-PG se caracteriza por una alta capacidad de absorción en la región del infrarrojo cercano, una mayor eficacia en la generación de oxígeno singlete y en la captación por parte de células de cáncer de mama, y además, su fotocitotoxicidad ha sido mejorada. Es importante destacar que 1-PG mostró un alto ratio de toxicidad luz-oscuridad, lo cual se relaciona con la reducida toxicidad y efectos secundarios no deseados que se producen en ausencia de luz. Esta colaboración sugiere que 1-PG podría representar una estrategia mejorada contra el cáncer para el tratamiento de tejidos profundos.

Medicina Personalizada para el tratamiento de Cáncer de Próstata.

A través de una subvención (PROMETEO) se ha empezado a desarrollar una opción de tratamiento para el cáncer de próstata agresivo (CaP) mediante una colaboración con los grupos de investigación dirigidos por el Dr. José Antonio López Guerrero (FIVO) y el Dr. Antonio Pineda Lucena (IIS-La Fe). Estudios preliminares demostraron una actividad anti cancerígena sinérgica entre un anticuerpo monoclonal (AVE-1642), cuya función es inhibir el Receptor 1 del factor de crecimiento insulínico (IGF1R), y un anti andrógeno (Abiraterona). Por ello, nuestro objetivo está basado en el desarrollo de un polímero de combinación diseñado específicamente para bloquear de forma sinérgica el crecimiento del tumor en el CaP. El inmunoconjugado (PGA-AVE-1642) ha sido sintetizado, caracterizado químicamente y testado en estudios "in vitro" solo y en combinación con Abiraterona. Los resultados sugieren que el tratamiento combinado puede representar una terapia prometedora para los subtipos agresivos de CaP.

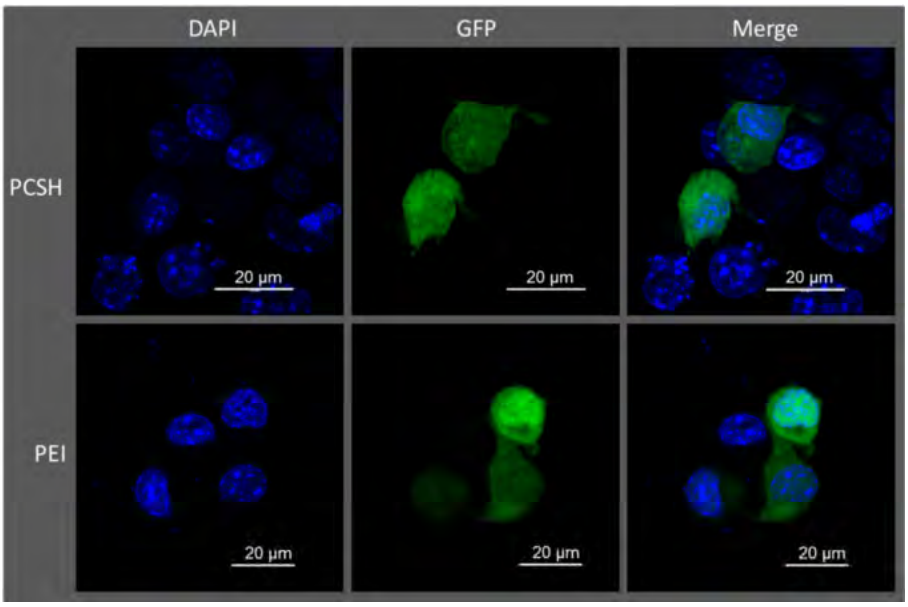
Polímeros terapéuticos en Enfermedad Metabólica

Otra colaboración con Barbara Cellini (Universidad de Verona, Italia), evaluó el impacto de los polímeros terapéuticos en el tratamiento de enfermedades metabólicas; específicamente la Hiperoxaluria Primaria Tipo I (PH1), un desorden raro causado por el déficit de la enzima

peroxisomal alanina: glioxilato aminotransferasa (AGT). La conjugación de un co-polímero de bloques de polietilenglicol y ácido poliglutámico (PEG-PGA) a la AGT no afectó a las propiedades de la enzima pero permitió su internalización y la detoxificación de glioxilato en un modelo celular de PH1. Una sustitución aminoacídica redujo la eficiencia de conjugación, pero dirigió el conjugado polimérico al peroxisoma. Además, el conjugado es hemocompatible, estable en plasma y no-inmunogénico. Por tanto, este conjugado polímero-enzima es una opción terapéutica prometedora para los pacientes de PH1 y sienta las bases para la aplicación en otros desórdenes metabólicos.

Vectores poliméricos diseñados para el transporte de plásmidos de ADN

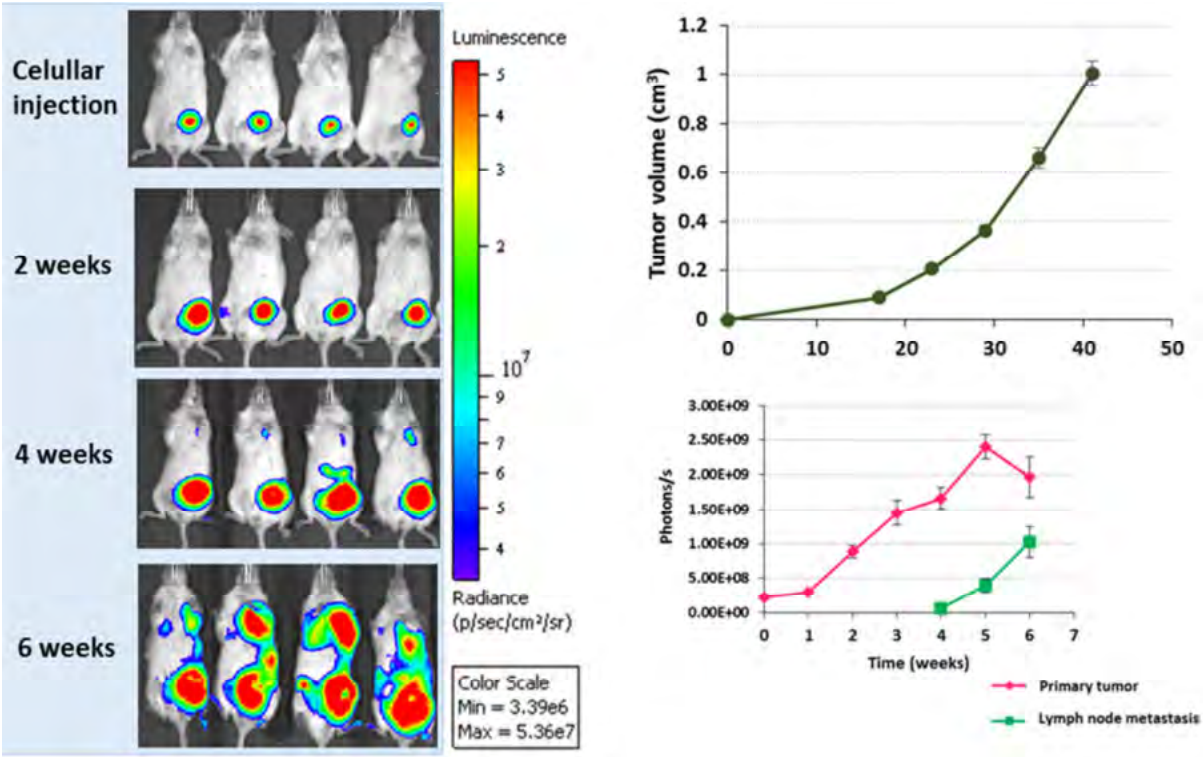
El diseño racional de vectores no virales basados en polipéptidos biodegradables con respuesta a estímulos biológicos para el transporte citosólico de plásmidos de ADN puede mejorar las estrategias de terapia génica. Hemos diseñado vectores basados en polímeros aniónicos de PGA funcionalizado con oligómeros basados en succinil tetratileno pentamina (Stp). Estos oligómeros aumentan la eficacia de la transfección mediante la unión electrostática con los oligonucleóticos y aportan capacidad de protonación adicional al compartimento endolisosomal tras la entrada en la célula, dando lugar al efecto de "esponja de protones". Nuestros vectores poliméricos transfectaron células de neuroblastoma (PCSH) de manera satisfactoria sin presentar toxicidad a ninguna de las concentraciones utilizadas, obteniendo resultados similares a reactivos de transfección ampliamente conocidos (PEI). También demostramos que la adición de histidinas, para modular la capacidad tamponadora del endosoma, y cisteínas, para estabilizar el complejo con el plásmido, afinó la eficacia de transfeccíon del poliplejo.



Vectores polímericos para el transporte de plasmidos de ADN

Desarrollo de Nanomedicinas de combinación basadas en polímeros para el tratamiento personalizado del cáncer de mama

En 2016, hemos continuado trabajando en el proyecto "Towards the design of Personalised Polymer-based Combination Nanomedicines for Advanced Stage Breast Cancer Patients, (MyNano)".financiado por ERC-Consolidator. En nuestros estudios actuales estamos realizando un cribado de fármacos quimioterapéuticos e inhibidores de la liberación de exosomas en 4 líneas celulares de cáncer de mama metastásico humano que representan los principales subtipos clínicos, Estos estudios nos permitirán seleccionar las combinaciones de fármacos sinérgicas que serán posteriormente empleadas para el desarrollo de los conjugados polímericos.



Nanomedicinas de combinación basadas en polímeros para el tratamiento personalizado del cáncer de mama.

Durante este año nuestro trabajo también se ha centrado en la optimización de la metodología empleada para llevar a cabo el aislamiento de exosomas, y el estudio de parámetros intracelulares que median la actividad de polímero conjugados a fármacos, incluyendo el pH, la actividad de la enzima catepsina B o la presencia de ROS entre otras. Además, hemos optimizado un modelo murino ortotópico de cáncer de mama en el cual hemos seguido el crecimiento tumoral y la metástasis mediante bioluminiscencia, utilizando el sistema de imagen in vivo IVIS. En la búsqueda de arquitecturas poliméricas que nos permitan transportar de manera efectiva combinaciones de fármacos, hemos desarrollado una aproximación simple pero eficiente para construir portadores poliméricos basados en poliglutamatos con tiempos de circulación en sangre elevados. Ello ha sido posible mediante una estrategia "de abajo a arriba", y beneficiandonos del comportamiento "extraordinario" identificado para nuestros poliglutamatos estrella, en soluciones acuosas en ausencia de sales. Tras ser atrapadas covalentemente, nuestras arquitecturas poliméricas dieron lugar a tiempos de vida medio elevados, excreción renal y acumulación en órganos relacionados con el sistema inmune.

En colaboración con el Dr. Manuel Valiente (CNIO, Madrid) a través de una beca de la AECC (Valencia) también pretendemos diseñar nuevas terapias dirigidas empleando polímeros terapéuticos que puedan atravesar la barrera hematoencefálica como tratamiento de la metástasis cerebral del cáncer de mama.

Patente

1. Autores: Maria J. Vicent, Aroa Duro-Castaño, Vicent J. Nebot

   Título: Cross-linked Star-shaped self-assembled polyglutamates and its use as carriers in biomedical applications.

   N. Application: International patent PCT/2016067554

Publicaciones

1. Kiew, LV., Cheah, HY., Voon, SH., Gallon, E., Movellan, J., Ng, KH., Alpugan, S., Lee, HB., Dumoulin, F., Vicent, MJ*., Chung, LY*. (2017) Near-infrared activatable phthalocyanine-poly-L-glutamic acid conjugate: increased cellular uptake and light-dark toxicity ratio towards an effective photodynamic cancer therapy Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine.
2. Cheah, HY., Sarenac, O., Arroyo, JJ., Vasic, M., Lozic, M., Glumac, S., Hoe, SZ., Hindmarch, C., Murphy, D., Kiew, LV., Lee, HB., Vicent, MJ., Chung, LY., Japundzic-Zigon, N. (2017) Hemodynamic effects of HPMA copolymer based doxorubicin conjugate: a randomized controlled and comparative spectral study in conscious rats. Nanotoxicology 11(2), p210-222. Mar 2017.
3. Roncador A, Oppici E, Talelli M, Pariente AN, Donini M, Dusi S, Voltattorni CB, Vicent MJ, Cellini B. (2016) Use of polymer conjugates for the intraperoxisomal delivery of engineered human alanine:glyoxylate aminotransferase as a protein therapy for primary hyperoxaluria type I. Nanomedicine.
4. Requejo-Aguilar R, Alastrue-Agudo A, Cases-Villar M, Lopez-Mocholi E, England R, Vicent MJ, Moreno-Manzano V. (2016) Combined polymer-curcumin conjugate and ependymal progenitor/stem cell treatment enhances spinal cord injury functional recovery. Biomaterials 113: 18-30.
5. Cheah, HY., Kiewa, LV., Lee, HB., Japundžić-Žigon, N., Vicent, MJ., Hoe, SZ., Chung, LY. (2017) Preclinical Safety Assessments of Nano -sized -constructs on Cardiovascular System Toxicity: A Case for Telemetry. Journal of Applied Toxicology. Ahead of print dic 2016
6. Zagorodko, O., J. J. Arroyo-Crespo, V. J. Nebot and M. J. Vicent. (2016) Polypeptide-Based Conjugates as Therapeutics: Opportunities and Challenges. Macromolecular Bioscience: 17(1). 18 oct.
7. Niño-Pariente, A., Nebot, V. J. and Vicent, M. J. (2016) Relevant Physicochemical Descriptors of Soft Nanomedicines to Bypass Biological Barriers. Current Pharmaceutical Design 22(9): 1274-1291.
8. Niño-Pariente, A, Reinhard S, Scholz C, Wagner E, Vicent MJ. Design of Zwitterionic Poly-L-Glutamate-based Complexes for pDNA delivery Macromolecular Bioscience. ***In Press***.

Conferencias y congresos

Conferencias invitadas – MJ Vicent

1. Polyglutamates as versatile drug delivery carriers. **Keynote Speaker**. Gordon Research Conference on Drug Carriers in Medicine. Waterville, United States of America 2016
2. Polyglutamate based conjugates. **Keynote Speaker**. Macro UK Group. Warwick, United Kingdom. 2016
3. Polymer conjugates as nano-sized medicines: from single agents to combination Therapies. **Keynote Speaker**. 10th World meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Glasgow, United Kingdom. 2016
4. Polymer-drug conjugates as nanosized medicines. Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, ISCIII. Madrid, Spain. 2016

5. Well-defined Polypeptide-based architectures: applications in drug delivery and molecular Imaging. B-Debate. Imaging for Life. From Molecules to Diagnostics and Therapy. Barcelona, Spain. Imaging. B-Debate. Imaging for Life. From Molecules to Diagnostics and Therapy. Barcelona, Spain. 2016
6. Polyglutamates as carriers in combination therapy. **Keynote Speaker**. Advanced Drug Delivery in Cancer: intracellular targets and vesicular carriers Conference. Manchester, United Kingdom. 2016
7. Polymer anticancer conjugates as nanomedicines. **Keynote Speaker**. National World Cancer Day 2016 Barcelona, Spain. 2016
8. Current Trends in Drug Delivery Systems. **Keynote Speaker**. Fresenius Kabi Workshop in Innovative Drug Delivery Systems. Bad Homburg, Germany. 2016
9. Polymer Therapeutics as nanosized medicines. Univ. Castilla la Mancha. VI Workshop de Investigación en Farmacia. Albacete, Spain. 2016

Comunicaciones Orales del Laboratorio

10. A Armiñán, M. Palomino-Schätzlein, C. Deladriere, A. Pineda-Lucena, M.J. Vicent. Metabolomic Study Of Polymer-Doxorubicin Conjugates In Breast Cancer Models. 11th International Symposium on Polymer Therapeutics: From Laboratory to Clinical Practice, Valencia (Spain) 2016
11. A. Duro-Castano, J.J. Arroyo, A. Armiñán, V.J. Nebot, M.J. Vicent Well-defined Polypeptide-based architectures: applications in drug delivery and molecular imaging. Workshop B-Debate 2016, Imaging for Life: from molecules to diagnostics and therapy. Barcelona (Spain) 2016.
12. A Duro-Castano, V.J. Nebot, A. Niño-Pariente, M.J Vicent. Oral presentation. Approaching CNS disorders by overcoming the BBB with the aid of targeted self-assembled nanocarriers. O-12. 10th Int. Symp. Polymer Therapeutics: From Lab to Clinic. Valencia, Spain 2016.
13. A Duro-Castano, VJ Nebot, A Niño and MJ Vicent. Approaching CNS disorders by overcoming the BBB with the aid of self-assembled nanocarriers targeting LRP-1 receptor. Madrid, Spain 2016
14. E Masiá. Nanosight-NTA; herramienta útil para la caracterización de partículas en aplicaciones biológicas y químicas. Universidad Católica de Valencia. 2016
15. HY Cheah, KH Ng, LV Kiew, HB Lee, E Gallon, J Movellan, F Dumoulin, S Alpugan, MJ Vicent & LY Chung. Near infrared activatable poly-l-glutamic acid-phthalocyanine conjugate for effective anticancer photodynamic therapy. 11th Int. Symp. Polymer Therapeutics: From Lab. to Clinic. Valencia, Spain 2016
16. A Conejos-Sánchez, A Niño-Pariente, E. Gallon, J. A. Smith, S. Pluchino, M.J Vicent. siRNA-mediated gene silencing through polymer-based polyplexes for progressive multiple sclerosis treatment. 10th Int. Symp. Polymer Therapeutics: From Lab. to Clinic. Valencia, Spain 2016
17. J.J. Arroyo, D. Charbonnier, A. Armiñán M.J. Vicent. pH-labile PGA-Doxorubicin based combination conjugates with enhanced antitumor activity in Breast Cancer models. XXXIX SEBBM. Salamanca (Spain), 2016.
18. J.J. Arroyo, D. Charbonnier, A. Armiñán M.J. Vicent. pH-labile PGA-Doxorubicin based combination conjugates with enhanced antitumor activity in Breast Cancer models. 11th International Symposium on Polymer Therapeutics (ISPT). Valencia (Spain), 2016.
19. S.V. Ruiz, A. Armiñan, I. Casanova, E. Gallon, J. Movellan, M. García-Flores, D. Charbonnier, J. A. López-Guerrero, MJ. Vicent. Development of polymer-Based Combination Therapeutics for the treatment of castration-resistant prostate cancer. 11th International Symposium on Polymer therapeutics: From Laboratoy to clinic. CIPF, Valencia, Spain, 2016.

20. VJ Nebot, D Morelló-Bolumar, L Tortajada-Comeche, V Melis, A Duro-Castaño, A Niño-Pariente, I Dolz-Pérez, J. J. Arroyo-Crespo, A Alastrue, R Requejo-Aguilar, A Armiñan, V Moreno-Manzano, MJ Vicent. Polypeptide-based Drug Delivery Systems: Design, Industrial Feasibility and Therapeutic Applications. Invited Speaker. NanoBio Surfaces and Interfaces in Healthcare and Science. Enschede, Netherlands. 2016
21. VJ Nebot, D Morelló-Bolumar, L Tortajada-Comeche, V Melis, A Duro-Castaño, A Niño-Pariente, I Dolz-Pérez, J.J. Arroyo-Crespo, A Alastrue, R Requejo-Aguilar, A Armiñan, V Moreno-Manzano, MJ Vicent. Polypeptide-based Drug Delivery Systems: Design, Industrial Feasibility, and Therapeutic Applications NanoBio Surfaces and Interfaces in Healthcare and Science. Enschede (The Netherlands) 2016.

