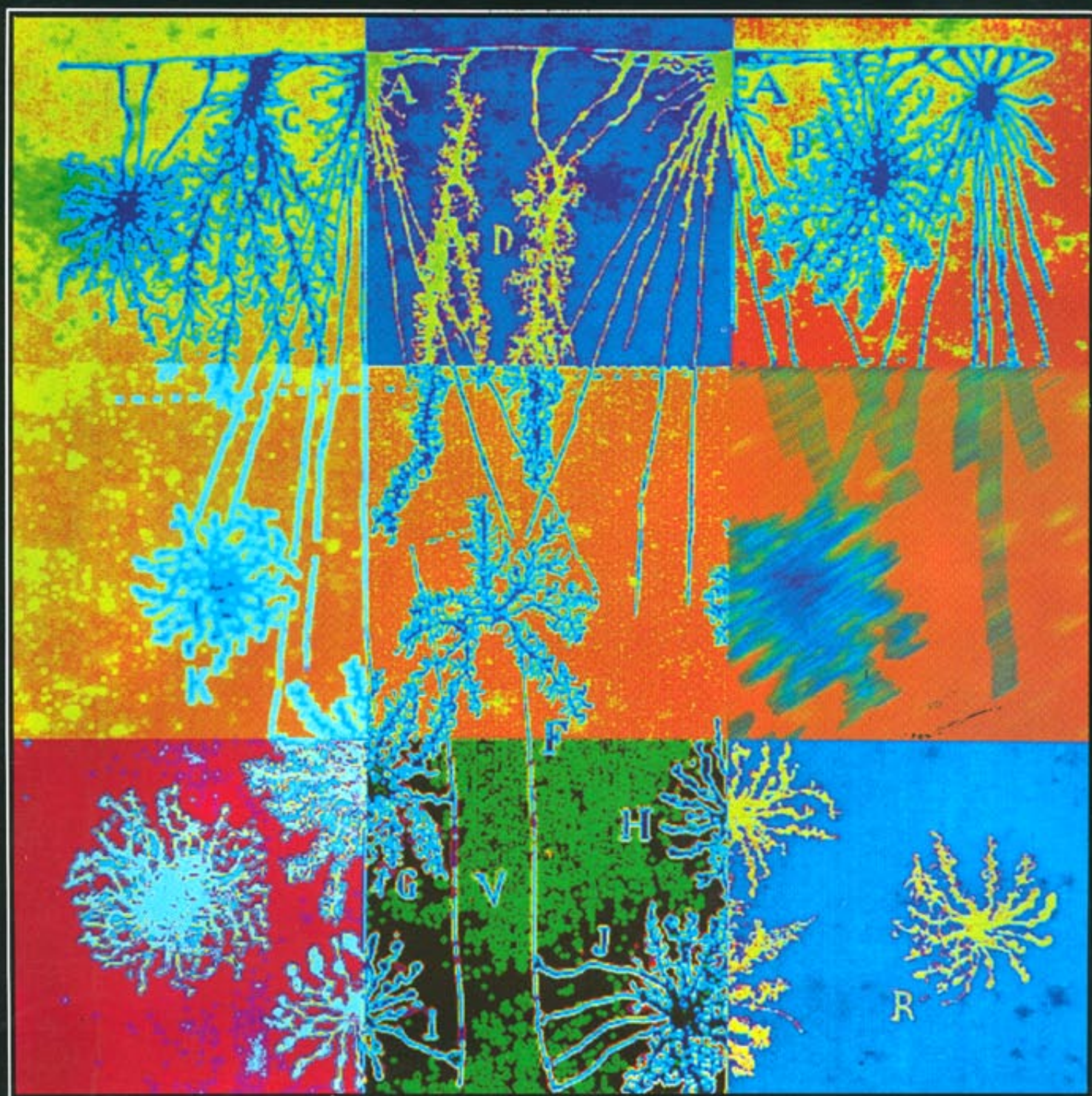


INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS



UNIVERSIDAD DE ALICANTE

E S P A Ñ A

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

UNIVERSIDAD DE ALICANTE

Campus de San Juan

Apdo. 374

03080 ALICANTE

Tels. 96/565 98 11* (centralita)

Fax: 96/594 15 10

Director: Carlos BELMONTE

Subdirector: Salvador VINIEGRA

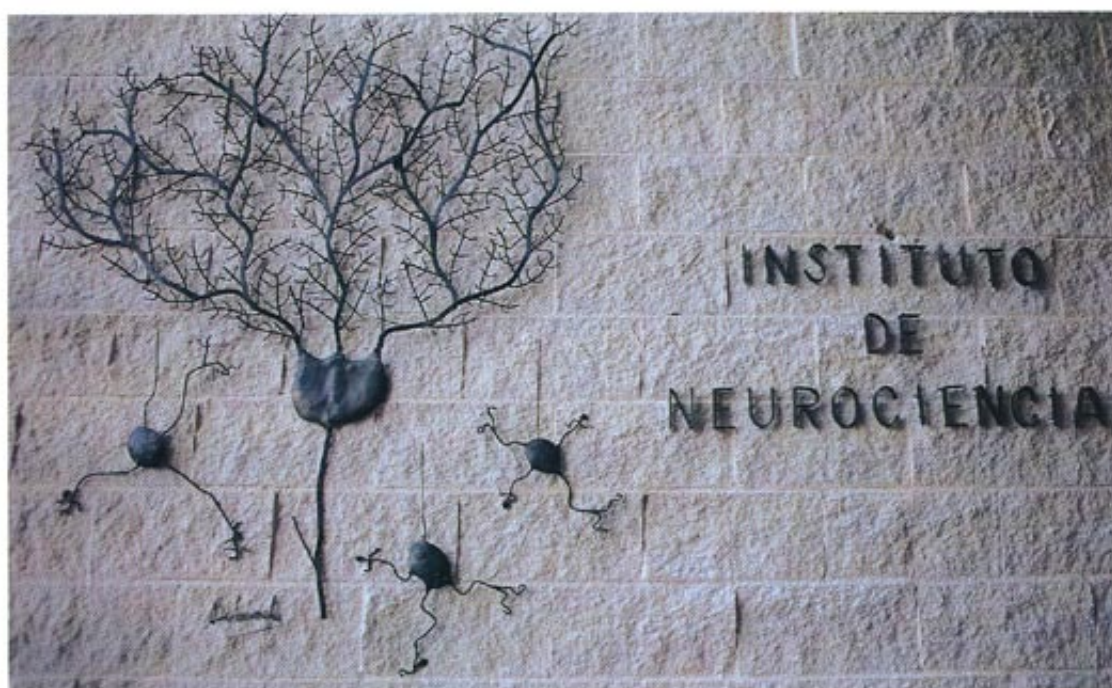
Secretario: Joaquín RUEDA

Coordinador Doctorado: Andrés MORALES

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

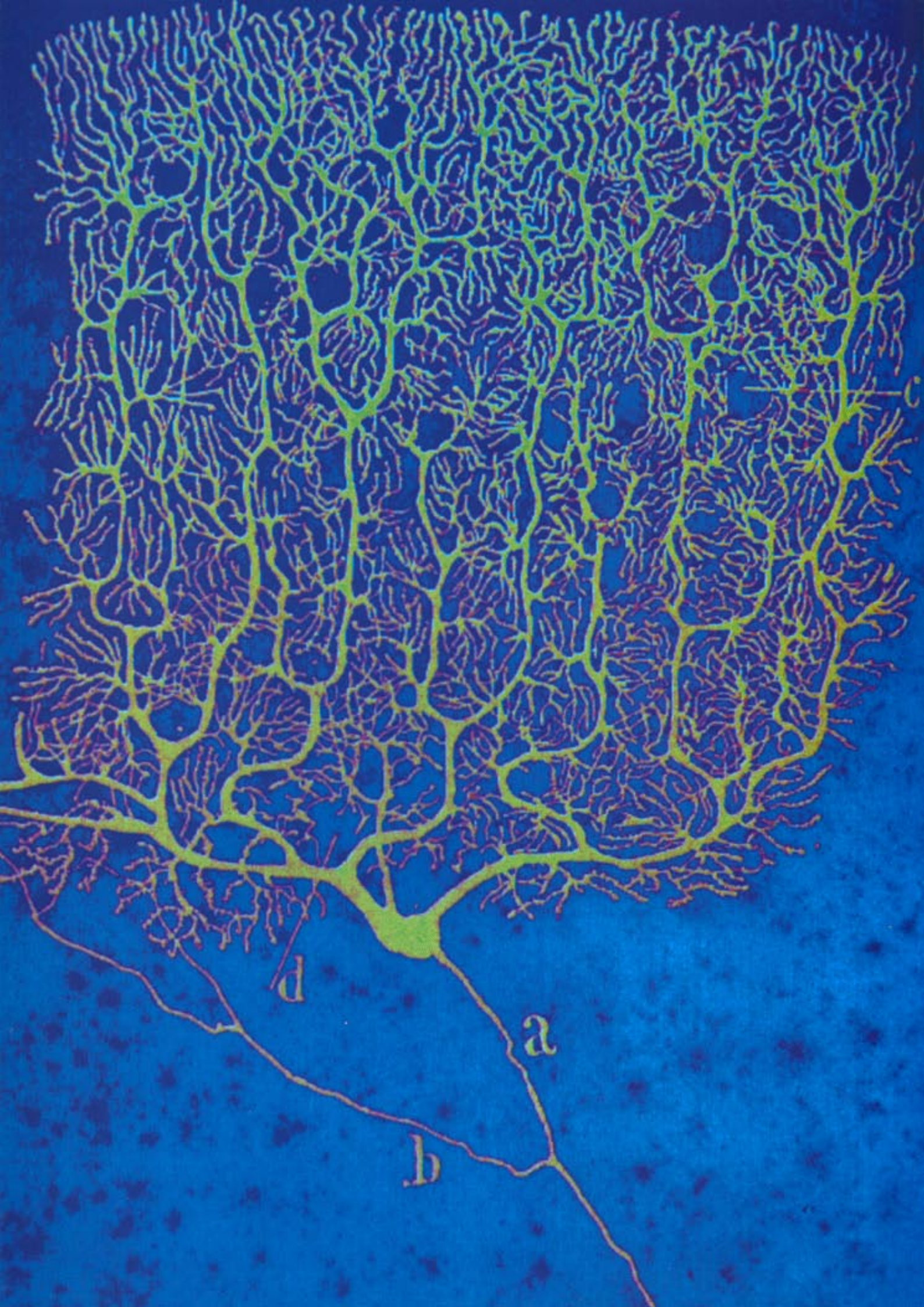


UNIVERSIDAD DE ALICANTE
E S P A Ñ A



Índice

Descripción y orígenes	5
Divisiones del Instituto	9
Miembros	14
Líneas de trabajo	16
Programa de Doctorado en Neurociencias	37
Servicios Centrales	38



Las Neurociencias se han convertido en años recientes en el campo más dinámico y que mayores desafíos presenta para la investigación biomédica. El cerebro humano sigue siendo el gran desconocido de la ciencia actual y paulatinamente va tomando fuerza la idea de que la comprensión científica del cerebro y sus funciones puede ser el camino más revolucionario para el progreso humano, no solo por el impacto que supondría el alivio o la curación de las enfermedades mentales o degenerativas del sistema nervioso, sino también por la repercusión que un conocimiento profundo del cerebro tendría en campos tan distintos como el aprendizaje, las relaciones interpersonales o la prolongación de una vida física e intelectualmente plena.

Origen del Instituto

Creado formalmente en febrero de 1990 por la Generalidad Valenciana como resultado de un largo proceso de gestación, el Instituto de Neurociencias de la Universidad de Alicante representa el reconocimiento y la estructuración formal de un amplio grupo de científicos de esa Universidad, que había venido desarrollando desde 1985 una extensa labor científica en el estudio de la estructura y función del sistema nervioso. La identidad de objetivos científicos entre estos investigadores determinó que, por encima de los límites establecidos por los departamentos universitarios, se formaran equipos de trabajo y se desarrollaran conjuntamente actividades científicas diversas, como el programa de Doctorado, conferencias y seminarios, puesta en marcha de servicios comunes o solicitudes de financiación. El Instituto de Neurociencias ha pretendido potenciar esta interacción mediante la creación de estructuras organizativas y la oferta de instalaciones enfocadas plenamente a la

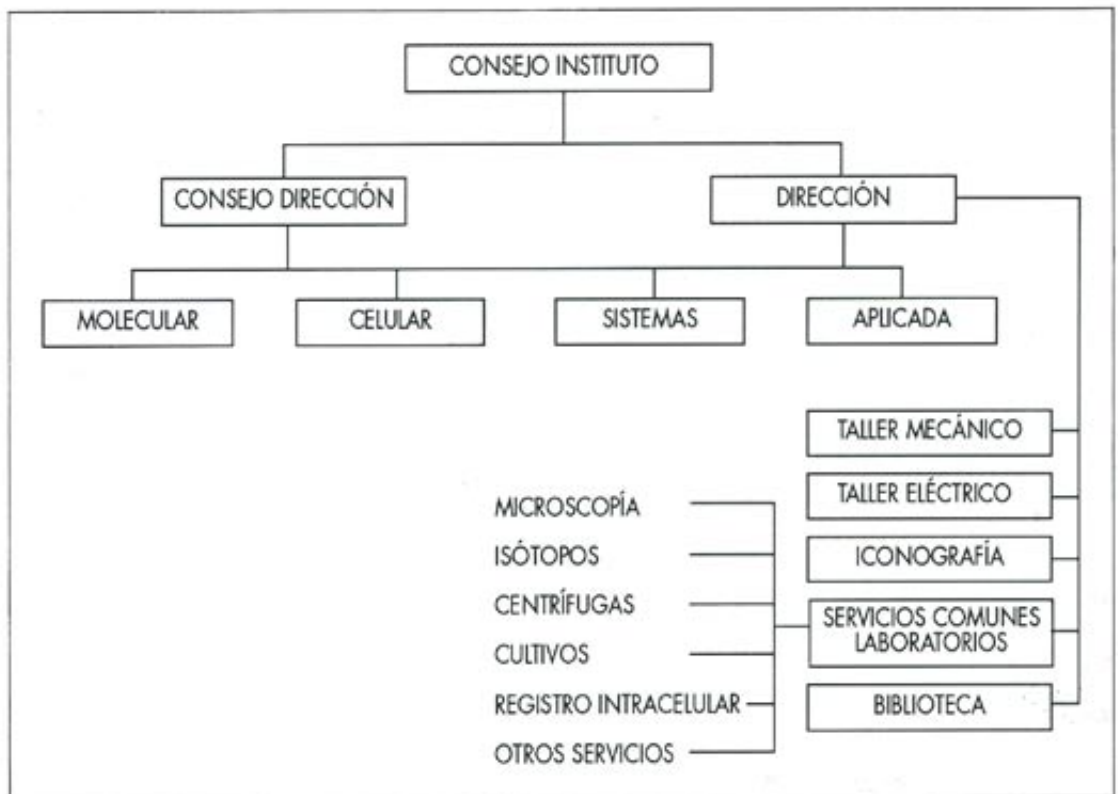
investigación neurobiológica. En tal sentido se ha intentado imprimir al Instituto un carácter muy funcional y una gran plasticidad, entendiéndolo sobre todo como un sistema organizativo que facilite las tareas investigadoras y dinamice las interacciones y la colaboración científica entre sus miembros y de éstos con científicos de otras instituciones nacionales y extranjeras.

