

Centro de Investigación Príncipe Felipe

PROGRAMA

Módulo:

Herramientas tecnológicas para el diagnóstico y tratamiento de patologías humanas del

Máster en Investigación Biomédica

Universitat de València

Coordinadores: Carmen Espinós y Vicente Felipo

Temas

- Tema 1 Diagnóstico de enfermedades genéticas
- Tema 2 Bioinformática
- Tema 3 Bioestadística
- Tema 4 Autoinmunidad: Mecanismos celulares y moleculares
- Tema 5 Biología molecular del cáncer
- Tema 6 Patologías neuropsiquiátricas:
encefalopatía hepática y esquizofrenia
- Tema 7 Terapia celular, bases y aplicaciones
- Tema 8 Fármacos y Biomarcadores

TEMA 1. DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS

Profesor/a: Carmen Espinós, Vincenzo Lupo

1.1. Descubrimiento de nuevos genes asociados a enfermedades mendelianas

Clase Teórica (1h 30min). Aproximaciones para la caracterización de las bases genéticas de una enfermedad mendeliana Utilidades de la secuenciación masiva (NGS, *Next Generation Sequencing*). Aplicabilidad de la secuenciación completa de exoma (WES) en el diagnóstico genético. La heredabilidad perdida: detección de modificadores genéticos.

1.2. Taller de Genealogías

Clase Práctica (1h 30min). Casos de pacientes con enfermedades genéticas cuya herencia no se ajusta exactamente a una herencia mendeliana. Revisión de casos clínicos. Posibles modos de transmisión de una enfermedad mendeliana. Correlación genotipo-fenotipo.

1.3. Análisis bioinformático de datos de secuenciación masiva aplicado al diagnóstico genético

Clase Teórica (1h). Pipelines aplicados al procesamiento de datos de secuenciación. Tipo de variantes detectadas mediante NGS. Qué metodología de NGS emplear para el diagnóstico genético: genoma, exoma o panel de genes?

1.4. Bases de datos para la anotación e interpretación de variantes genéticas

Clase Teórico-práctica (1h). Introducción y manejo de bases de datos de genes y proteínas (NCBI, Ensembl, UCSC Genome Browser) y de enfermedades genéticas (OMIM, ORPHANET, etc.). Introducción y manejo de bases de datos de variantes genéticas benignas y patológicas (dbSNP, ExAC, gnomAD, ClinVAR, HGMD). Guías prácticas para la clasificación de una variante genética: benigna-probablemente benigna-variante de significado incierto-probablemente patológica-patológica.

1.5. Ejercicios prácticos

Clase Práctica (1h). Ejercicios en ordenador relacionados con el manejo de las base de datos para la anotación e interpretación de variantes genéticas: lectura y alineamiento de secuencias de ADN; búsqueda de variantes identificadas en base de datos y correlación genotipo-fenotipo. Nomenclatura de la variante identificada de forma manual empleando las recomendaciones del HGVS (<http://varnomen.hgvs.org/>).

TEMA 2. BIOINFORMÁTICA

Profesora: Marta Hidalgo, Francisco García García.

Clases Teórico-Prácticas (3h). Introducción a la transcriptómica y a las tecnologías de alto rendimiento. Exploración y pre-proceso de datos de expresión génica. Análisis de expresión diferencial. Enriquecimiento funcional.

Nota: Todos los temas combinan teoría y práctica informática con R y Rstudio y aplicaciones web.

TEMA 3. BIOESTADÍSTICA

Profesores: Francisco García García, Marta Hidalgo.

Clases Teórico-Prácticas (6h). Introducción al software libre R y Rstudio. Estadística descriptiva univariante y multivariante. Conceptos básicos de inferencia estadística. Contrastes de hipótesis paramétricos y no paramétricos. Análisis de la varianza. Modelos de regresión: lineal y lineal generalizado. Análisis de un caso real: En esta sesión, los alumnos podrán trabajar con sus propios datos para hacer las consultas que consideren oportunas y resolver sus dudas. Si no disponen de datos, se les proporcionará una base de datos real y una batería de cuestiones a resolver.

Nota: Todos los temas combinan teoría y práctica informática con R y Rstudio.

TEMA 4. AUTOINMUNIDAD: MECANISMOS CELULARES Y MOLECULARES. IMPLICADOS EN PROCESOS INFLAMATORIOS

Profesor: Enric Esplugues.

Clase Teórica (1h). Conceptos básicos de la activación del sistema inmunológico. Inmunidad adaptativa y el papel de los linfocitos en la autoinmunidad. Modelos animales para el estudio de enfermedades autoinmunes.

TEMA 5. BIOLOGÍA DEL CÁNCER

Profesoras: Rosa Farràs, Carolina Gandía.

5.1. Introducción

Clase Teórica (3h). Qué es cáncer. Las diez propiedades del cáncer. Oncogenes y supresores tumorales. Factores de crecimiento, receptores y cáncer.

5.2. Células madre y cáncer

Clase Teórica (1h). Células madre y cáncer. Conceptos actuales.

