



Nombre: NOGUEIRAS POZO, RUBEN

Referencia: RYC-2008-02219

Area: Fisiología y Farmacología

Número de orden: 1 Correo electrónico: runopo@usc.es

**Título:**

Efectos Centrales de Glucagon-like peptide (GLP-1) sobre el Metabolismo de Lípidos y Glucosa

**Resumen de la Memoria:**

El Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) es un péptido sintetizado en el intestino y derivado de la molécula precursora proglucagón. GLP-1 tiene un potente efecto estimulador sobre la secreción de insulina y disminuye la ingesta en roedores y humanos; razón por la que GLP-1 es actualmente estudiado como una posible diana para el tratamiento del síndrome metabólico. Sin embargo, se desconoce si el sistema central de GLP-1 ejerce una acción directa sobre el metabolismo de lípidos o la homeostasis de la glucosa. Estudios recientes indican que: a) GLP-1 activa el sistema central de melanocortinas (Ma et al, J Neuroscience 27: 7125-9, 2007), el circuito cerebral regulador de la ingesta más potente. b) Nuestro grupo ha demostrado que además de sus efectos sobre la ingesta, el sistema central de melanocortinas regula directamente el metabolismo de lípidos periféricos y la homeostasis de la glucosa. Es importante señalar que estos resultados tienen una relevancia clínica clara (Nogueiras et al, J Clinical Investigation 117: 3475-88, 2007). Además, poseemos resultados preliminares que indican: • El sistema central de melanocortinas regula el metabolismo de lípidos en el hipotálamo. • La administración central de GLP-1 disminuye el peso corporal y la síntesis de lípidos en tejidos periféricos independientemente de su efecto anorexigénico y estas acciones parecen estar mediadas por el sistema nervioso simpático, ya que la administración central de GLP-1 en ratones con alteraciones genéticas en el sistema nervioso simpático no altera el metabolismo de lípidos en tejidos periféricos. Basándose en estos resultados, el solicitante plantea las siguientes hipótesis: 1) El sistema de melanocortinas podría mediar las acciones centrales de GLP-1 sobre el peso corporal, el metabolismo de lípidos y la homeostasis de la glucosa. 2) Tanto el sistema central de GLP-1 como el de melanocortinas pueden regular el metabolismo de diferentes tejidos que son cruciales para la homeostasis energética. El objetivo principal de este proyecto es investigar si el sistema central de GLP-1 tiene potencial para convertirse en un candidato para el tratamiento de la obesidad y/o la diabetes. Estudiaremos el efecto de GLP-1 en diferentes modelos de obesidad animal tales como la obesidad inducida por la dieta, obesidad inducida por sobre-nutrición neonatal y modelos genéticos obesos. Para conocer tanto las acciones biológicas como los mecanismos moleculares que median las acciones de GLP-1, realizaremos un moderno y potente abordaje experimental basado en la utilización de metodologías de alto rendimiento para el fenotipado metabólico. Entre las técnicas más destacadas se encuentra el sistema de calorimetría indirecta que nos permitirá cuantificar no solo la ingesta sino también el gasto energético, la actividad locomotora y el cociente respiratorio; clamps hiperinsulinémicos-euglicémicos para el estudio de la homeostasis de la glucosa y la sensibilidad a la insulina, sistemas de estudio de composición corporal y el uso de animales modificados genéticamente (GLP-1 knockout, triple knockout para los receptores  $\beta$ -adrenérgicos).

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Actividades anteriores • Licenciado en Ciencias Biológicas (especialidad Biología Molecular) por la Universidad de Santiago de Compostela (2/9/1999). • Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad de Santiago de Compostela (19/12/2003). Premio Extraordinario de Doctorado. • Estancia predoctoral en el Rowett Research Institute, Escocia, Reino Unido (12 meses: desde 1/2/2003 hasta 31/1/2004). • Investigador posdoctoral contratado por la Universidad de Santiago de Compostela (13 meses: 1/2/2004 hasta 29/2/2005) • Estancia posdoctoral en el German Institute of Human Nutrition, Potsdam, Alemania (20 meses: desde 1/3/2005 hasta 28/2/2006). • Estancia posdoctoral en University of Geneva, Ginebra, Suiza (6 meses: desde 1/11/2006 hasta 30/4/2007) • Estancia posdoctoral en University of Cincinnati, Cincinnati, USA (10 meses: desde 1/5/2007 hasta el momento actual) Producción científica • 38 artículos en revistas internacionales de investigación (17 de ellos como primer autor y dos como autor de correspondencia). • Número de citas: 545 (fuente ISI Web of Science) • Índice H: 14 (fuente ISI Web of Science) • 5 capítulos de libros. Ponente invitado en 9 ocasiones (8 veces en congresos o instituciones de ámbito internacional). • Más de 50 comunicaciones a congresos de ámbito nacional e internacional. Premios • Premio Extraordinario de Doctorado de la Universidad de Santiago de Compostela. • Young Travel Investigator Award, 12th International Congress of Endocrinology. Lisbon, Portugal, 2004. • 2º Premio en "1ª Edición Premios Sergio Vidal de Investigación", recibido por Complejo Hospitalario, Universidad de Santiago de Compostela, Enero 2005. • Premio Roche Farma sobre aspectos de Investigación Básica en Obesidad, recibido por la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición. Madrid, Mayo 2005. Revisor de las siguientes revistas 1. Diabetologia 2. Endocrinology 3. American Journal of Physiology Endocrinology Obesity Facts Evaluador de proyectos de los siguientes organismos • Prader Willi Syndrome Foundation Técnicas de laboratorio manejadas • Técnicas in vivo: fenotipado de animales modificados genéticamente, manipulación y cirugía en animales de laboratorio: canulación intra-cerebro-ventricular, tratamientos a nivel periférico (bombas mini-osmóticas, inyección subcutánea, inyección intraperitoneal), adrenalectomía, gonadectomía, clamp hiperinsulinémico-euglicémico, sistema de calorimetría indirecta, sistema de análisis de composición corporal, sistema de análisis termogénico. • Técnicas de Biología Molecular: clonaje, subclonaje, Northern blot, Southern blot, Western blot, Hibridación in situ, Inmunohistoquímica, Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), Real-Time PCR, Ensayos enzimáticos, Radioinmunoensayo (RIA), determinación de metabolitos. • Manipulación de Isótopos Radiactivos (35S, 32P, 125I)



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2008**

**Nombre:** SAUZEAU , VINCENT

**Referencia:** RYC-2008-03708

**Area:** Fisiología y Farmacología

**Número de orden:** 2      **Correo electrónico:** vsauzeau@usal.es

**Título:**

Papel de las GTPasas de la familia Rho/Rac y de sus proteínas reguladoras en el sistema cardiovascular y en procesos fisiopatológicas.