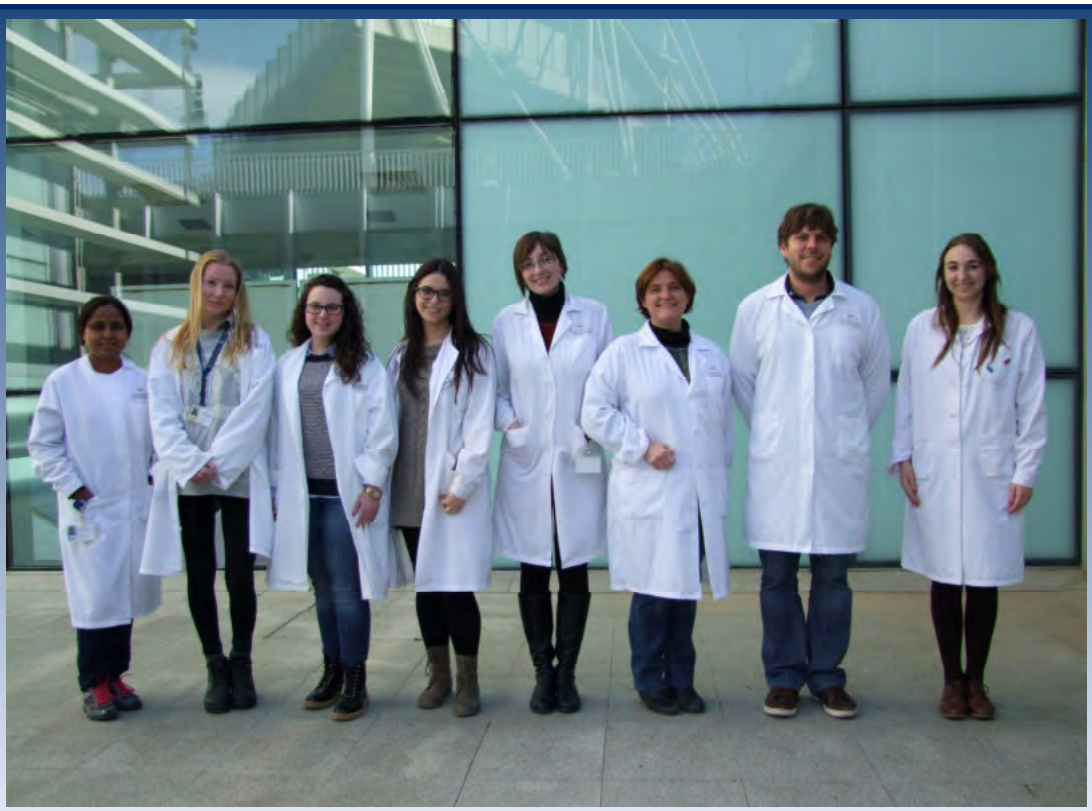
Tesis doctorales defendidas

1. Doctorando: Gabriela de Jesús Rodríguez Escalona. "*Desarrollo de Nanomedicinas y soportes poliméricos para la regeneración de tejidos y/o diferenciación de células madre*". Directores: M.J. Vicent and M. Monleón. Centro de Investigación Príncipe Felipe and Univ. Politécnica de Valencia (UPV). 4th Feb 2016- Excelente cum Laude por unanimidad.

Tesis doctorales en curso

1. Doctorando: Arroyo Crespo, Juan José. "*Polymer –based combination conjugates for the treatment of Advanced Breast Cancer*". Directores: M.J. Vicent y A. Armiñán. Universidad de Valencia
2. Doctorando: García Flores, Maria. "*Biomarkers identification in Prostate Cancer*". Directores: J.A. López-Guerrero y M.J. Vicent. Fundación Instituto Valenciano de Oncología (FIVO)-CIPF
3. Doctorando: Niño Pariente, Amaya. "*Well-defined polyglutamates as non-viral vectors for cytosolic delivery*". Director: M.J. Vicent. Universidad de Valencia, UV.
4. Doctorando: Ruiz Salvador, Sonia. "Novel polymer-based combination conjugates for the treatment of Recurrent Prostate Cancer". Directores: M.J. Vicent y A. Armiñán. Universidad de Valencia
5. Doctorando: Oleksandr Zagorodko. "*Novel self-assembled polypeptide-based carriers*". Directores: M.J. Vicent y V.J. Nebot
6. Doctorando: Irene Dolz. "Development of Polymer Therapeutics for Topical Administration". Directores: V.J. Nebot y M.J. Vicent
7. Doctorando: Fernanda Rodriguez Otormin. "Design of novel targeted Polymer Therapeutics as combination therapy for the treatment of Brain Metastasis – Overcoming the Blood Brain Barrier". Directores: A. Duro-Castaño y M.J. Vicent

Química de péptidos y proteínas



Investigadora principal: Dra. Mar Orzáez

Investigadores Asociados:

- Mónica Sancho Medina

Investigadores Predoctorales

- Estefanía Lucendo
- Laura Sánchez Pérez (UV)

Estudiantes

- Eduardo Puerta (UPV)
- Pauline Juyoux (UPV)
- Nereida Pardo (UV)

Colaboradores

- Alba García (Unidad Mixta UPV)
- Irene Galiana (Unidad Mixta UPV)
- Mónica Gorbe (Unidad Mixta UPV)
- Gema Vivo (Unidad Mixta UPV)
- Raquel López (Unidad Mixta IVO)

1. Resumen

Las interacciones proteína proteína (PPIs) son responsables del control de la mayoría de procesos relevantes en los seres vivos. El principal objetivo de la unidad de Química de Péptidos y Proteínas es identificar y desarrollar moduladores de PPIs, dirigidos a restablecer el equilibrio en procesos patológicos tales como, cáncer, enfermedades neurodegenerativas o daños asociados a isquemia-reperfusión. Nuestra investigación se centra en el estudio de las rutas de apoptosis e inflamación.

En apoptosis, nuestra principal línea de investigación estudia las proteínas de la familia Bcl-2. Estas proteínas actúan en la membrana mitocondrial externa dónde regulan la apoptosis a través de interacciones proteína –proteína, modulando la formación del poro mitocondrial y la muerte celular. En el campo emergente del estudio de las interacciones entre hélices transmembrana como moduladores de la función proteica, nuestro grupo estudia la relevancia de los procesos de asociación y disociación de las hélices transmembrana de las proteínas de la familia Bcl-2 en el control de apoptosis.

El sistema inmune protege al organismo frente a daño o infección mediante la activación de procesos inflamatorios. Los inflamasomas son complejos clave en la modulación de dicho proceso inflamatorio. Nuestro grupo de investigación trata de identificar nuevos moduladores del inflamasoma como terapias para el tratamiento de enfermedades humanas.

2. Resultado de la Investigación

Estudio de las interacciones transmembrana de las proteínas de la familia Bcl-2.

La activación de apoptosis (muerte celular programada) en células de mamífero ocurre a través de dos vías diferenciadas, la vía extrínseca o la vía intrínseca. En ambos casos la muerte celular es ejecutada por una familia de proteasas denominadas caspasas. La activación de la ruta intrínseca de apoptosis provoca la permeabilización de la membrana mitocondrial externa (MOMP) en un proceso modulado por la familia de proteínas Bcl-2. Tras la MOMP, el citocromo c se libera al citosol, dónde se une a Apaf-1 induciendo su oligomerización y el reclutamiento de la caspasa iniciadora procaspasa-9. Caspasa-9, una vez activada, corta y activa a las caspasas ejecutoras caspasa-3 y caspasa-7 provocando la muerte celular por apoptosis.

Prácticamente todas las proteínas de la familia Bcl-2, tanto los miembros pro- como los antiapoptóticos, poseen un segmento transmembrana en la región C-terminal. Clásicamente este fragmento ha sido considerado un mero sistema de anclaje a la membrana, atribuyéndosele así un papel completamente pasivo en el control de la función proteica. Existe, sin embargo, un campo de estudio emergente en las proteínas de membrana, que está poniendo de manifiesto el papel que desempeñan las interacciones entre los segmentos transmembrana (asociación-disociación, inclinación, interacción con lípidos) en el control de la función de la proteína. Nuestro grupo de investigación ha demostrado que las interacciones entre los segmentos transmembrana de las proteínas de la familia Bcl-2 participan en el control de la muerte celular. Este descubrimiento revela un nuevo punto de intervención terapeútica para el tratamiento de enfermedades tan relevantes como el cáncer o la neurodegeneración.

Desarrollo de activadores de procaspasa-9.

Numerosas resistencias a tratamientos antitumorales se generan como consecuencia de la acumulación de mutaciones que impiden la muerte de las células cancerígenas por apoptosis. Para tratar de encontrar nuevos tratamientos antitumorales, que permitan superar estas resistencias, nuestro grupo de investigación se ha centrado en el desarrollo de nuevos fármacos capaces de activar directamente apoptosis de manera post-mitocondrial, evitando así todas aquellas resistencias relacionadas con la señalización de muerte celular situadas aguas arriba en la ruta. En concreto, hemos identificado activadores de procaspasa-9 que han demostrado su actividad antitumoral tanto en modelos celulares como *in vivo* de cáncer de mama.

Moduladores del Inflamasoma.
El inflamasoma es un complejo clave en el control de los procesos inflamatorios. En nuestro grupo estamos desarrollando nuevos moduladores del inflamasoma así como, nuevas estrategias de modulación dirigida para el tratamiento de enfermedades en las que se ha demostrado que la desregulación de este complejo es crucial.

Proyectos

Exploiting Protein Complexes that InduceCell-death. RISE EPIC 690939. Investigador: Howard FearnHead (Subgrupo: Mar Orzáez) Entidad/es financiadora/s: H2020-MSCA-RISE-2015 Fecha de inicio: 2016 Fecha fin: 2018.

Red de Excelencia "The Spanish Channel Ion innitiative". Investigador: Prof. Antonio Ferrer Montiel (Subgrupo Mar Orzáez) Entidad/es financiadora/s: Ministerio de Ciencia e Innovación. Investigación Fecha de inicio: 2016 Fecha fin: 2017.

El interactoma de los dominios transmembrana de las proteínas Bcl-2 como diana antitumoral. SAF2014-52614-R. 2014-2017 Investigador: Mar Orzáez Calatayud Entidad/es financiadora/s: MINECO Fecha de inicio: 2015 Fecha fin: 2017.

Modulación de interacciones proteína-proteína en apoptosis como diana terapéutica en procesos tumorales. PROMETEOII/2014/061 Investigador: Ismael Mingarro, Mar Orzáez Entidad/es financiadora/s: Generalitat Valenciana Proyecto Prometeo Fecha de inicio: 2014 Fecha fin: 2018.

Red de Trasnstornos Adictivos (RTA), Instituto de salud Carlos III.Grupo RD16/0017/0004, IP: C.Guerri.Años. 2017-2021.

Publicaciones

1. Garrido M, Corredor M, Orzáez M, Alfonso I, Messeguer A. Regioselective Synthesis of a Family of β-Lactams Bearing a Triazole Moiety as Potential Apoptosis Inhibitors. ChemistryOpen. 2016 Aug 2;5(5):485-494.
2. Andreu-Fernández V, García-Murria MJ, Bañó-Polo M, Martin J, Monticelli L, Orzáez M, Mingarro I. The C-terminal Domains of Apoptotic BH3-only ProteinsMediate Their Insertion into Distinct Biological Membranes. J Biol Chem. 2016 Nov25;291(48):25207-25216.
3. Andreu-Fernández V, Sancho M, Genovés A, Lucendo E, Todt F, Lauterwasser J,Funk K, Jahreis G, Pérez-Payá E, Mingarro I, Edlich F, Orzáez M. Bax transmembrane domain interacts with prosurvival Bcl-2 proteins in biological membranes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jan 10;114(2):310-315.
4. García-Fernández A, García-Laínez G, Ferrándiz ML, Aznar E, Sancenón F, Alcaraz MJ, Murguía JR, Marcos MD, Martínez-Máñez R, Costero AM, Orzáez M. Targeting inflammasome by the inhibition of caspase-1 activity using capped mesoporous silica nanoparticles. J Control Release. 2017 Feb 28;248:60-70.
5. Palacios-Rodríguez Y, Guevara T, De Ford C, Sancho M, Luján P, García-Jareño A, García-Laínez G, de la Figuera N, Messeguer A, Pérez-Payá E and Orzáez M . Small Molecule Activation of Procaspase-9 Induces Intrinsic Apoptosis in Breast Cancer Cells. Oncotarget *(under revision)*
6. García-Laínez G, Sancho M, García-Bayarri V and Orzáez M. Identification and validation of uterine stimulant methylergometrine as a potential inhibitor of caspase-1 activation. Apoptosis *(under revision)*

Conferencias y congresos

1. 24th Euroconference on Apoptosis ECDO.2016. Oral presentation. The Bax transmembrane domain interacts with Bcl-2 proteins in non-apoptotic cells. V Andreu-Fernández, M Sancho, A Genovés, E Lucendo, F Todt, J Lauterwasser, G Jahreis, E Pérez-Payá, I Mingarro , F Edlich, M Orzáez.
2. Gordon Research Conference on Cell Death. 2016. Poster presentation. Targeting Bax transmembrane domain oligomerization. Juyoux P. , Lucendo E., Pardo N. , Sancho M., Orzaez M.
3. International workshop Red de excelencia sici consolide. 2016. Oral presentation. The Bax transmembrane domain interacts with Bcl-2 proteins in non-apoptotic cells. V Andreu-Fernández, M Sancho, A Genovés, E Lucendo, F Todt, J Lauterwasser, G Jahreis, E Pérez-Payá, I Mingarro , F Edlich, M Orzáez

Trabajos fin de Máster

1. Nereida Pardo Juan. *"Identificación y caracterización de nuevos moduladores de apoptosis"*. Máster de Aproximaciones Moleculares en Ciencias de la Salud (UV).
2. Pauline Yujoux. "The transmembrane domains of the Bcl-2 proteins family: Interactions and Modulation". Máster de Biotecnología Biomédica (UPV).

Regeneración tisular y neuronal

Investigadora principal: Dra. Victoria Moreno-Manzano

Investigadores Predoctorales:

- Ana Alastrue Agudo

Técnicos

- Maravillas Mellado
- Eric López Mocholi

Colaboradores

- Dr Mª Jesús Vicent (CIPF)
- Dr Ana Conesa (CIPF)
- Ignacio Muñoz (Hospital Casa de la Salud, Valencia)
- Dr Ramón Cugat (Fundación García Cugat, Traumatología. Barcelona)
- Dr Cesar David Vera Donoso (Hospital la Fe de Valencia)
- Dr Slaven Erceg (CIPF)
- Dr Martin Balastik (IMG, República Checa)
- Dr Francisco Javier de Lucio (Unv Alcalá, Madrid)
- Dr Manuel Monleón Prades (UPV, Valencia)
- Dr Jose María Carrillo (CEU, Valencia)
- Dr Mireia García Roselló (CEU, Valencia)
- Dr Angel Maria Hernández (CEU, Valencia)
- Maria Teresa Miras Portugal (Univ. Complutense, Madrid)
- Renato Mantegazza (Carlo Besta, Milan)
- Dr Jose Manuel García Verdugo (UV, Valencia)
- Dr Pablo Botella (ITQ-UPV, Valencia)
- Dr Angel Serrano (UVC, Valencia)
- Dr Miguel Angel González-Viejo (VHIR-Barcelona)

1. Resumen.

Aunque en la última década se han producido considerables mejoras experimentales en el rescate de la actividad neuronal en las fases agudas y subagudas después de la lesión de la médula espinal (LME), el tratamiento en pacientes crónicos aún queda lejos de mostrar resultados eficaces. En las lesiones crónicas, la degeneración y retracción de los tractos axónicos del área lesionada, debido a su limitad intrínsica capacidad, no logra regenerarse a través del tejido cicatricial reactivo que aísla la transmisión del impulso a nivel rostral de sus objetivos a nivel caudal. Teniendo en cuenta toda la degeneración tisular y la pérdida masiva de células que se produce, se requiere claramente un tratamiento combinatorio basado en el trasplante de células, que proporciona un entorno más permisivo para anular las señales inhibidoras extrínsecas, junto con la inducción de regeneración axonal para potenciar las capacidades regenerativas intrínsecas, siendo este de hecho el principal objetivo del laboratorio de regeneración neuronal y tisular en la recuperación funcional tras una LME. Nuestro objetivo es la aplicación de un nuevo tratamiento combinatorio basado en el trasplante de células precursoras derivadas de la médula espinal (células ependimarias, epSPC) con tratamientos farmacológicos formulados como Nanomedicinas y / o el empleo de un nuevo andamio para conducir los tratamientos de una manera mínimamente invasiva para una plausible traslación de los resultados obtenidos en el laboratorio hacia la práctica clínica, apoyando el desarrollo de terapias avanzadas en el rescate de las LME.

2. Resultado de la Investigación

La regeneración neuronal tras LM constituye uno de los grandes retos de este siglo para la comunidad científica. En la actualidad no existe ningún tratamiento efectivo. Por primera vez desde el LRTN demostramos que el trasplante de células ependimarias (epSPC) activadas tras una lesión medular, inmediatamente después del trauma, mejora significativamente la actividad locomotriz en ratas adultas (*Moreno et al, Stem Cells 2009; Gómez-Villafuertes et al, Cell Trasplantation 2015*). Las epSPCs, alineadas formando el canal central medular, poseen capacidad multipotente y constituyen el único nicho neurogénico de la médula espinal adulta. La inducción y reprogramación de los nichos troncales endógenos es de hecho una estrategia terapéutica de aplicación no sólo en lesiones traumáticas sino también en procesos neurodegenerativos como en esclerosis múltiple y esclerosis lateral amiotrófica.
Ciertos canales iónicos, entre los que se incluyen las conexinas (Cx, que forman hemicanales y gap junctions) han sido asociados al control de la proliferación y diferenciación de precursores neurales. Miembros de la familia de las CXs influyen sobre en expansión secundaria de la lesión traumática de la médula espinal y el dolor neuropático. Sin embargo, las CXs también contribuyen a la neurogénesis de la médula espinal, en procesos de remielinización y la recuperación funcional después de la LM. Por primera vez en el LRTN mostramos el patrón de expresión de diversas Cxs en células ependimarias, antes y después de una LM. Interesantemente, uno de sus miembros, la Cx50, muestra un efecto dual, de promoción de la autorenovación de la población troncal, a través de la regulación de Sox2 (*Rodriguez et al, J Tissue Res, en prensa, 2016*) y por otro lado de su diferenciación a neuronas o células gliales relacionado con su traslocación al núcleo en el proceso de diferenciación (*Rodriguez et al, Int J Mol Sci, 2015*). Las epSPC de animales sanos, sin LM, mostraron altos niveles de expresión de CX50 en contraste con las epSPC activadas por la lesión, (epSPCi) que expresan bajos niveles, tanto en ensayos in vivo como in vitro. Cuando ambas epSPC o epSPCi fueron inducidas a diferenciarse espontáneamente in vitro, se encontró que CX50 favorece el destino de la célula glial, asociando altos niveles de Cx50, endógenos o inducidos, con la expresión de la GFAP, marcador de astrocitos, en detrimento de la expresión del marcador neuronal Tuj1 (Figura 1A). CX50 se localiza en el citoplasma y núcleo de las células gliales, astrocitos y oligodendrocitos. Sin embargo, en el proceso de diferenciación dirigida a oligodendrocitos, el perfil de expresión para CX50 muestra un incremento opuesto en epSPC y epSPCi a nivel nuclear (Figura 1B). En médula espinal, CX50 se expresa de forma constitutiva en la materia gris, y tras la LM ésta invade todo la zona lesionada (Figura 1C). El trasplante epSPCi, que acelera la regeneración funcional mostrando un potente efecto neuroprotector, se asocia a una

menor señal de CX50 en el entorno del trasplante de la zona lesionada. Estos resultados abren una nueva alternativa al diseño de estrategias centradas en los canales iónicos y los precursores neurales como dianas de regulación tras LM.