Miembros del Instituto

El Instituto está constituido por investigadores, colaboradores y becarios. Los primeros son profesores de la Universidad de Alicante con experiencia científica amplia, valorada por sus publicaciones internacionales y estancias de formación en el extranjero, que desarrollan investigación relevante para el conocimiento del sistema nervioso. Los colaboradores son investigadores más jóvenes, con reciente doctorado o en vías de su consecución en el campo de las neurociencias, vinculados ya de manera estable a la Universidad de Alicante. Finalmente, los becarios, en su mayoría alumnos del Programa de Doctorado en Neurociencias financiados desde fuentes diversas, forman el escalón más joven y dinámico del Instituto. Además de estos miembros, el Instituto posee investigadores asociados, que son científicos establecidos de la propia Universidad de Alicante con un interés menos directo en la investigación neurobiológica, así como también neurocientíficos del CSIC o de otras Universidades, con relaciones estables de colaboración con un grupo de investigación del Instituto. Existen asimismo las figuras de investigador visitante e investigador emérito.

Organización del Instituto

El Instituto se halla estructurado en cuatro divisiones, de acuerdo con el nivel



biológico en el que desarrollan su investigación los miembros que las integran: Neurobiología Molecular, Neurobiología Celular y del Desarrollo, Neurobiología de Sistemas, Funciones Superiores y Comportamiento y Neurociencia Clínica y Aplicada. Los investigadores y colaboradores se adscriben libremente a cualquiera de estas divisiones y dentro de ellas se organizan en grupos de investigación, sobre la base de la dedicación a una línea experimental concreta y también con frecuencia del disfrute en común de una Ayuda de Investigación. Cada División tiene un director, elegido por votación de entre los investigadores. Los primeros directores de las Unidades de Investigación fueron los Drs. González Ros (Neurobiología Molecular), Roberto Gallego (Neurobiología Celular y del Desarrollo), Jaime Merchán (Neurobiología de Sistemas)

y José Horga (Neurociencia Clínica y Aplicada).

El Consejo del Instituto reúne a los investigadores y a representantes de los colaboradores y becarios, personal técnico y estudiantes del Programa de Doctorado en Neurociencias y es quien admite a los nuevos miembros del Instituto y elige a su Director. La gestión de éste se apoya en un Consejo de Dirección, constituido por los Directores de División, el de los servicios técnicos y el propio Director del Instituto. En el momento de su fundación, fue nombrado Director del Instituto el Dr. Carlos Belmonte y Subdirector y Secretario los Drs. Manuel Criado y Salvador Viniegra, respectivamente.

Los miembros del Instituto de Neurociencias disponen de sus laboratorios individuales, distribuidos por los distintos Departamentos docentes de los que forman parte. El Instituto posee además un espacio propio, destinado a servicios centrales,

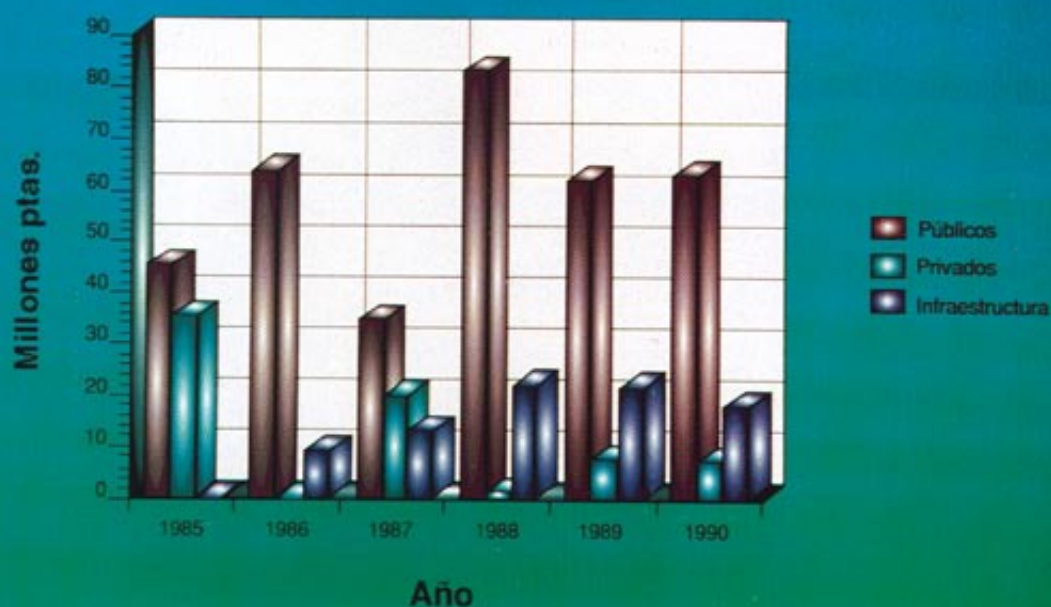
laboratorios, área administrativa y servicios técnicos. Los laboratorios no tienen una adscripción permanente a un investigador o a un grupo, sino que cada División tiene uno a su disposición, para el montaje temporal de técnicas y equipos de carácter común, además de laboratorios para científicos invitados. El Instituto dispone de una importante dotación de equipo científico. Posee sus propios Talleres mecánico y electrónico y un área general de lavado de vidrio. Tiene también una Unidad de esterilización y producción de agua destilada, además de una Unidad de fotografía e ilustración computarizada, otra de reprografía y fax, tres Unidades de cultivos celulares, una Unidad de preparación de microelectrodos, otra de patch-clamp y las correspondientes Unidades de Microscopia de Fluorescencia, Microscopia Electrónica y Unidad de Isotopos Radioactivos. De igual modo dispone de equipos de registro ubicados en

alguno de los hospitales en los que se lleva a cabo investigación clínica. La Biblioteca de Neurociencias, incorporada a la de la Facultad de Medicina pero financiada de modo independiente por el Instituto, consta de 83 títulos de revistas específicas de Neurociencia.

Actividades científicas y de gestión

El Instituto organiza y promueve un programa de Conferencias y Seminarios, de carácter semanal, a través del cual mantiene un intercambio científico regular con neurobiólogos españoles y extranjeros, así como entre los miembros del propio Instituto. Igualmente coordina todas las actividades generales de carácter neurocientífico que se consideran de interés para sus miembros, tales como congresos, simposios y reuniones monográficas, convenios de intercambio y cooperación con otros Centros, Fundaciones, etc.

FINANCIACION Procedencia de fondos





El Instituto solicita y gestiona las ayudas públicas o privadas de carácter común; administra las Ayudas de Infraestructura de los Planes Nacionales o Autonómicos y, si así lo desean sus investigadores, las Ayudas individuales o colectivas de investigación.



Divisiones del Instituto

Todas las líneas de investigación que se desarrollan en el Instituto se dirigen a ampliar el conocimiento sobre el desarrollo, la estructura y la función del sistema nervioso. Lo que diferencia a las distintas Divisiones del Instituto es el énfasis en un nivel biológico determinado a la hora de plantearse las preguntas científicas y por ello en una misma División se agrupan investigadores entrenados en metodologías muy diversas (morfología, biología molecular, bioquímica o electrofisiología). La plasticidad de esta estructura organizativa determina que los equipos de investigación que se forman, tanto dentro de una División como por científicos pertenecientes a distintas Divisiones, tengan con frecuencia un carácter solo temporal.

La División de Neurobiología

Molecular cubre temas de investigación básica relacionados con la bioquímica y la biología molecular de los neuroreceptores, de los canales iónicos y en general con fenómenos de trascendencia biológica que impliquen a la membrana plasmática o a sus componentes proteicos y lipídicos, relevantes para la comprensión del sistema nervioso. La División está compuesta actualmente por cinco grupos de investigación independientes dirigidos por los Drs. Manuel Criado, José M. González-Ros, José Ferragut, Fernando Moya y Salvador Sala, que utilizan modelos biológicos diversos que van desde sistemas de expresión de cDNA o mRNA en células eucarióticas o procarióticas hasta el órgano eléctrico del torpedo, las neuronas sensoriales primarias o las células cromafines de la médula adrenal y que, en ocasiones están estrechamente vinculados a procesos patológicos relacionados con anomalías de la neurotransmisión. Desde el punto de vista de las técnicas utilizadas, la diversidad de objetivos y de planteamientos trae consigo una gran variedad de

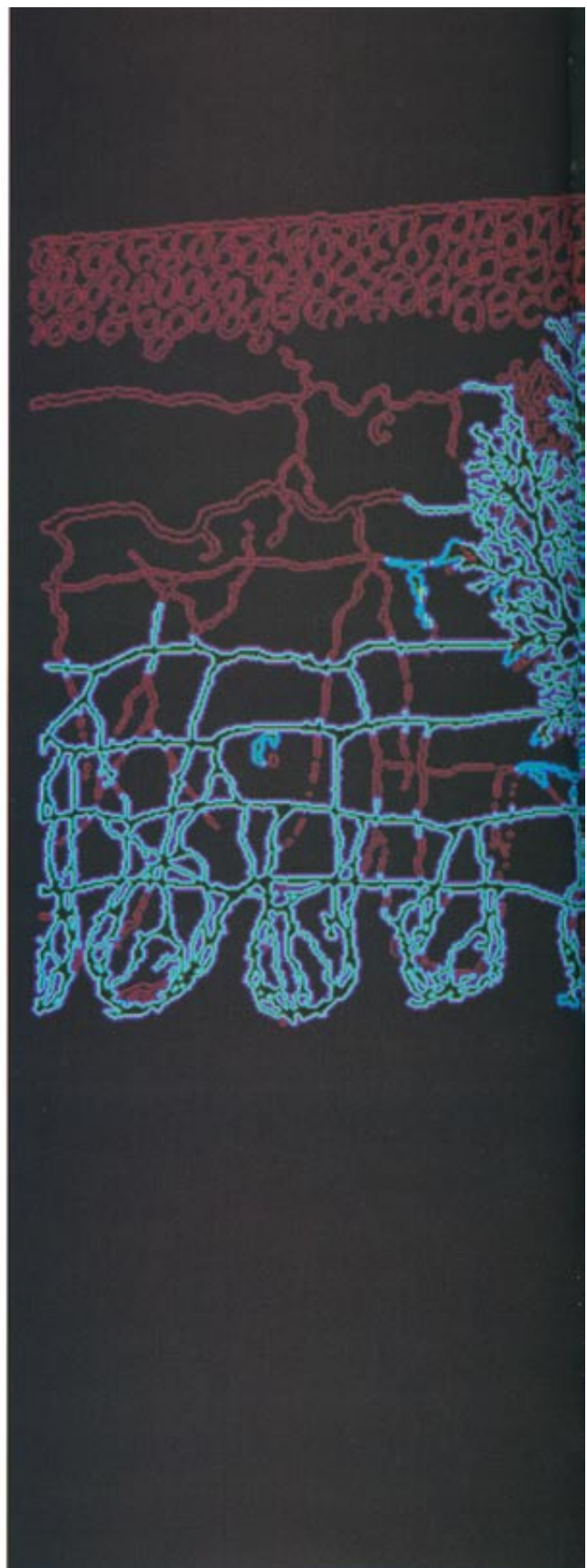
aproximaciones experimentales; así, se utilizan desde diversas técnicas espectroscópicas (RMN, FT-IR, fluorescencia, etc.) en el estudio de la conformación de macromoléculas, hasta técnicas electrofisiológicas para el registro del flujo iónico a través de los canales correspondientes o técnicas de mutagénesis dirigida para esclarecer el papel de zonas moleculares concretas en la función o la regulación de, por ejemplo, una proteína con actividad de neuroreceptor. La División de Neurobiología Molecular cuenta además con investigadores asociados (Drs. Francisco Rodríguez-Valera, Guadalupe Juez e Inmaculada Meseguer), que aportan al grupo su experiencia en biología molecular de procariotes.

La División de Neurobiología

Celular y del Desarrollo se aplica a la caracterización de algunos de los procesos celulares que intervienen en el funcionamiento del sistema nervioso. Si bien las técnicas empleadas son muchas veces las de la biología molecular o la biología de sistemas, el elemento común a los grupos de trabajo de esta División es su énfasis en los procesos que son específicos de las células nerviosas y que contribuyen de manera especial a determinar las características funcionales del sistema nervioso. Por este motivo, la mayor parte de las líneas de investigación de la División se relacionan en mayor o menor medida con tres temas principales: Canales iónicos, excitabilidad neuronal y transmisión de señales entre células. Las técnicas empleadas van desde las puramente bioquímicas, que permiten la identificación de proteínas involucradas en los procesos de secreción de neurotransmisores y hormonas, a las electrofisiológicas, utilizadas por ejemplo para caracterización de canales iónicos o estudios de plasticidad en las conexiones entre neuronas. Los procesos de secreción

Divisiones del Instituto

son estudiados en diversos modelos biológicos: Las células cromafines de la médula adrenal, donde se analizan con técnicas bioquímicas los canales de membrana y otras proteínas implicadas en el procesos secretor de catecolaminas, por parte de tres grupos de trabajo liderados por los Drs. Carmen González, Juan Antonio Reig y Salvador Viniegra. Las células beta pancreáticas, en las que se estudia su comportamiento electrofisiológico y el papel que juega el calcio y el pH intracelular en la secreción de insulina y la modulación por el sistema nervioso parasimpático de estos procesos; para ello se emplean colorantes fluorescentes intracelulares y técnicas de registro de canales de membrana por patch-clamp, quedando estos problemas a cargo de los Drs. Cristina Ripoll, Bernat Soria y Miguel Valdeolmillos. Los mecanismos celulares implicados en la liberación de catecolaminas por las terminaciones nerviosas son abordados también, con técnicas bioquímicas y electrofisiológicas por el Dr. Valentín Ceña, que emplea el modelo de sinapsis artificial consituido por el neuroma resultante de ligar el nervio hipogástrico. Los fenómenos que subyacen la excitabilidad neuronal se estudian en diferentes preparaciones mediante el uso de técnicas de registro intracelular. Así, el Dr. Andrés Morales analiza la expresión de canales iónicos neuronales en ovocitos de rana; en neuronas de ganglio simpático y de ganglio sensorial se investiga el funcionamiento de los canales para calcio por el Dr. Francisco Sala y el mantenimiento trófico de las propiedades eléctricas y conexiones sinápticas por el Dr. Roberto Gallego y su grupo; el Dr. Emilio Geijo utiliza neuronas centrales de rodajas cerebrales para investigar las características de las neuronas de los núcleos reticulares y su papel en el funcionamiento del tálamo. La división de

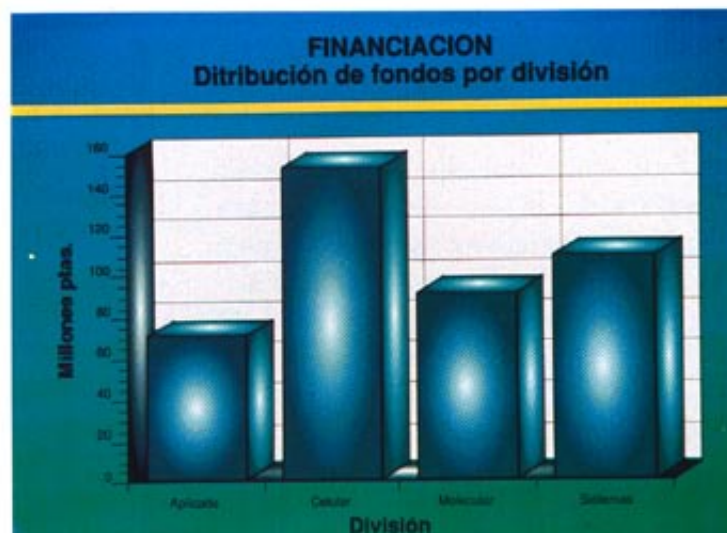




Neurobiología Celular y del Desarrollo tiene como investigadores asociados al Dr. Antonio García, de la Universidad Autónoma de Madrid y a los Drs. Salvador Martínez, Magdalena Martínez de la Torre y Luis Puelles, de la Universidad de Murcia, que mantienen lazos estables de colaboración científica con varios de los equipos citados.