**Resumen de la Memoria:**

Mientras mucho se sabe sobre la predisposición de factores exógenos a la hipertensión y la enfermedad cardiovascular, hay todavía poca información disponible en cuanto a los eventos genéticos y las rutas de señalización implicados. Pocos genes asociados a la progresión de estas patologías han sido descubiertos a pesar de la investigación intensiva tanto en modelos animales como en poblaciones humanas. La GTPasa RhoA y uno de sus principales efectores, la serina/treonina quinasa Rock, han sido reconocidas como principales reguladores de funciones cardiovasculares y como participantes en la patofisiología de un número de desórdenes cardiovasculares. Mis trabajos como Ph.D and post-doctoral han demostrado que cambios en la actividad y/o niveles de expresión de RhoA están asociados con varias patologías vasculares tales como la hipertensión pulmonar y la hipertensión sistémica. Estos resultados indican que un entendimiento más profundo del rol de las rutas Rho/Rac en el sistema cardiovascular asegurará beneficios para combatir las múltiples disfunciones del sistema cardiovascular en países desarrollados. Para conseguir esta meta enfocaré mi trabajo a corto y largo plazo al análisis de las rutas dependientes de Rho/Rac a nivel señalización y genético en el sistema cardiovascular. Para conseguir estos objetivos, las líneas de investigación de principal interés son:- análisis de las rutas de transducción de señal Rho/Rac en las células del músculo liso vascular utilizando métodos de pérdida de función (a través de la expresión de mutantes dominantes negativos y siARNs) y de ganancia de función;- celómica para identificar nuevos reguladores de la contractilidad de las células del músculo liso vascular;- análisis genético del rol de las rutas dependientes de Rho/Rac en la función cardiovascular y la enfermedad cardiovascular. Estos estudios nos permitirán demostrar in vitro e in vivo el papel de estas proteínas en procesos cardiovasculares y en la patofisiología de enfermedades cardiovasculares. Esta línea de investigación nos permitirá identificar nuevos marcadores asociados a tales disfunciones y diseñar nuevas estrategias de drogas anti-hipertensión.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Mi carrera científica comenzó en el laboratorio del Dr. P. Pacaud (Inserm U533, Nantes, France), un grupo de investigación que trabaja en la identificación de los papeles de la GTPasa RhoA en el sistema cardiovascular. Para contribuir a la comprensión de las funciones de RhoA en el sistema cardiovascular, me concentré inicialmente en el estudio de las relaciones que podrían existir entre RhoA y la ruta de señalización activada por el óxido nítrico (NO). Mi trabajo ha demostrado que la ruta de señalización NO/PKG induce la fosforilación y por consecuencia la inactivación de RhoA. La fosforilación de RhoA induce vasodilatación y una desorganización del citoesqueleto. Además, mis datos muestran que otros parámetros fisiológicos dependientes de RhoA están también inhibidos por la activación de la ruta NO/PKG. Además de esta regulación post traduccional, hemos visto que la ruta NO/PKG puede modular RhoA incrementando el nivel de expresión de esta GTPasa. Mis datos indican que esta regulación de la GTPasa RhoA tiene un papel crucial en la fisiología de las arterias pulmonares y en el desarrollo de estados patológicos vinculados a defectos en procesos tales como hipertensión pulmonar (12 publicaciones y 1 revisión). Al final de mi tesis y para seguir en el campo de la GTPasas, decidí unirme al laboratorio del Dr. XR Bustelo en el Centro de Investigación del Cáncer (Salamanca). Mi principal trabajo durante este período ha sido la caracterización fenotípica de ratones que no expresan proteínas de la familia Vav (Vav2 y Vav3). Además hemos identificado anomalías que están descritas como consecuencias de la hipertensión: fibrosis renal y cardíaca, disfunción renal. La caracterización fisiológica de estos animales revela también que el fenotipo es debido a un incremento de la actividad del sistema nervioso simpático. Demostramos que esto induce una estimulación del sistema renina/angiotensina II, responsable del aumento en la presión arterial. La pérdida de Vav2 y Vav3 induce defectos cardiovasculares como hipertensión, taquicardia, hipertrofia cardíaca del ventrículo izquierdo, y cambio en la estructura de las arterias. Hemos publicado estos resultados en 2006 y 2007 en la revista Nature Medicine y Mol. Biol. Cell. Hicimos dos patentes con estos ratones como un nuevo modelo experimental de hipertensión para probar nuevos fármacos. Además de mi propio trabajo sobre animales Vav knockout, hemos estado colaborando con el laboratorio del Dr. Barbacid (CNIO, Madrid, España) en la caracterización de defectos cardiovasculares presentes en modelos murinos para el síndrome de Costello (CS). Los resultados de esta colaboración, de los cuales soy un principal contribuyente, están ahora en su segundo ciclo de revisión en J.Clin.Invest.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2008**

**Nombre:** MEDINA GOMEZ, MARIA GEMA

**Referencia:** RYC-2008-02068

**Area:** Fisiología y Farmacología

**Número de orden:** 3      **Correo electrónico:** mgm28@cam.ac.uk

**Título:**

Nuevos mecanismos moleculares de glucolipototoxicidad involucrados en la disfunción de la célula beta pancreática en diabetes tipo 2.