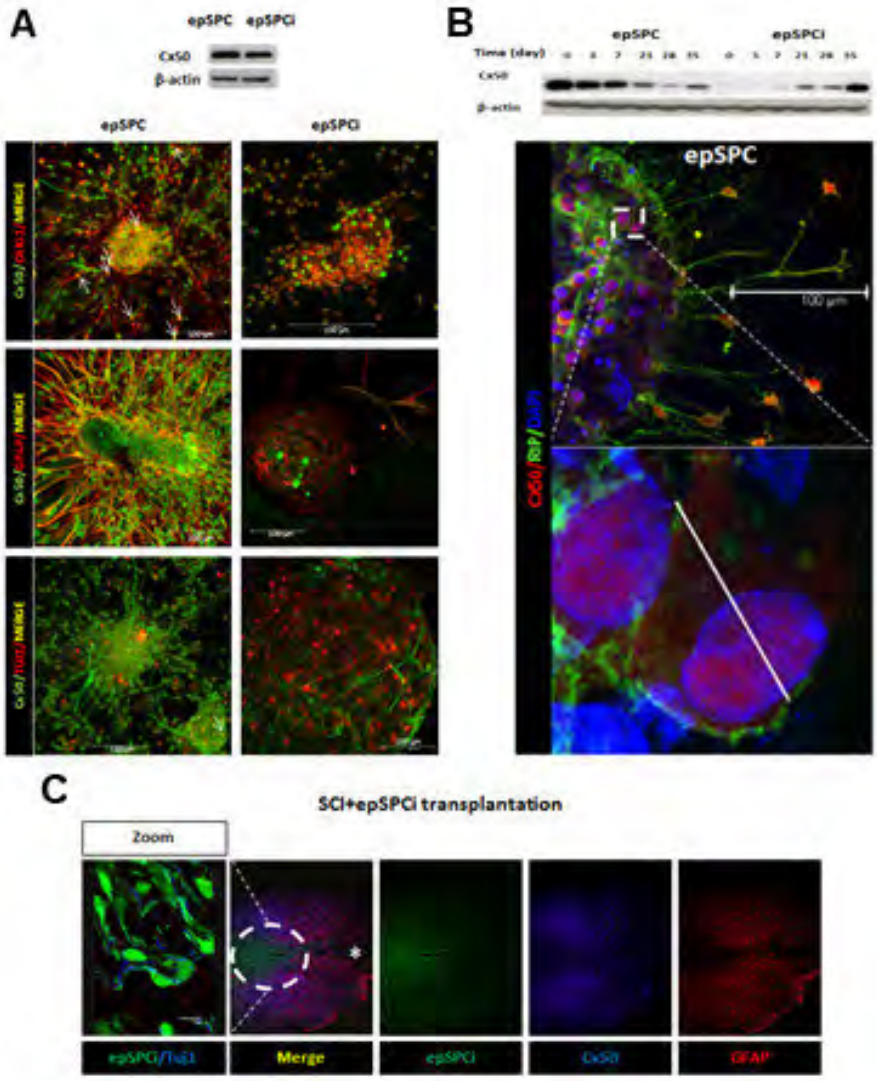


Figura 1. Expresión CX50 en epSPC y epSPCi. (A) Panel superior: CX50 mostró una mayor expresión de proteína en epSPC en comparación con epSPCi, activadas tras la LM. Panel inferior: Inmuno análisis de co-localización de CX50 con los marcadores de linajes gliales (GFAP, astrocito), (Olig 1, oligodendrocitos) y neural (Tuj1) en epSPC y epSPCi en condiciones de diferenciación espontánea durante 24 h. (B) Panel superior: Evolución de la expresión proteica de CX50 en epSPC y epSPCi a lo largo de un proceso de diferenciación dirigida a oligodendrocitos. Panel inferior: inmunodetección subcelular de CX50, y su co-localización con el marcador de oligodendrocitos, RIP, en epSPCi después de 21 días de diferenciación. Barra de escala = 100 micras; (C) Evaluación inmunohistoquímica de la expresión de CX50 y GFAP en la médula espinal 2 meses después de la lesión, y 2 meses después de la lesión y GFP-epSPCi trasplante. (Zoom; epSPCi / TuJ1) Barra de escala = 100 micras.

Por otro lado, hemos explorado el papel de CX50 en la modulación de Sox2, un factor de transcripción crucial en el proceso de auto-renovación de los precursores neurales, descrito recientemente, como un objetivo muy prometedor en la reparación del tejido neuronal. La ablación de la expresión de Cx50 empleando siRNA o su sobre-expresión modula consecuentemente en paralelo la expresión de Sox2 en ambas poblaciones, tanto en epSPC como en epSPCi. Curiosamente, CX50 y Sox2 co-localizan en el núcleo, lo que indica un papel diferente para este canal iónico más allá de la comunicación de célula a célula en la médula espinal. Clotrimazol, un modulador farmacológica específico de CX50, mostró de nuevo que una mayor expresión de CX50, converge con una mayor inducción de Sox2, tanto en los cultivos aislados de epSPC / epSPCi como in vivo, en el tejido médular después de una lesión (Rodríguez et al, J Tissue Res, en prensa, 2016). En defnitiva, una modulación farmacológica de CX50 constituiría un mecanismo interesante para la inducción de Sox2, para favorecer el potencial de regeneración de tejido neuronal endógeno con una potencial aplicación en terapias regenerativas.

Publicaciones

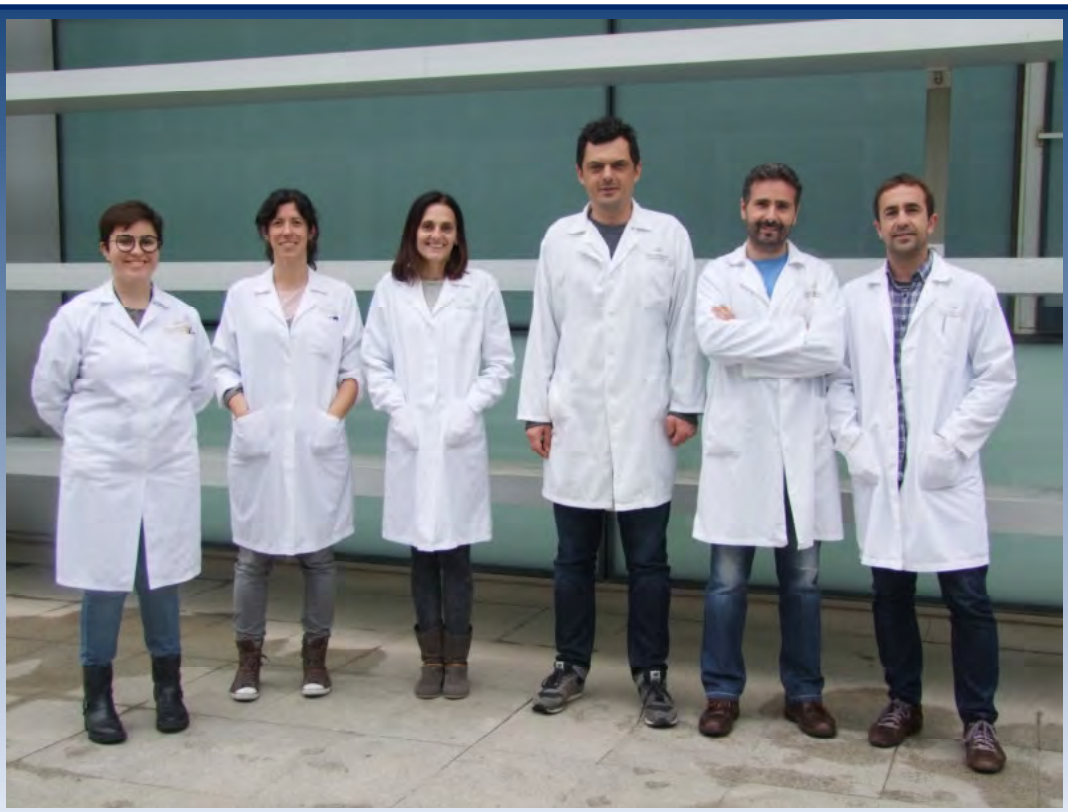
1. Gazdic M, Volarevic V, Arsenijevic A, Erceg S, Moreno-Manzano V, Arsenijevic N, Stojkovic M.Stem Cells and Labeling for Spinal Cord Injury. Int J Mol Sci. 2016 Dec 26;18(1). pii: E6. doi: 10.3390/ijms18010006. Review.
2. Figini M, Scotti A, Marcuzzo S, Bonanno S, Padelli F, Moreno-Manzano V, García-Verdugo JM, Bernasconi P, Mantegazza R, Bruzzone MG, Zucca I.Comparison of Diffusion MRI Acquisition Protocols for the In Vivo Characterization of the Mouse Spinal Cord: Variability Analysis and Application to an Amyotrophic Lateral Sclerosis Model. PLoS One. 2016 Aug 25;11(8):e0161646. doi: 10.1371/journal.pone.0161646.
3. Rodriguez-Jimenez FJ, Alastrue A, Stojkovic M, Erceg S, Moreno-Manzano V.Connexin 50 modulates Sox2 expression in spinal-cord-derived ependymal stem/progenitor cells. Cell Tissue Res. 2016 Aug;365(2):295-307. doi: 10.1007/s00441-016-2421-y.
4. Requejo-Aguilar R, Alastrue-Agudo A, Cases-Villar M, Lopez-Mocholi E, England R, Vicent MJ, Moreno-Manzano V. Combined polymer-curcumin conjugate and ependymal progenitor/stem cell treatment enhances spinal cord injury functional recovery. Biomaterials. 2016 ;113:18-30. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.032.
5. Lukovic D, Moreno.Manzano V, Rodriguez-Jimenez FJ, Vilches A, Sykova E, Jendelova P, Stojkovic M, **Erceg S.** (2016). hiPSC disease modeling of rare hereditary cerebellar ataxias: Opportunities and future challenges. *Neuroscientist, 2016 Oct*. doi: 10.1177/1073858416672652.

Conferencias y congresos

1. R. Requejo-Aguilar, A. Alastrue-Agudo, M. Cases-Villar, R. England, V. Nebot, MJ. Vicent, V. Moreno-Manzano. PA-Curcumin Conjugate and Combined Therapy with Ependymal/ Progenitor Cells Enhance Recovery from Spinal Cord Injury. International Symposium of Polymer Therapeutics-ISP-2016 (Valencia)
2. V. Moreno-Manzano. Modo de Acción en los tratamientos con células madre mesenquimales. VII Jornadas de la FGC (Valencia)
3. V. Moreno-Manzano. Terapia Celular y Nanomedicina en el Tratamiento de Lesiones Medulares. VII Jornadas de la FGC (Valencia)
4. V. Moreno-Manzano. Descripción de las células regenerativas derivadas de la grasa (ADRCs). Mesa redonda de expertos en Terapias Avanzadas en el Congreso Nacional de Traumatología (A Coruña)

5. V. Moreno PhD, A.J. González PhD, C. Correcher, I Muñoz MD, C. Molinos, M. Ortiz, M. Juan, T. Bruckbauer PhD, S. Junge PhD, Gabriel G. Pavón MD, J.M. Benlloch PhD. *PET/MRI imaging* of knee osteoarthritis in mice treated with *human* adipose-derived mesenchymal *stem cells*. SNN-(San Diego, USA)
6. V. Moreno-Manzano. Aproximaciones experimentales para el tratamiento de lesiones medulares crónicas: nanomedicina, células madre y biomaterials. Jornada Nacional de Aspaym (Valencia)
7. CD. Vera-Donoso, X. García-Domínguez, V. Moreno-Manzano, L. García-Valero, JS. Vicente, F. Marco-Jimenez. Adipose-derived stem cells enhance the growth of embryonic kidneys for successful allotransplantation. AUA-American Urology Association (San Diego, USA)
8. Marzullo, L; Delgado Oliva, F; Vera, C.D;; Bahílo, P; Mellado Lopez, M1; Campos J1; Moreno Manzano, V1 y Boronat, F. Ingieneria tisular basada en la descelularización y recelularización de una matriz vesical murina con células madre mesenquimales adultas de tejido adiposo humano. Sociedad Española de Urologia (Toledo)
9. CD. Vera-Donoso, X. García-Domínguez, V. Moreno-Manzano, L. García-Valero, JS. Vicente, F. Marco-Jimenez2. Eficacia del alotrasplante laparoscópico de riñones embrionarios utilizando una suspensión de células madre derivadas de tejido adipose. Sociedad Española de Urologia (Toledo)

Terapias con células madre en enfermedades neurodegenerativas



Investigador principal: Dr. Slaven Erceg

Investigadores Postdoctorales

- Francisco Javier Rodríguez Jiménez

Técnicos

- Angel Vilches

Colaboradores

- Dr. Heli Skottman (Universidad de Tampere, Helsinki)
- Dr. Victoria Moreno-Manzano (CIPF)
- Dra. Roser Duarte (Universidad de Barcelona)
- Dr. Miguel Carballo (Hospital de Terrassa, Barcelona)
- Dra. Eva Sykova (Instituto de Biomedicina, Praga)

1. Resumen.

El objetivo general de nuestro grupo de investigación es el desarrollo de nuevos protocolos de diferenciación neural, para generar nuevos modelos celulares humanos y terapias celulares para enfermedades neurodegenerativas utilizando células madre pluripotentes humanas que incluyan células madre embrionarias humanas (hESC) y células madre pluripotentes inducidas por humanos (ihPSC) . Estamos particularmente interesados en encontrar bases moleculares y nuevas terapias celulares para lesiones de la médula espinal, ataxias cerebelosas raras y distrofias retinianas.

2. Resultado de la Investigación

1. Estudio preclínico de terapia celular con progenitores neurales derivados de hESC e ihPSC combinado con modulación de astrogliosis en tratamiento de lesiones medulares.

Proyecto financiado por la Fundación Wings for Life (2 años), y el Ministerio de Salud e Instituto Carlos III (FIS)

La lesión de medula espinal (SCI) causa una pérdida de las funciones motoras, sensoriales y autonómicas por debajo del nivel de lesión. En la lesión medular los astrocitos reactivos contribuyen a la formación de la cicatriz glial, una estructura considerada detrimental para la regeneración axonal. Por otra parte, muchos estudios, incluyendo el nuestro, sugieren que el aumento de la migración de los astrocitos reactivos tiene un papel crucial en la reparación de tejidos dañados y la recuperación de la función motora en la fase subaguda de la lesión. Recientemente hemos demostrado que el trasplante de derivados de células madre embrionarias humanas (hESC) y células madre pluripotentes inducidas (ihPSC) en el modelo animal lesionado es una estrategia prometedora para establecer conexiones sinápticas entre las partes de la medula dañada. La función motora en los animales lesionados se puede mejorar modificando las vías de señalización implicadas en los procesos de la migración de astrocitos tales como la inhibición de la glucógeno sintasa quinasa-3 (GSK3). En este estudio se pretende tratar dos aspectos de regeneración del tejido dañado en las lesiones medulares, con el fin de buscar el tratamiento más eficaz: sustituir las células dañadas usando terapia celular, centrándose en trasplante de progenitores neurales derivados de hESC e ihPSC y potenciar el papel beneficioso de la astrogliosis reactiva usando el inhibidor de GSK3. Este proyecto contribuirá al descubrimiento de nuevas terapias combinadas para SCI.

Hemos obtenido resultados prometedores que demuestran que el inhibidor de GSK3 tiene un efecto en el incremento de la neurogenesis, reflejado en el aumento de Tuj1 y MAP2 en tres tipos de células madre que se involucraran en los procesos de regeneración después de la lesión medular: células madre ependimarias de ratón (células madre de huésped) y los progenitores neurales derivados de hESC e ihPSC (células que se van a trasplantar en combinación con el inhibidor GSK3). Actualmente estamos comprobando si los mismos efectos se consiguen *in vivo*.

En este proyecto colaboramos activamente con el grupo de ***Dra. Victoria Moreno-Manzano***, compartiendo las mismas técnicas y modelos de rata y ratón de lesión medular y con los ***Doctores Pavla Jendelova, Govindan Dayanithi y Serhiy Forostyak*** del Institute of Experimental Medicine, Academy of Science of Czech Republic, Praga, con quienes trabajamos estrechamente para aplicar los progenitores neurales en otras enfermedades neurodegenerativas como en los modelos animales de ELA e isquemia cerebral.

2. Modelos celulares de retinopatías hereditarias y nuevas terapias celulares basados en iPSC. *Parte de este proyecto está financiado por la Fundación Marató TV3*

Las Distrofias retinianas hereditarias (DRH) son responsables del 5 % de la ceguera en el mundo occidental, y son la causa más común de pérdida de visión en niños y adultos jóvenes. A pesar de alta carga social y sanitaria, no existe una cura para estas enfermedades y el mecanismo molecular de la DRH sigue siendo en gran parte desconocido. La retinitis pigmentaria (RP) es la forma más común de ceguera hereditaria, que afecta a 1 de 4.000 personas en todo el mundo. Las mutaciones que causan RP afectan principalmente a las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) y a los fotorreceptores, células que convierten la luz en señales nerviosas. Los genes involucrados realizan diferentes funciones dentro de los fotorreceptores y células del EPR, incluyendo transporte de proteínas, proteínas estructurales, ciclo visual, chaperonas, o factores de procesamiento de pre-ARNm (*splicing*).

En nuestro laboratorio se están generando varias líneas ihPSC de DRH y se están optimizando los protocolos de diferenciación hacia EPR y fotorreceptores. En el caso de las células de retina incluyendo fotorreceptores estamos aplicando la tecnología de diferenciación de células hESC e ihPSC hacia organoides 3D, concretamente copas ópticas. El modelo resultante representa fidedignamente las diferentes estructuras de retina humana donde se puede investigar *in vitro* los mecanismos de los genes cuya mutación causa degeneración de varias células de retina.

En colaboración con la Dra. Roser Duarte de Universidad de Barcelona, con el ***Dr. Miguel Carballo de hospital de Terrassa y la Dra. Carmen Ayuso de la Fundación Jiménez Díaz de Madrid*** hemos conseguido las biopsias de los pacientes con DRH con las mutaciones genotipadas: CERKL, AIPL1, MERTK, PRPF8 y RDH12. El objetivo es derivar los modelos celulares humanos de EPR y fotorreceptores (usando la tecnología de organoides 3D de copas ópticas) derivados de ihPSC de DRH e investigar los mecanismos de acción de los genes implicados en la enfermedad.

En el marco de este proyecto se investigan las células EPR y su función de fagocitosis del segmento exterior de fotorreceptores. Aplicando la última tecnología de corrección génica, pretendemos generar EPR de pacientes y corregir la mutación creando células sanas que se puede usar en una futura terapia autóloga.

En paralelo se generan células ganglionares de ihPSC derivadas de los pacientes con diferentes tipos de glaucoma, para poder determinar los eventos tempranos de degeneración de estas neuronas.