La División de Neurobiología de Sistemas, Funciones Superiores y Comportamiento se caracteriza por su aproximación integrada a la estructura y función del sistema nervioso. Los grupos de trabajo a ella incorporados estudian algunas características morfológicas y funcionales de sistemas sensoriales específicos (auditivo y visual) así como mecanismos de aprendizaje o aspectos organizativos de las conexiones en corteza cerebral. En el sistema auditivo, el Dr. Jaime Merchán y los Drs. Joaquín Rueda y José Juiz están dedicados a la caracterización de residuos glicosídicos terminales y lugares iónicos en la tectoria y cubierta de las células receptoras cocleares, así como a la identificación de neurotransmisores y neuromoduladores en cóclea, núcleos cocleares, colículo inferior y corteza auditiva. Este último campo es también el área de interés del Dr. Pere Berbel y colaboradores, quienes mediante técnicas semejantes (inmunocitoquímica, inyección de trazadores, análisis de imagen, etc.) están dedicados al estudio de las vías de asociación corticales. En el sistema visual, los Drs. Joaquín de Juan y Nicolás Cuenca se hallan trabajando en el análisis de la sinaptología de las capas plexiformes interna y externa de la retina, con especial énfasis en algunos aspectos relevantes para patologías tan habituales como la enfermedad de parkinson y la ambliopía. El grupo dirigido por el Dr. Carlos Belmonte, junto con las Dras. Juana Gallar y Laura G.

Divisiones del Instituto



López-Briones, estudia los mecanismos periféricos de dolor y las interacciones tróficas neuronas-órgano diana, usando como modelo los nociceptores corneales tanto mediante registros electrofisiológicos en el animal intacto como empleando cultivos de tejidos de neuronas trigeminales y epitelio corneal, mediante técnicas electrofisiológicas y bioquímicas; este mismo grupo se dedica también al estudio de los mecanismos nerviosos de regulación de la presión intraocular. El Dr. Lukas Domich centra su trabajo en el análisis funcional de las vías auditivas y en el estudio de los cambios que tienen lugar durante el stress en la actividad electrofisiológica tálamo-cortical, la respuesta inmune, general y específica y el comportamiento. A su vez, el Dr. Juan Vicente Sánchez emplea el registro intracelular en neuronas del hipocampo para estudiar las modificaciones electrofisiológicas neuronales inducidas por el aprendizaje.

La División de Neurociencia

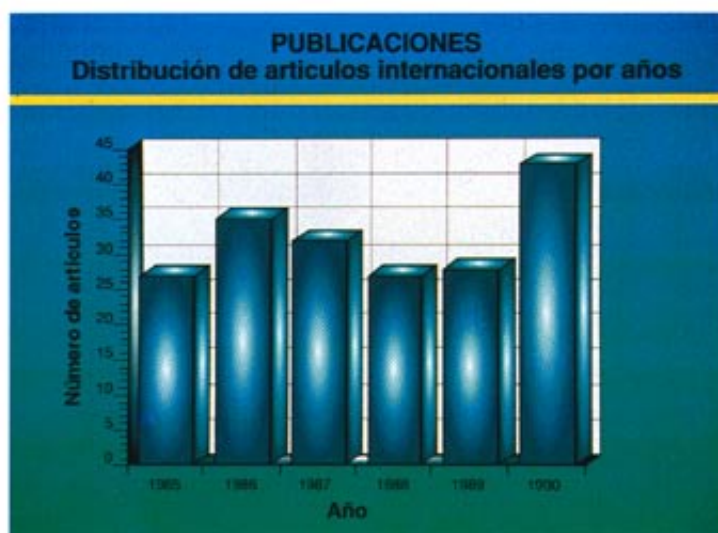
Clínica y Aplicada pretende englobar a aquellos grupos de investigación cuyo trabajo tiene una orientación más inmediata hacia la solución de problemas fisiológicos o patológicos del sistema nervioso del ser humano, empleando para ello técnicas bioquímicas, morfológicas, electrofisiológicas o farmacológicas. El grupo investigador que dirige el Dr. Jaime Miquel está enfocado hacia el envejecimiento del sistema nervioso, tratando de establecer los parámetros bioquímicos, sanguíneos y tisulares, asociados con el envejecimiento, la influencia de patrones ambientales (la gravedad, por ej.) en la modulación del proceso de envejecimiento y el papel de algunos fármacos (antioxidantes, calcioantagonistas) en el envejecimiento celular. El grupo del Dr. Mariano Pérez-

Arroyo estudia en humanos, mediante técnicas de neurofisiología clínica las respuestas corticales y subcorticales en distintos tipos de patologías. Los problemas del sueño constituyen para este equipo un capítulo de especial interés. El equipo de los Drs. Eugenio Vilanova y José L. Vicedo está enfocado a abordar los efectos neurotóxicos de los organofosforados, analizando los mecanismos enzimáticos por los que estas sustancias ejercen sus acciones lesivas sobre las neuronas y los cambios bioquímicos, electrofisiológicos y morfológicos que producen en dichas neuronas. Finalmente, el Dr. José Francisco Horga y sus colaboradores estudian la participación del sistema nervioso autónomo en dos grandes grupos de procesos patológicos: los inmunoinflamatorios, empleando como modelo paradigmático la artritis reumatoide o la experimental, y los resultantes de la isquemia cerebral. En ambos casos se recurre a una aproximación neuroquímica, farmacológica e histológica, empleándose técnicas de cromatografía líquida de alta presión, radioinmunoensayo, radioenzimoinmunoensayo, inmunofluorescencia de luz polarizada y técnicas de registro poligráfico de flujos y presiones vasculares así como métodos histológicos convencionales. El Dr. Jesús Rodríguez-Marín, catedrático de Psicología, es investigador asociado en esta División.

La División de Neurociencia Clínica y Aplicada pretende ser la contribución del Instituto a la solución de algunos de los problemas neuropatológicos inmediatos con que se enfrenta la biomedicina actual y por tanto, la Sociedad. No obstante, cabe señalar que, pese a su orientación más básica, los temas abordados por las Divisiones de Neurobiología Molecular, Celular y de Sistemas poseen también un interés práctico fundamental: Los trastornos en la transmisión neuromuscular, las



respuestas neuronales a la lesión, la acción de fármacos sobre receptores de membrana, el control de la secreción de insulina y de neurotransmisores, el tratamiento periférico del dolor, el glaucoma o las prótesis auditivas, son ejemplo de algunos de los aspectos aplicados de la neurobiología, que la investigación básica llevada a cabo en el Instituto de Neurociencias de Alicante puede contribuir a solucionar. Ello solo es posible gracias a un continuado apoyo social y al esfuerzo diario de los investigadores del Instituto.



Miembros del Instituto de Neurociencias

Neurobiología molecular:

Investigadores

Manuel Criado
José Ferragut
José Manuel González Ros
Fernando Moya
Salvador Sala

Colaboradores

Investigadores Asociados

Guadalupe Juez
Inmaculada Meseguer
Francisco Rodríguez Varela

Neurobiología celular y del desarrollo

Investigadores

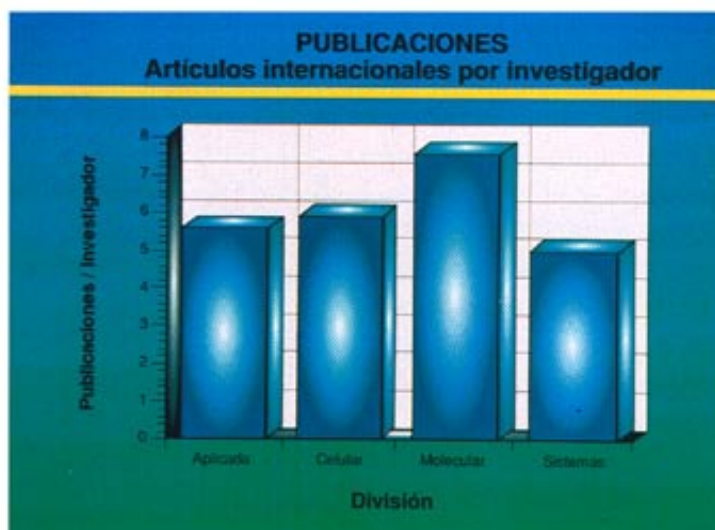
Valentín Ceña
Roberto Gallego
Emilio Geijo
Carmen González
Laura González
Andrés Morales
Juan Antonio Reig
Cristina Ripoll
Francisco Sala
Bernat Soria
Miguel Valdeolmillos
Salvador Viniegra

Colaboradores

Juan José Ballesta
Luis M. Gutiérrez
María José Hidalgo
Isabel Ivorra
Mercedes Palmero

Investigadores Asociados

Antonio G. García
Margarita Martínez
Salvador Martínez
Luis Puelles



Neurobiología de sistemas, funciones superiores y comportamiento:

Investigadores

Carlos Belmonte
Pere Berbel
Nicolás Cuenca
Lukas Domich
Joaquín de Juan
Juana Gallar
José Juiz
Laura G. López-Briones
Jaime Merchán
Joaquín Rueda
Juan Vicente Sánchez

Colaboradores

Antonia Angulo
Eduardo Fernández
Ana Guadaño
Jorge J. Prieto

Investigadores Asociados

Miguel Merchán
Manuel Vidal

Neurociencia aplicada:

Investigadores

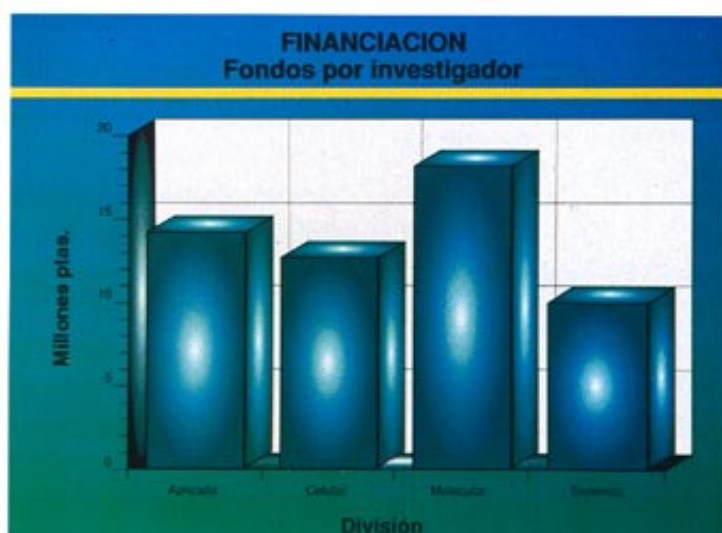
José Horga
Jaime Miquel
Mariano Pérez Arroyo
José Luis Vicedo
Eugenio Vilanova
Clara C. Faura

Colaboradores

José Barril
Victoria Carrera
Raúl Insa

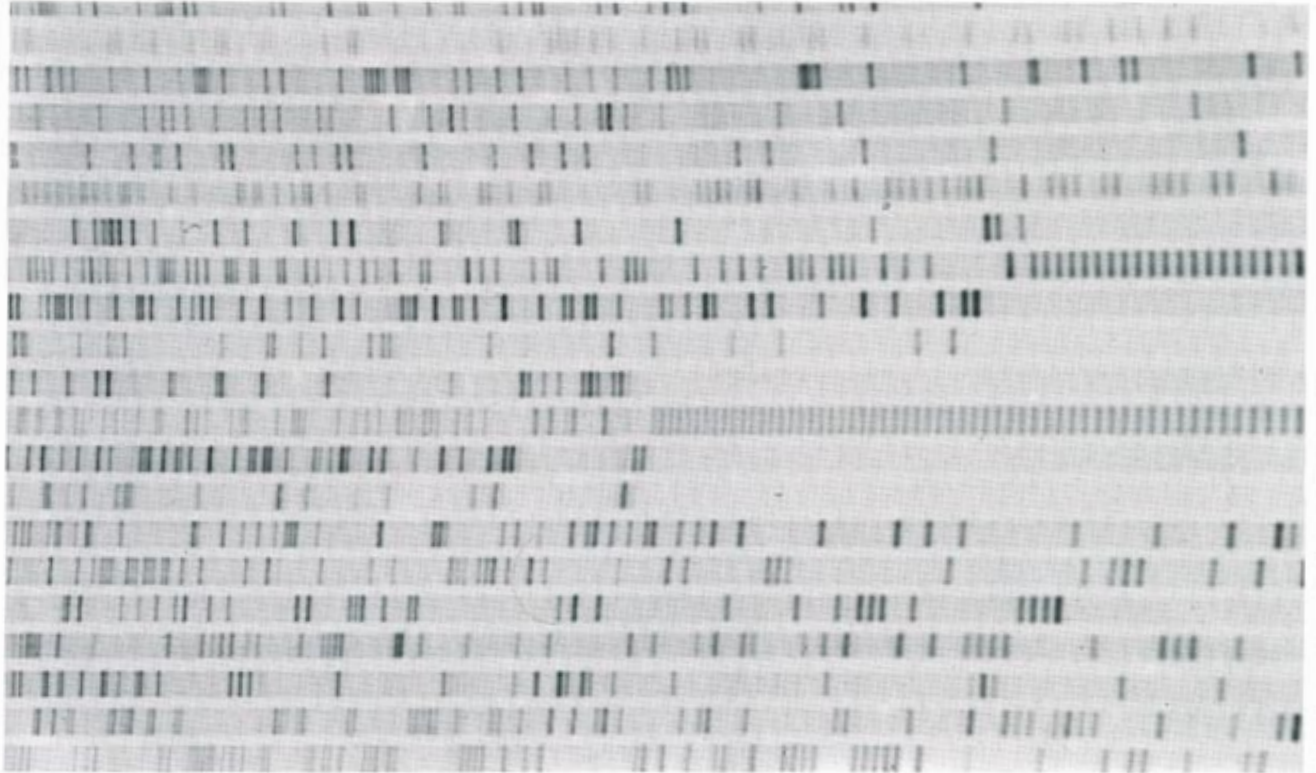
Investigadores Asociados

Jesús Rodríguez Marín



Líneas de trabajo del Instituto

Neurobiología Molecular



Manuel Criado

La célula cromafín de la médula adrenal constituye un excelente sistema para el estudio de variados procesos de origen neuronal, tales como los fenómenos de neurosecreción y los mecanismos involucrados en la plasticidad y desarrollo sinápticos. Los receptores a sustancias neurotransmisoras y los canales iónicos de la membrana plasmática juegan un papel primordial en estos fenómenos, ya que intervienen en la comunicación intercelular y transmiten las señales externas al interior celular.

El grupo que dirige Manuel Criado está interesado en el estudio del receptor nicotínico de acetilcolina de tipo neuronal que se expresa en las células cromafines así como en algunos otros canales iónicos que presumiblemente juegan un papel mediador en la secreción. Las técnicas que actualmente utiliza están dirigidas al clonaje molecular de estas proteínas, con el fin de elucidar su estructura primaria. Esto facilitará posteriores estudios sobre la bioquímica y la biología celular (relaciones estructura-función y control de la expresión genética, respectivamente) de estas moléculas, lo que resulta difícil de realizar por medio de técnicas clásicas.

Se espera de esta forma ahondar en la fisiología de la célula cromafín, así como aportar conocimiento sobre receptores y canales iónicos en las células nerviosas, empleando un modelo menos complejo y mejor definido que los usados hasta el momento.

José Ferragut

El grupo de investigación que lidera José Ferragut está interesado en el estudio de fenómenos biológicos en los que participan las membranas celulares. Dos son las líneas de trabajo que se están llevando a cabo: a) Influencia de la matriz lipídica en las propiedades funcionales del receptor nicotínico de acetilcolina y b) Papel de la membrana plasmática en la resistencia celular a fármacos antineoplásicos.

La primera de las líneas de investigación, contempla el papel del componente lipídico de las membranas en la estabilidad estructural del receptor nicotínico. Mediante el uso de derivados fotoactivables de lípidos presentes en las membranas de Torpedo, se están llevando a cabo estudios de caracterización de sitios del receptor, susceptibles de interacción directa con dichos lípidos. En la actualidad, dichos estudios se extienden al receptor purificado y reconstituido en diversos sistemas artificiales de composición lipídica controlada.