**Resumen de la Memoria:**

Mi investigación ha considerado la obesidad desde un prisma predominantemente adipocéntrico como el factor de riesgo inicial en el desarrollo de los diferentes trastornos del Síndrome Metabólico en pacientes obesos. Por ello considero que la obesidad es un factor clave en el desarrollo de la resistencia insulínica, diabetes tipo 2, hiperlipidemia e hipertensión. La realidad epidemiológica de que la prevalencia de obesidad esta aumentando a pesar de las campanas de publicidad y los programas de tratamiento de la obesidad, sugiere que debemos priorizar el tratamiento de las complicaciones de la obesidad. Por ello urge el tener un conocimiento claro de estos mecanismos para identificar dianas terapéuticas apropiadas para prevenir la aparición de las complicaciones asociadas a obesidad. En mi laboratorio, utilizando modelos de ratón genéticamente modificados, hemos identificado conceptos fundamentales sobre el papel fisiológico de un factor de transcripción, el PPAR $\gamma$ 2 en la expansión del tejido adiposo como un factor determinante de las complicaciones metabólicas asociadas a obesidad. La diabetes tipo 2 (DMT2) se presenta típicamente en pacientes obesos, y es un síndrome de naturaleza poligénica que se desarrolla cuando la secreción insulínica no es suficiente para mantener la homeostasis glucémica en el contexto de resistencia insulínica. Cuando la demanda sobre la célula beta en estados de resistencia a la insulina se prolonga en el tiempo puede conducir a disfunción de la célula beta y por consiguiente a la aparición de hiperglucemia o DMT2. Bajo condiciones de obesidad y comportamiento sedentario, puede producirse el fenómeno conocido como lipototoxicidad. La lipototoxicidad se produce por un exceso de especies lipídicas reactivas que se acumulan en tejidos diferentes al tejido adiposo como la célula beta. Mi hipótesis de trabajo es que la lipototoxicidad combinada con hiperglucemia, fenómeno conocido como glucolipototoxicidad puede deteriorar la función de las células beta disminuyendo de forma primaria la masa las células beta en el páncreas conduciendo al desarrollo de DMT2. Este proyecto es una continuación lógica de mi investigación durante mi entrenamiento postdoctoral y se focaliza en la caracterización de un nuevo modelo murino que desarrolla resistencia a la insulina a la edad temprana de 4 semanas y desarrolla una pérdida completa de célula beta a la edad de 16 semanas. El objetivo de mi investigación es utilizar este modelo animal como modelo de resistencia a la insulina y disfunción acelerada de célula beta en el contexto de glucolipototoxicidad, para identificar y caracterizar nuevos mecanismos moleculares patogénicos de la disfunción de la célula beta inducido en estadios tempranos de glucolipototoxicidad. La metodología para llevar a cabo este proyecto, utilizare una doble aproximación basada en hipótesis específicas relacionadas con la disfunción y en un moderno y potente abordaje experimental basado en la utilización de metodologías de alto rendimiento para el fenotipado metabólico en islotos, utilizando análisis de lipidómica y transcriptómica. Esta línea de investigación combina un conjunto de preguntas conducidas por hipótesis bien definidas con una aproximación ambiciosa y nueva de biología de sistemas que ofrece una gran oportunidad de descubrir mecanismos nuevos en la patología de la célula beta.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Dra. María Gema Medina Gómez. Licenciada en Farmacia (especialidad Farmacia Sanitaria) por la Universidad Complutense de Madrid (06/1995). Doctorada en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid (22/06/2001). Becaria predoctoral de Formación de Personal Investigador FPI del Ministerio de Educación en el Instituto de Investigaciones Biomédicas-Alberto Sols de Madrid (1997-2001). Estancia predoctoral en el departamento Clinical Biochemistry department en la Universidad of Cambridge (3 meses en 1999).-Actualmente Research Associate en el centro Institute of Metabolic Science-Metabolic Research Laboratories de la Universidad de Cambridge (desde 23/07/2001). Líneas de investigación centradas en la identificación de factores reguladores del balance energético con especial interés en los mecanismos de expansión del tejido adiposo asociados a estados de obesidad y resistencia insulínica, así como en los mecanismos moleculares que controlan el gasto energético. Mas específicamente, mis proyectos han proporcionado importantes descubrimientos sobre el papel tóxico de los lípidos en el proceso de resistencia insulínica, también conocido como lipototoxicidad. Línea de investigación actual focalizada en la identificación de mecanismos patogénicos asociados con fracaso de la célula beta pancreática característico de la diabetes tipo 2, financiada a través del programa "Integrative Physiology programme" de la Wellcome Trust y del proyecto europeo FP6-HEPADIP (Hepatic and Adipose Tissue and function in the Metabolic Síndrome). Experiencia tecnológica. Abarca técnicas de generación y caracterización fenotípica de ratones manipulados genéticamente, utilizando equipamiento sofisticado de fenotipado in vivo (CLAMS) y mas específicas en endocrinología (GTT, ITT, CLAMPS euglicémicos-hiperinsulinémicos); y técnicas ex vivo como técnicas de histología, técnicas clásicas de biología molecular, técnicas de bioquímica, transcriptómica, técnicas de lipidómica, metabolómica y el análisis bioinformático de los datos asociados a dichas plataformas. Publicaciones y distinciones: 20 publicaciones entre artículos y revisiones en revistas de investigación (12 de ellos como primer autor). Dichos artículos y revisiones han sido publicados en revistas de ámbito generalista, entre las que destacan Nature Medicine, PLoS Medicine, PLoS Biolog, PloS Genetics, J Biol Chem y Proc Natl Acad Sci, revistas en los campos de la Endocrinología y Obesidad entre las que destacan Diabetes y Am J Physiol Endocrinol Metab y así como en los campos de "Biología de sistemas" como BMC Systems Biology. - 2 capítulos de libros.- 14 comunicaciones a Congresos de ámbito nacional e internacional y he sido ponente invitado en 5 ocasiones en seminarios y Congresos en España.- Colaboraciones activas con investigadores en USA, Finlandia, Suecia, Francia e Italia. Premio al artículo en Investigación Básica en Obesidad de ABBOTT de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN) en 2005.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

## SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL CONVOCATORIA 2008

**Nombre:** CONSIGLIO, ANTONELLA

**Referencia:** RYC-2008-02772

**Area:** Fisiología y Farmacología

**Número de orden:** 4      **Correo electrónico:** aconsiglio@cmrb.eu

**Título:**

Caracterización y movilización de células madre neurales adultas para inducir la regeneración celular en enfermedades neurodegenerativas