3. Modelos celulares y terapia celular para ataxias cerebelosas. La Ataxia de Charlevoix-Saguenay (ARSACS). *Proyecto financiado por la Fundación ARSACS, Canadá.*

La Ataxia neuromuscular, autosómica y recesiva de Charlevoix-Saguenay (ARSACS) es una afección neurodegenerativa caracterizada por una ataxia temprana del cerebelo con trastornos neuromusculares, síndrome piramidal y neuropatía periférica. Inicialmente fue descrita en la región Charlevoix-Saguenay del Quebec, donde la incidencia de la ARSACS al nacer se estimó entre 1/1.932. Otros síntomas iniciales de esta ataxia del cerebelo incluyen disartria y nistagmo. Se ha descubierto que los pacientes con ARSACS tienen la mutación en el gen SACSIN.

En este proyecto hemos creado por primera vez un modelo celular de esta enfermedad generando las células ihPSC de los pacientes que llevan una mutación de gen Sacsin. Las ihPSC se diferenciaran hacia organoides 3D de cerebelo derivando células Purkinje y granulares para investigar los mecanismos moleculares de los genes implicados en la enfermedad. Hemos descubierto que el gen UCP2 puede tener un papel importante en los procesos de estrés oxidativo y función mitocondrial.

Al mismo tiempo, mediante este proyecto pretendemos optimizar los protocolos de diferenciación ihPSC sanas hacia células Purkinje y descubrir nuevas proteínas de superficie para poder aislar los progenitores de estas células con la citometría de flujo y usarlas en la terapia células para modelos de ataxia cerebelosa. En este proyecto se cuenta con diferentes colaboraciones con los ***neurólogos del hospital de la Paz y del 14 de Octubre en Madrid.***

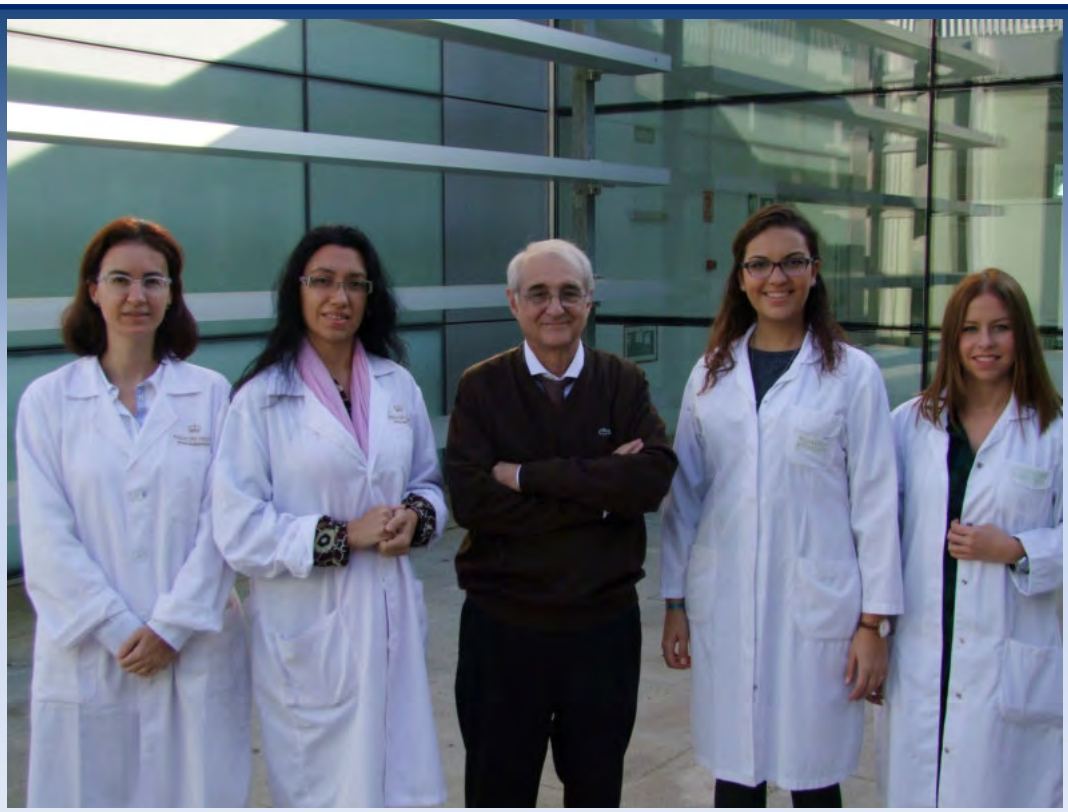
Publicaciones

1. Lukovic D, Moreno.Manzano V, Rodriguez-Jimenez FJ, Vilches A, Sykova E, Jendelova P, Stojkovic M, **Erceg S.** (2016). hiPSC disease modeling of rare hereditary cerebellar ataxias: Opportunities and future challenges. *Neuroscientist, 2016 Oct.* doi: 10.1177/1073858416672652.
2. Rodriguez-Jimenez FJ, Alastrue A, Stojkovic M, **Erceg S**, Moreno-Manzano V (2016) Connexin 50 modulates Sox2 expression in spinal-cord-derived ependymal stem/progenitor cells. *Cell Tissue Res.* 365(2):295-307.
3. Gazdic M, Volarevic V, Arsenijevic A, **Erceg S,** Moreno-Manzano V, Arsenijevic N, Stojkovic M. (2016) Stem Cells and Labeling for Spinal Cord Injury. International journal of molecular sciences, 18(1). doi: 10.3390/ijms18010006

Conferencias y congresos

1. Modulation of reactive astrocytes upon cell transplantation of hESC and ihPSC derived neural progenitors as a strategy for development of new treatments for spinal cord injury, Wings for Life Scientific Meeting 2016. Invited Lecture, April 18-19, 2016.
2. International Symposium: Understanding Human Disease: New Tools for New Challenges, "Induced pluripotent stem cells for disease modeling and cell therapy". Invited Lecture, 23rd of November, 2016 Barcelona, Spain

Moléculas orgánicas. *Unidad Mixta CIPF-UV*



Investigador principal: Dr. Santos Fustero

Investigadores Asociados:

- Raquel Román Parrilla

Investigadores Predoctorales:

- Lidia Herrera Muñoz (UVEG)
- Daniel Mark Sedgwick (UVEG)

1. Resumen.

Los compuestos organofluorados representan aproximadamente un 30% de los nuevos fármacos. A pesar de la importancia de este tipo de compuestos en Química Orgánica y Química Médica, pues es bien conocido que la introducción de flúor o agrupaciones fluoradas en moléculas orgánicas puede dar lugar a cambios beneficiosos en sus propiedades químicas y farmacológicas, la presencia de átomos de flúor en los compuestos biológicos es muy escasa, por lo que la mayoría de ellos tienen un origen sintético.
En este contexto, nuestro grupo de investigación, en el laboratorio de moléculas orgánicas, está interesado en el desarrollo de diferentes líneas de investigación dirigidas a la puesta a punto de nuevas metodologías para la síntesis de compuestos nitrogenados fluorados de importancia farmacológica. Para ello utilizamos diferentes métodos de fluoración selectiva y otras estrategias sintéticas basadas en el uso de *building blocks* fluorados. El diseño y la preparación previa de estos *building blocks* fluorados es clave en el proceso de síntesis de las nuevas entidades químicas, con el principal objetivo de conseguir fármacos más seguros y eficaces frente al tratamiento de diferentes enfermedades.

2. Resultado de la Investigación

Título del Resultado de Investigación 1

"8-Iodonaphthalene-1-carbaldehyde: A Versatile Building Block for Diversity-Oriented Synthesis"

Org. Lett. ***2016****, 18, 4722–4725.*

En este trabajo, nuestro grupo ha demostrado la versatilidad del compuesto poco estudiado 8-iodo-1-naftalenecarbaldehido en el contexto de la Diversity Oriented Synthesis (DOS). La síntesis asimétrica de varias familias de subestructuras heterocícliccas, la mayoría sin precedentes en la literatura, se ha logrado en pocos pasos de síntesis. Con la ayuda de cálculos de PMI se ha conseguido obtener la distribución de las moléculas. La posible actividad biológica de algunos de estos derivados está siendo estudiada actualmente.

Título del Resultado de Investigación 2

"Asymmetric Allylation/RCM-Mediated Synthesis of Fluorinated Benzo-Fused Bicyclic Homoallylic Amines As Dihydronaphthalene Derivatives"

J. Org. Chem. **2016**, *81*, 8876–8887.

Se ha desarrollado una nueva línea para la síntesis de derivados 1-amino-4-fluoroalquil-1,2-dihidronaftaleno a partir de los building-blocks o-fluoroalquilvinil benzaldehídos, con especial interés en los compuestos trifluorometilados. Además, hemos estudiado el efecto de la desactivación que este grupo fluorometilado ocasiona en reacciones de RCM. Así se ha demostrado que los derivados de estireno αfluoroalquilados son menos reactivos que los correspondientes derivados no fluorados. Basándose en los principios de síntesis orientada a la diversidad, en este trabajo se ha descrito una nueva familia de building-blocks fluorados adecuados para la preparación de moléculas más complejas.

Título del Resultado de Investigación 3

"Gold-Catalyzed Povarov-Type Reaction of Fluorinated Imino Esters and Furans".

J. Org. Chem. **2016**, *81*, 6515–6524.

En este trabajo hemos desarrollado un nuevo protocolo tándem donde participan una reacción tipo Povarov seguida de una reacción formal de Friedel–Crafts para derivados de furoquinolinas, con buenos rendimientos y niveles moderados de diastereoselectividad. El proceso fue catalizado por complejos de oro, $AuCl_3$ o SIPrAuOTf, generando complejos fluorados de una manera muy sencilla y eficaz. Además, los diastereoisómeros mayoritarios han podido ser separados en la

mayoría de los casos, lo que ha permitido su aislamiento y caracterización. Una gran variedad de imino-ésteres han sido compatibles con el proceso. Cabe mencionar que ha sido el primer protocolo tipo Povarov descrito con furanos como dienófilos.

Título del Resultado de Investigación 4
"Enantioselective Palladium-Catalyzed Oxidative β,β-Fluoroarylation of α,β-Unsaturated Carbonyl Derivatives". Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 9045 –9049.

Una nueva estrategia para acceder a sistemas derivados de a,b-fluorocarbonilos mediante una suave y directa 1,1-difuncionalizacion catalítica de sistemas a, b-insaturados ha sido llevada a cabo en este trabajo. En analogía con transformaciones ya descritas, es probable que la reacción transcurra a través de una especie de fluoruro de paladio (IV) en un mecanismo oxidativo tipo Heck.

Publicaciones

1. "Asymmetric Synthesis of Monofluorinated 1-Amino-1,2-dihydronaphthalene and 1,3-Amino Alcohol Derivatives". Rubén Lázaro, Raquel Román, Daniel M. Sedgwick, Günter Haufe, Pablo Barrio, Santos Fustero.Org. Lett. 2016, 18, 948–951
2. "8-Iodonaphthalene-1-carbaldehyde: A Versatile Building Block for Diversity-Oriented Synthesis". Lidia Herrera, Pablo Barrio, Ignacio Ibáñez, Raquel Román, Natalia Mateu, Santos Fustero. Org. Lett. 2016, 18, 4722–4725.
3. "Asymmetric Allylation/RCM-Mediated Synthesis of Fluorinated Benzo-Fused Bicyclic Homoallylic Amines As Dihydronaphthalene Derivatives". Daniel M. Sedgwick, Pablo Barrio, Antonio Simón, Raquel Román, Santos Fustero. J. Org. Chem. 2016, 81, 8876–8887.
4. "Gold-Catalyzed Povarov-Type Reaction of Fluorinated Imino Esters and Furans". Álvaro Sanz-Vidal, Javier Miró, María Sánchez-Roselló, Carlos del Pozo, Santos Fustero. J. Org. Chem. 2016, 81, 6515–6524
5. "Recent Developments in the Chiral Brønsted Acid-catalyzed Allylboration Reaction with Polyfunctionalized Substrates". Pablo Barrio, Elsa Rodríguez, Santos Fustero. Chem. Rec. 2016, 16, 2046–2060.
6. "Enantioselective Palladium-Catalyzed Oxidative β,β-Fluoroarylation of α,β-Unsaturated Carbonyl Derivatives". Javier Miró, Carlos del Pozo, F. Dean Toste, Santos Fustero. Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 9045 –9049.
7. "Addition of Nucleophiles to Fluorinated Michael Acceptors". Daniel C. Ramb, Andreas Lerchen, Marvin Kischkewitz, Bernd Beutel, Santos Fustero, Günter Haufe. *Eur. J. Org. Chem.* 2016, 1751–1759.
8. "Chiral Brønsted Acid-Catalyzed Asymmetric Allyl(propargyl)boration Reaction of ortho-Alkynyl Benzaldehydes: Synthetic Applications and Factors Governing the Enantioselectivity". Elsa Rodríguez, Matthew N. Grayson, Amparo Asensio, Pablo Barrio, K. N. Houk, Santos Fustero. ACS Catal. 2016, 6, 2506–2514.
9. "Synthesis of 3-substituted isoindolin-1-ones via a tandem desilylation, cross-coupling, hydroamidation sequence under aqueous phase-transfer conditions". Socrates B. Munoz, Alexandra N. Aloia, Alexander K. Moore, Attila Papp, Thomas Mathew, Santos Fustero, George A. Olaha, G. K. Surya Prakash. Org. Biomol. Chem., 2016, 14, 85–92.
10. Rosello, MS; del Pozo, C; Fustero, S. A (2016). Decade of Advance in the Asymmetric Vinylogous Mannich Reaction. Synthesis-Stuttgart

11. Remete, AM; Nonn, M; Fustero, S; Fulop, F; Kiss, L. (2016) A Stereocontrolled Protocol to Highly Functionalized Fluorinated Scaffolds through a Fluoride Opening of Oxiranes. Molecules
12. Kiss, L; Nonn, M; Sillanpaa, R; Haukka, M; Fustero, S; Fulop, F. (2016) Chemoselective, Substrate-directed Fluorination of Functionalized Cyclopentane beta-Amino Acids. Chemistry-An Asian Journal

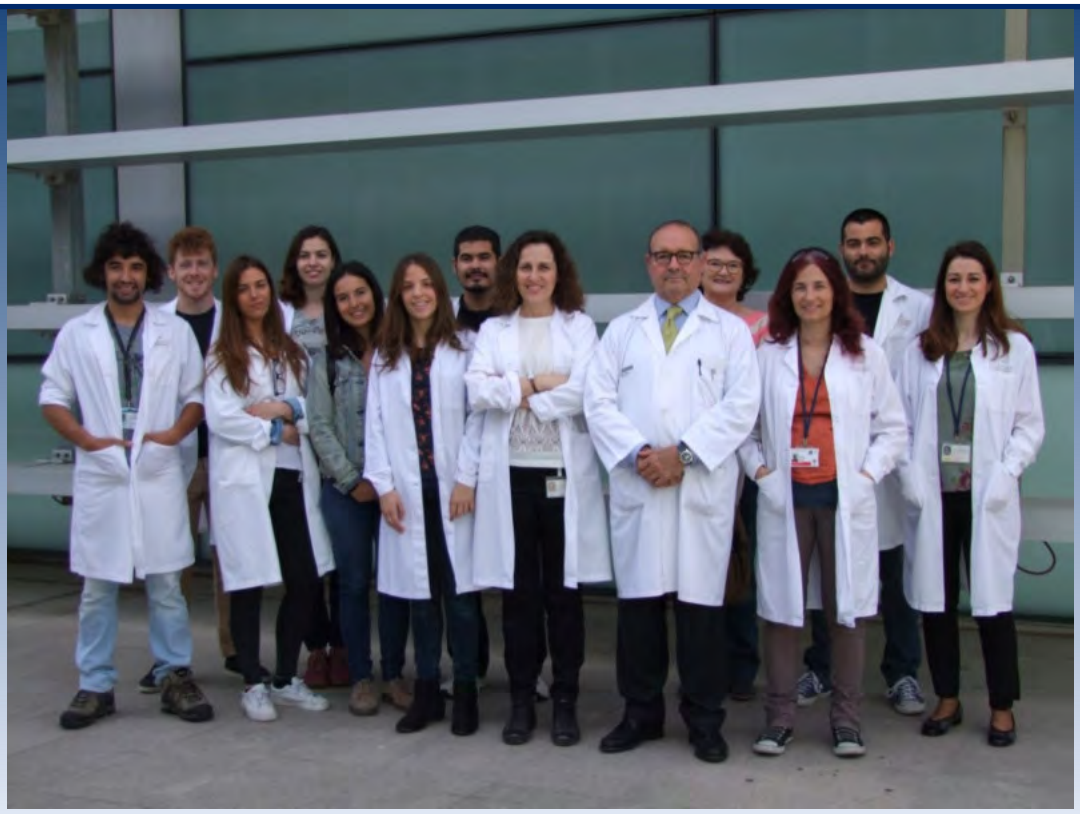
Conferencias y congresos

1. S. Fustero. "Fluorinated and non-Fluorinated Derivatives Mediated by Transition Metals". 2016 Universidad de Oviedo, Spain (Plenary Lecture)
2. S. Fustero. "New strategies for the synthesis of monofluorinated compounds". 2016 XI All-Russian Conference "Fluorine Chemistry, Moscú, Rusia (Plenary Lecture)
3. S. Fustero. "Monofluorinated Compounds: New Strategies". 2016 Bremen FluorineDays 2016, Bremen, Germany (Invited Lecture)
4. S. Fustero. "Fluorinated benzo-fused cyclic homoallylic amines as dihydronaphthalene derivatives". XXVI Reunión Bienal de Química Orgánica. Punta Umbría-Huelva. Junio 2016 (comunicación).

Tesis doctorales defendidas

1. Doctorando: Rubén Lázaro Fañanás. *"Síntesis asimétrica de carbo- y heterociclos benzofusionados"*. Universidad de Valencia (UVEG), Febrero 2016.

Reparación cardiovascular. *Unidad Asociada CIPF-IIS La FE*



Investigador principal: Dr. J. Anastasio Montero

Investigadores Asociados:

- Pilar Sepulveda (IIS La Fe)
- Akaitz Dorronsoro González (IIS La Fe)

Postdoctorales

- Imelda Ontoria Oviedo (IIS La Fe)

Predoctorales

- Hernán González-king (IIS La Fe)
- Rubén Carrero García (IIS La Fe)
- María Ciria Calduch (UPV)
- Delia Castellano Izquierdo (IIS La Fe)
- Sandra Tejedor Gascón(IIS La Fe)
- Rafael Sánchez Sánchez(IIS La Fe)

Técnicos

- Marina Piquer Gil (IIS La Fe)

Colaboradores

- José Luis Diez Gil (IIS La Fe)
- Amparo Hernándiz Martínez (IIS La Fe)

1. Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son un problema de salud importante en los países desarrollados. Entre ellos, la insuficiencia cardiaca tiene un tratamiento limitado y la terapia celular se ha convertido en una herramienta alternativa a las terapias convencionales. La Unidad Asociada para la Reparación Cardiovascular es un programa de colaboración entre IISLAFE y Centro de Investigación Príncipe Felipe. El grupo tiene como objetivo desarrollar una investigación básica con un componente traslacional de calidad, que contribuirá al desarrollo de nuevos tratamientos para las enfermedades isquémicas. El estudio de los mecanismos celulares desencadenados por las células madre adultas y los factores que influyen en la muerte celular de los cardiomiocitos en entornos apoptóticos e inflamatorios permitirá la identificación de dianas moleculares para el desarrollo de nuevos fármacos. La actividad científica del grupo se centra en el uso de células madre adultas en modelos preclínicos de reparación cardíaca, el estudio de los exosomas como mediadores de la comunicación celular, el uso de iPSC como herramienta para el ensayo de la cardiotoxicidad en el corazón, así como la evaluación de nuevos materiales para la reparación cardíaca.