Recientes resultados relativos a la segunda línea de investigación, demuestran una directa interacción de fármacos antitumorales (antraciclinas), con la membrana plasmática de células de leucémicas. Estudios de transporte (captación y eflujo) mediante citometría de flujo y/o cinética rápida de antraciclinas en líneas tumorales sensibles y resistentes a dichos fármacos, evidencian diferencias importantes entre ambos fenotipos celulares. Se están analizando los mecanismos básicos de dichos procesos, en relación con la existencia o no de transportadores específicos. Como apartado dentro de esta línea de trabajo, se estudia también el fenómeno de reversión de resistencia. Nuestros datos indican que la acción de fármacos promotores de dicha reversión puede llevarse a cabo, al menos parcialmente, a nivel de la membrana celular.



José Manuel González-Ros

El interés del grupo dirigido por José Manuel González-Ros se centra en el estudio de aspectos estructurales y funcionales de las membranas biológicas y sus componentes, con especial énfasis en 1) el receptor nicotínico de Acetilcolina (AcChR) como modelo de proteína integral de membrana con actividad de neuroreceptor/canal iónico, y 2) el papel de la membrana plasmática de células tumorales en la interacción con antineoplásicos. El objetivo final en relación con el AcChR, es contribuir a la descripción completa de los mecanismos moleculares responsables de su función y de su regulación, así como a identificar los componentes estructurales implicados en la unión de ligandos, la formación del canal iónico, la interacción con componentes lipídicos de la membrana postsináptica, la aparición de fenómenos autoinmunes, etc.

Líneas de trabajo del Instituto

La cobertura de los objetivos planteados implica, frecuentemente, la utilización del AcChR procedente del órgano eléctrico de Torpedo que, al poder obtenerse purificado y reconstituido en grandes cantidades, permite la aplicación de estrategias experimentales, que, de otro modo, serían imposibles de aplicar.

En relación con el segundo proyecto, se intenta definir la relevancia de la membrana plasmática de células tumorales, en los mecanismos de citotoxicidad de antineoplásicos y en la adquisición y reversión de la resistencia celular a dichos fármacos, por parte de células tumorales modelo.

Las técnicas de trabajo empleadas incluyen distintos tipos de espectroscopias (fluorescencia, RMN, CD, RT-IR), calorimetrías, cromatografías o electroforesis, cultivos celulares, reconstitución de membranas o registros de patch-clamp.

Fernando Moya

Fernando Moya dirige un grupo cuyo interés se centra en el estudio de la expresión de varios componentes del citoesqueleto neural que parecen esenciales a la diferenciación y función de las neuronas. Además de su papel estructural, existen evidencias de la participación del citoesqueleto en la dinámica de diversos procesos de regulación celular. Por otra parte el estudio del citoesqueleto neuronal ha cobrado un interés adicional al ponerse de manifiesto que las alteraciones de su estructura constituyen uno de los aspectos centrales de diversos procesos patológicos que conducen a la degeneración neuronal.

El grupo de investigación de F. Moya ha seleccionado varios anticuerpos

monoclonales contra el sistema nervioso de *Drosophila melanogaster* que reconocen antígenos equivalentes en el sistema nervioso de vertebrados. Los resultados de la caracterización bioquímica parcial y el análisis de su expresión en el sistema nervioso de vertebrados, ha permitido definir tentativamente la naturaleza de dos de estos antígenos. Uno de ellos reconoce el equivalente en *Drosophila* de una de las proteínas asociadas a microtúbulos (MAP 1b). El segundo reconoce una proteína de Mw 38 kDa que por sus características se asemeja a la sinaptofisina, proteína integral de la membrana de las vesículas sinápticas. Se trata pues, en ambos casos, de moléculas para las que se sospecha una función clave en la diferenciación y función neuronal.

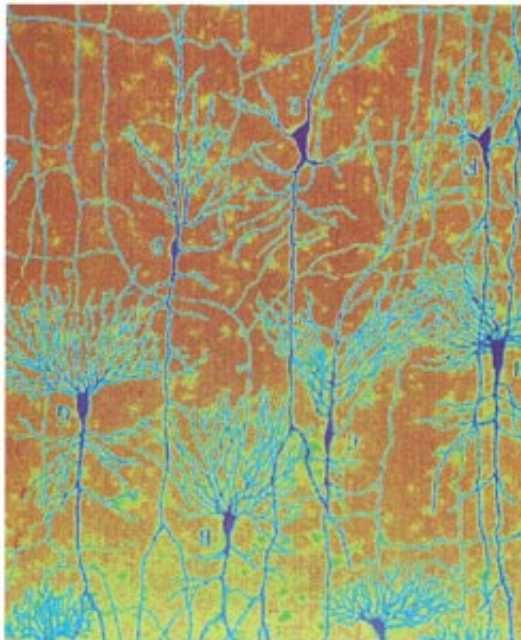
Los estudios iniciales sobre el primero de estos antígenos se han completado con un análisis de la expresión de MAP1b en cultivos de células sensoriales, estudiando en paralelo la expresión y distribución subcelular de otros antígenos del citoesqueleto (MAP2, beta-tubulina, tubulina acetilada y tau). El segundo anticuerpo monoclonal ha servido de sonda para clonar, a partir de una librería de expresión, el gen que codifica esta proteína en el sistema nervioso de *Drosophila*. Uno de los clones aislados codifica la casi totalidad de la molécula y ha sido secuenciado. La secuencia de aminoácidos derivada de este clon sugiere de nuevo una semejanza estructural con la sinaptofisina, aunque se trata de dos moléculas claramente diferentes. En la actualidad se procede al aislamiento de clones de este gen en una librería genómica y a determinar su localización en el genoma de *Drosophila*. Ambos son pasos necesarios para el aislamiento de mutantes en este gen, con objeto de evaluar el papel fisiológico de esa molécula, que por sus características debería ser necesaria para el proceso de neurotrasmisión.

Salvador Sala

La célula beta pancreática tiene un patrón de actividad eléctrica rítmica cuando es estimulada por concentraciones altas de glucosa extracelular. Los mecanismos iónicos responsables de dicha actividad siguen sin estar totalmente claros, entre otras razones, porque aún se discute el repertorio de canales iónicos que posee la célula beta y el posible papel de cada uno de ellos.

El Dr. Salvador Sala está interesado en la investigación de las propiedades biofísicas de los distintos tipos de canales de calcio presentes en la célula beta, y en su papel en la generación de la actividad eléctrica de estas células.

Las técnicas empleadas incluyen el registro de canales aislados en parches de membrana, corrientes totales en célula entera, y potenciales de acción en células aisladas.



Neurobiología Celular y del Desarrollo

Valentín Ceña

El Dr. Valentín Ceña dirige un grupo de investigación centrado en el estudio del sistema nervioso adrenérgico. La secreción de catecolaminas en las terminaciones nerviosas adrenérgicas ha sido ampliamente estudiada desde un punto de vista farmacológico y bioquímico. No obstante, se desconocen al detalle cuáles son los fenómenos eléctricos que acompañan la secreción de neurotransmisor. Esta falta de información es debida a que en el tejido innervado, las terminaciones nerviosas constituyen solamente un 1% del tejido total. Este grupo de investigación ha desarrollado un modelo

de terminación nerviosa gigante libre de célula efectora: el nervio hipogástrico ligado de gato, que puede ser de gran utilidad para obtener información sobre los fenómenos eléctricos que acompañan la secreción de noradrenalina. Estudios farmacológicos previos han demostrado que esta preparación posee muchas de las propiedades que presentan las terminaciones nerviosas noradrenérgicas como son: el acúmulo de vesículas que almacenan el neurotransmisor, la presencia de calmodulina o la existencia y transporte axoplásmico de receptores colinérgicos. Los objetivos de este grupo son, por una parte, establecer una correlación entre la secreción del neurotransmisor y los fenómenos eléctricos que están relacionados con la misma, utilizando las técnicas de registro electrofisiológico, tanto a nivel de canal único como de corrientes totales y, por otra, estudiar la regulación de los canales iónicos implicados en la secreción y determinar el papel que dicha regulación juega en la secreción del neurotransmisor.

Líneas de trabajo del Instituto

Roberto Gallego

El tema general de trabajo en el laboratorio del Dr. Gallego es el estudio de los mecanismos de determinación y mantenimiento de las propiedades eléctricas y de las conexiones neuronales.

Concretamente, se está empleando técnicas de registro intracelular y de fijación de voltaje con microelectrodos en ganglios simpáticos y sensoriales de mamífero, para caracterizar las corrientes iónicas que se modifican con la axotomía o con la atrofia del tejido diana de la célula. El objetivo es investigar si estas corrientes son mantenidas en el animal adulto por factores tróficos, NGF por ejemplo, y cual es el papel de estos últimos en el desarrollo de tales corrientes. A largo plazo, otro de los objetivos de este campo es la investigación de los mecanismos de acción de los factores tróficos sobre las corrientes iónicas, proyecto en el que colabora con otros laboratorios

del Instituto. Por último, el grupo del Dr. Gallego está también interesado en determinar el papel que juegan los factores tróficos que actúan retrogradamente sobre el soma neuronal en el mantenimiento de las conexiones sinápticas. En este trabajo se emplean como modelos los ganglios del sistema nervioso autónomo, concretamente ciliar, estrellado y cervical superior, utilizando técnicas electrofisiológicas para el estudio de la conectividad sináptica.



Emilio Geijo

Los intereses científicos del laboratorio del Dr. Geijo en el momento actual se centran en el estudio de las propiedades funcionales de las neuronas de distintas áreas del sistema nervioso central. Los resultados obtenidos por otros investigadores muestran que los distintos tipos neuronales poseen propiedades fisiológicas y farmacológicas muy diferentes y que esta diversidad funcional de las neuronas, junto con los distintos circuitos sinápticos, constituyen la base celular de las diferentes funciones cerebrales.

En particular, este grupo está interesado en el estudio de las propiedades funcionales de las neuronas talámicas siguiendo dos líneas experimentales concretas. La primera de ellas es el estudio de las propiedades electrofisiológicas de las neuronas del núcleo reticular del tálamo; éste es un núcleo de neuronas inhibitorias que proyectan sobre el resto del tálamo y cuya actividad eléctrica determina la sincronización y actividad rítmica que presenta el tálamo durante la fase de sueño no-REM. La segunda línea experimental es el estudio de las propiedades cinéticas y farmacológicas de una corriente de calcio muy característica (la corriente de Ca^{+2} de bajo umbral o de tipo T) que está presente en todas las neuronas principales talámicas. Esta corriente iónica es uno de los factores que determinan la generación de actividad rítmica en el tálamo y los cambios de actividad de las neuronas talámicas en distintos estados funcionales.

Para llevar a cabo este tipo de trabajo se utiliza preparaciones *in vitro*, como la preparación de rodajas cerebrales. Esta técnica permite mantener viables cortes finos de distintas regiones cerebrales en los que es posible utilizar microelectrodos de vidrio para obtener registros intracelulares de calidad, utilizar técnicas de voltage-

clamp para el estudio de corrientes iónicas, estudiar los efectos de fármacos y neurotransmisores, etc.

Carmen González

El laboratorio de la Dra. Carmen González tiene en este momento dos líneas de investigación diferentes. La primera de ellas estudia los mecanismos de liberación de catecolaminas (CA), en la célula cromafin bovina en cultivo: Uno de los mecanismos por los cuales estas células producen liberación de CA es el bloqueo de la enzima Na^+ , K^+ , ATPasa. Actualmente están descritos varios isoenzimas de la Na^+ , K^+ ATPasa, distribuidos de diferente manera por los distintos órganos en las diferentes especies. Este grupo de trabajo pretende determinar qué tipos de isoenzimas están presentes en la célula cromafin bovina y su papel en la liberación fisiológica de CA.

Otra línea de investigación se relaciona con la hipertensión arterial, tanto primaria o esencial, como secundaria y con sus mecanismos patogénicos. La tensión arterial (TA) está regulada en los mamíferos por núcleos de SNC localizados en áreas circunventriculares situadas tanto dentro como fuera de la barrera hematoencefálica. En estos núcleos existen diversas poblaciones de receptores. En modelos animales de hipertensión primaria (SHR) y secundaria (Doca, Salt y Doca-Salt) existen importantes modificaciones de esta población receptorial sugiriendo que la misma sea una vía final común en la patogénesis de la hipertensión. Las preguntas que se pretenden responder son: ¿Es ésta realmente una vía final común en la patogénesis de cualquier tipo de hipertensión?, y ¿cuándo conseguimos hacer retornar la TA a sus valores normales mediante la terapéutica adecuada, qué ocurre con los receptores?

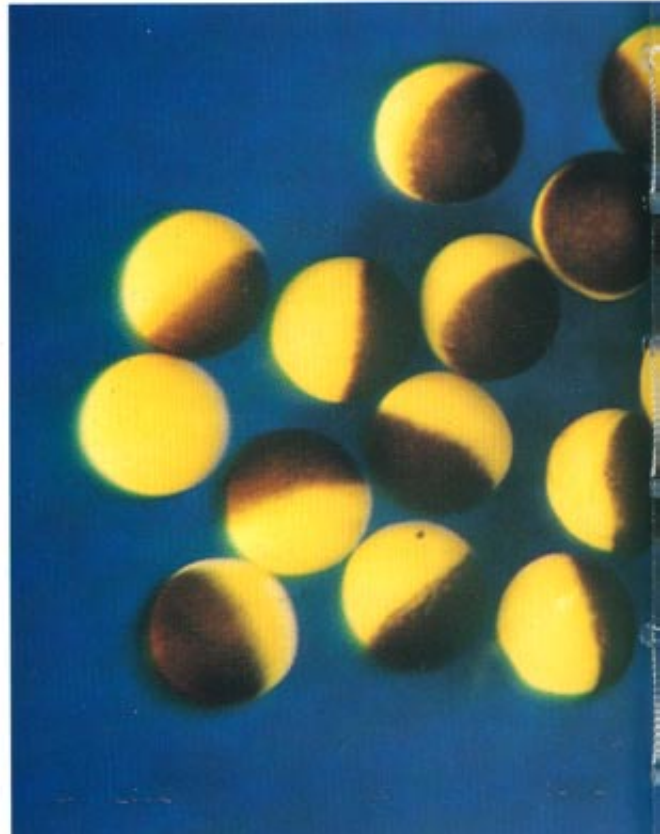
Líneas de trabajo del Instituto

Andrés Morales

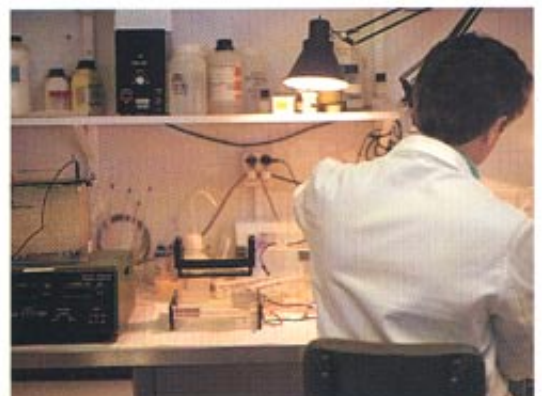
Las propiedades de los receptores a neurotransmisores de la membrana neuronal se han estudiado mediante diversas técnicas, entre las que cabe destacar al menos las siguientes: a) el cultivo de neuronas, que permite el estudio de las propiedades "in vitro" de los receptores durante el crecimiento y desarrollo neuronal; b) la creación de membranas artificiales y la incorporación en ellas de los receptores y proteínas asociadas que se pretenden estudiar y c) el "transplante" de los receptores neuronales a células que no los poseen y que son más abordables para su estudio. Esta última técnica, con la que el Dr. Morales ha estado trabajando los dos últimos años en el grupo del Prof. R. Miledi en Irvine, California, USA, se basa en el aislamiento y purificación del RNA mensajero que codifica los receptores a estudiar y su inyección en ovocitos de *Xenopus laevis*. En la actualidad, está estudiando con esta técnica las propiedades de los distintos tipos de receptores a glicina presentes en la médula espinal, que son los responsables de la mayor parte de las sinápsis inhibitorias a este nivel del sistema nervioso central.