**Resumen de la Memoria:**

Las propiedades de las células progenitoras neurales / células madre neurales (CMNs) en el cerebro adulto las hacen potencialmente útiles en estrategias de reemplazamiento celular, así como vehículos para la introducción de correcciones genéticas. El tratamiento de enfermedades que afectan el sistema nervioso central (SNC) ha avanzado enormemente gracias a la identificación de genes específicos, cuyo defecto o ausencia es responsable de una condición patológica particular, y genes que controlan la diferenciación de las células precursoras. Hasta ahora, la terapia celular experimental usada en trastornos del SNC se ha basado en el trasplante de CMNs modificadas genéticamente in vitro. El desarrollo y migración habitual in vivo de las CMNs están controlados por el microambiente presente en las regiones neurogénicas del cerebro. Debido a que las condiciones de cultivo influyen fuertemente en el fenotipo celular, el cultivo puede alterar considerablemente el comportamiento fisiológico de las células reintroducidas in vivo. Además, generalmente las aproximaciones ex vivo presentan el inconveniente que las condiciones microambientales en el lugar de implante pueden ser no neurogénicas. Se deberían combinar estrategias ex vivo y manipulaciones para que se dé la neurogénesis en el lugar de trasplante. El objetivo que se persigue en este proyecto de investigación es desarrollar un enfoque multidisciplinar para reemplazar neuronas perdidas debido a una enfermedad o lesión. La estrategia que se pretende utilizar debe combinar técnicas de modificación genética in vivo, usando vectores lentivirales de última generación para la activación de genes concretos, con trasplantes y modificaciones genéticas encaminadas a alterar las propiedades de las CMNs o nicho neural. Estos experimentos permitirán ensayar las diferencias en el comportamiento de CMNs (incluyendo proliferación, migración y diferenciación) entre regiones neurogénicas y no neurogénicas del cerebro y cómo determinados cambios en este comportamiento están asociados con la vejez y la neurodegeneración. Además, utilizando diversas técnicas, expresión regulada exógenamente, trasplante, introducción de siRNA mediante lentivirus, cuya introducción puede ser constitutiva, condicional o autoescisiva, se investigará in vivo la función de varios genes candidatos, hecho que dará lugar a la amplificación selectiva de células transducidas, forzadas a diferenciarse hacia unos linajes celulares concretos o a migrar hacia la zona afectada por la enfermedad. Este estudio permitirá identificar parte de las múltiples señales responsables de la división de precursores endógenos, su diferenciación, su recorrido y su supervivencia en algunas regiones del cerebro, así como validar la posibilidad de manipular precursores neurales y su posterior uso para la repoblación terapéutica neuronal con la finalidad de tratar diferentes patologías degenerativas que afectan al SNC.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Durante mi estancia predoctoral en el laboratorio de Terapia Génica, del Hospital San Raffaele de Milán dirigido por el Prof. C. Bordignon, participé en diversos proyectos de investigación centrados en la exploración de nuevas estrategias de terapia génica para trastornos neurodegenerativos. En concreto, utilicé vectores lentivirales para corregir alteraciones neurológicas in vivo en un modelo murino de leucodistrofia metacromática. Con estos estudios describimos que la inyección única de vectores lentivirales que expresan el gen de la arilsulfatasa A en el parénquima cerebral de ratones modelo de leucodistrofia metacromática induce la expresión a largo plazo de enzima activa, revierte el fenotipo patológico y proporciona protección permanente frente a la enfermedad. Los hallazgos más inesperados de este estudio fueron la extensión en la producción de la enzima encontrada en la zona de inyección y la consiguiente corrección del fenotipo anormal de las áreas controlaterales del cerebro. Una hipótesis postulada para explicar este fenómeno fue que la progenie de células madre neurales corregida por el vector lentiviral migrase a áreas afectadas, donde proporcionaría protección contra la enfermedad. Mi creciente interés por profundizar mis conocimientos en el campo del potencial terapéutico de las células madre neurales para el tratamiento de enfermedades neurológicas, me llevó a hacer una estancia de 3 años y 3 meses en el Laboratorio de Genética del Salk Institute, La Jolla, CA, liderado por el Prof. F.H. Gage. En esta etapa, investigué la identidad y comportamiento de las células madre neurales y su capacidad de auto-renovación a largo plazo en el cerebro adulto in vivo. Para ello, apliqué vectores lentivirales de promotor específico para analizar el seguimiento de líneas celulares de la progenie de células madre neuronales in vivo, proporcionando por lo tanto, la primera evidencia experimental de su auto-renovación a largo plazo así como de su capacidad multipotente de diferenciarse en cerebros adultos in vivo. Asimismo, durante mi estudios postdoctorales trabajé ampliamente con el mantenimiento y cultivo de células madre embrionarias humanas así como en la diferenciación a progenitores neurales. Un total de 16 publicaciones en revistas internacionales de alto índice de impacto en el campo de la Terapia Génica e de la Neurociencia, de las que soy autora y colaboradora y 22 presentaciones en congresos nacionales e internacionales, avalan mi trayectoria científica. Desde mi vuelta del Salk Institute, hace dos años, he trabajado en el CMRB, con un contrato para Investigadores del Sistema Nacional de Salud, que lleva asociado un proyecto del que soy Investigadora Principal. En este trabajo me he centrado en: 1. Desarrollo de vectores lentivirales capaces de targetear células madre neurales in vivo; 2. Evaluar su posible utilidad para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas; 3. Evaluar los mecanismos patogénicos y la aplicación de la terapia génica e celulares para la leucodistrofia de células globoides e la enfermedad de Parkinson. La Memoria de la Actividad de Investigación que aquí presento pretende continuar e profundizar no solamente las vías moleculares de señalización de las células madre neurales, sino también contribuir a la terapia de las enfermedades neurodegenerativas a través del reclutamiento de las células madre neurales endógenas para el reemplazo de las células dañadas.



**Nombre:** BERAZA AGUILAR, NAIARA

**Referencia:** RYC-2008-02347

**Area:** Fisiología y Farmacología

**Número de orden:** 5 **Correo electrónico:** naiarab@yahoo.com

**Título:**

Caracterización del desarrollo tumoral en ratones MAT1A-KO

**Resumen de la Memoria:**

El metabolismo de la metionina implica la síntesis de S-adenosilmetionina (SAmE) y la transferencia del grupo metilo a un gran número de sustratos. La metionina adenosiltransferasa (MAT) es la enzima que convierte metionina y ATP a SAmE y está codificada por MAT1A en el hígado adulto. SAmE regula la proliferación, muerte del hepatocito y la respuesta inflamatoria y antioxidante. Ratones knockout (KO) de MAT1A (MAT1A-KO) presentan una deficiencia crónica en SAmE y desarrollan espontáneamente esteatohepatitis (NASH) y hepatocarcinoma (HCC). Se desconocen los mecanismos que promueven la formación de HCC en MAT1A-KO, por esto la línea celular cancerosa R1, aislada a partir de los tumores de ratones MAT1A-KO representa un potente instrumento para el mejor entendimiento de los mecanismos moleculares que derivan en el desarrollo de HCC. La línea R1 presenta elevada expresión de p53 no mutado (WT) y de MDM2. P53 se activa en respuesta al estrés promoviendo la parada del ciclo celular, la apoptosis o la senescencia celular. El objetivo principal de mi proyecto será caracterizar esta línea celular tumoral (R1) para entender mejor el desarrollo tumoral de hígado en ratones MAT1A-KO y extrapolar estos conocimientos al desarrollo de HCC en humanos. Para alcanzar este objetivo (1)-Llevaré a cabo análisis transcriptómico de la línea tumoral R1 mediante microarrays Agilent para identificar los genes candidatos implicados en el desarrollo tumoral in vivo. El tratamiento de líneas celulares de HCC con SAmE inhibe el crecimiento celular e induce apoptosis. Por lo tanto (2)-caracterizaré la respuesta apoptótica en células R1 a la exposición a UV y SAmE. Estudiaré la activación de las rutas apoptóticas intrínseca e intrínseca y la inhibición selectivamente diferentes Caspasas para elucidar la implicación del complejo TNF/Fas (que activa NF-kB) y del estrés oxidativo. En este contexto investigaré (3)- los efectos de UV y SAmE en la fosforilación de p53 en células R1 comparándolas con hepatocitos WT. Este análisis es de especial relevancia ya que la fosforilación puede afectar la interacción de p53 con MDM2. MDM2 regula negativamente a p53 mediante su unión directa o por ubiquitinación. Sin embargo, a pesar de que las células R1 presentan altos niveles de MDM2, p53 no aparece degradado. Por ello, investigaré (4)-la relación de MDM2 y p53 en las células R1 durante el tratamiento con UV o SAmE; su interacción (immunoprecipitando MDM2 y p53 en núcleos o citoplasmas aislados de las R1), localización celular (mediante microscopía confocal) y la fosforilación de estas proteínas además del análisis de quinasas y fosfatasa implicadas en la respuesta de las células R1 al tratamiento con UV y SAmE. Tras esto, estudiaré las consecuencias de la inhibición de estas quinasas durante la apoptosis inducida por UV y SAmE. Durante el estrés celular la fosforilación de p53 altera su conformación e interacción con MDM2 y otros factores de transcripción modificando su actividad sin requerir la mutación de p53. Esto podría explicar que el mal funcionamiento de p53 en las células R1 no esta asociado a su mutación. Por último, (6)- estudiaré la tumorigenidad in vivo de las células R1 inyectándolas a ratones nude donde aplicaremos los conocimientos adquiridos por la caracterización in vitro de las R1 para atenuar la propagación de los tumores derivados de estas células.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Me licencié en CCBiológicas (1998) y en Bioquímica (1999) en la U. de Navarra. Mientras cursaba Bioquímica trabajé en el departamento de medicina interna en esta universidad. Este trabajo rindió un artículo (Herraiz, Beraza. Human Gene Therapy 2003). En 1999 empecé mi tesis doctoral durante la que trabajé en el campo de la terapia génica investigando el papel de cardiotrofina-1 en modelos de daño agudo y regeneración hepática. Estos trabajos fueron publicados en revistas de prestigio como Gastroenterology (Beraza, 2003) y Hepatology (Beraza, 2005) además de ser seleccionadas en congresos de hepatología (AASLD, EASL y AEEH; 2001-2004). Tras defender mi tesis doctoral, inicié mi post-doc en el departamento de gastroenterología, hepatología y endocrinología del MHH (Hannover, Alemania) dirigido por el Dr. MP Manns y bajo la supervisión del Dr. C. Trautwein. La elección de este grupo está justificada dado el prestigio de ambos en el área de hepatología. Mi estancia fue financiada por una beca postdoctoral del Gobierno Vasco. Al año de llegar a Hannover, el Dr. Trautwein asumió la dirección del departamento de medicina interna en el University Hospital Aachen, con lo que trasladamos el laboratorio a dicha ciudad. Este traslado me permitió adquirir una mayor experiencia ya que el Dr. Trautwein me hizo responsable de uno de sus laboratorios donde superviso una tesis doctoral. Una vez mi beca finalizó, el Dr. Trautwein me ofreció un contrato laboral incluido en la red SFB542 de la fundación alemana para la investigación (DFG). Durante mi postdoc he tenido la oportunidad de establecer importantes colaboraciones con grupos de prestigio como (M.Pasparakis (Alemania), T.Roskams (Bélgica), G.Gores (EEUU), o M.Müller (Holanda)). Mi trabajo postdoctoral se ha centrado en definir el papel de las subunidades del complejo IKK (IKK2 y NEMO) en diversas situaciones de daño agudo así como durante la regeneración hepática o la progresión de NASH utilizando ratones Knockout. El descubrimiento del fenotipo espontáneo en ratones deficientes en NEMO nos valió la publicación en la revista de gran impacto Cancer Cell (Luedde, Beraza. 2007). Estos ratones son también especialmente sensibles al daño agudo provocado por la isquemia/reperusión del hígado (Beraza. Gastroenterology 2007). Mi investigación sobre la implicación de IKK2 durante el desarrollo de NASH ha producido una patente (Beraza. Merck-Serono 2007) además de una publicación en Gut (Beraza et al. 2008, en prensa). El estudio de IKK2 durante la regeneración hepática será publicado en Hepatology (Malato et al. 2008 en prensa) donde mantengo la última autoría al formar parte de la tesis doctoral que superviso. Además he presentado mis trabajos como comunicaciones orales en varios congresos de hepatología (AASLD, EASL; 2005-2007). Paralelamente, he participado en otros trabajos (Dierssen, Beraza et al. JBC 2008) además de escribir revisiones y comentarios en revistas (Beraza, Hepatology 2007; Wasmuth, Drug Discovery Today, 2007; Luedde, J Gastroenter Hep 2006). También he de apuntar que soy revisora de artículos en las revistas Hepatology, Journal of Hepatology y Liver internacional. En resumen, mi trayectoria científica corrobora mi capacidad para abrir nuevas líneas de investigación así como para realizar diversos proyectos de investigación y paralelamente supervisar una tesis doctoral.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2008**