2. Resultado de la Investigación

Estudios preclínicos con células troncales adultas para el tratamiento del infarto de miocardio:

El grupo trabaja en el análisis de la capacidad de las células mesenquimatosas y de las células madre cardiaca residentes para reparar el miocardio infartado. Disponer de un modelo de infarto en rata permite comprobar la capacidad de integración de las células humanas trasplantadas y realizar un seguimiento in vivo de la recuperación funcional. Con ello, el grupo está implicado en estudios de aislamiento, expansión y marcaje de las células troncales adultas, optimización de la dosis, combinación de factores y células, protocolos de trasplante y evaluación de la función cardiaca de los animales infartados y tratados en distintas condiciones. De esta línea de investigación se han derivado las siguientes publicaciones:

- Autores: H. Gonzalez-King, N. A. García, I. Ontoria-Oviedo, M. Ciria, J.A. Montero, P. Sepúlveda. Hypoxia inducible factor-1 alpha potentiates Jagged 1-mediated angiogenesis by mesenchymal stem cell-derived exosomes. Stem Cells (Accepted 2017)
- Autores: M. Ciria, N.A. García, I. Ontoria-Oviedo, H. Gonzalez-King, R. Carrero, C. Hardt, J.L. De La Pompa, J. A. Montero, P. Sepúlveda*. Activation of mesenchymal stem cells migration and spreading is mediated by crosslink of HIF, NOTCH and SUMO pathways. Stem Cell And Development(In revission)
- Autores: A. Armiñan, P. Sepulveda, M. J Vicent. Polymer Therapeutics as nano-sized medicines for Tissue Regeneration and Repair. LIBRO: Polymers in Regenerative Medicine: Biomedical Applications from Nano- to Macro-Structures. Chapter 8, Wiley-Blackwell. John Wiley & Sons, 2014. ISBN 978-0-470-59638-8

Estudio de los alteraciones metabólicas asociadas a situaciones de hipoxia.

Esta línea de investigación se centra en el estudio de ciertos metabolitos del ciclo de Krebs, como el succinato, cuyas concentraciones aumentan en situaciones de hipoxia. Por otra parte, la falta de oxígeno y nutrientes en la célula provoca cambios en el número y composición de los exosomas, vesículas secretadas por las células y que juegan un papel fundamental en la comunicación intercelular. El grupo estudia estos procesos empleando animales genéticamente modificados,

modelos de infarto y líneas celulares. De esta línea de investigación se han derivado las siguientes publicaciones:

- Autores: Garcia NA, Ontoria-Oviedo I, González-King H, Diez-Juan A, Sepúlveda P. Glucose starvation in cardiomyocytes enhances exosome secretion and promotes angiogenesis in endothelial cells. PloS ONE, 2015
- Autores: García NA, Moncayo-Arlandi J, Sepulveda P, Diez-Juan A. Cardiomyocyte exosomes regulate glycolytic flux in endothelium by direct transfer of GLUT transporters and glycolytic enzymes. Cardiovasc Res. 2016 Mar 1.

Generación de iPSC de pacientes con cardiopatías congénitas:

Esta línea se centra en el estudio de cardiopatías de tipo estructural y canalopatías. El grupo investiga distintos procesos de reprogramación de keratinocitos y fibroblastos para el diseño de modelos celulares de ambas enfermedades. Esta línea de investigación ha conseguido financiación a través de un proyecto propio del IISLAFE denominado "Modeling cardiac disease with cardiac resident stem cells and induced pluripotential stem (iPS) cell-derived cardiomyocytes".
Resultados pendientes de publicación.

Evaluación y prevención del daño inducido por reperfusión:

Se trata de una línea de investigación traslacional que aglutina investigadores básicos, clínicos y de imagen con el objetivo de analizar las causas de la obstrucción microvascular y de hemorragia intra-infarto en pacientes y generar un modelo en animales que permita experimentar con diferentes fármacos y estrategias para disminuir en lo posible esta lesión de gran impacto sobre el pronóstico de los pacientes. Esta línea de investigación ha conseguido nueva financiación en 2014 a través del proyecto de la " I CONVOCATORIA DE AYUDAS PARA EL FOMENTO DE LA ACTIVIDAD INVESTIGADORA DE LA FUNDACIÓN PARA EL FOMENTO DE LA INVESTIGACIÓN SANITARIA Y BIOMÉDICA DE LA COMUNITAT VALENCIANA (FISABIO) " bajo el título "Estudio del daño miocárdico inducido por reperfusión: nuevas estrategias basadas en el uso de microcatéteres sobre un modelo porcino" (UGP-14-173), concedido al Dr. J.L. Diez.
Resultados pendientes de publicación

Publicaciones

1. Garcia NA, Moncayo-Arlandi J, Sepulveda P, Diez-Juan A. Cardiomyocyte exosomes regulate glycolytic flux in endothelium by direct transfer of GLUT transporters and glycolytic enzymes. Cardiovasc Res, 109(3)2016 Mar. doi: 10.1093/cvr/cvv260

Conferencias y congresos

1. Reunión Anual Red de Terapia Celular – TerCel – Sevilla nov. 2015-2016.
2. Congreso internacional TECAM. Madrid. Mayo 2015-2016.
3. Congreso internacional ESCGT. Octubre 2016.
4. Congreso Internacional GEIVEX. Septiembre 2016.

II SERVICIOS TECNOLÓGICOS

Responsable de Servicios Tecnológicos: Dr. Ernesto de la Cueva

1. **Unidad de Animalario. Responsable: Dra. Viviana Bisbal.**
2. **Unidad de microscopía óptica avanzada y confocal. Responsable: Alberto Hernández Cano.**
3. **Unidad de Citómica. Responsable: Dra. Alicia Martínez Romero.**
4. **Unidad de Microscopia electrónica. Responsable: Mario Soriano.**
5. **Unidad de Genómica y genética traslacional. Responsable: Dr. Vincenzo Lupo y Laura Ramírez.**
6. **Unidad de Resonancia Magnética nuclear. Responsable: Dra. Martina Palomino.**
7. **Unidad de Proteomica. Responsable: Virginia Rejas.**
8. **Unidad de Cribado farmacológico, Responsable: Esther Masía.**

Introducción

El CIPF cuenta con unos Servicios Tecnológicos (SSTT) cuya misión principal es la de ofrecer soporte técnico especializado, tanto a sus propios grupos de investigación como a la comunidad científica en general. La gestión coordinada de los diferentes servicios, su marcado carácter colaborativo e interdisciplinar y la concentración en un mismo espacio de tecnología e infraestructuras singulares, conforman una oferta tecnológica completa y de calidad, a la vez que fomentan la transferencia efectiva de conocimiento, potenciando las oportunidades de colaboración científica y la incorporación de novedades a su acervo tecnológico. Todo esto permite a los SSTT ofrecer soluciones y aplicaciones de alto valor añadido.

En general, 2016 ha sido un año de crecimiento en la actividad de los SSTT, con un sensible incremento en el número y diversidad de los servicios prestados, en el desarrollo de acciones formativas y de divulgación y en la participación de su personal en actividades científicas. De esta forma, se consolida la tendencia positiva que venía observándose durante los últimos años.
Algunos servicios destacan por la singularidad de sus instalaciones y equipamiento (Quirófanos Experimentales, Salas Blancas, RMN, o las áreas SPF para roedores), otros lo hacen por su marcado carácter traslacional o por el valioso soporte científico-tecnológico que brindan a sus usuarios (Cribado, Genética traslacional, Genómica, Microscopía Electrónica, Microscopía Confocal, o Citómica).

Los SSTT se encuentran acreditados según la norma de calidad ISO9001:2008 para la prestación de servicios tecnológicos.

Unidad de Animalario

El avance de las ciencias biomédicas y el desarrollo de diagnósticos y tratamientos cada vez más eficaces y seguros, requieren del estudio en profundidad de las enfermedades y sus mecanismos. En determinadas situaciones, estos estudios sólo pueden llevarse a cabo en organismos vivos y, por ello, hoy en día es necesario el uso de modelos animales cuando se necesita conocer cómo funciona un proceso biológico en el contexto y con la complejidad de un ser vivo.

El estricto marco legal vigente sólo autoriza el uso de modelos animales con fines experimentales si éstos no pueden ser reemplazados por una alternativa *in vitro* válida. Asimismo, impone el refinamiento de los procedimientos y la reducción del número de animales utilizados, como partes fundamentales del diseño experimental. Esta aproximación ética al uso de animales, es lo que ha venido a denominarse “concepto de las tres erres” (reemplazo, reducción y refinamiento – 3Rs).

La misión de la Unidad de Animalario del CIPF es proporcionar los estándares de calidad y el entorno que garanticen la solidez y reproducibilidad de los ensayos con animales, así como la efectiva aplicación del mencionado principio de las 3Rs.

En el último año, la Unidad de Animalario ha participado en múltiples proyectos, tales como la investigación sobre tratamientos para el cáncer con polímeros terapéuticos, la regeneración cardíaca, epidérmica y medular con terapias farmacológicas y celulares y trabajos sobre escoliosis, encefalopatía hepática, alcoholismo, endometriosis y enfermedades raras, entre otros.

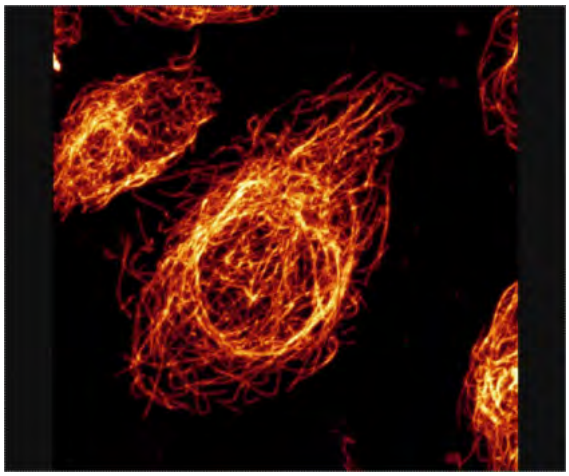
A su vez, en nuestros quirófanos experimentales se han impartido más de una treintena de programas de formación en técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas, especialmente en el campo de la urología laparoscópica genitourinaria, laparoscopia gastrointestinal, toracoscopia y artroscopia.

Unidad de Microscopía Óptica Avanzada y Confocal

La Microscopía Confocal es una tecnología que permite la observación de muestras biológicas a una resolución mayor que la que proporciona la microscopía óptica convencional. Asimismo, y debido a una mayor capacidad de penetración en la muestra, el microscopio confocal permite capturar imágenes en diferentes planos focales que, debidamente tratadas, generan una reconstrucción tridimensional del material observado. La microscopía confocal es en definitiva una herramienta muy valiosa tanto en su aplicación a las ciencias de la vida como a las ciencias de los materiales.

La unidad de Microscopia Óptica Avanzada y Confocal del CIPF ofrece un soporte especializado a sus usuarios en distintas técnicas de microscopía y su análisis, apoyado en la experiencia de sus profesionales.

Durante 2016, la Unidad de Microscopía Óptica Avanzada y Confocal ha contribuido en diversos proyectos de investigación de grupos del CIPF y ha colaborado con otros centros de investigación tales como el Instituto Valenciano de Patología (IVP), el Instituto de Tecnología de Materiales de la Universidad Politécnica de Valencia, la fundación PROCREA, la fundación IVI, el Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), etc.



Snapshot de Celulas HeLa con M. Confocal

Unidad de Citómica

La Unidad de Citómica del CIPF dispone de tecnología para análisis policromático y separación celular a alta velocidad, que, junto con su dilatada experiencia en análisis citómico aplicado a la biomedicina, la biotecnología y la medicina translacional, le permite ofrecer a sus usuarios unos servicios de alta calidad. Además, la unidad posee experiencia en la aplicación de métodos de citómica al campo de la microbiología y las ciencias ambientales.

En 2016, la Unidad de Citómica ha participado en diversos proyectos de investigación relacionados con el inmunofenotipado de muestras, expresión de antígenos tanto en superficie como intracelulares e intranucleares, análisis del ciclo celular, ensayos de citotoxicidad, análisis funcionales en líneas celulares, cultivos primarios o muestras ex vivo, aplicaciones clínicas y biotecnológicas del estudio de microorganismos, caracterización funcional e inmunofenotipo de células madre, análisis de parámetros a tiempo real (*in fluxo*), análisis multiplexado de proteínas solubles, clasificación celular para la obtención de poblaciones purificadas basada en inmunofenotipo y/o características funcionales y estudios de alto contenido (HCA) mediante técnicas de análisis de imagen en células adherentes y secciones de tejido. Asimismo, la unidad ha participado en proyectos de investigación relacionados con la detección y clasificación de diferentes subpoblaciones de melanoma y cáncer de pulmón humanos.

Por otra parte, se ha impartido formación relacionada con aplicaciones de la citómica en colaboración con la Universidad de Valencia, como la Escuela de Verano ESCCA en Citometría, y otros cursos de grado y de máster.

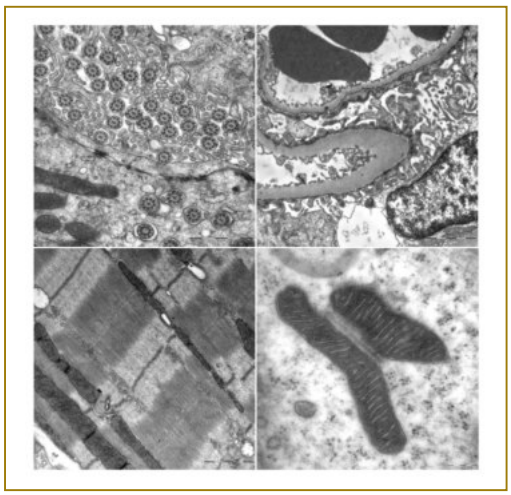
Unidad de Microscopía Electrónica

La microscopía electrónica utiliza un haz de electrones acelerados que, al impactar con la muestra, genera diferentes señales que proporcionan información sobre su estructura atómica. En la Microscopía Electrónica de Transmisión, los electrones transmitidos se recogen para generar imágenes de transmisión convencionales, de campo oscuro y alta resolución. Por su altísimo poder de resolución, el microscopio electrónico de transmisión permite desarrollar aplicaciones de gran utilidad en el campo de la investigación biomédica, la biotecnología y el diagnóstico.

La Unidad de Microscopía Electrónica del CIPF colabora con grupos de investigación internos y externos, como herramienta para la obtención de resultados en sus proyectos. También es utilizado por servicios de anatomía patológica para el diagnóstico clínico-patológico de algunas enfermedades renales, musculares, dérmicas y de nervios periféricos, así como de ciertos tumores. Como fruto de estas colaboraciones, se han obtenido resultados que han sido publicados en diferentes revistas científicas de carácter internacional.

Durante 2016, la unidad ha puesto a punto el servicio de crio-microscopía electrónica (cryo-EM), que permite el estudio de estructuras tales como células y orgánulos en un estado cuasi nativo y el análisis de partículas individuales (nano-partículas, complejos macromoleculares, etc.) aisladas o purificadas.

El servicio tiene asimismo carácter docente, formativo y divulgativo, habiendo organizado numerosas sesiones de formación tanto para personal interno como externo acerca de las técnicas y sus posibles aplicaciones. Además se han realizado múltiples visitas al servicio de centros escolares e institutos de educación secundaria para mostrar el equipo y las imágenes que se obtienen.



Imágenes de M. Electrónica

Unidad de Genómica y Genética Traslacional

La Unidad de Genómica y Genética Traslacional (SGGT) integra la capacidad científica del CIPF en el campo de la genética humana, la genómica y la bioinformática, con el conocimiento generado en dichos campos y la experiencia en diagnóstico genético. Nuestra misión es proporcionar un servicio de calidad, especializado en el análisis genético de enfermedades con componente hereditario. Además, la Unidad proporciona a sus usuarios recursos técnicos, materiales y humanos en el campo de la secuenciación (NGS y Sanger), el análisis genómico mediante de *microarrays* (CGH, SNP y CNV) y otros servicios relacionados como la extracción, purificación o concentración y control de calidad de las muestras de ADN y ARN.

Durante 2016, la unidad ha continuado con los servicios que viene prestando a sus usuarios y además, con el fin de mejorar las herramientas diagnósticas en el ámbito de la genética humana, se ha diseñado un panel de genes que incluye 119 genes asociados a neuropatías periféricas hereditarias, en particular a atrofia espinal distal (AED), atrofia muscular espinal (AME) Charcot-Marie-Tooth (CMT) y esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

Otra de nuestras novedades es el uso de *arrays* dirigidos a la clínica, como los aplicados a la oncología (que cubren aproximadamente 2.410 regiones relevantes en procesos cancerígenos), autismo (con más de 1.500 genes implicados en alteraciones del desarrollo y síndromes conocidos, incluyendo 150 regiones genómicas asociadas con el autismo) o aplicaciones al diagnóstico genético en general.

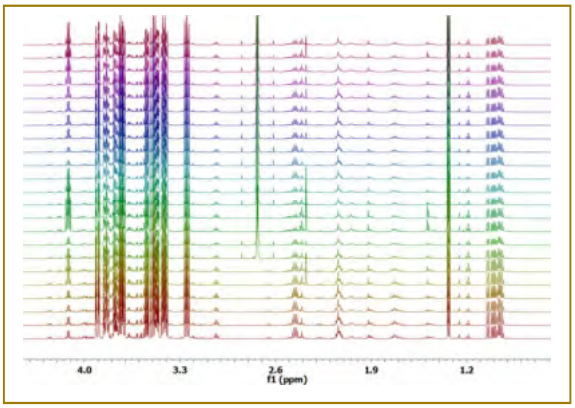
Unidad de Resonancia Magnética nuclear

La unidad de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se aplica como una de las principales herramientas para la caracterización de la estructura química de pequeñas moléculas y macromoléculas y para dilucidar mecanismos moleculares de su actividad biológica. Además, se han realizado estudios de aplicación al desarrollo de fármacos colaborando en numerosos proyectos de investigación. Por otra parte, la unidad ha llevado a cabo la caracterización del perfil metabólico de un alto número de muestras biológicas (suero orina líquido cefalorraquídeo células, etc.) para diferentes proyectos en colaboración con hospitales y otros centros de investigación.

A lo largo de 2016 la Unidad de RMN ha participado en una amplia variedad de proyectos y ha contribuido a la caracterización de diferentes compuestos químicos y macromoléculas. Por otra parte, la experiencia de la unidad en el conocimiento estructural detallado de moléculas y el análisis en profundidad de espectros de RMN, ha facilitado la participación en diferentes proyectos de investigación en colaboración con grupos, internos y externos, centrados en la evaluación de la interacción entre varias dianas proteicas y sus potenciales inhibidores, utilizando técnicas de *screening* de fragmentos proteicos.

También se ha profundizado en la aplicación de la RMN como aproximación a la elucidación de los perfiles metabolómicos asociados a diferentes muestras biológicas, cada uno de ellos representante de un proceso bioquímico, farmacológico o patológico particular.

Por último, cabe destacar la dedicación de la Unidad de RMN a la organización de actividades de difusión (cursos, visitas, etc.), la publicación de resultados en revistas de alto impacto y la participación en diferentes solicitudes de subvención han sido fundamentales para aumentar la visibilidad de la instalación RMN.



Espectros de Resonancia Magnética Nuclear

Unidad de Proteómica

La Unidad de Proteómica dispone de tecnologías y personal técnico cuyo objetivo fundamental es poner a disposición de la comunidad científica y de las empresas que lo requieran, el soporte instrumental y el asesoramiento científico sobre técnicas experimentales utilizadas en el campo de la proteómica.