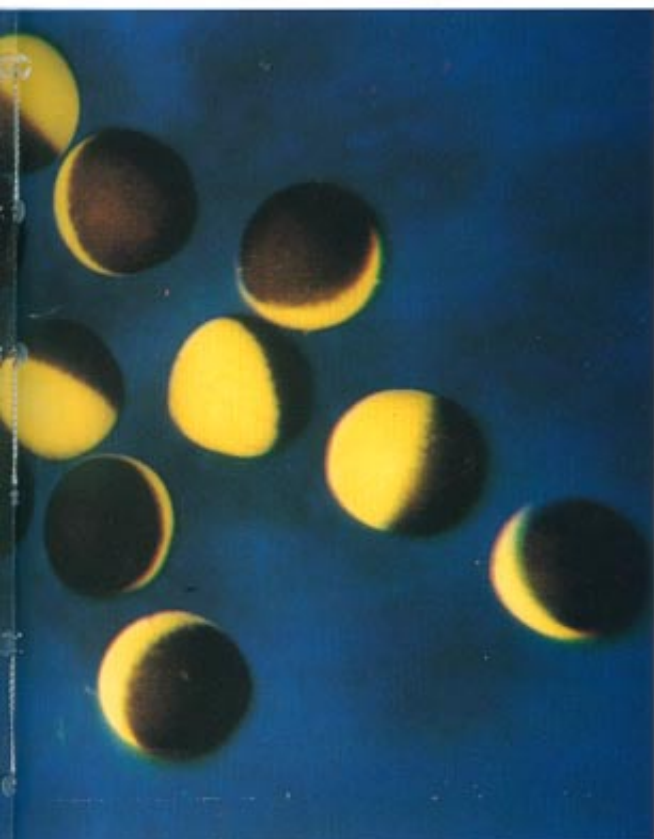
Ciertos neurotransmisores, como la serotonina, al activar su receptor específico dan lugar a respuestas complejas y de larga duración. Estos neurotransmisores, interaccionan con los receptores de las células diana dando lugar a la formación de "segundos mensajeros". Un tipo de ellos es el grupo de los fosfoinosítoles, que se activa a partir de la hidrólisis a nivel de la membrana celular del fosfatidil-inositol 4,5 bifosfato.

Se sabe que los fosfoinosítoles son capaces de regular distintos procesos celulares como son metabolismo, secreción, contracción, respuestas neuronales y proliferación celular. Todo ello lo realizan mediante la regulación de los niveles



intracelulares y/o la entrada de calcio desde el medio extracelular. Profundizar en los mecanismos de control celular del calcio por los fosfoinosítoles en ovocitos de *Xenopus laevis* es otro de los principales objetivos de este grupo para los próximos años.





Juan A. Reig

El proyecto de investigación en el que J.A. Reig y su equipo está trabajando se centra en la bioquímica de la neurosecreción. Su laboratorio ha trabajado durante los últimos años en dos líneas preferentes: la primera referida a los posibles mecanismos celulares que regulan el proceso secretor, distinguiendo entre aquellos que afectan directamente a los canales de calcio, valorados por la captación de calcio radioactivo por las células, de los que actúan a nivel de la maquinaria secretora intracelular. En este sentido ha establecido la sensibilidad de los canales de calcio de la célula cromafín a diferentes agentes, entre ellos los nucleótidos cíclicos, las dihidropiridinas y la *w*-conotoxina. En la segunda línea de trabajo se pretende valorar el papel de los procesos de fosforilación-defosforilación de proteínas en el proceso secretor, estudiando

la relación existente entre la actividad de las diferentes proteínas kinasa, enzimas responsables de la fosforilación proteica, y la liberación de catecolaminas. Se ha identificado mediante electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida, una veintena de proteínas cuyo nivel de fosforilación se ve afectado tras el estímulo secretor. Estas proteínas fueron identificadas por su peso molecular y su punto isoelectrico. En principio, en este grupo de proteínas se identificó a la tirosina hidroxilasa y a la cadena ligera de la miosina, cuyo papel en la secreción está actualmente en estudio. Tal observación podría implicar la posible participación de elementos del citoesqueleto en el proceso de secreción. La caracterización de las restantes proteínas del grupo está siendo abordada mediante técnicas inmunológicas y de biología molecular.

Francisco Sala

Durante los últimos años el trabajo del Dr. Sala y su grupo se ha dirigido al estudio en células nerviosas de los movimientos del ión calcio, un elemento crucial en los procesos de comunicación intracelular, bajo diferentes aproximaciones: Estudio de las corrientes de calcio a través de canales sensibles al voltaje mediante técnicas electrofisiológicas, análisis de la dinámica del calcio intracelular mediante técnicas de fluorescencia, y estudio teórico de los factores que afectan a los anteriores mediante modelos matemáticos y simulaciones en ordenador.

En el momento actual se desarrollan dos líneas principales de investigación. La primera utiliza como modelo la célula cromafín y en coordinación con otros grupos del Instituto, se pretende estudiar: las vías de entrada de calcio al citoplasma, especialmente en lo que concierne a la

Líneas de trabajo del Instituto

modulación de las corrientes de calcio por neurotransmisores; la redistribución del calcio intracelular tras estímulos de diversa naturaleza, y la utilización de los datos experimentales para estudios teóricos en un modelo matemático de neuronas que incluya entrada, difusión, secuestro, liberación y bombeo de calcio.

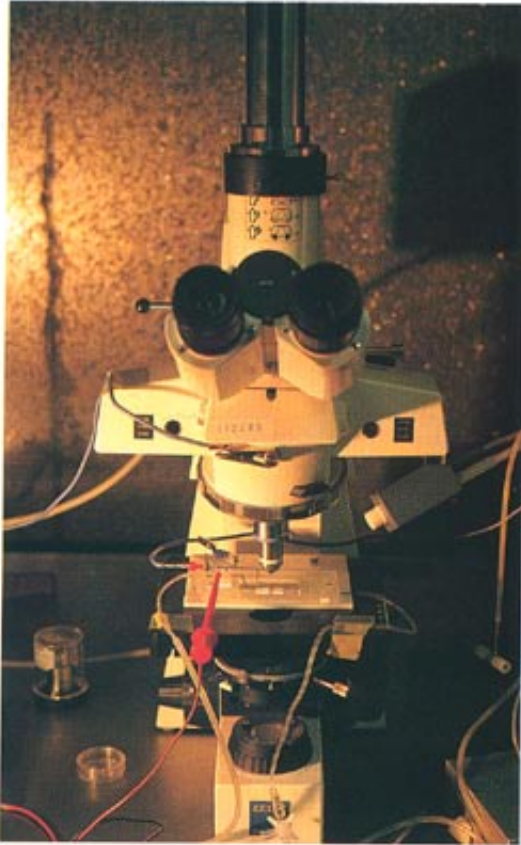
Otra línea de investigación de este grupo se orienta al estudio de los mecanismos de compuerta y permeación de canales iónicos asociados a receptores. La aproximación experimental a este tema se basa en el aislamiento y purificación de los receptores en tejidos neuronales, la incorporación de éstos a membranas artificiales (liposomas), y el registro de corrientes iónicas a través de canales únicos mediante técnicas de fijación de voltaje en parches de membrana ("patch-clamp").



Bernat Soria / Cristina Ripoll

El grupo del Dr. Soria está interesado en profundizar en los mecanismos iónicos del acomplamiento estímulo-secreción en diferentes modelos experimentales: la célula cromafín como modelo de neurosecreción catecolaminérgica y la célula beta pancreática como modelo de neurosecreción peptidérgica. En ambos casos se trata de células excitables en las que la cascada de acontecimientos que acopla el estímulo a la secreción incluye la activación o el bloqueo de permeabilidades iónicas. La célula beta pancreática es, además un modelo de glucorrecepción y de actividad oscilatoria.

La metodología utilizada incluye: a) registro intracelular del potencial de membrana utilizando microelectrodos de vidrio de alta resistencia (100-200 M), b) "patch-clamp" en cualquiera de sus variedades (parches escindidos, registro en célula entera, etc.) y c) monitorización de actividades iónicas en el citosol mediante la utilización de sondas fluorescentes. Recientemente este grupo ha descrito las oscilaciones de calcio libre intracelular en la célula beta pancreática y su relación con las oscilaciones del potencial de membrana. Asimismo, en colaboración con el Departamento de Fisiología de la Universidad de Valladolid y utilizando técnicas de análisis de imagen de Ca^{+2} , han descrito la descarga sincrónica de toda la población de células beta en el islote de Langerhans. La combinación del patch-clamp con la microfluorescencia está permitiendo indagar los mecanismos de génesis de las variaciones de calcio libre citosólico en células excitables (células cromafines, neuronas sensoriales primarias, etc.).



Miguel A. Valdeolmillos

El proceso de acoplamiento entre un estímulo externo y la respuesta celular, está mediado por cambios en la concentración intracelular de segundos mensajeros, entre los cuales cabe destacar el calcio. El interés de este grupo se centra en el estudio de los mecanismos que controlan la concentración intracelular de calcio en dos preparaciones celulares diferentes, las células beta pancreáticas y las células del núcleo ventro-medial del hipotálamo. Ambos tipos celulares tienen en común su sensibilidad a cambios en la concentración extracelular de glucosa y su participación en el control de la glucemia.

Las células beta pancreáticas responden a aumentos de la glucosa generando una actividad eléctrica cíclica que se traduce en oscilaciones del calcio intracelular. Dichos cambios de calcio serían en último término uno de los

componentes fundamentales del estímulo para la secreción de insulina.

El papel de núcleo ventro-medial en el control de la glucemia es mucho menos conocido. Por una parte parece estar asociado a la sensación subjetiva de saciedad y por otro lado, mediante conexiones nerviosas con el páncreas endocrino establecería un arco integrativo que une el nivel central y periférico en el control de la glucemia. Específicamente, este grupo está interesado en establecer si los mecanismos iónicos subyacentes al proceso de gluco percepción son semejantes en ambas células.

Las técnicas empleadas consisten en la medida de calcio intracelular a nivel unicelular mediante el uso de indicadores fluorescentes y el registro simultáneo de la actividad eléctrica con microelectrodos y técnicas de "patch-clamp".

Salvador Viniegra

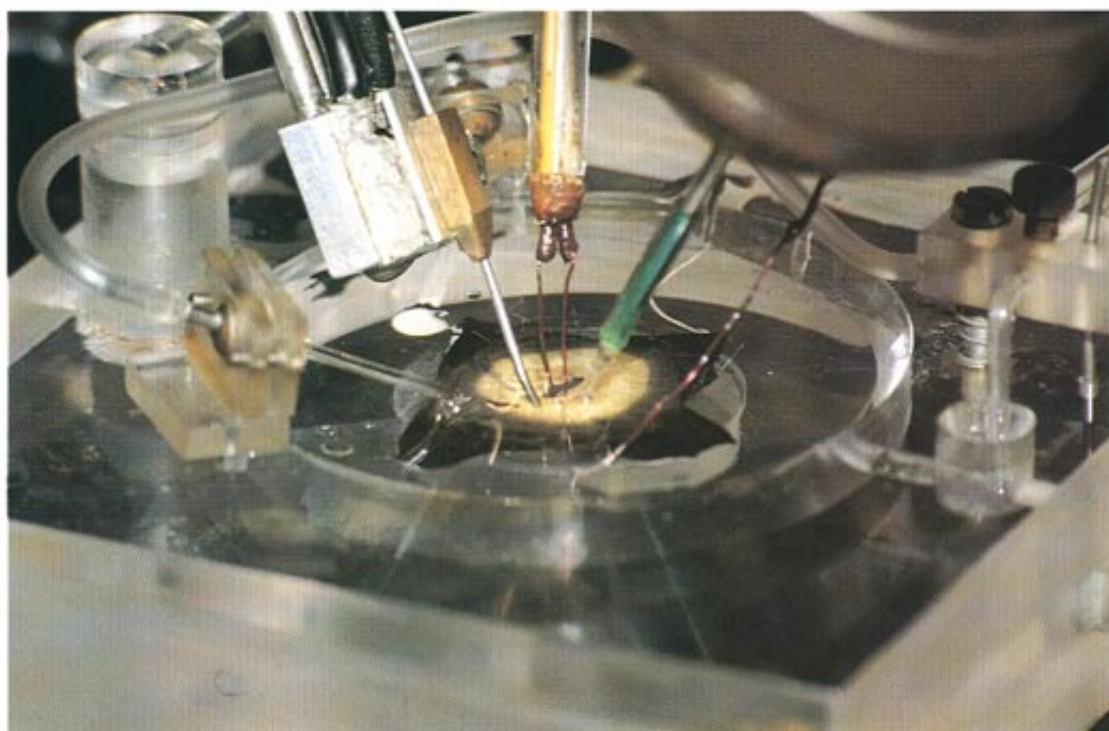
En el acoplamiento entre la llegada del mensaje excitatorio y la liberación de los neurotransmisores existe una gran variedad de pasos moleculares en los que el calcio juega un papel esencial. El interés del grupo de investigación del Dr. S. Viniegra está dirigido hacia la caracterización molecular del receptor dihidropiridínico asociado al canal de calcio dependiente de voltaje y localizado en la membrana plasmática de la

Líneas de trabajo del Instituto

célula cromafín, por ser ésta la estructura molecular encargada de controlar el movimiento de calcio al interior celular. Para ello se está empleando la técnica de fijación de radioligandos dihidropiridínicos y determinando las constantes cinéticas del proceso, o las constantes de equilibrio como K_d o B_{max} . Paralelamente a los estudios en membrana plasmática, este grupo ha demostrado recientemente la presencia de un receptor para dihidropiridinas, localizado en la membrana interna mitocondrial, que quizás pueda explicar algunos de los efectos de estas moléculas que no pueden atribuirse a la interacción con el receptor localizado en la membrana plasmática. El estudio de este nuevo receptor se está abordando actualmente bajo dos vertientes, por una parte se ha solubilizado y determinado sus características de fijación para, tras su purificación y caracterización molecular, ser

reconstituido en un sistema artificial de membrana exento de otros componentes nativos. De otra parte se está realizando medidas de captación y eflujo con $^{45}\text{Ca}^{2+}$ en mitocondrias aisladas para determinar si el receptor dihidropiridínico mitocondrial se encuentra asociado al uniportador de calcio (inhibido por rojo ruterio), o bien al intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ descrito en mitocondrias de tejidos excitables.

Neurobiología de Sistemas, Funciones Superiores y Comportamiento



**Carlos Belmonte / Juana Gallar /
Laura G. López-Briones**

El trabajo de investigación de este grupo está orientado al estudio de: 1. Los mecanismos periféricos del dolor; 2. Las interacciones tróficas entre neuronas sensoriales primarias y su órgano diana y 3. La regulación nerviosa de la presión intraocular. La primera línea tiene como objetivo general clarificar los mecanismos de transducción, en las terminaciones nerviosas nociceptoras, de los estímulos lesivos (mecánicos, químicos, térmicos) y su modulación por los mediadores de la inflamación. Para este tipo de investigaciones se emplea como modelo la córnea y su inervación sensorial trigeminal, utilizando técnicas de registro extracelular de fibras nerviosas aisladas en gato. El segundo aspecto del trabajo de este grupo se dirige a analizar la influencia de las neuronas sensoriales primarias o ganglionares simpáticas sobre el trofismo de los tejidos diana por ellas inervados, así como la influencia de las células de dichos tejidos sobre sus neuronas. Los experimentos se realizan con células ganglionares simpáticas o neuronas sensoriales del ganglio trigémino, aisladas o cocultivadas con células del epitelio corneal, midiéndose en estos diferentes tipos celulares la actividad eléctrica, la actividad mitótica y algunos parámetros bioquímicos que pudieran modificarse como resultado de la interacción entre neuronas y células epiteliales. El estudio de la regulación nerviosa de la presión intraocular persigue establecer el papel de la inervación autonómica y sensorial del ojo en la amortiguación de cambios de la presión ocular, mediante métodos electrofisiológicos de estimulación y registro en animales intactos (conejo), así como en experimentos "in vitro".