**Nombre:** GARCIA ALLOZA, MONICA

**Referencia:** RYC-2008-02333

**Area:** Fisiología y Farmacología

**Número de orden:** 6      **Correo electrónico:** mogarcia3344@yahoo.es

**Título:**

Mecanismos de eliminación de beta-amiloide en la enfermedad de Alzheimer

**Resumen de la Memoria:**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es uno de los aspectos más devastadores asociados a la edad, y en la actualidad afecta a más de 5 millones de europeos y a más de 18 millones de personas en todo el mundo. Aunque la implicación exacta de los depósitos beta-amiloide (BA) en la enfermedad es desconocida, las placas seniles (PS), compuestas principalmente por BA, continúan siendo la principal diana terapéutica en la EA. En la actualidad la EA no tiene tratamiento exitoso, por lo que retrasar o prevenir la progresión de la enfermedad es un reto para los profesionales que tratan la demencia. En este trabajo planteamos dos proyectos estrechamente relacionados con el tratamiento de la EA. 1) Hasta la fecha la terapia inmune anti-beta-amiloide parece prometedora en la eliminación de BA, sin embargo los procesos inflamatorios asociados limitan su utilidad en enfermos de Alzheimer, tal y como quedara de manifiesto en el estudio ELAN. De ahí que conocer el mecanismo implicado en la eliminación de BA y la función de la microglía resulta especialmente interesante. Estudiaremos anticuerpos con afinidad por diferentes epitopos de BA y seleccionaremos aquellos más eficaces para la eliminación de BA. Exploraremos la implicación directa de la microglía utilizando diferentes herramientas inhibitoras y activadoras, y determinaremos el efecto de la terapia inmune en estas condiciones. Siguiendo esta línea exploraremos la implicación de la respuesta inmune celular en la eliminación de BA. Teniendo en cuenta la asociación de astrocitos y placas senile también exploraremos el efecto de las terapias en los astrocitos y en la morfología y funcionalidad neuronal. 2) El estrés oxidativo parece jugar un papel relevante en la neurotoxicidad asociada a BA. Por tanto planteamos un estudio in vitro de screening de compuestos antioxidantes. Posteriormente estudiaremos in vivo, en ratones transgénicos, el efecto de aquellos compuestos más prometedores sobre las PS, niveles de BA 1-40 y 1-42 soluble e insoluble, anormal curvatura de las dendritas localizadas en la proximidad de las PS, terminales sinápticas y pruebas de aprendizaje y memoria. De este modo pretendemos explorar nuevas alternativas terapéuticas en la EA así como estudiar los mecanismos implicados y el papel de la microglía en la eliminación de BA.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Formación académica - 2002. Doctorado en Farmacia Premio Extraordinario de Doctorado Dept. Farmacología. Universidad de Navarra Experiencia profesional- 2007- . Instructor/Assistant en Neurología (Faculty) Dept. Neurología. Massachusetts General Hospital. Harvard University. Boston (USA)- 2004-2007. Investigadora postdoctoral Dept. Neurología. Massachusetts General Hospital. Harvard University. Boston (USA)- 1998-2004. Ayudante Codirección de proyecto Máster de "I+D+i de Medicamentos" Clases teóricas y prácticas de Farmacología de la licenciatura de Farmacia y del Máster "I+D+i Medicamentos". Dept. Farmacología. Universidad de Navarra- 2000. Estancia investigación Dept. Neurofarmacología Bioquímica. King's College, London (U.K) Becas y Ayudas- 2007- . American Heart Association Award-Bugher Foundation- 2006-2007. Investigación postdoctoral Fundación Caja Madrid- 2004-2006. Investigación postdoctoral. MEC- 2000-2004. Investigación predoctoral. Fondo de Investigación Sanitaria. ISCIII- 1998. Introducción a la Investigación. CSIC- 1997. ERASMUS Publicaciones más relevantes Meyer-Luehmann M, Spiess-Jones TL, Prada C, Garcia-Alloza M et al. Rapid appearance of amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. Nature 2008; 451:720-724. Shin HK, Jones PB, Garcia-Alloza M et al. Age-dependent cerebrovascular dysfunction in a transgenic mouse model of cerebral amyloid angiopathy. Brain 2007; 130:2310-9. Prada C, Garcia-Alloza M, Zhang-Nunes SX, et al. (2007) Antibody-mediated clearance of A $\beta$  from Cerebral Amyloid Angiopathy revealed by quantitative in vivo imaging. J Neurosci. 27(8):1973-80 Robbins EM, Betensky RA, Domnitz SB, Garcia-Alloza M et al. (2006) Kinetics of cerebral amyloid angiopathy progression in a transgenic mouse model of Alzheimer's Disease. J. Neurosci. 26(2):365-71 Como primer autor Garcia-Alloza M et al. A limited role for microglia in antibody mediated plaque clearance in APP mice. Neurobiol Dis. 2007; 28(3):286-92 Garcia-Alloza M et al. Curcumin labels amyloid pathology in vivo, disrupts existing plaques, and partially restores distorted neurites in an Alzheimer mouse model. J. Neurochem. (en prensa) Garcia-Alloza M et al. Characterization of amyloid deposition in the APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>de9</sup> mouse model of AD. Neurobiol Dis. 24(3):516-24 Garcia-Alloza M et al. (2006). Plaque-derived oxidative stress mediates distorted neurite trajectories in Alzheimer mouse model. J Neuropath Exp Neurol 65(11):1082-9 Garcia-Alloza M et al. Effect of selective cholinergic denervation on the serotonergic system: implications for learning and memory. J neuropath Exp Neurol 65(11):1074-81 Garcia-Alloza M et al. (2006). Involvement of the GABAergic system in cognitive and behavioral symptoms of Alzheimer's disease. Neurobiol. Aging 27: 1110-1117 Garcia-Alloza M, Bacskaí BJ. (2004) Techniques for brain imaging in vivo. Neuromolecular Medicine 6(1):65-78 Garcia-Alloza M et al. (2004) Cholinergic-serotonergic imbalance contributes to cognitive and behavioral symptoms in Alzheimer's disease. Neuropsychologia 43(3):442-9 Garcia-Alloza M et al. (2004) Differential involvement of 5-HT1B/D and 5-HT6 in cognitive and non-cognitive symptoms in Alzheimer's disease. Neuropsychopharmacology. 2004. 29, 410-416 Garcia-Alloza M et al. In vivo imaging of reactive oxygen species (ROS) associated with amyloid plaques. Neurodegenerative Disorder