La actividad fundamental de la Unidad de Proteómica se centra en proporcionar apoyo a los investigadores, tanto mediante el análisis de muestras como mediante el asesoramiento en aspectos más generales relativos a la proteómica y la química de proteínas.

Con el objeto de mejorar la calidad y oferta del servicio, la Unidad de Proteómica mantiene un convenio de colaboración con la Universidad de Valencia por el que se creó el Nodo de Proteómica UV-CIPF.

Unidad de Cribado Farmacológico

En los últimos años, la actividad de la Unidad de Cribado Farmacológico ha estado relacionada con el desarrollo de proyectos de investigación de descubrimiento y desarrollo de fármacos, que van desde aplicaciones terapéuticas contra el cáncer, al área de la medicina regenerativa (células madre) o las enfermedades infecciosas.

Uno de los mayores proyectos en el campo de la terapia contra el cáncer fue la identificación de dianas con un comportamiento potencialmente sinérgico cuando se administra un agente antitumoral específico para modelos celulares de melanoma. Otros proyectos incluyen el cribado masivo para la identificación de activadores de la caspasa 9 o el desarrollo de combinaciones de quimioterapia endocrina que generen sinergias en el tratamiento de cánceres dependientes de hormonas.

Por otro lado, la plataforma de cribado ha contribuido a la identificación de dianas involucradas en el mantenimiento de la pluripotencia o la activación en diferentes tipos de células madre, incluyendo células hematopoyéticas de cordón umbilical. Otros proyectos están relacionados con el cribado masivo por técnicas de fluorescencia polarizada (para VIH) o el cribado masivo en esferas tumorales de cáncer de pulmón, buscando candidatos tóxicos para dichas células.

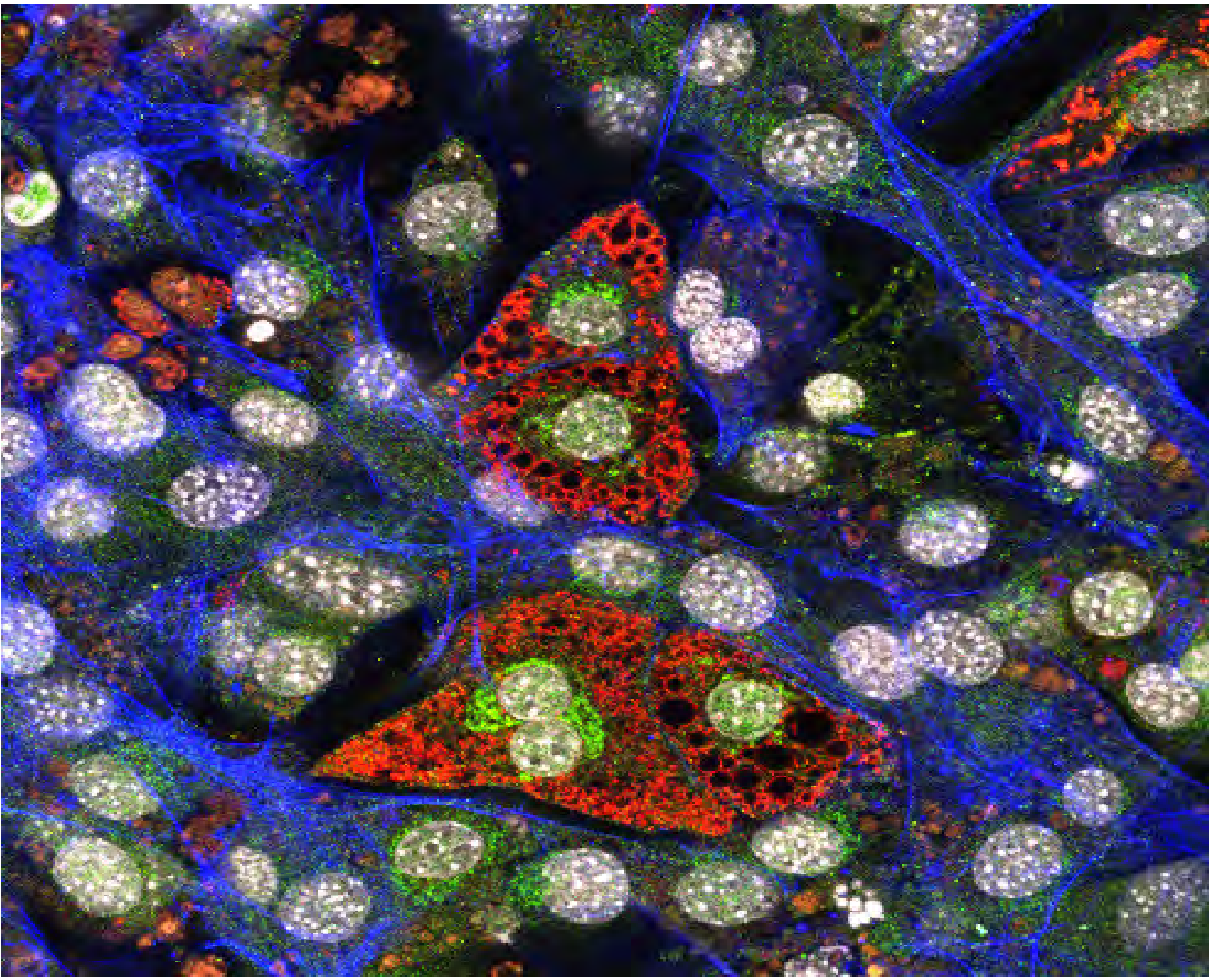
Además el servicio de cribado ha trabajado en la caracterización biológica (viabilidad celular, actividad antioxidante, etc.) de determinados componentes con potenciales aplicaciones en dermo-cosmética.

Publicaciones SSTT

1. Alfaro-Cervello C, **Soriano-Navarro M**, Cebrian-Silla A, Forteza-Vila J. Annulate Lamellae in a Desmoplastic Small Round Cell Tumor. *International Journal of Surgical Pathology* 2016;Oct; 24(7); 623-624.
2. Falcón R, Martinez a, Albert E, Madrid S, Oltra R, Giménez E, **Soriano-Navarro M**, Vinuesa V, Gozalbo D, Gil Ml, Navarro D. High vancomycin MICs within the susceptible range in Staphylococcus aureus bacteraemia isolates are associated with increased cell wall thickness and reduced intracellular killing by human phagocytes. *Int. J. Antimicrobial Agents*. 47 (5): 343-350 (2016)
3. Ardiaca M, Bennett MD, Montesinos A, Juan-Salles C, **Soriano-Navarro M**. Klossiella dulcis n. SP (Apicomplexa: Klossiellidae) in the kidneys of petaurus breviceps (Marsupialia: Petauridae). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2016; Jun; 47(2); 622-627.
4. García-Romero N, González-Tejedo C, Carrión-Navarro J, Esteban-Rubio S, Rackov G, Rodríguez-Fanjul V, Oliver-De La Cruz J, Prat-Acín R, Peris-Celda M, Blesa D, **Ramírez-Jiménez L**, Sánchez-Gómez P, Perona R, Escobedo-Lucea C, Belda-Iniesta C, Ayuso-Sacido A. Cancer stem cells from human glioblastoma resemble but do not mimic original tumors after in vitro passaging in serum-free media. *Oncotarget* 2016; Aug 29; 7(40):65888-65901.
5. Frasquet M, Chumillas MJ, Vílchez JJ, Márquez-Infante C, Palau F, Vázquez-Costa JF, **Lupo V**, Espinós C, Sevilla T. Phenotype and natural history of inherited neuropathies caused by HSJ1 c.325+1G⇢A mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016 Nov;87(11):1265-1268.

6. **Lupo V**, García-García F, Sancho P, Tello C, García-Romero M, Villarreal L, Alberti A, Sivera R, Dopazo J, Pascual-Pascual SI, Márquez-Infante C, Casasnovas C, Sevilla T, Espinós C. Assessment of targeted next generation sequencing as a tool for the diagnosis of Charcot-Marie-Tooth and hereditary motor neuropathy. *J Mol Diagn* 2016 Mar;18(2):225-34.
7. Sevilla T#, **Lupo V**#, Martínez-Rubio D, Sancho P, Sivera R, Chumillas MJ, García-Romero M, Pascual-Pascual SI, Muelas N, Dopazo J, Vílchez JJ, Palau F§, Espinós C§. Mutations in MORC2 gene cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 2016; Jan;139(Pt 1):62-72. (#,§These authors have contributed equally).
8. **Lupo V**, Darling A, Tello C, Perez-Dueñas B*, Espinós C*. (*These authors have contributed equally). The role of oxidative damage in neurodegeneration with brain iron accumulation disorders. *Reactive Oxygen Species Biology and Human Health*. Chapter 7, pp 93-102 (2016)
9. Munera-Maravilla E,Herreros-Pomares A, **Martinez-Romero A**, Tejedor S, Calabuig-Farinas S, Jantus-Lewintre E, Lucas R, Escorihuela E, Farras R, Camps C. Characterization of lung tumorspheres by gene expression and flow cytometry: differential expression in CSC-related markers and signaling pathways. Conferencia: AACR 107th Annual Meeting on Bioinformatics and Systems Biology Ubicación: New Orleans, APR 16-20, 2016. *Cancer Research* 2016; Jul; 76(14); 3354.
10. **Palomino-Schätzlein M**, Pineda-Lucena A. Metabolomic Applications to the Characterization of the Mode-of-Action of CDK Inhibitors. *Methods Mol Biol*. 2016, 1336, 211-23.

III OTRAS ACTIVIDADES



Colaboraciones Científicas

Acuerdos de colaboración o acuerdos marco

- Fundación INCLIVA
- CIBER
- Fundación Instituto Valenciano Oncología (Ivo)
- INDACEA
- Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud (FPS)
- Fundación Incliva, Hospital La Fe, Universidad de Valencia, Universidad Ceu San Pablo, CIBERER, Escuela valenciana de estudios en Salud Pública,CSIC, Hospital general de Valencia, Hospital Provincial de Castellón, FEDER.
- Universidad Castilla La Mancha
- Universidad de Valencia
- Universidad Católica De Valencia
- Universidad Politécnica de Valencia
- Asociación Española Contra El Cáncer

Se han firmado dos nuevos Convenios de Colaboración para la financiación de personal:

- Convenio de Colaboración entre el CIPF y la Fundación Bancaja para la convocatoria de una *"Ayuda a la Investigación Fundación Bancaja"* para jóvenes investigadores que realicen su actividad en dicho Centro.
- Acuerdo Marco entre Bankia y el IIS LA FE, CIPF, FISABIO E INCLIVA para el fomento de la formación profesional en los centros de investigación sanitarios de la CV.

Acuerdos para la ejecución de proyectos o acciones específicas

- Fundació Per Amor A L'Art
- Universidad Católica De Valencia
- Fundacion Instituto Valenciano De Oncologia (Fivo)
- Aitex
- Johnson & Johnson
- Biokit Research &Development S.L.U.
- Bruker España S.A.
- Johnson & Johnson
- Asociacion Apoyo Dravet
- Bayer
- Proteogenomics Research Institute For Systems Medicine (Prism)
- National University Of Ireland-Goeteborg Universitet- Vib-Protoqsar
- Universidad Norte Carolina
- french National Center For Scientific Research
- Pharming

Spin-offs

La creación de empresas spin-off de base tecnológica a partir de la actividad científica es uno de los principales mecanismos para aumentar la competitividad y la creación de riqueza y empleo. La estrategia de innovación del CIPF apoya y fomenta la creación y desarrollo de empresas spin-off, impulsados por su personal de investigación, desde la actividad científica en el centro.

Actualmente hay tres empresas vinculadas al CIPF:

Biobam Bioinformatics S.L.

Biobam desarrolla soluciones de software para la investigación biológica y las hace accesibles para la comunidad científica. En Biobam se supervisa cuidadosamente las necesidades del cliente, lo que impulsa a la mejora constante del valor de los productos y por lo tanto contribuye de manera efectiva a los avances en genómica. La misión de Biobam es transformar el proceso de análisis de datos complejos en una tarea atractiva e interactiva. BioBam se dedica a cerrar la brecha entre el trabajo experimental, el análisis de la bioinformática y la investigación aplicada.

Fundadores: Ana Conesa, Stefan Götz
Website: http://www.biobam.com/

Polypeptide Therapeutic Solutions S.L.

PTS se especializa en la síntesis a medida de poliaminoácidos bien definidos para los laboratorios de investigación de las industrias farmacéutica, cosmética y de biotecnología. PTS es el único proveedor en el mundo capaz de ofrecer la longitud exacta de las cadenas de PGA con consistencia entre diferentes lotes, dando a los investigadores nuevas opciones para el uso y resultados consistentemente reproducibles. PTS también ofrece una gama de productos Poli (L-ácido glutámico) (PGA) con funcionalidades terminales de la cadena C-terminal y una gama de modificaciones de la cadena que ofrece una amplia variedad de conjugaciones químicas con funcionalidad terapeutica, agentes de imagen y para la administración de fármacos

Funddores: Mª Jesús Vicent, Richard England
Website: http://polythers.com/index.html

FactorStem S.L.

FactorStem tiene el fiel compromiso de desarrollar y potenciar nuevas aplicaciones terapéuticas biológicas. De esta manera trabajamos en activa colaboración con los veterinarios, participando y contribuyendo en conjunto para avanzar en el posicionamiento de la medicina regenerativa en la praxis normal. El tratamiento FactorStem proporciona células mesenquimales autólogas derivadas de tejido adiposo para los trastornos musculoesqueléticos donde se requiere regeneración de hueso cartílago o tejido del tendón. Este tratamiento también es aplicable a heridas de difícil curación incluyendo úlceras de la córnea y diferentes enfermedades con un componente inflamatorio significativo.

Fundadores: Victoria Moreno-Manzano
Website: http

Actividades Formativas

En 2016, al igual que en años anteriores, el programa docente del CIPF ha permitido a estudiantes españoles de distintos niveles realizar o completar su formación en un entorno científico de excelencia: estudiantes predoctorales, estudiantes universitarios y estudiantes de Ciclo Medio y Superior de Formación Profesional de Institutos de Enseñanza Secundaria.

El CIPF también acoge estudiantes extranjeros de las becas ERASMUS. Se han firmado Convenios con diferentes Universidades Europeas con el fin de que sus estudiantes realicen estancias formativas en el CIPF financiadas por diferentes programas con el objeto de una proyección internacional que ello conlleva.

Convenios.

Convenios de colaboración para la realización de las prácticas formativas de los estudiantes universitarios:

- Universidad de Valencia
- Universidad Politécnica de Valencia
- Universidad Católica de Valencia
- University of Gent
- University of Luxembourg
- University of Rome tor Vergata
- Universidad Castilla la Mancha (UCLM)
- Uludag University
- Universidad de Lleida
- Universidad Jaume I
- Université de Lorraine
- Wageningen University

Conciertos de prácticas

Para la realización de estancias formativas de formación profesional:

- C.P. F.P. Juste
- C.P. Mascamarena
- Ciudad del Aprendiz
- Aula Campus
- C. I.P.F. MISLATA
- Institut Educació Secundaria El Cabanyal
- I.E.S. E. Tierno Galván
- Esclavas de María
- C.I. P. F. P. Batoi
- IES María Enriquez

Formación interna

Este año, aprovechando al máximo el crédito formativo del que disponemos, hemos realizado diferentes cursos 100 % bonificados por la Fundación Tripartita, que no han supuesto coste alguno para el CIPF. Estos han tenido mucha aceptación y un alto grado de participación entre el personal.

- Curso de Estadística con PSPP
- Cursos de inglés niveles intermediate y advanced
- Curso de valenciano nivel mitjà
- Curso de Gestión del tiempo y organización eficaz del trabajo
- Curso de Seguridad de Trabajos en altura
- Curso operador de plataformas elevadoras

Programas

El CIPF durante el 2016 ha llevado a cabo los siguientes programas de formación:

- **Programa Descubre 2016** (3ª edición): Este programa pretende acercar la investigación biomédica a los jóvenes, promocionando la carrera científica en Valencia, y así crear futuros investigadores de excelencia. En su segunda edición ha acogido a 12 estudiantes de bachillerato.
- **Predoctoral Research Program**: Con éste programa se pretende apoyar al investigador predoctoral en su programa de investigación en el Centro y darle acceso al desarrollo de nuevos conocimientos que le ayuden a su investigación actual y mejorar sus perspectivas de carrera.

Innovación y Transferencia Tecnológica

Cartera de patentes

Título	Referencia	Estado
Compuestos Beta-lactam que inhiben APAF1	P201231137	Patente española
Compuestos materiales para la aplicación Biomédica	P201231147	Patente española
Método para la detección de cáncer de vejiga	P200900373	Patente española
Conjugados novedosos de polímeros que tienen un agente terapéutico activo y unido a ello un fragmento dirigido a la angiogénesis y usos de los mismos en el tratamiento de enfermedades relacionados con la angiogénesis	WO/2009/141826	Solicitud en Fase nacional
Metodo Ex-vivo para el diagnóstico temprano de la Encefalopatía hepática mínima por la determinación de la 3-nitrotyrosine en suero	WO/2012/007624	Solicitud en Fase nacional
Derivados de la Triazine y sus usos como inhibidor de TRPV1	WO/2012/136873	Solicitud en Fase nacional
Conjugados de polimeros para el tratamiento de la Amyloidosis	Ep13382184	Patente Europoea
Nuevos compuestos triciclicos con sustitución bilateral para el tratamiento de la infección por virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y otras enfermedades	Pct/ Ep2014/053294	Solicitud PCT
Inhibidores especificos de mtor para el tratamiento de adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma x	Ep14382353	Patente Europoea

Programas Informáticos desarrollados por los grupos de investigación

Aplicación	Autores
1. VARIANT: Fast and accurate functional characterization of variants in VCF files.	Medina I, De Maria A, Bleda M, Salavert F, Alonso R, Gonzalez CY, Dopazo J.
2. CellBase: RESTful Web Services for retrieving releant biological information	Bleda M, Tarraga J, de Maria A, Salavert F, Garcia-Alonso L, Celma M, Martin A, Dopazo J, Medina I.
3. GenomeMaps: higly efficient nex generation genome viewer (used by the ICGC)	Medina I Salavert F Sanchez R de Maria A Alonso R Escobar P Bleda M Dopazo J
4. BiERapp: Variant/gene prioritization tool (from VCF to candidates)	Alemán A, García García F, Salavert F, Dopazo J.
5. TEAM: Targeted enrichment sequencing (panels) diagnostic tool	Alemán A, García García F, Dopazo J.
6. RENATO: Inferring the regulatory network behind a gene expression experiment	Bleda M, Medina I, Alonso R, De Maria A, Salavert F, Dopazo J.
7. Snow: Network enrichment of a set of genes	Minguez P, Gotz S, Montaner D, Al-Shahrour F, Dopazo J.
8. Network Miner: Network enrichment analysis of a ranked list of genes	García-Alonso L, Alonso R, Vidal E, Amadoz A, de María A, Minguez P, Medina I, Dopazo J.
9. PATHiWays: Pathway analysis Inferring the functional effect of gene expression changes in signaling pathways	Sebastian-Leon P, Amadoz A, Salavert F, Dopazo J.
10. Babelomics Packages A program suite for advanced functional genomic data analysis	Al-Shahrour F, Tárraga J, Dopazo J.
11. Blast2GO : functional annotation	Conesa A, Götz S
12. Paintomics: genomics visualization	Conesa A, García-Alcalde F, García F, Hernández R.
13. Qualimap: QC of mapped NGS data	Conesa A, García-Alcalde F, Carbonell J, Tarazona S, Okonechnik K.
14. maSigPro and SEA: time series analysis	Nueda MJ, Tarazona S, Conesa A, Ferrer A.
15. ASCA-genes: gene expression analysis	Nueda MJ, Conesa A, Ferrer A, Smilde A, Westernhuis J.
16. SEA and NOIseq: RNA-seq analysis	Nueda MJ, Conesa A, Carbonell J.
17. minAS: gene expression analysis	Tarazona S, Conesa A, Ferrer A.
18. Noiseq	Tarazona S, Conesa A, Ferrer A.
19. HPG Aligner an ultrafast and highly sensitive Next-Generation Sequencing (NGS) read mapping	Tarraga J, Dopazo J.