Pere Berbel

El área de interés de este grupo es el estudio del desarrollo de las comisuras corticales en la rata. En particular, cuerpo calloso y comisura anterior, las cuales están formadas por axones involucrados en conexiones cortico-corticales interhemisféricas. Estas comisuras presentan al menos dos poblaciones de axones: I) juveniles-transitorios que desaparecen durante los primeros meses de desarrollo postnatal, y II) maduros-estables que se estabilizan y permanecen en el adulto, algunos de los cuales se mielinizan. Estas modificaciones del desarrollo reflejan cambios en la estructuración de los axones, y en particular en los componentes del citoesqueleto de los mismos. El estudio de estos cambios puede indicarnos cuáles son los mecanismos que conducen a la maduración axonal y a la estabilización de conexiones interhemisféricas. Tal modelo se utiliza para estudiar efecto del hipotiroidismo en el desarrollo de los axones comisurales y en las conexiones cortico-corticales.

En este proyecto se utilizan las técnicas de microscopia electrónica, métodos inmunocitoquímicos, inyección de trazadores, autorradiografía y morfometría cuantitativa.

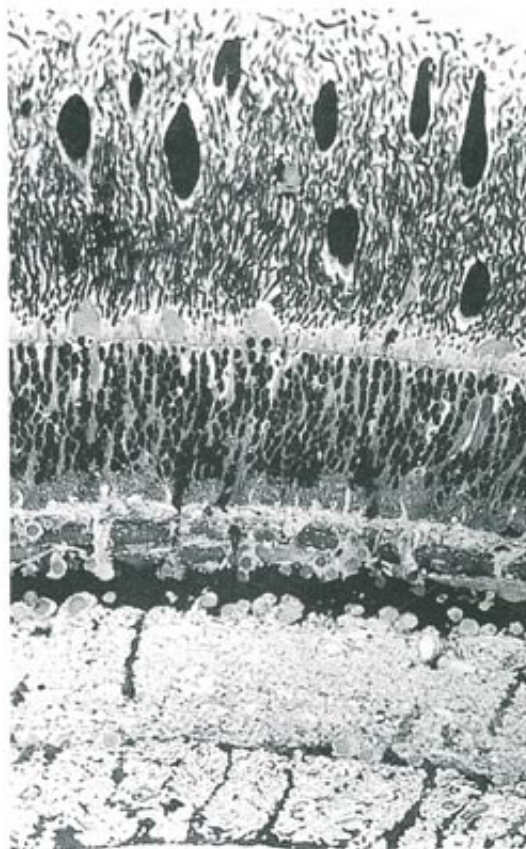
Líneas de trabajo del Instituto

Joaquín de Juan / Nicolás Cuenca

El grupo de J. de Juan viene desarrollando una línea de investigación en el sistema visual y en los últimos años ha centrado su atención en la retina.

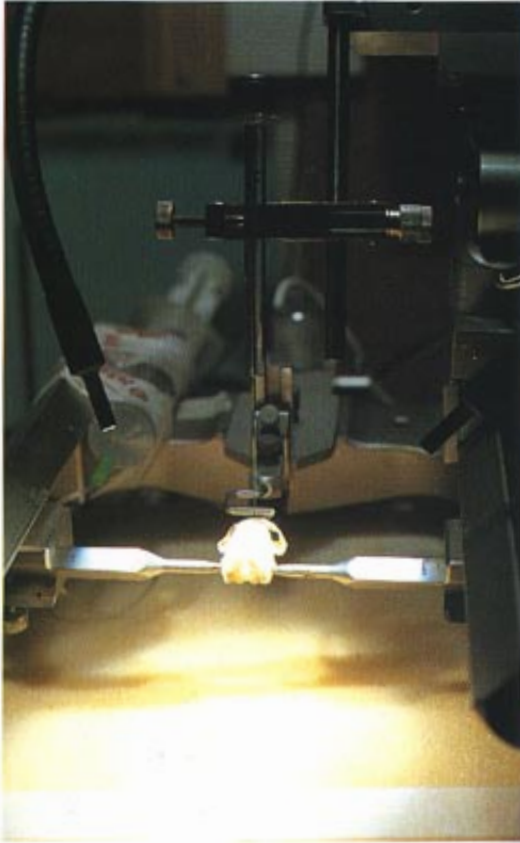
La retina se comporta como una proyección del Sistema Nervioso Central hacia el mundo exterior. Su compleja estructura y su capacidad de procesar información visual la convierten en una especie de pequeño cerebro muy accesible a la investigación, de ahí su gran interés como modelo en Neurobiología. Se están estudiando las conexiones sinápticas de la retina y el papel funcional de algunas sustancias neurotransmisoras y neuromoduladoras. En este sentido, se ha prestado un especial interés al papel de la dopamina en la regulación de los movimientos retinomotores y en la plasticidad sináptica a nivel de los fotorreceptores y las células horizontales, así como en la sinaptología de las células amacrinas en ambas capas plexiformes. El interés de este estudio radica en la posibilidad de comprender y aclarar las alteraciones patológicas que sufre la retina en la enfermedad de Parkinson y en la ambliopía.

Otra importante línea de trabajo son los estudios del desarrollo postnatal de los



axones de las células ganglionares retinianas (fibras del nervio óptico) tanto en condiciones normales como de privación visual.

Este equipo también participa en proyectos de investigación relacionados con el sistema visual con dos grupos americanos, concretamente el Dr. J.E. Dowling de la Universidad de Harvard y la Dra. H. Kolb de la Universidad de Utah.



Lukas Domich

La investigación que se realiza en el neurobiología del comportamiento está principalmente orientada al estudio de la fisiología, histología y psicofisiología de los mecanismos centrales de la audición.

Las experiencias realizadas en animales anestesiados y/o sin anestesiarse en la que se utilizan registros extra e intracelulares, técnicas de marcaje e inmunohistoquímica y

observaciones comportamentales se centran básicamente en el estudio de:

- La red neural intrínseca de los núcleos cocleares con identificación de tipos de neuronas, sinapsis y de neurotransmisores y el tipo de procesamiento de la información a este nivel de la vía auditiva.

- Las conexiones sinápticas entre los núcleos cocleares y las estructuras superiores de la vía: colículo inferior y superior, y el geniculado medial.

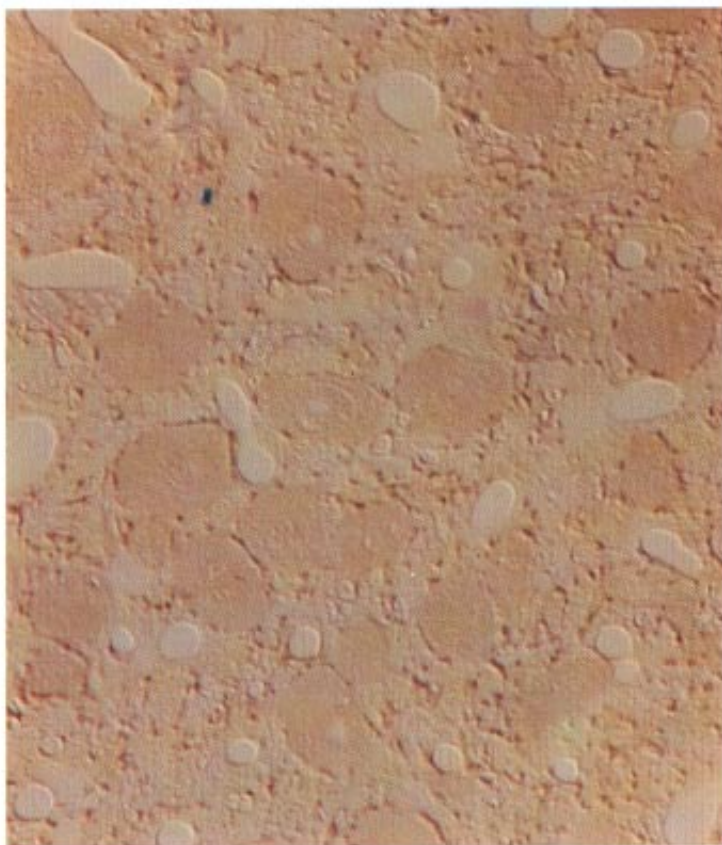
- Las relaciones sinápticas entre el geniculado medial y la corteza auditiva y el control de la información auditiva ejercido por el núcleo reticular del tálamo relacionado con los mecanismos de la atención selectiva.

Otra línea de Investigación de menor envergadura y de reciente desarrollo es la del estudio del factor control en las situaciones de estrés-sin control y sus efectos en la respuesta inmune y la analgesia. Se utiliza la retención indolora como situación estresora y se miden la respuesta NK, la producción de interleucinas y la expresión de receptores a las IL. El estudio se basa igualmente en las diferencias circadianas sobre la respuesta inmune y la actividad exploratoria en open-field.

Líneas de trabajo del Instituto

José Manuel Juiz

El objetivo principal de este laboratorio es el estudio de los fundamentos citomoleculares de la comunicación inter-e intra-celular en el sistema auditivo. Los diversos aspectos de la anatomía molecular de la neurotransmisión (y procesos de comunicación intracelular relacionados) en este sistema tiene un interés doble. El primer lugar, el sistema auditivo es un modelo



válido para el estudio de los procesos de comunicación celular en el sistema nervioso central, particularmente a nivel del primer escalón central de la vía auditiva: los núcleos cocleares. El segundo punto de interés es el conocimiento detallado de cómo el sistema auditivo adapta y utiliza ventajosamente los mismos mecanismos moleculares de comunicación que el resto del sistema nervioso y cómo se comportan estos mecanismos en situaciones patológicas experimentales. Este aspecto contribuiría en último extremo a la comprensión de buena parte de los fenómenos moleculares subyacentes a diversos tipos de sorderas sensorineurales.

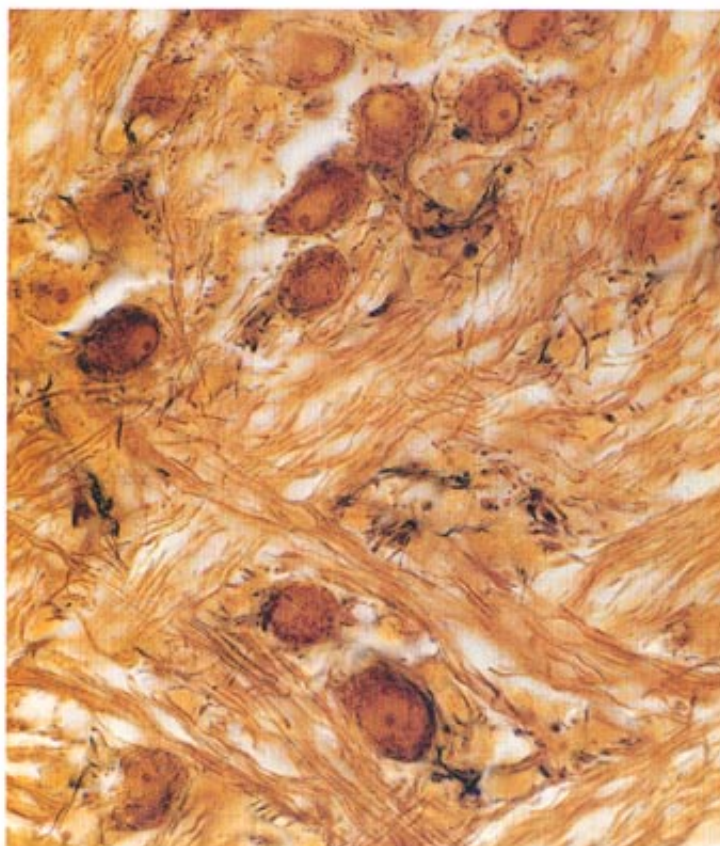
Para abordar estos problemas, este laboratorio, junto a técnicas neuroanatómicas clásicas y microscopia electrónica de transmisión, emplea histo e inmunocitoquímica, particularmente inmunocitoquímica cuantitativa, histoquímica de hibridación "in situ", autoradiografía de receptores y técnicas de trazado de vías especialmente trazado anterogrado combinado con inmunocitoquímica de neurotransmisores a nivel ultraestructural. Los intereses del laboratorio del Dr. Juiz son: presencia y papel normal y patológico de la neurotransmisión mediada por aminoácidos excitatorios (ácido glutámico y análogos) en la periferia auditiva y núcleos auditivos del tronco del encéfalo. Papel de la coexistencia de neurotransmisores inhibitorios (GABA y glicina) en terminaciones sinápticas de los núcleos cocleares. Diferencias moleculares entre sinapsis inhibitorias axo-somáticas y axo-dendríticas en los núcleos cocleares, incluyendo diferencias en el número de receptores sinápticos, segregación de orígenes... etc. Regulación normal y patológica de la expresión de receptores sinápticos. Efectos centrales de las prótesis cocleares a nivel molecular.

Buena parte de estos proyectos incluyen la colaboración con diversos centros de investigación, en la Universidad de Salamanca, Universidad Autónoma de México, University of Michigan, National Institutes of Health, Southern Illinois University School of Medicine, USA.

Jaime Merchán

El trabajo principal de este equipo está centrado en el estudio de la audición, y en especial en el análisis de los aspectos morfológicos de los mecanismos de traducción y procesamiento tronco-encefálico de la señal. En el primer campo se ha registrado, en los últimos años, una rápida evolución a partir del reconocimiento del órgano de Corti como un sistema activo, capaz de introducir puntualmente energía en la basilar y mejorar su capacidad discriminativa. El objetivo de este feed-back mecánico son las ciliadas externas, y su efectividad está condicionada por el estado de estas células (regulado por el sistema eferente de la cóclea) y por el acoplamiento cilios externos-tectoria: a este nivel se localiza el segundo sistema de resonancia, cuya actividad daría lugar a la corriente de traducción y, en su caso, a la contracción del efector.

El hipotiroidismo congénito es un modelo excepcional para estudiar estos factores, por cuanto conlleva un retraso madurativo del receptor, sin desarrollo del sistema eferente (pero sí aferente) y con hiperproducción de tectoria (pero con escaso crecimiento de las ciliadas externas). Es posible, por tanto, conseguir imágenes individuales de los distintos elementos implicados en el problema (sistema eferente, ciliadas externas, tectoria), permitiendo un análisis de los mismos libre de interacciones. La aplicación a este modelo de técnicas para visualización de fibras nerviosas (Golgi y HRP



principalmente) ha permitido a este equipo aportar datos consistentes sobre la proyección central de las neuronas cocleares, y en especial describir ciertas conexiones que se separan del patrón habitual de los aferentes primarios.