Nombre: **LOPEZ GIMENEZ, JUAN FRANCISCO**

Referencia: RYC-2008-02125

Area: Fisiología y Farmacología

Número de orden: 7 Correo electrónico: j.lopez-gimenez@bio.gla.ac.uk

**Título:**

Farmacología molecular de receptores acoplados a proteínas G

**Resumen de la Memoria:**

El genoma humano codifica más de 3.000 receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) que se expresan en diferentes órganos y tejidos encontrándose implicados en numerosos procesos fisiológicos. Por tanto los GPCRs son una de las dianas terapéuticas más importantes para muchas enfermedades, como trastornos neuropsiquiátricos, cardiovasculares y patologías inmunológicas. En la actualidad, prácticamente la mitad de los fármacos empleados actúan sobre los GPCRs. El estudio de los GPCRs desde un punto de vista molecular tiene como objetivo entender las bases del funcionamiento de estas proteínas de membrana a nivel celular cuando un fármaco específico se une a ellos, considerando los cambios estructurales y conformacionales promovidos en el receptor así como la activación de los diferentes efectores implicados en la transducción de la señal intracelular. El diseño de nuevos fármacos pasa ineludiblemente por el conocimiento y comprensión de éstos mecanismos moleculares. Por ello la investigación de los GPCRs es un campo atractivo dentro de las ciencias biomédicas y un tema competitivo en lo referente a la obtención de financiación de agencias gubernamentales y/o compañías farmacéuticas. Asimismo, la relevancia de los resultados obtenibles en la investigación de los GPCRs supone la posibilidad de comercializarlos desde un punto de vista de propiedad intelectual o de registro de patentes. Los últimos años en el equipo del Prof. Milligan me ha dotado de la experiencia necesaria para llevar a cabo nuevos proyectos. Mis intereses se centran en la interacción receptor-receptor desde un punto de vista estructural (dimerización) o de sus vías de transducción de las señales intracelulares (cross-talking). Asimismo, estoy trabajando en las bases moleculares del tráfico de la señal de las vías de transducción por un agonista cuando se une a un GPCR, es decir, como distintos fármacos para un mismo receptor pueden activar su acoplamiento a distintos efectores celulares. Dada la importancia de la validación de los resultados obtenidos a nivel molecular y celular en modelos experimentales fisiológicos, me interesaría continuar trabajando en colaboración con otros científicos especialistas en otras áreas. En la actualidad estoy trabajando en dos proyectos, uno de ellos relacionado con la interacción farmacológica entre receptores opioides y de serotonina con implicaciones importantes para entender las bases moleculares de la tolerancia a la morfina. Para validar los resultados obtenidos en modelos experimentales heterólogos, he establecido colaboraciones con la Dra. Vilaró (IIBB-CSIC, Barcelona) y la Dra. Giménez-Llort (Universitat Autònoma de Barcelona). De forma similar, el otro proyecto que estoy desarrollando es el resultado de una colaboración con el Dr. González-Maeso (Mount Sinai School of Medicine, Nueva York) sobre la interacción de receptores metabotrópicos del glutamato con receptores 5-HT<sub>2A</sub> de la serotonina, con repercusiones en esquizofrenia. En este caso estoy investigando las bases moleculares de esta interacción de receptores para complementar las observaciones del Dr. González-Maeso en modelos fisiológicos (Nature, González-Maeso et al., 2008). Debido a la relevancia de los resultados queremos ampliar estas investigaciones, por lo que estamos trabajando en propuestas de proyectos para financiación desde un marco de colaboración internacional.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Tras obtener mi licenciatura trabajé como ayudante de investigación en el proyecto: "Clonaje y expresión en líneas celulares eucarióticas de los ADNc de los receptores humanos de la serotonina 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>2C</sub>" bajo la dirección de la Dra. Mengod (CID-CSIC, Barcelona). Posteriormente realicé mi tesis sobre la "Caracterización farmacológica y molecular de los receptores de la familia 5-HT<sub>2</sub> de la serotonina en el cerebro de mamíferos" dirigida por las doctoras Mengod y Vilaró (IIBB-CSIC, Barcelona). Los principales resultados fueron la descripción de la distribución de distintos subtipos de los receptores 5-HT<sub>2</sub> en cerebro de primate desde el punto de vista de su ARNm por técnicas histoquímicas de hibridación in situ así como técnicas de autorradiografía con radioligandos. Otros resultados obtenidos fueron la caracterización neurofarmacológica de nuevos radioligandos como el [3H] MDL100,907 y la descripción del perfil farmacológico atípico observado para agonistas del receptor 5-HT<sub>2A</sub> de la serotonina. Los resultados de este trabajo dieron lugar a nueve artículos que se publicaron en revistas internacionales. Al finalizar mi doctorado me centré en el estudio de la farmacología molecular de los receptores acoplados a proteínas G. Contacté con el Prof. Strange para trabajar en su laboratorio de la Universidad de Reading (Reino Unido) donde realicé estudios de dimerización del receptor D<sub>2</sub> de la dopamina y colaboré en el desarrollo de la técnica "time-resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer (TR-FRET)". Estos trabajos dieron como resultado tres artículos originales publicados en revistas internacionales. Posteriormente contacté con el Prof. Milligan de la Universidad de Glasgow donde me he especializado en la dimerización de receptores, participando en los proyectos relacionados con este tema y estableciendo nuevas tecnologías, como la complementación fluorescente bimolecular (BiFC) o el FRET por microscopía. Un logro importante fue la demostración de la oligomerización de receptores mediante el FRET secuencial a través de tres proteínas fluorescentes distintas. Además de la interacción entre receptores desde un punto de vista estructural, existe una línea centrada en la modulación farmacológica entre parejas de diferentes receptores debido a la interacción directa entre ellos o al "cross-talk" de sus vías de señalización que me permite aportar al equipo mi experiencia en neurofarmacología y en anatomía neuroquímica. Actualmente investigo sobre la interacción entre los receptores mu opioide y 5-HT<sub>2A</sub> de la serotonina y en la caracterización farmacológica y molecular del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, para la que he solicitado financiación como investigador principal (BBSRC Proyecto de Investigación, sometido). Para complementar los resultados obtenidos en mis investigaciones, he establecido colaboraciones con la Dra. Vilaró del IIBB-CSIC, la Dra. Giménez-Llort de la Universidad Autónoma de Barcelona y el Dr. González-Maeso del Mount Sinai School of Medicine (Nueva York). El trabajo realizado estos últimos años queda reflejado en trece publicaciones internacionales. Entre ellas, destaca el artículo sobre los resultados obtenidos de la interacción entre los receptores 5-HT<sub>2A</sub> de la serotonina y mGLU<sub>2</sub> del glutamato, fruto de la colaboración con el Dr. González-Maeso publicado en Nature (González-Maeso et al., Marzo 2008).