Captación de Recursos

Subvenciones a proyectos de investigación

Horizonte 2020

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal
Proyecto Colaborativo	Exploiting Protein Complexes that induce Cell-death	Mar Orzaez
Proyecto Colaborativo	Fast-track ELIXIR implementation and drive early user explotation across the life-sciences	Joaquín Dopazo
Proyecto Colaborativo	MyNano: Towards the design of Personalised Polymer-based Combiantion Nanomedicines for Advanced Stage Breast Cancer Patients	Mª Jesús Vicent

7º Programa Marco

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal
Proyecto Colaborativo	Eurocondor	Deborah J Burks
Proyecto Colaborativo	MLPM2012— Machine Learning for Personalized Medicine	Joaquín Dopazo
Proyecto Colaborativo	Denamic	Vicente Felipo
Proyecto Colaborativo	SMARTCARE Joining up ICT and service processes for management	Oscar D. Sánchez,
Programa de intercambio internacional	612583 DEANN	Ana Conesa

Instituto de Salud Carlos III

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal
Redes de Investigación	Red de Trastornos Adictivos	Consuelo Guerri
Centros de Investigación Biomedica	CIBERER	Joaquín Dopazo, Erwin Knecht
Centros de Investigación Biomedica	CIBERDEM	Luke Noon
Centros de Investigación Biomedica	CIBERDEM	Deborah J. Burks

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal
Proyectos de Investigación en salud	Plataforma de recursos biomoleculares y bionformáticos	Joaquín Dopazo
Proyectos de Investigación en salud	Plataforma de recursos Biomoleculares y Bioinformaticos	Slaven Erceg
Proyectos de Investigación en salud (FIS)	Caracterizacion molecular me rutas de señalizacion oncogénicas en células madre tumorales de cáncer de pulmón no microcítico. Implicación en el desarrollo de nuevas estratégia terapéuticas	Rosa Farrás
Proyectos de Investigación en salud (FIS)	Estudio preclínico de terapia celular con progenitores neurales derivados de hESC e ihPSC combinado con modulación de astroglia en tratamiento de lesiones medulares	Slaven Erceg
Proyectos de Investigación en salud (FIS)	Investigación traslacional y mecanismos de enfermedad en neuropatías periféricas hereditarias	Carmen Espinós
Proyectos de Investigación en salud (FIS)	Avanzar en el diagnóstico, la prognosis y la terapia de enfermedades neurodegenerativas raras	Carmen Espinós
Proyectos de Investigación en salud (FIS)	Desarrollo de un estrategia para la prevención miocárdica del daño inducido por reperfusión basada en el uso de catéteres y polímeros teraéuticos de nueva generación Premicat	Mª Jesús Vicent

Ministerio de Económia y Competitividad

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal
Proyectos de Investigación fundamental no orientada(BFU)	Estudio de la relación entre las distintas etapas del proceso de expresión génica	Susana Rodríguez-Navarro
Proyectos de Investigación fundamental no orientada(BFU)	Modificacion de tRNAs bacterianos y mitocondriales: funciones biológicas e implicaciones patólogicas	Mª Eugenia Armengod
Proyectos de Investigación fundamental no orientada(BIO)	Nuevas estrategias para el descubrimiento de dianas moleculares y diseño de nuevas aproximaciones terapéuticas contra el cáncer y otras enfermedades basadas en la biología de sistemas	Joaquín Dopazo
Proyectos de Investigación fundamental no orientada (SAF)	Bases moleculares de las alteraciones neurológicas (cognitivas y motoras) en hiperamonemia y encefalopatía heptática. Implicaciones terapéuticas	Vicente Felipo
Proyectos de Investigación fundamental no orientada (SAF)	Buscando una terapia para la epilepsia mioclónica progresiva de Lafora	Erwin Knecht
Proyectos de Investigación fundamental no orientada (SAF)	El interactoma de los dominios transmembrana de las proteinas BCL-2 como diana antitumoral	Mar Orzáez

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal proyecto
Proyectos de Investigación fundamental no orientada (SAF)	Polímeros Terapéuticos como Agentes Simples y en Combinación para el Tratamiento de Cáncer y Neurodegeneración	Mª Jesús Vicent
Acciones complementarias	La vida del mRNA desde la transcripción a la degración	Susana Rodríguez-Navarro
Proyectos de Investigación fundamental no orientada	Nuevos métodos para los retos emergentes en el análisis de datos de secuenciación masiva	Ana Conesa
Proyectos de Investigación fundamental no orientada	Biohibridos para la promoción del crecimiento axonal y la regeneración en el sitema nervioso central y periférico	Victoria Moreno
Proyectos de Investigación fundamental no orientada	MicroRNAs como biomarcadroes en la neuroinflamacion asociada al abuso de alchohol: implicaciones diagnósticas y terapéuticas	Consuelo Guerri

Ministerio de Sanidad

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal proyecto
Plan nacional de drogas	Biomarcadores de neuroinflamación asociados al consumo de alchohol en adolescentes y nuevas terapias para paliar la neuroinflamación	Consuelo Guerri

Consejería de Educación GVA

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal proyecto
Programa Prometeo para potenciar a los grupos de I+D Excelentes	Bases Moleculares de las alteraciones neurológicas (cognitivas y motoras) en hiperamonemia y encefalopatía hepática. Implicaciones terapéuticas	Vicente Felipo
Programa Prometeo para potenciar a los grupos de I+D Excelentes	The next systems biology: desarrollo de métodos estadísticos para la biología de sistemas multiómica	Ana Conesa
Programa Prometeo para potenciar a los grupos de I+D Excelentes	Modelado de la función biológica para su aplicación al estudio de mecanismos de enfermedad y de acción de fármacos así como su uso en el diseño de terapias racionales	Joaquín Dopazo
Programa para el desarrollo I+D en grupos Emergentes	El cebado mitocondrial como herramienta para desarrollar una medicina personalizada contra el cáncer de endometrio	Mar Orzáez

Consejería de Sanidad GVA

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal proyecto
Ayudas para impulsar la participación en los programas de investigación de la Unión Europea en el área de salud para los ejercicios 2014-2015	Plan de acción para el impulso de la participación en H2020	Oscar D. Sánchez

Consejería de Industria GVA

Tipo de subvención	Proyecto	Investigador Principal proyecto
Ayudas al Fomento del Emprendimiento Cientifico	Programa Banco de Patentes	Oscar D. Sánchez

Fundaciones y otras Entidades Privadas

Entidad	Proyecto	Investigador Principal
European Foundation for Alcohol Research	Is the neuroinmune response involved in the neurot	Consuelo Guerri
Fundación Ramón Areces	Caracterización de MORC2, nexo de unión de neuropatías hereditarias sensitivo-motoras	Carmen Espinós
Fundación La Marato TV3	Implementation of Personalized Medicine in cutaneo	Joaquín Dopazo
Fundación La Marato TV3	Dissecting protein trafficking in retinal neurodegeneration by super-resolution imaging on animal models and human iPSCs	Slaven Erceg
Fundación La Marato TV3	Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation: Clinical Assessment and Genetic Characterization by means of a Spanish Multi-Centre Research Network	Carmen Espinós
Wings for Life Spinal Cord Reserach Foundation	Modulation of reactive astrocytes upon cell transp	Slaven Erceg
Federación española de Urologia	Ingenieria tisular vesical basada en la recelularización de una matriz acelular vesical alogénica con células madre mesenquimales adultas de tejido adiposo	Victoria Moreno-Manzano
Fundación IVO	PROMIse	Mª Jesús Vicent
F. Ataxie Chaerlevoix-Saguenay	Cerebellar cells derived from induced pluripotent stem cells in 3D culture generated from ARSACS patients as faithful disease model	Slaven Erceg
AFM	Metabolic and functional characterization of clinically relevant Charcot-Marie-Tooth genotypes in a Drosophila model	Ibo Galindo, Antonio Pineda

Entidad	Proyecto	Investigador Principal
Fundación per Amor a l´Art - Wilson	Avanzar en el diagnóstico, la prognosis de la enfermedad de Wilson	Carmen Espinós
Bayer Grants4targets	Pharmacological screening for phagocytosis in Retinal pigment epithelium cells derived from patients with Retinitis Pigmentosa	Slaven Erceg
INDACEA	Medicina de precisión en sindrome de Dravet	Ibo Galindo

Contratos de investigación

Proyecto	Entidad	Investigador Principal
Contrato de investigación	CGB Lytimval Biotech, S.L.	Mª Jesús Vicent
Research contract	Gunenthal	Victoria Moreno-Manzano
Subcontratación	Univ. Florida	Ana Conesa
Contrato de investigación	Fibrostatin	Deborah Burks
Contrato de investigación	P. Piloto Navarra	Joaquín Dopazo
Contrato de investigación	BIONOS	Erwin Knecht
Contrato de investigación	BIONOS	Deborah Burks

Subvenciones para la Contratación de Personal

Ministerio de Económia y Competitividad

Tipo de subvención	Destinatario	Investigador Principal
Ayudas para la Contratación de Personal Técnico de apoyo	David Charbonier	Mª Jesús Vicent
Ayudas para la Contratación de Personal Técnico de apoyo	Nerea Marín Izquierdo	Viviana Bisbal
Formación personal investigador	Raquel García García	Vicente Felipo
Formación personal investigador	Marcos Lahuerta	Erwin Knecht
Formación personal investigador	Paula Oliete	Susana Rodríguez-Navarro
Formación personal investigador	Sonia Ruiz	Mª Jesús Vicent

Ministerio de Educación

Tipo de subvención	Destinatario	Investigador Principal
Formación profesorado universitario	Lorena de la Fuente	Ana Conesa
Formación profesorado universitario	Lucas Taoro	Vicente Felipo
Formación profesorado universitario	José Miguel Pardo	Rosa Farrás
Formación profesorado universitario	Paula Sancho Salmeron	Carmen Espinós
Formación profesorado universitario	Joan Serrano	Susana Rodríguez-Navarro

Instituto de Salud Carlos III

Tipo de subvención	Destinatario	Convocatoria
Programa de incorporación de personal investigador al Sistema Nacional de Salud	Carmen Espinós	Miguel Servet
Programa de incorporación de personal investigador al Sistema Nacional de Salud	Slaven Erceg	Miguel Servet

Consejeria de Educación (GVA)

Tipo de subvención	Destinatario	Investigador Principal
Ayudas para la contratación de personal investigador	Rachid Boutual	Mª Eugenia Armengod
Ayudas para la contratación de personal investigador	Tiziano Balzano	Vicente Felipo
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase predoctoral	Belén Gómez	Vicente Felipo
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase predoctoral	Jorge Montesinos	Consuelo Guerri
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase predoctoral	Manuel Martin Exposito	Susana Rodriguez-Navarro
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase predoctoral	Paula Sancho	Carmen Espinós
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase postdoctoral	Inmaculada Conejos	Mª Jesús Vicent
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase postdoctoral	José Miguel Pardo	Rosa Farrás
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase postdoctoral	Beatriz Pérez	Rosa Farrás
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase postdoctoral	Estefanía Lucendo	Mar Orzáez

Tipo de subvención	Destinatario	Investigador Principal
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase postdoctoral	Fátima Manzano	Luke Noon
Ayudas para la contratación de personal investigador en formación en fase postdoctoral	Irene Dolz Pérez	Mª Jesús Vicent

Subvenciones a la movilidad

Ministerio de Económia y Competitividad

Tipo de subvención	Destinatario	Investigador Principal
Estancias de Formación de personal investigador (FPI)	Marcos Lahuerta	Erwin Knecht

Ministerio de Educación

Tipo de subvención	Destinatario	Investigador Principal
Estancias de Formación de personal investigador (FPU)	Lucas Taoro	Vicente Felipo

Consejería de Educación (GVA)

Tipo de subvención	Destinatario	Investigador Principal
Ayuda complementaria estancias de movilidad en el extranjero (BEST)	Mª Eugenia Gas	Susana Rodríguez-Navarro

IV CIFRAS Y DATOS

Personal

Gráfico 1: Personal CIPF 2016

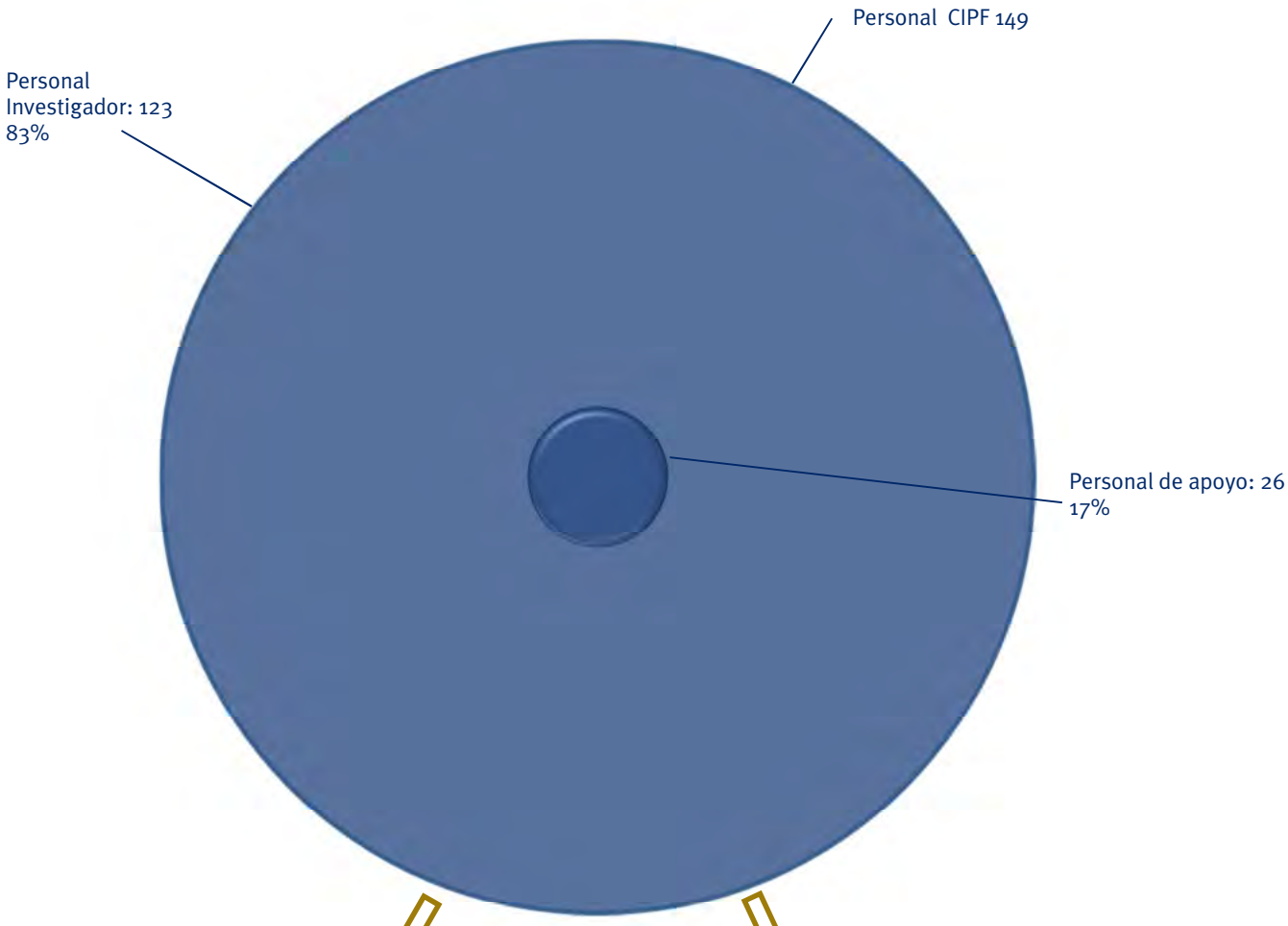


Gráfico 2: Distribución por género

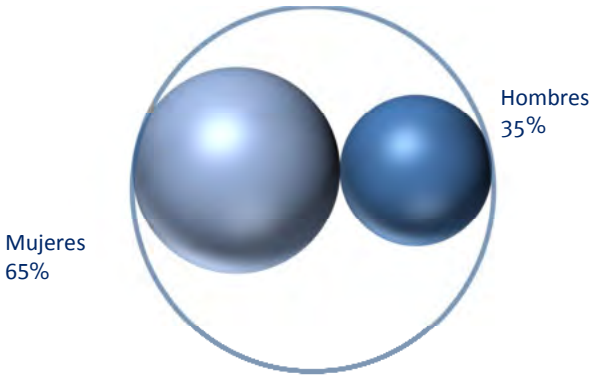


Gráfico 3: Distribución por edades

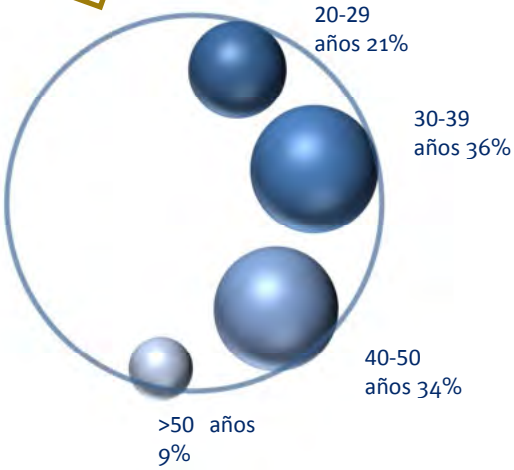


Tabla 1: Personal Investigador y de apoyo

	Nº	%
Personal Investigador	73	49%
Personal Técnico	50	34%
Personal de apoyo	26	17%
Total	149	100,0%

Tabla 2: Distribución del personal por género

	Nº	%
Hombres	52	35%
Mujeres	97	65%
Total	**149**	

Tabla 3: Distribución del personal por edades

Categoría	<29	30-39	40-50	>50	Total
Investigadores	22	24	21	6	73
Técnicos	10	21	15	4	50
Personal de apoyo		9	14	3	26
Total	**32**	**54**	**50**	**13**	**149**

Tabla 4: Personal por tipo de contratación

	Nº	%
Plantilla Indefinida	70	47%
Personal vinculado a Proyectos	79	53%
Total	**149**	**100,0%**