TEMA 6. PATOLOGÍAS NEUROPSIQUIÁTRICAS: ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA Y ESQUIZOFRENIA

Profesores/as: Marta Llansola, Andrea Cabrera Pastor, Carla Giménez-Garzó, Pietro Fazzari.

6.1. Encefalopatía hepática

6.1.1. Encefalopatía Hepática: Introducción

Clase Teórica. (30 min). Qué es la encefalopatía hepática. Modelos animales para estudiar las bases moleculares de enfermedades neurológicas: encefalopatía hepática como ejemplo. Neuroinflamación y alteraciones en la neurotransmisión en Encefalopatía Hepática. Implicaciones terapéuticas.

6.1.2. Encefalopatía hepática mínima en pacientes con enfermedad hepática

Clase teórica (1h). Encefalopatía hepática mínima (EHM). Diagnóstico. Caracterización de las alteraciones neurológicas mediante test psicométricos en pacientes con cirrosis hepática o esteatohepatitis. Papel de la inflamación periférica y del estrés oxidativo en la aparición de EHM.

Clase práctica (1h 30min): Detección de la EHM. Caracterización de las alteraciones neurológicas mediante test psicométricos en pacientes con cirrosis hepática o esteatohepatitis.

6.1.3. Estudios *in vivo* en modelos animales: estudios de comportamiento (memoria y aprendizaje; actividad y coordinación motoras)

Clase Teórica (2h). Cómo se evalúa el comportamiento en modelos animales con déficits cognitivos y/o motores. Test de memoria y aprendizaje (laberinto acuático de Morris, laberinto radial, memoria de localización y reconocimiento de objeto, laberinto en Y,...). Test de coordinación motora (*beam walking*, rotarod). Actividad motora (actímetro). Ejemplos prácticos.

6.1.4. Análisis de neurotransmisión por microdiálisis cerebral *in vivo*

Clase Teórica (1h). Fundamento de la técnica de microdiálisis cerebral *in vivo* y sus aplicaciones. Aprender a manejar un estereotáxico y el funcionamiento de sistemas de microdiálisis.

6.1.5. Estudio *ex vivo* en cortes de cerebro: modulación de la neurotransmisión

Clase Teórica (1h 30min). Cómo podemos estudiar en cortes de cerebro *ex vivo* vías de señalización implicadas en la neurotransmisión. Obtención de cortes de diferentes áreas cerebrales. Sistema de perfusión. Análisis de la expresión de receptores y transportadores. Estudio de circuitos eléctricos cerebrales con *multielectrode array*.

6.1.6. Aplicaciones de la cromatografía líquida y espectrometría de masas (LC-MS) para estudiar alteraciones de la neurotransmisión y búsqueda de biomarcadores por metabolómica

Clase Práctica (1h 30min). Qué es un sistema de LC-MS, de qué partes consta y cómo funciona. Ejemplo de cómo analizamos y cuantificamos niveles de metabolitos en muestras biológicas.

6.2. Esquizofrenia

6.2.1. Psiquiatría molecular: fisiopatología de los circuitos corticales. La corteza, la región más compleja del cerebro

Clase Teórica (40 min). Introducción a la estructura y función de los circuitos corticales. Desarrollo cortical. Primero, diferenciación y proliferación. Segundo, migración; diferentes modalidades, un objetivo. Tercero, conexión. Cuarto, revisar y refinar (base para la plasticidad sináptica).

6.2.2. Patologías del desarrollo neurológico de circuitos corticales. ¿Qué pasa si algo sale mal?

Clase Teórica (40 min). Desequilibrio homeostático de los circuitos corticales como base de los trastornos del desarrollo neurológico: un concepto general. La esquizofrenia: un trastorno prototípico del desarrollo neurológico. Regeneración tras lesión: ¿joven de nuevo?

6.2.3. La edad de oro de la neurobiología: nuevas herramientas para investigar los circuitos corticales

Clase Teórica (40 min). Revolución molecular: modelos animales en la era post-genómica. Marcaje sináptico. Trazado del circuito. Haz lo que te digo ahora: opto-genética y quimio-genética.

6.2.4. Ejemplos prácticos y enfoques experimentales

Clase Práctica (1h). Cultivos neuronales. Secciones flotantes, imagen de circuitos neuronales locales. Rastreo de conexiones entre hemisferios corticales. Imagen cuantitativa.

TEMA 7: TERAPIA CELULAR

Profesoras: Mar Orzáez, Dunja Lukovic, Amparo Galán, Victoria Moreno.

7.1. La metodología CRISPR como terapia de futuro

Clase Teórica (1h). En esta clase se presentan las herramientas básicas para el uso de los sistemas CRISPR en el laboratorio de investigación. Se estudian ejemplos de sus aplicaciones en biomedicina y se presentan los avances más relevantes en el campo de ensayos clínicos.

7.2. Terapia celular, bases y aplicaciones

7.2.1. Células madre pluripotentes: fundamentos y tipos

Clase Teórica (45min). Características, origen, tipos de células pluripotentes. Métodos de reprogramación y mantenimiento de pluripotencia.