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2008**

**Nombre:** VALE GONZÁLEZ, MARÍA DEL CARMEN

**Referencia:** RYC-2008-03629

**Area:** Fisiología y Farmacología

**Número de orden:** 8      **Correo electrónico:** MCVALE@LUGO.USC.ES

**Título:**

Caracterización y evaluación de la utilidad de un modelo in vitro para la Enfermedad de Alzheimer (EA) a partir de ratones triple transgénicos 3xTgAD (PS1M146V, APPSwe e TauP301L) para la investigación de terapias farmacológicas para esta enfermedad.

**Resumen de la Memoria:**

La propuesta se centra en la caracterización y evaluación de la utilidad de un modelo neuronal in vitro para la Enfermedad de Alzheimer (EA) obtenido a partir de ratones triple transgénicos 3xTgAD (PS1M146V, APPSwe e tauP301L) así como la posible eficacia farmacológica de las ficotoxinas marinas y otros compuestos en esta enfermedad. La singularidad del modelo radica en que mientras otros modelos existentes son unidimensionales (básicamente sobreexpresan  $\beta$ -amiloide (BA) o Tau), este modelo sobreexpresa  $\beta$ A y tau, por ello se trata de un modelo bidimensional (aunque en realidad sería tridimensional ya que los ratones triple transgénicos 3xTgAD sobreexpresan también el gen de la Presenilina). La singularidad de este modelo animal para la EA radica en que los ratones 3xTgAD simulan las principales alteraciones de la EA en humanos: desde déficits colinérgicos y en LTP así como deficiencias cognitivas hasta inflamación cerebral y desarrollo de neuropatología Tau y  $\beta$ -amiloide de manera secuencial en regiones cerebrales relevantes para la EA (cortex, hipocampo y amígdala) y en paralelo al desarrollo descrito en humanos para esta enfermedad. Mediante acuerdos con investigadores de la Universidad de California Frank M. LaFerla (creador de este modelo animal para EA), y con la investigadora Lydia Giménez-Llort, dispongo de este modelo animal y también de ratones non-3xTgAD que seguirán todos los procedimientos y estudios de forma paralela a los animales ratos transgénicos y servirán de grupo control ó grupo con envejecimiento normal y permitirán poner de manifiesto posibles aspectos distintivos entre neuronas con envejecimiento fisiológico y patológico tanto a nivel molecular, como celular y funcional. HIPÓTESIS GENERAL: Los ratones 3xTgAD en estadios embrionarios (fetos de 15-16 días) expresan niveles muy elevados de los genes PS1M146V, APPSwe y tauP301L (3 veces más elevados que en animales control non-3xTgAD, (Smith et al., J Neurochem. 94(6): 1711-1718)). Sobre esta base propongo acabar de caracterizar y validar un modelo neuronal in vitro para EA que presente sobreexpresión de Presenilina,  $\beta$ -amiloide y Tau. Una vez determinados los niveles de expresión de estas proteínas en el modelo in vitro y dado que la presencia de  $\beta$ -amiloide intraneuronal parece ser suficiente para la aparición de déficits y patología característica de EA deberemos poder establecer a nivel celular, molecular y funcional las diferencias entre el envejecimiento normal y el envejecimiento patológico asociado concretamente a la EA. Posteriormente se explorará la capacidad terapéutica o preventiva de ficotoxinas marinas y de otros compuestos naturales o sintéticos en relación con su habilidad para evitar la aparición o restaurar las anomalías moleculares, celulares y funcionales asociadas a la EA en este modelo in vitro.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

A lo largo de mi trayectoria investigadora he publicado más de 20 artículos en revistas internacionales, la mayoría de ellos pertenecientes al primer cuartil y soy primera autora en la mayor parte de las publicaciones. He participado además en 3 capítulos de libros internacionales. He participado en más de 20 proyectos de investigación siendo investigadora principal en dos de ellos. En la actualidad soy codirectora de 3 tesis doctorales, una de ellas para ser defendida en breve. Mi trayectoria científica es larga y variada con estancias en diferentes centros nacionales y extranjeros. A lo largo de mi trayectoria científica he desarrollado diferentes líneas de investigación. Para el desarrollo de las mismas he debido de aprender y especializarme en diversas técnicas complejas incluyendo cultivos celulares y la electrofisiología. A lo largo del año pasado he iniciado una nueva línea de investigación para profundizar en el estudio de la enfermedad de Alzheimer utilizando para ello un modelo de ratón transgénico 3xTgAD. Esta línea ya ha dado sus primeros frutos y ha sido financiada en una convocatoria autonómica, tenemos en marcha la solicitud de una patente para el modelo in vitro que se propone y se está preparando además la publicación del modelo.