Gráfico 4 Personal según contrato

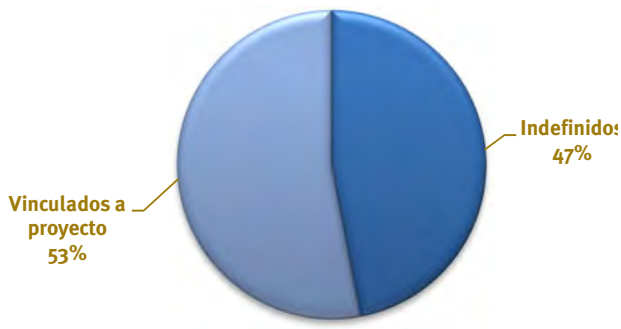
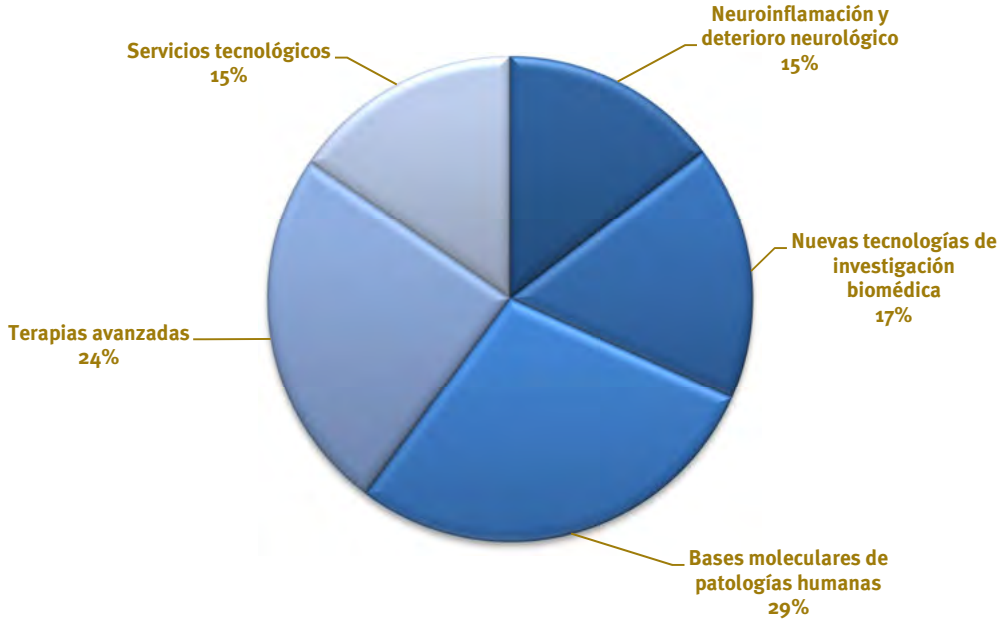


Tabla 5: Personal investigador en los programas y en la plataforma tecnológica

	nº	%
Neuroinflamación y deterioro neurológico	**18**	**14,6%**
Investigadores	12	
Técnicos	6	
Nuevas tecnologías de investigación biomédica	**21**	**17,1%**
Investigadores	10	
Técnicos	11	
Bases moleculares de patologías humanas	**35**	**28,5%**
Investigadores	28	
Técnicos	7	
Terapias avanzadas	**30**	**24,4%**
Investigadores	20	
Técnicos	10	
Servicios tecnológicos	**19**	**15,4%**
Técnicos	19	
Total	**123**	**100%**

Gráfico 5 Personal de los programas y de los servicios tecnológicos



Origen y Aplicación de Fondos

Tabla 6: Ingresos 2016

Fuente	Importe
Conselleria Sanitat Universal i Salut Pública -Subv. Funcionamiento	4.400.000
Fondos Competitivos Nacionales - MINECO	747.508
Fondos Competitivos Nacionales - ISCIII	557.298
Fondos Competitivos Nacionales - Mº EDUCACIÓN	75.955
Fondos Competitivos Nacionales - Mº SANIDAD	21.608
Fondos competitivos Europeos e internacionales	450.106
Fondos Competitivos - Conselleria d'Educació	313.311
Fondos Competitivos - Conselleria de Sanitat Universal i Salut Pública	12.910
Fondos Competitivos - Conselleria d'Economia	4.096
Contratos y Convenios Privados	544.678
Servicios Tecnológicos	207.883
Donaciones	25.543
Otros Ingresos	478.665
Total	**7.839.562**

Tabla 7: Nuevos Proyectos y Contratos 2016

Entidad	Nº Proyectos iniciados en 2016
Internacionales	**3**
Comisión Europea	1
Privados	2
Nacionales Públicos	**13**
Ministerio de Economía	5
Ministerio de Educación	5
Instituto de Salud Carlos III	3
Nacionales Privados	**3**
Regionales	**10**
Conselleria d´Educació	8
Conselleria de Sanitat Universal i S. P.	1
Conselleria d´Economia Sostenible	1
Contratos	**5**
Total	**34**

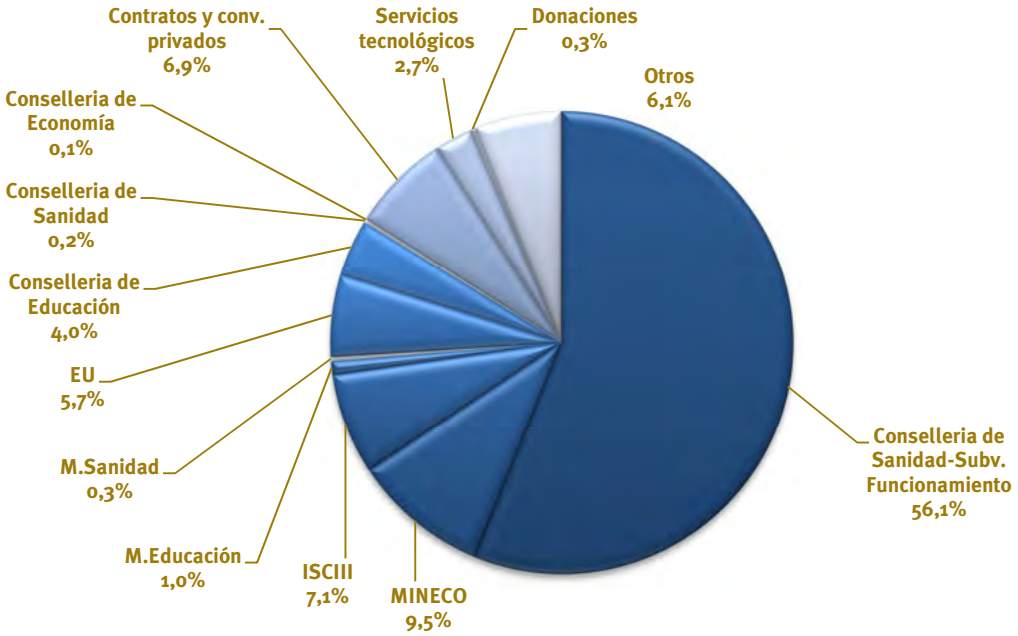


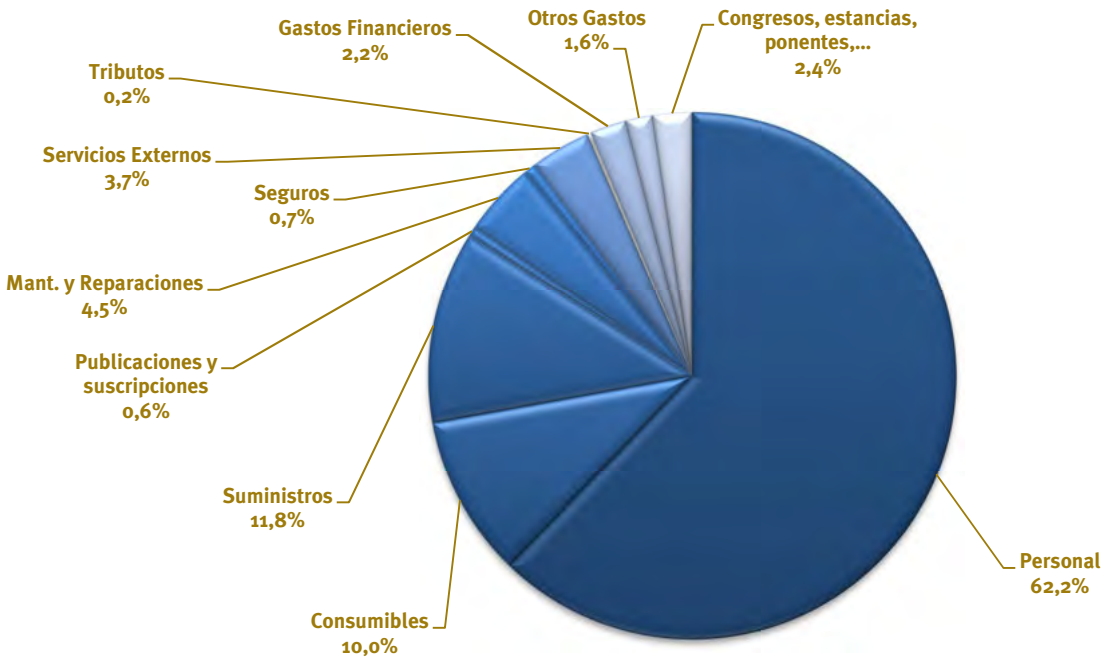
Tabla 8: Proyectos activos 2016

Entidad	Proyectos activos en 2016
Internacionales	**11**
Comisión Europea	8
Privados	3
Nacionales Públicos	**39**
Ministerio de Economía	19
Ministerio de Educación	6
Ministerio de Sanidad	1
Instituto de Salud Carlos III	13
Nacionales Privados	**12**
Regionales	**19**
Conselleria d´Educació	17
Conselleria de Sanitat Universal i S. P.	1
Conselleria d´Economia Sostenible	1
Contratos	**6**
Total	**87**

Tabla 9: Distribución del gasto 2016

Fuente	% Aplicación
Personal	62,2%
Consumibles	10,0%
Suministros (Energía, Limpieza, Seguridad,...)	11,8%
Publicaciones y suscripciones	0,6%
Mantenimiento y Reparaciones	4,5%
Seguros	0,7%
Servicios Externos	3,7%
Tributos	0,2%
Gastos Financieros	2,2%
Otros Gastos	1,6%
Desplazamientos, congresos, estancias, ponentes,...	2,4%
	100%

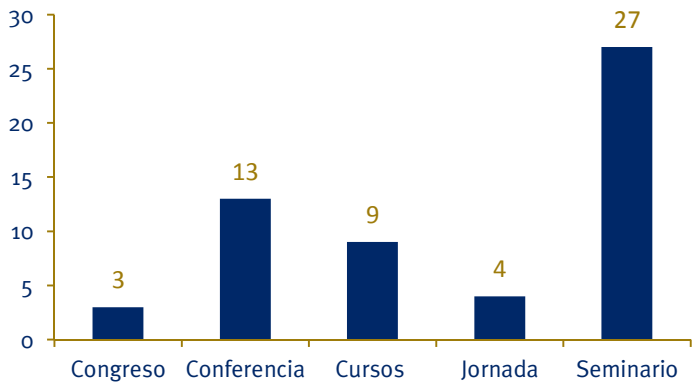
Gráfico 7: Distribución del gasto



Eventos

Eventos	Nº
Congreso	3
Conferencias FBR	13
Cursos	9
Jornadas	4
Seminarios CIPF	27
Total	**56**

Gráfico 8 Distribución de las actividades científicas en el CIPF



Tesis

Título de Tesis	Doctorando	Director de Tesis	Institución
Caenorhabditis elegans como organismo modelo para estudiar enfermedades mitocondriales asociadas a defectos en la modificación del tRNA	Carmen Navarro González	Dra. Mª Eugenia Armengod	Universidad Politécnica de Valencia
Identificación y caracterización de elementos reguladores de la expresión de SUS1 y nuevas funciones celulares para la proteína Sus1 en Saccharomyces cerevisiae	Bernardo Cuenca Bono	Dra. Susana Rodríguez-Navarro	Universidad Politécnica de Valencia
Síntesis asimétrica de carbo- y heterociclos benzofusionados	Rubén Lázaro Fañanás	Dr. Santos Fustero	Universidad de Valencia
Naturaleza dinámica de MnmG. Una flavoenzima ancestral modificadora de tRNAs bacterianos y mitocondriales	Rafael Ruiz Partida	Dra. Mª Eugenia Armengod	Universidad de Valencia
Bases genéticas y celulares de neuropatías periféricas hereditarias	Eduardo Calpena	Dra. Carmen Espinós y Dr. Francesc Palau	Universidad de Valencia
Métodos de análisis de enriquecimiento funcional en estudios genómicos	Francisco García García	Dr. Joaquín Dopazo y Dr. David Montaner	Universidad de Valencia
El papel de los receptores TLR y el inflamasoma en el daño que induce el etanol en el cerebro	Juan R. Ureña Peralta	Dra. Consuelo Guerri	Universidad de Valencia
Alteraciones del ritmo del sueño en modelos animales de encefalopatía hepática	Nicolás Peñaranda Sarmiento	Dra. Carmina Montoliu, Dr. Vicente Felipo y Dra. María Ángeles Lloret	Universidad de Valencia

Publicaciones

Tabla 10: Publicaciones CIPF

	Nº Pub.
Artículos Indexados JCR	104
Artículos No Indexados JCR	1
Libros y capítulos de libro	5

Tabla 11: Artículos en revistas indexadas por programas JCR

Programa	Nº Pub.
Bases Moleculares de patologías Humanas	17
Neuroinflamación y Deterioro neurológico	22
Nuevas tecnologías de investigación biomédica	37
Terapias avanzadas	24
Servicios tecnológicos	4
	104

Tabla 12: Publicaciones CIPF JCR

	Nº Pub.
Artículos 1º Cuartil	79%
Factor impacto	541

Tabla 13: Artículos en revistas indexadas en JCR por grupo

Bases moleculares de patologías humanas	**21**
Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras.	4
Genética y Genómica de Enfermedades Neuromusculares.	5
Genética y Medicina Molecular.	1
Expresión Génica y Metabolismo de RNA.	1
Modificación del RNA y Enfermedades Mitocondriales	1
Neuroendocrinología Molecular.	5
Señalización Oncogénica	1
Unidad Mixta Patología Molecular e Investigación Traslacional en Oncología CIPF-UCV	3
Neuroinflamación y deterioro neurológico	**22**
Neurobiología	13
Patología Celular y Molecular del Alcohol	9
Nuevas tecnologías de investigación biomédica	**39**
Genómica Computacional.	26
Genómica de la Expresión Génica.	8
Unidad mixta Metabolómica CIPF-IIS La fe	5

Terapias avanzadas	**28**
Polímeros Terapéuticos.	5
Química de Péptidos y Proteínas.	2
Regeneración tisular y neuronal.	5
Terapias con células madre en enfermedades neurodegenerativa.	3
Unidad Mixta Moléculas Orgánicas CIPF-UV.	12
Unidad Mixta Reparación Cardiovascular CIPF-IIS La fe.	1
Total publicaciones grupos de Investigación *	**110**
Publicaciones Servicios tecnológicos	**7**
Total publicaciones *	**117**

(*)En algunas publicaciones participan varios grupos de investigación por lo que el total por laboratorios difiere del total del centro

Gráfico 9: Publicaciones por grupo de investigación 2016

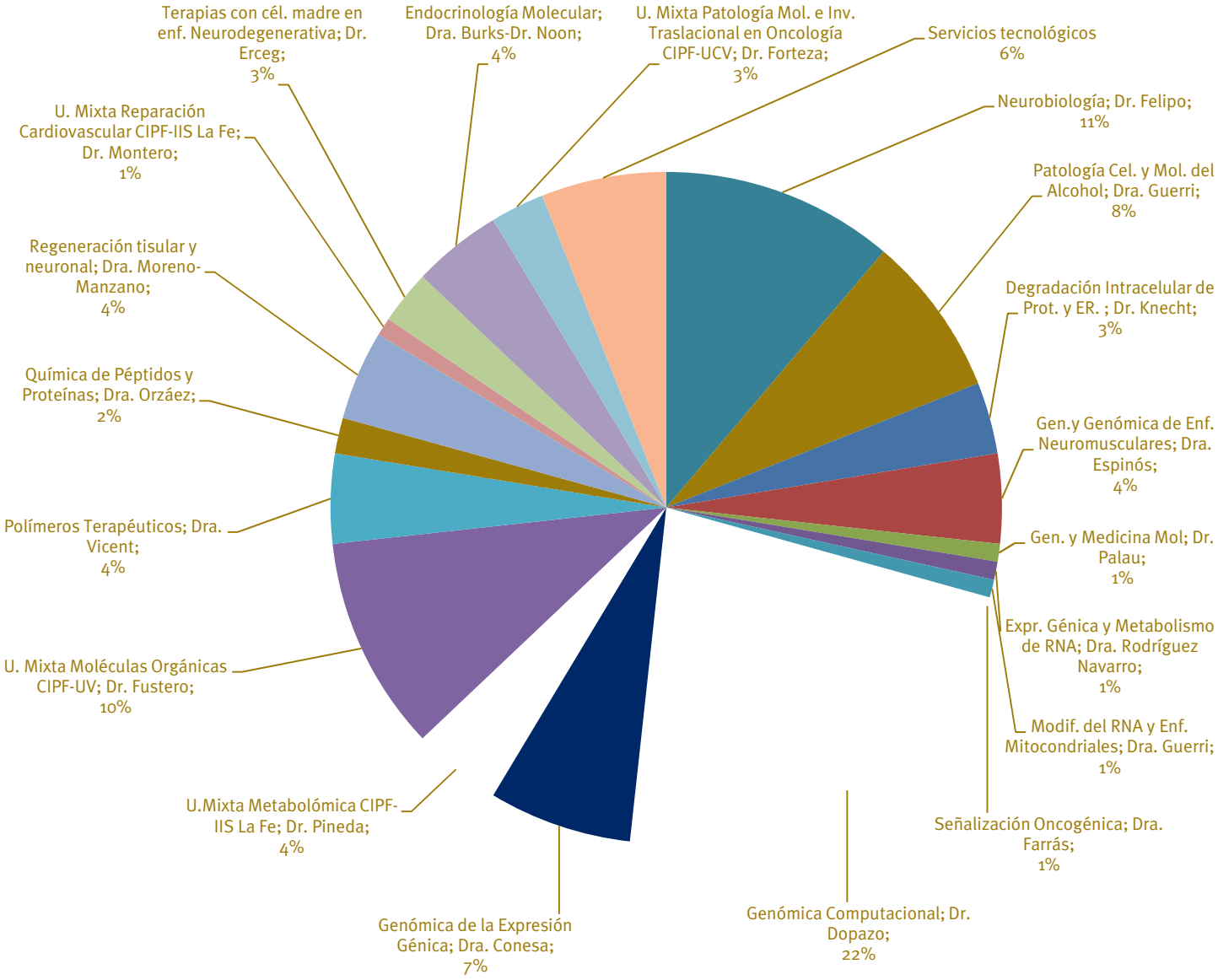
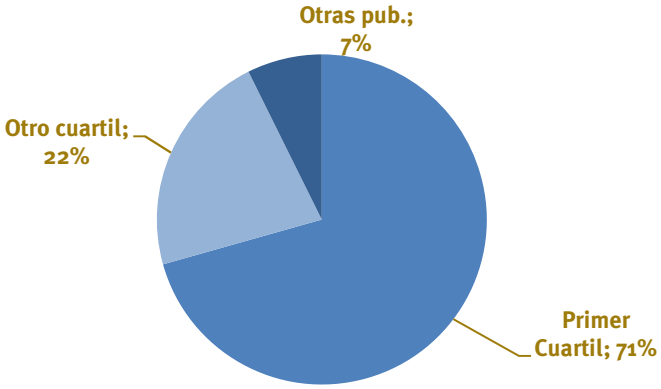


Tabla 13: Publicaciones por cuartil periodo 2012-2016

	Nº	%
Primer Cuartil	359	71%
Otro cuartil	114	22%
Otras publicaciones	36	7%
	509	



PRINCIPE FELIPE
CENTRO DE INVESTIGACION

MEMORIA ANUAL 2016

CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRINCIPE FELIPE

C/ Eduardo Primo Yúfera 3

Valencia 46012

España

www.cipf.es