En audición de nivel bajo, el grupo tiene dos áreas principales de interés, la primera relacionada con los circuitos sinápticos sobre las células fusiformes del núcleo coclear dorsal y la segunda con las vías de

Líneas de trabajo del Instituto

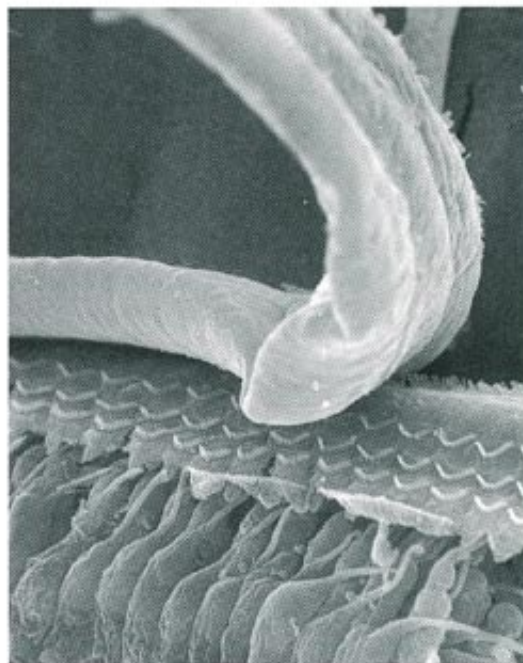
asociación coliculares. Las células fusiformes muestran los patrones de respuesta más complejos de toda la vía, con campos inhibitorios amplios y variables según las características de la estimulación. Estos patrones son fruto de la convergencia de impulsos cocleares y descendentes, así como de complicados circuitos locales de modulación. El trabajo en este área está orientado a tipificar y cuantificar los distintos tipos de botones, respecto tanto a su morfología y origen como a los neurotransmisores y receptores implicados.

En cuanto al colículo, los proyectos en marcha se dirigen a esclarecer los circuitos implicados en la audición binaural, en especial la significación de los plexos axónicos que conectan los distintos segmentos de los planos de isofrecuencia entre sí y con los contralaterales.

Joaquín Rueda

El modelo de inervación del oído interno permite estudiar fenómenos de plasticidad sináptica que están directamente relacionados con la maduración de los receptores acústico y vestibular y/o su respuesta a determinadas situaciones patológicas. Todo ello, particularmente en sus aspectos morfológicos, es el objeto principal de estudio en este laboratorio.

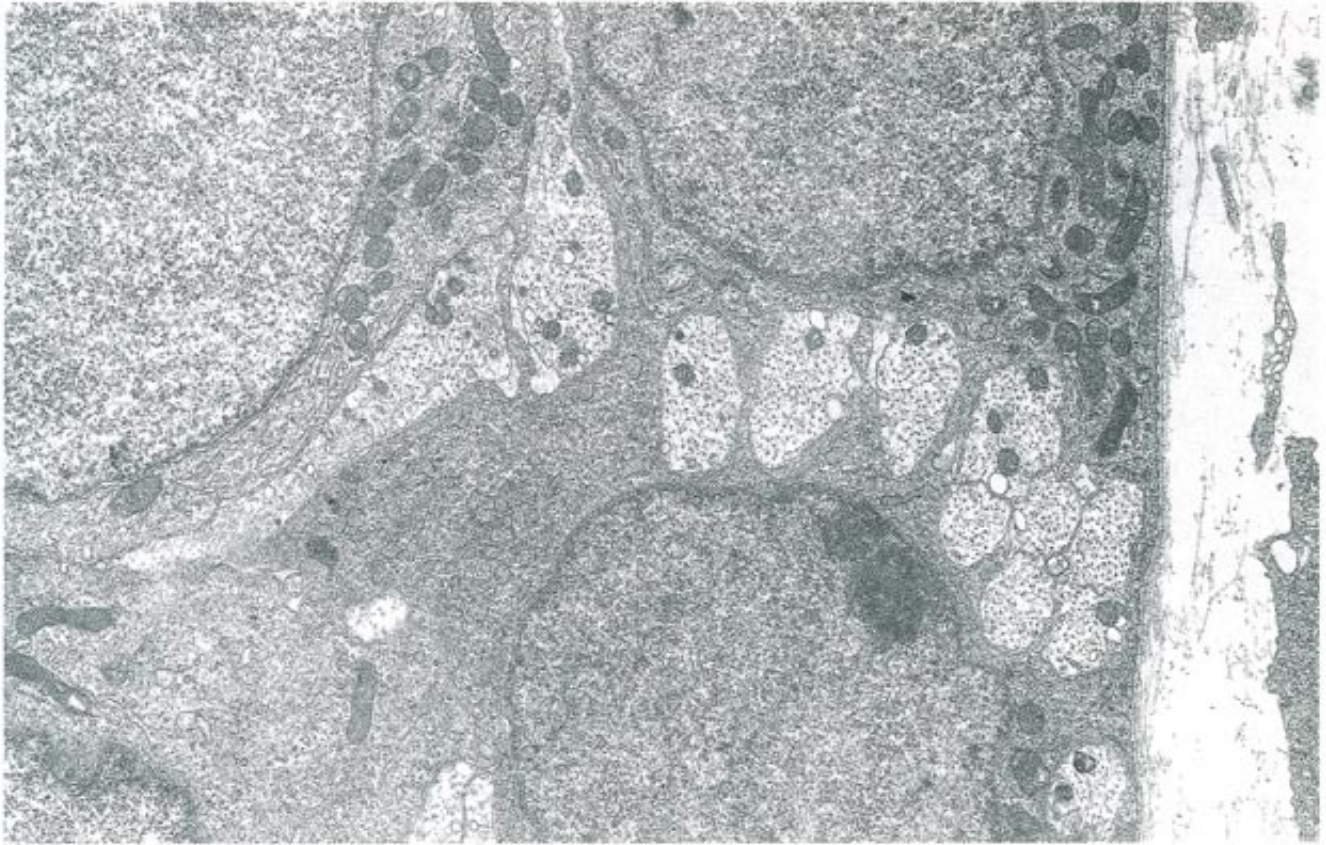
Tras las alteraciones estructurales que se producen en el órgano de Corti y en los receptores vestibulares después de la acción de agentes externos como los antibióticos aminoglucósidos y el trauma sonoro, hay una serie de componentes celulares, particularmente del citoesqueleto y la membrana celular, que participan activamente en la recuperación parcial de células receptoras dañadas, así como del mantenimiento de sus conexiones sinápticas sensoriales y efectoras. El conocimiento de estos procesos celulares regenerativos, que



tienen una buena correlación con los que acontecen durante el desarrollo normal de los receptores y su inervación, es de particular importancia para conocer el grado de funcionalidad de la vía auditiva en determinadas sorderas tras la colocación de implantes cocleares, cuyos experimentos se realizan en este laboratorio.

Para el estudio morfológico de los aspectos mencionados, además de las técnicas habituales de microscopia, se cuenta con técnicas de criofijación y crioultramicrotomía, así como microscopía electrónica de barrido, que permiten la determinación ultraestructural de los diferentes componentes celulares mencionados (particularmente glicoconjugados y filamentos intermedios) por medios inmunocitoquímicos.

El laboratorio tiene en marcha proyectos de trabajo con grupos de trabajo del Department of Communication and Neuroscience (University of Keele, England), y de Otological Research Laboratories (Ohio State University, U.S.A.).



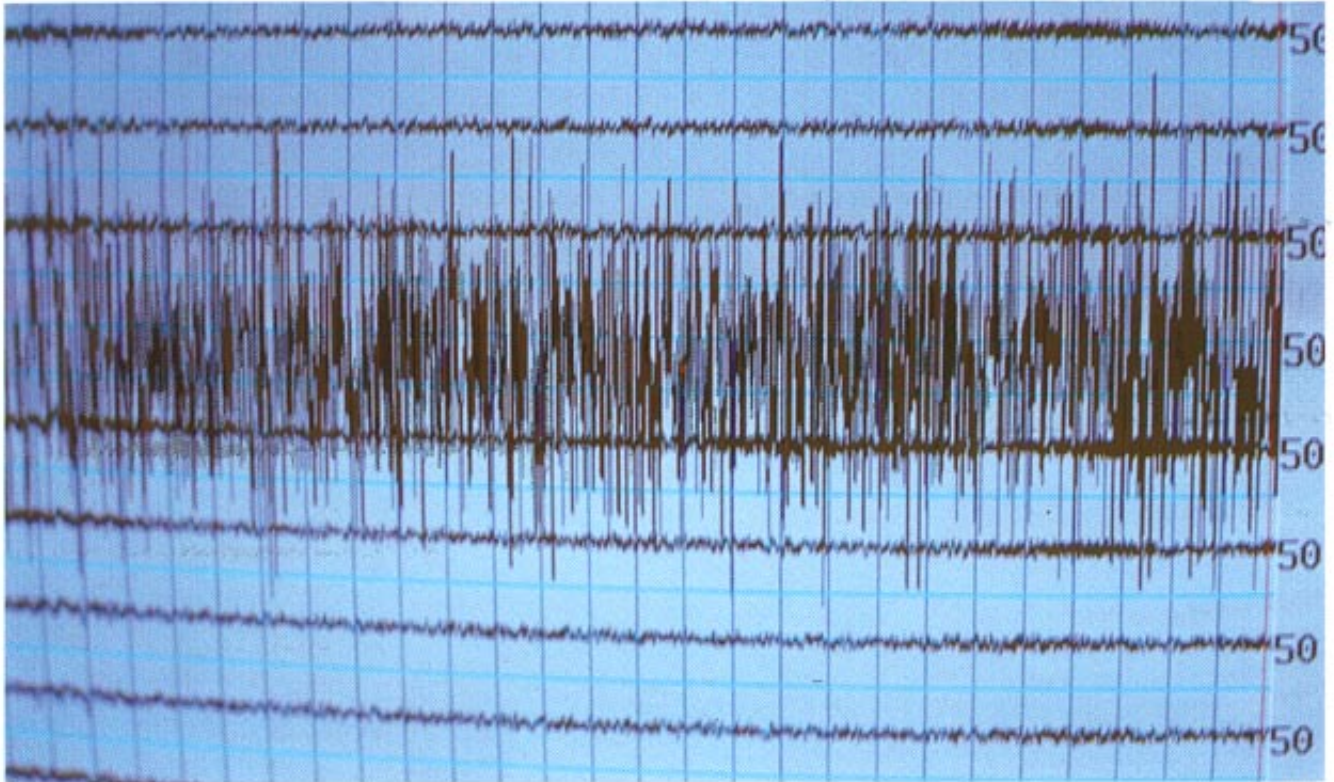
Juan V. Sánchez-Andrés

La investigación en Neurobiología incluye el análisis desde el nivel de los elementos nerviosos y su capacidad de integración, hasta el nivel comportamental. La distinta naturaleza de estos dos niveles y de los métodos para cada uno de ellos ha dificultado tradicionalmente su estudio simultáneo. Los progresos técnicos y conceptuales han permitido que en el laboratorio del Dr. Sánchez-Andrés se investigue la actividad de grupos neuronales y su correlación comportamental. Estas investigaciones se concretan en tres líneas preferentes: *a. Aprendizaje asociativo.* Se aplica, a animales, procedimientos de aprendizaje pavloviano, para estudiar el efecto de su adquisición sobre las propiedades eléctricas de las neuronas implicadas. *b. Epilepsia.* La actividad epiléptica constituye uno de los patrones más elementales de comportamiento,

adicionalmente es de relevancia clínica. Se persigue conocer el papel de las corrientes iónicas de las neuronas del hipocampo en la génesis de los patrones convulsivos. *c. Deprivación visual.* El acceso de información al sistema nervioso tiene un papel fundamental en el desarrollo de las neuronas y en el establecimiento de sus conexiones. Si se impide el acceso de una clase de información (p.ej. visual), se puede investigar la repercusión sobre la organización de las neuronas y sobre las propiedades de éstas. Por otro lado, la realización de estos estudios en animales jóvenes permite avanzar en el conocimiento de problemas, como la ceguera congénita. Finalmente, en este laboratorio se desarrolla una línea de simulación con ordenador de redes neurales, que persigue la incorporación de los datos experimentales en modelos.

Líneas de trabajo del Instituto

Neurociencia Clínica y Aplicada



José Francisco Horga

Este grupo de trabajo aborda dos líneas de investigación, ambas relacionadas con la participación del sistema nervioso adrenérgico en la patogenia de procesos patológicos.

La primera de estas líneas tiene como objetivo el estudio de la influencia de las catecolaminas en el desarrollo de la artritis reumatoide humana y experimental.

Utilizando técnicas de radioinmunoensayo, enzoinmunoensayo, cromatografía líquida de alta presión e histológicas, está estudiando por un lado la actividad simpática de las terminaciones nerviosas y la glándula adrenal durante el desarrollo del proceso artrítico, tanto humano como experimental, y por otro la existencia de receptores adrenérgicos en los sinoviocitos, que puedan explicar los efectos adrenérgicos conocidos sobre la artritis.

La segunda línea de trabajo estudia la participación de las catecolaminas del S.N.C. en la patogenia y las consecuencias de la isquemia cerebral. Utilizando modelos de isquemia ampliamente desarrollados (gerbil, isquemia vertebral y carotídea en ratas), y técnicas similares a las enumeradas antes, se trata de establecer la secuencia de acontecimientos "catecolaminérgicos" durante los períodos isquémicos y postisquémicos, así como los efectos que

produce la modulación farmacológica del sistema adrenérgico central sobre las lesiones histológicas postisquémicas (72 hr).

Jaime Miquel

Su investigación se ha centrado en dos áreas íntimamente relacionadas al nivel de la biología celular: a) efectos patológicos de las alteraciones en los parámetros ambientales (tensiones de oxígeno, rayos cósmicos y otros tipos de radiación ionizante, ingravidez que se obtiene en satélites espaciales, etc.); b) mecanismos citológicos y moleculares del envejecimiento de los sujetos humanos y de los animales de experimentación, desde los insectos a los mamíferos. Presta especial atención a dos modelos que han sido ampliamente utilizados en su laboratorio de la NASA: la *Drosophila melanogaster* y el ratón de la cepa C57/BL6 Jackson. En estos animales se han realizado estudios multidisciplinarios, utilizando una batería de técnicas histoquímicas y ultraestructurales, así como tests de conducta y análisis bioquímicos. Estos métodos han demostrado su utilidad no solo para investigar las causas fundamentales del envejecimiento, sino también para medir el grado real de involución ("edad biológica") de animales sometidos a diversos estreses ambientales, incluido el vuelo espacial (en colaboración con la NASA, y las Agencias Espaciales Europea y Rusa) y a tratamientos farmacológicos destinados a paliar los efectos del envejecimiento.

En la actualidad este grupo está poniendo a prueba su concepto de que el envejecimiento de la neurona (y de otras células diferenciadas) está ligado a una desorganización producida por radicales libres de oxígeno al nivel de las membranas y del genoma mitocondrial, y que un aumento del metabolismo aerobio (con una mayor liberación de radicales libres de las



mitocondrias) es la causa del acortamiento de la vida, que, según sus estudios anteriores, tiene lugar en animales mantenidos en satélites artificiales.

Eugenio Vilanova / José Luis Vicedo

En su laboratorio llevan a cabo las siguiente líneas de investigación:

a) Análisis comparativo de las propiedades, distribución temporal y espacial de la llamada Esterasa Diana de Neuropatía (NTE) en nervios periféricos en comparación con la más conocida de cerebro de gallinas adultas. Se han venido estudiando y detectando algunas diferencias entre la NTE de cerebro y de nervio periférico. Especialmente, la existencia de una forma soluble en nervio ciático, no existente en cerebro. Se está estudiando y caracterizando esta forma soluble y se espera que pueda ser una fuente de partida

Líneas de trabajo del Instituto

para la purificación y obtención de anticuerpos anti-NTE. Esto será necesario para esclarecer la localización intracelular de NTE y su función fisiológica.

b) Caracterización o papel de esterasas tipo A (hidrolizantes de organofosforados) del sistema nervioso en la detoxificación de organofosforados, con dos aspectos: b1) Paraoxonasa: distribución y propiedades en tejidos de rata y humanos con el objetivo de evaluar su utilización para monitorización en humanos de capacidad detoxificante de plaguicidas organofosforados. b2) Especificidad y estereoespecificidad de sustratos e inhibidores, iniciado con el estudio de la biodegradación de fosforamidatos análogos del insecticida methamidophos.

c) Desarrollo y utilización de modelo de la neuropatía periférica de organofosforados por "dosificación local in situ" en segmentos localizados de nervios periféricos. El modelo ya está desarrollado

y se están llevando a cabo estudios bioquímicos, clínicos y morfométricos, encaminados a conocer las implicaciones y relaciones entre axón, pericarion y terminaciones neuromusculares en la patogénesis de la neuropatía de organofosforados.