**Nombre:** MATO SANTOS, SUSANA

**Referencia:** RYC-2008-02907

**Area:** Fisiología y Farmacología

**Número de orden:** 9 **Correo electrónico:** susana.mato@ehu.es

**Título:**

Fisiología del Sistema Endocannabinoide en relación con las Enfermedades Cerebrales y su Tratamiento Farmacológico

**Resumen de la Memoria:**

El trabajo desarrollado desde del descubrimiento de los receptores cannabinoides CB1 y CB2 y sus ligandos endógenos indica que el sistema endocannabinoide juega un papel importante en la patogénesis de diversas enfermedades neurodegenerativas y mentales. Determinar las dianas celulares y los mecanismos de acción de los receptores cannabinoides en relación con estas patologías es fundamental para poder desarrollar estrategias terapéuticas útiles en un futuro. El conocimiento adquirido durante los últimos 10 años acerca de la fisiología del sistema endocannabinoide me permite profundizar de una manera racional en su papel en distintas patologías cerebrales, utilizando una amplia variedad de técnicas experimentales. En este sentido, propongo un proyecto de trabajo basado en mi experiencia investigadora previa, que consiste en el estudio del sistema endocannabinoide en relación con las enfermedades desmielinizantes como la esclerosis múltiple (Centonze et al., 2007, Trends Pharmacol Sci, 28:180-7), y con los trastornos depresivos y su tratamiento farmacológico (Witkin et al., 2005, Trends Pharmacol Sci, 26:609-17), utilizando animales knockout para los receptores CB1 y CB2. En relación con las enfermedades desmielinizantes, sugiero estudiar el papel de los receptores cannabinoides durante el proceso de desmielinización/remielinización in vivo, mediante la administración del neurotóxico cuprizona a ratones knockout para los receptores CB1 y CB2. Este proyecto permitirá analizar de forma específica el papel de ambos receptores en los cambios celulares y moleculares asociados a procesos de desmielinización/remielinización (astrogliosis, microgliosis, muerte oligodendroglial, proliferación y diferenciación de precursores oligodendrogliales, producción de citoquinas y factores de crecimiento) mediante técnicas inmunohistoquímicas, RT-PCR y western blot (Liñares et al., 2006, J Neurosci 26:12672-81). Un segundo objetivo sería determinar si la administración de  $\Delta^9$ -THC/cannabidiol, modula los procesos de desmielinización/remielinización en este modelo, y los mecanismos celulares y moleculares implicados. Finalmente, propongo estudiar el efecto modulador de los agonistas cannabinoides sobre los canales de calcio y potasio en oligodendrocitos, mediante técnicas electrofisiológicas. En relación con la depresión mayor y su tratamiento farmacológico, sugiero estudiar la posible implicación de los receptores CB1 y CB2 en el efecto neurogénico de distintos antidepresivos utilizados en clínica (fluoxetina, venlafaxina), mediante la administración de ambos antidepresivos a ratones knockout para los receptores CB1 y CB2. Se evaluará la generación de nuevas células a nivel de hipocampo y corteza prefrontal, y su fenotipo, mediante técnicas inmunohistoquímicas (marcaje BrDU). En paralelo se realizarán estudios de comportamiento para evaluar el grado de correlación entre el efecto neurogénico y "antidepresivo" tras los distintos tratamientos. Asimismo se analizarían las vías de señalización asociadas a los receptores CB1/CB2, que podrían estar implicadas en sus efectos durante el tratamiento crónico con antidepresivos (inhibición de adenilato ciclasa, expresión de BDNF, activación de PI3K/Akt/GSK3, Wnt/ $\beta$ -catenina, CREB). Finalmente, se determinará si el cotratamiento con agonistas cannabinoides potencia el efecto neurogénico y "antidepresivo" de ambos fármacos

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Tras licenciarme en Farmacia en 1996 por la Universidad del País Vasco (UPV) obtuve una beca predoctoral del Gobierno Vasco para realizar la tesis en el Departamento de Farmacología de la UPV, en colaboración con el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Cantabria (UC), bajo la dirección de los doctores Joan Sallés (UPV) y Angel Pazos (UC). Durante esta etapa estudié del papel del sistema cannabinoide durante el desarrollo cerebral humano, así como en relación con la enfermedad depresiva mayor y su tratamiento farmacológico, utilizando técnicas de binding y autoradiografía de receptor y de GTPyS, y de valoración de la actividad adenilato ciclasa. El trabajo realizado en este periodo ha dado lugar a cinco publicaciones como primera autora en revistas de reconocido prestigio internacional (Mato et al., 2002 Eur J Pharmacol 443:43-46, Mato et al., 2003 Eur J Neurosci 17:1747-1754; Mato et al., 2004, Neuropharmacology 46:716-726; Mato et al., 2007, J Neurochemistry 103:2111-2120), a un trabajo en fase de revisión (Mato et al., Mol Pharmacol), y a proyectos aún en curso (Manuel et al., 2005, Revista de Neurología 41 (supl 2): 96-131, 105). Tras la obtención del Título de Doctora en Farmacia en mayo de 2002 permanecí en el Departamento de Farmacología de la UC hasta mi incorporación al Institut Magendie des Neurosciences (Bordeaux, Francia) en marzo de 2003, gracias a un contrato para investigadores postdoctorales del gobierno francés. Trabajé durante 30 meses en el grupo "Fisiopatología de la Plasticidad Sináptica" dirigido por el Dr. Olivier Manzoni, estudiando el efecto de las drogas de abuso sobre la plasticidad sináptica mediada por cannabinoides en núcleo accumbens, mediante técnicas electrofisiológicas (registros de campo y patch-clamp en rodajas). Este periodo ha dado lugar a cuatro publicaciones como primera autora (Mato et al., 2004, Nat Neurosci 7:585-586; Mato et al., 2004, J Neurosci 24:6939-6945; Mato et al., 2005, J Neurosci 25:11619-11627; Mato et al., 2008, Neuropharmacology 54:87-94), tres de ellas en revistas entre las 15 más citadas dentro del ranking del área de Neurociencias, además de una publicación relativa a los mecanismos de plasticidad sináptica por endocannabinoides en corteza frontal (Lafourcade et al., 2007, PLoS ONE 2:e709) y un capítulo en "The Nucleus Accumbens: Neurotransmitters and Related Behaviours", actualmente en manos del editor. En diciembre de 2005 me incorporé al Laboratorio de Neurobiología del Departamento de Neurociencias de la UPV, dirigido por el Dr. Carlos Matute, gracias a un contrato Juan de la Cierva. Mi trabajo durante este periodo ha consistido en el estudio de los efectos de los compuestos cannabinoides sobre la fisiología oligodendroglial, en relación con las enfermedades desmielinizantes. Durante este periodo he adquirido experiencia en técnicas de cultivo primario, inmunocitoquímica/inmunohistoquímica, RT-PCR y de medida de calcio intracelular, y he establecido colonias estables de ratones knockout para los receptores CB1 y CB2 en la UPV. Mi trabajo ha permitido caracterizar el efecto inhibitorio de los agonistas CB1 sobre el incremento del calcio intracelular por despolarización de la membrana oligodendroglial (Mato et al., 2007, Neuron Glia Biology 2 (supl 1): S174). Estos datos se encuentran en fase de revisión para su publicación en Glia