7.2.2. Células iPS como herramienta para estudiar enfermedades

Clase Teórica (45min). Modelos humanos para estudiar enfermedades basados en células pluripotentes: células de pacientes vs manipulación genética. Valoración de modelos, reproducción del fenotipo clínico, impacto del fondo genético.

7.2.3. Demostración práctica: cultivo de células pluripotentes y diferenciación hacia células específicas

Clase Práctica (2h). Cultivo de células pluripotentes (esterilidad, controles calidad, ensayos de pluripotencia). Diferenciación hacia células especializadas, estrategias (bases moleculares, factores de inducción, homogeneidad de la población, andamiaje). Edición génica mediante CRISPR/Cas, diseño de experimento, retos técnicos en obtención de las líneas clonales.

7.2.4. Aplicaciones terapéuticas de las células madre. Ensayos clínicos. Legislación y Bioética

Clase Teórico-Práctica (1h 30min). En este tema se abordará desde un punto de vista dinámico la regulación del trabajo con las células madre, los últimos avances en investigación y sus aplicaciones en la clínica. Así mismo se incluirá una aproximación práctica a la investigación de las células madre.

7.2.5. Terapia Celular en patologías del sistema nervioso

Clase Teórica (1h). Se abordará el caso particular de la aplicación de la terapia celular en el rescate de la función neuronal en lesiones traumáticas de la médula espinal, abordando desde la

fisiopatología de la lesión medular los mecanismos celulares y moleculares asociados al rescate funcional tras la terapia celular.

TEMA 8: FÁRMACOS Y BIOMARCADORES

Profesoras: Mónica Sancho, Mar Orzáez, M^a Jesús Vicent, Inmaculada Conejos, Ana Armiñán, Zoraida Andreu, Viviana Bisbal, Martina Palomino.

8.1. Desarrollo pre-clínico de fármacos. Selección de dianas farmacológicas

Clase Teórica (1h). Conocer las fases del proceso de desarrollo pre-clínico de un fármaco. El cribado de alto rendimiento (*high throughput screening*) como metodología en el descubrimiento de fármacos. Criterios de selección de dianas farmacológicas.

8.2. La nanomedicina en investigación y práctica médica

Clase Teórica (2h) + Clase Práctica (2h). Conocer la nanomedicina como disciplina, su aplicación en el campo del desarrollo de fármacos desde el laboratorio a la clínica, así como aspectos concretos de su regulación. Prácticas relacionadas con técnicas para la caracterización fisicoquímica y biológica de las nanomedicinas.

8.3. Biofármacos: diseño, desarrollo y aspectos legales

Clase Teórica (1h). Definición de biofármaco. Ventajas y desventajas con respecto a otras entidades terapéuticas. Puntos de heterogeneidad en el proceso de producción. Normativa aplicable. Definición de biosimilar y su problemática.

8.4. Práctica de cribado: en busca de moduladores de la muerte celular

Clase Práctica (1h). Seminario teórico-práctico para ejemplificar cómo llevar a cabo ensayos de cribado para buscar moduladores tanto en positivo como en negativo de la supervivencia de una línea celular tumoral. Problemas prácticos para el cálculo del Z factor, % viabilidad y actividad enzimática.

8.5. Modelos celulares para la investigación biomédica

Clase Teórica (1h). La investigación biomédica necesita del desarrollo de modelos celulares adecuados de estudio que reproduzcan de la manera más fiel la biología humana. Se estudiarán los modelos empleados actualmente en investigación: modelos clásicos 2D vs 3D y modelos organoides derivados de pacientes.

8.6. Modelos de experimentación animal en desarrollo de fármacos

Clase Teórica (2h). El estudio de nuevas terapias necesita ser estudiado en un modelo fisiológico para poder ser aplicado posteriormente en pacientes lo que implica la utilización de animales de

laboratorio. Se dará una pincelada sobre ética, legislación y modelos animales aplicables en el desarrollo de nuevos fármacos.

8.7. Comunicación intercelular por exosomas y su uso como biomarcadores

Clase Teórica (2h) + Clase Práctica (3h). Los exosomas juegan un papel clave en la comunicación intercelular tanto en procesos fisiológicos como patológicos, siendo su estudio de gran interés. Se dará una visión general de las rutas de biogénesis, liberación, caracterización y su posible aplicación médica como marcadores de enfermedades. Finalmente, se hablará de las técnicas de purificación y cuantificación. En la clase práctica se purificarán exosomas por ultracentrifugación (UC) y se cuantificarán por nanosight (NTA).

8.8. La caracterización de perfiles metabolómicos como herramienta en biomedicina

Clase Teórica (1h) + Clase Práctica (2h). Conocer las bases de la metabolómica como herramienta en biomedicina. Tras una introducción teórica sobre la metabolómica y sus aplicaciones, se realizará un ejercicio práctico analizando los perfiles metabolómicos de muestras de orina explicando tanto la preparación de la muestra, como la adquisición de los experimentos por Resonancia Magnética Nuclear y el análisis de los datos resultantes.