Mariano Pérez Arroyo

Este equipo clínico ha centrado su trabajo en dos campos fundamentales, utilizando técnicas de Potenciales Evocados, y de Polisomnografía y Cartografía Cerebral.

Las primeras han sido empleadas en el estudio de la fisiopatología visual, tratando de identificar la respuesta precoz del Núcleo Geniculado Lateral, y correlacionando dicha respuesta con distintos tipos de patología. De igual modo los Potenciales Evocados Somestésicos han sido aplicados al estudio de cuadros vasculares, metastásicos, y en distintos tipos de coma, utilizándolos como modelos para el conocimiento del origen de algunos de sus componentes.

Con ambos tipos de respuestas evocadas se persigue la doble finalidad de mejorar las técnicas diagnósticas y de estudiar el origen de los componentes del potencial evocado.

En el campo de las alteraciones del sueño, la aplicación de la cartografía cerebral al estudio polisomnográfico, permite una nueva visión de dichas alteraciones, y aporta nuevos datos al conocimiento de las características fisiológicas del sueño.

La existencia de patología unida a alteraciones del sueño, o a cambios en las manifestaciones eléctricas del mismo es otra de las líneas de trabajo que en un futuro inmediato pretende abordar este equipo.



Programa de Doctorado en Neurociencias

Entre las actividades del Instituto de Neurociencias se incluye el desarrollo de un Programa de Doctorado que cubre la formación de alumnos graduados en los aspectos básicos de la investigación en Neurociencias con un enfoque interdisciplinario (molecular, celular y de sistemas). El Programa tiene como objetivo proporcionar a los alumnos una formación teórico-práctica general en Neurociencias, capacitándolos para el desarrollo de investigación científica original y la colaboración con otros investigadores de áreas afines.

Número de alumnos:

Entre 5 y 10 en cada uno de los 2 cursos.

Titulación requerida:

Licenciados en Medicina, Biología, Química, Farmacia, Física y otras ciencias afines.

Organización básica del Programa:

Primer curso: durante los dos primeros trimestres se realiza un Curso básico de Neurobiología, que cubre los aspectos teóricos y metodológicos de esta disciplina. El Curso está organizado en 80 sesiones de 3 horas cada una. En el tercer trimestre se realizan cursos optativos.

Segundo curso: durante el primer trimestre, el alumno realiza una estancia de 3 meses, a tiempo completo, en un laboratorio del Instituto perteneciente a un grupo distinto de aquél con el que trabaja. Esta estancia, con el visto bueno de la Comisión de Doctorado del Instituto, puede ser llevada a cabo en un laboratorio ajeno al mismo. Durante el segundo trimestre es posible realizar de manera opcional otra estancia en el mismo u otro laboratorio. En el tercer trimestre el alumno toma los cursos optativos.

A lo largo de todo el año tienen lugar en el Instituto Seminarios de Investigación,

con una periodicidad semanal, en los que el alumno debe participar.

Asignación de créditos:

Cada alumno debe obtener, al menos, 32 créditos, pudiendo hacerlo del siguiente modo:

- Curso básico de Neurobiología: 14 créditos.
- Estancia en laboratorios: hasta 3 créditos.
- Seminarios en Neurociencias: 2 créditos.
- Investigación (2.ª estancia, Comunicaciones a Congresos, Publicaciones): hasta 5 créditos.
- Cursos en otros Programas: hasta 5 créditos.
- Cursos optativos: hasta la consecución de los 32 créditos. El Programa oferta, para 1991-93, 24 Cursos Optativos, con un valor total de 40 créditos, sobre aspectos especializados de la Neurobiología.

Selección de alumnos:

Se lleva a cabo teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Curriculum vitae.
- Idoneidad para seguir el Programa: se exigen conocimientos básicos de Biología General, Bioquímica, Biología Celular, Neuroanatomía, Estadística e Inglés.
- Informes por parte de Profesores de la Universidad de Alicante u otras Universidades y Centros de Investigación.
- Tienen consideración prioritaria, los alumnos que hayan obtenido una Beca de Planes Nacionales o de la Comunidad Autónoma.

Coordinación:

Existe una Comisión de Doctorado que analiza los contenidos del Programa y las estrategias pedagógicas a seguir: El Coordinador del Programa se ocupa del seguimiento y control organizativo. Cada alumno está además a cargo de un tutor que supervisa el doctorado, asesorándole en los aspectos que desee.

Servicios centrales del Instituto de Neurociencias



El Instituto de Neurociencias dispone en sus instalaciones de servicios de biblioteca, talleres mecánico, electrónico y de ilustración, así como unidades de cultivo, isotopos, centrífugas, microelectrodos, patch clamp, microscopia, lavado de material de vidrio y de preparación de muestras.

Biblioteca: Proporciona a los miembros del Instituto 83 suscripciones anuales a revistas internacionales en el área de neurociencias. Dispone de servicios de lectura de microfilms, búsquedas bibliográficas, fotocopadoras, etc.

Taller mecánico: Este servicio técnico dispone de torno, fresadora, taladro, maquinaria para corte, piedras de esmeril y pulidoras así como equipo de soldadura. En él se pueden llevar a cabo las reparaciones mecánicas de aparatos existentes, la realización de piezas y mecanismos diversos en materiales tales como acero inoxidable, hierro, bronce, latón, aluminio, teflón, metacrilato, nylon y PVC, así como complementos de mobiliario a medida.

Taller electrónico: Este taller se encuentra equipado con el material necesario (osciloscopios, ordenador para diseño de circuitos, etc.) para poder llevar a cabo reparaciones electrónicas de cualquier tipo, así como el diseño de circuitos y construcción de equipos electrónicos para laboratorio.

Taller de ilustración: Se cuenta con un ordenador Macintosh II equipado con impresora laser, escaner de color y filmadora, así como material general de dibujo. El personal técnico de este taller se encarga del diseño y confección de gráficos y diapositivas mediante procedimientos tradicionales y electrónicos.

Unidades de cultivos: Existen tres, equipadas con cabinas de flujo laminar, incubadores de CO₂ y autoclaves, permiten llevar a cabo todo tipo de cultivos primarios y líneas celulares.

Unidad de centrifugas: Dispone de centrifugas refrigeradas de baja y alta velocidad así como ultracentrifugas, dotadas todas ellas de diversos rotores.

Unidad de isótopos: Diseñada y equipada para llevar a cabo todo el trabajo relacionado con isótopos, posee contadores beta y gamma además del equipo necesario para la protección del usuario y control de contaminación.

Unidad de microscopía: Cuenta en sus instalaciones con un microscopio electrónico, microscopio de fluorescencia, etc. así como el material necesario para el tratamiento computarizado de la imagen.

Unidad de microelectrodos: Dispone de estiradores de micropipetas para registro intracelular y patch clamp así como para el pulido de microelectrodos.

Unidad de patch-clamp: Dotada con el equipo adecuado para realizar registros electrofisiológicos, está compuesta de microscopio invertido, micromanipuladores, amplificadores, ordenador y sistema para el almacenamiento y tratamiento de datos.



Unidad de purificación de agua y lavado: Dispone en sus instalaciones de un sistema de purificación de agua por ósmosis inversa, un lavador automático de material de laboratorio y una estufa de secado de vidrio.



INSTITUTO DE

NEUROCIENCIAS

UNIVERSIDAD DE ALICANTE



UNIVERSIDAD DE ALICANTE

MEMORIA

1985-1990

Subvenciones	1
Publicaciones	5
Becarios	13
Programa de Doctorado	14

Subvenciones recibidas en el período 1985-1990

Neurobiología Aplicada

<u>Año</u>	<u>Subvención Pública</u>	<u>Importe</u>
1985	FISS	4.218.000.- Pts.
1986	FISS	2.067.500.- Pts.
	CICYT	9.000.000.- Pts.
	Excmo. Ayuntamiento de Alicante	2.475.500.- Pts.
	Excma. Diputación de Alicante	2.475.500.- Pts.
1987	Excma. Diputación de Alicante	3.410.000.- Pts.
1988	CICYT	14.126.000.- Pts.
	FISS	6.700.000.- Pts.
	FISS	2.067.000.- Pts.
	FISS	4.160.000.- Pts.
1989	FISS	2.750.000.- Pts.
	FISS	2.950.000.- Pts.
	CICYT	14.600.000.- Pts.
		70.998.500.- Pts.

Neurobiología Celular

<u>Año</u>	<u>Subvención Pública</u>	<u>Importe</u>
1985	CAICYT	13.755.000.- Pts.
1986	FISS	12.454.200.- Pts.
1987	FISS	10.825.000.- Pts.
	CICYT	9.000.000.- Pts.
1988	Generalidad Valenciana	2.000.000.- Pts.
	CICYT	6.500.000.- Pts.
	FISS	3.000.000.- Pts.
1989	CICYT	17.280.000.- Pts.
	Generalidad Valenciana	4.500.000.- Pts.
	CAICYT	12.300.000.- Pts.
1990	FISS	19.682.000.- Pts.
	Generalidad Valenciana	5.000.000.- Pts.
		116.296.200.- Pts.

<u>Año</u>	<u>Subvención Privada</u>	<u>Importe</u>
1985	Com. Conj. Hisp. Norteamer. Coop. Científ. y Tecnol.	215.360.- \$
		215.360.- \$
1985	Fundación Ramón Areces	13.000.000.- Pts.
		13.000.000.- Pts.

Subvenciones recibidas en el período 1985-1990

Neurobiología Molecular

<u>Año</u>	<u>Subvención Pública</u>	<u>Importe</u>
1985	CAICYT	25.962.222.- Pts.
	FISS	1.500.000.- Pts.
1986	FISS	2.800.000.- Pts.
	CCHA	2.481.000.- Pts.
	Excma. Diputación de Alicante	8.300.000.- Pts.
1987	FISS	2.800.000.- Pts.
1988	CICYT	14.000.000.- Pts.
	DGICYT	13.700.000.- Pts.
1990	FISS	2.625.000.- Pts.
	CICYT	9.900.000.- Pts.
	DGICYT	2.000.000.- Pts.
	Generalitat Valenciana	5.000.000.- Pts.
		91.068.222.- Pts.

Neurobiología de Sistemas

<u>Año</u>	<u>Subvención Pública</u>	<u>Importe</u>
1986	CICYT	21.930.000.- Pts.
1987	CICYT	8.000.000.- Pts.
	FISS	700.000.- Pts.
1988	FISS	250.000.- Pts.
	Direc. Gral. Invest.	12.000.000.- Pts.
	CICYT	4.435.000.- Pts.
	Grupos Precompetit	400.000.- Pts.
1989	Generalidad Valenciana	7.000.000.- Pts.
1990	DGICYT	18.700.000.- Pts.
		73.415.000.- Pts.

<u>Año</u>	<u>Subvención Privada</u>	<u>Importe</u>
1987	Centro Investigaciones Oculares	19.924.000.- Pts.
1988	Matrix Biology Institute	1.493.128.- Pts.
1989	Centro Investigaciones Oculares	7.580.000.- Pts.
1990	Centro Investigaciones Oculares	7.300.000.- Pts.
		36.297.128.- Pts.

Subvenciones

- “Plasticidad y relaciones tróficas en el sistema nervioso periférico”. CAICYT. PB-85.0001. R. Gallego. 13.755.000.- Pts.
- “Bases moleculares de la variación fenotípica espontánea en halobacterias”. CAICYT. 1985-88. F. Rodríguez Valera. 9.812.222.- Pts.
- “Papel de la membrana plasmática en el transporte de agentes quimioterapéuticos”. FISS. 85/1310. J.M. González Ros. 1.500.000.- Pts.
- “Mantenimiento estructural y funcional del receptor de acetilcolina por la matriz lipídica”. CAICYT. 1985-88. J.M. González Ros. 4.500.000.- Pts.
- “Receptores adrenérgicos en sinovial humana normal y patológica”. FISS. 1985-87. J.F. Horga. 4.218.000.- Pts.
- “Mecanismos de neurotransmisión adrenérgica: El papel de la fosforilación de proteínas de membrana”. Comité Conjunto Hispano-Norteamericano para la cooperación Científica y Tecnológica. 1985-87. A.G. García y J.A. Reig. 215.360.- \$.
- “Caracterización molecular del canal del calcio en la célula cromafín”. Fundación Ramón Areces. 1985-88. A.G. García. 13.000.000.- Pts.
- “Interacciones celulares en la diferenciación de neuronas sensoriales in vitro”. CAICYT. 1985-88. Fernando Moya. 11.650.000.- Pts.
- “Mecanismo neurofisiológicos del dolor ocular y de la regulación de la presión intraocular”. CICYT. PB. 86-0275. C. Belmonte. 10.850.000.- Pts.
- “Papel de las cubiertas celulares en la maduración del receptor auditivo en condiciones normales y patológicas”. CICYT. PB96-0277. J. Merchán. 9.380.000.- Pts.
- “Cambios estructurales en los pedículos de conos en las células horizontales de retinas de teleósteos de la dopamina y de la célula interprexiforme”. CICYT. PB-86. J. de Juan. 1.700.000.- Pts.
- “Joint Neurobiology Seminar Universidad de Alicante-State University of New York”. Comité conjunto Hispano-Norteamericano para la cooperación científica y tecnológica. 1986. Fernando Moya, A. de Blas. 24.810.- \$.
- “Receptor dihipropiridínico asociado a un canal de calcio en la célula cromafín”. FISS. 86/1141. A.G. García. 10.865.200.- Pts.
- “Efectos sinérgicos de la neurotoxicidad de disolventes y organofosforados”. FISS. 86/1827. E. Vilanova. 2.067.500.- Pts. y 88/2229, 2.067.500.- Pts.
- “Envejecimiento cerebral y cardíaca en un modelo experimental: Alteraciones mitocondriales e intervención farmacológica preventiva”. FISS. 1986-88. F. Rodríguez Valera. 2.800.000.- Pts.
- Infraestructura CAICYT 1986 para desarrollo de unidad de Isótopos y cromatografía. J.F. Horga. 9.000.000.- Pts.
- “Desarrollo de la monitorización de fármacos en Alicante”. Excm. Diputación de Alicante. 1986. J.F. Horga. 2.475.000.- Pts.
- “Mecanismos iónicos de la actividad eléctrica en la célula beta pancreática”. CAICYT. 1987. R. Ferrer. 2.000.000.- Pts.
- “Mecanismos periféricos del dolor: propiedades de las neuronas nociceptoras”. FISS. 87/1573 y 88/1904. C. Belmonte, R. Gallego y F. Moya. 5.850.000.- Pts.
- “Plasticidad y neuromodulación de canales iónicos en la célula beta pancreática”. FISS. 87/1716 y 88/1902. B. Soria. 4.975.000.- Pts.
- “Efectos de las antagonistas de sustancias P sobre la nocicepción corneal”. Centro de Investigaciones Oculares. Fundación Investigación y Estudios de Alicante. 1987 y 1988. C. Belmonte. 19.924.000.- Pts.
- “Ayuda Infraestructura”. CICYT. 1987. J. Merchán. 8.000.000.- Pts.
- “Alteraciones histoquímicas del órgano de Corti en la sordera hipotiroidea”. FISS. 87/1646. J. Rueda. 700.000.- Pts.
- “Bifurcaciones arteriales: Estudio morfológico y morfométrico...”. FISS. 87/1752. J. de Juan. 250.000.- Pts.
- “Ayuda bibliográfica Generalitat Valenciana”. Departamentos de Fisiología, Neuroquímica y Morfología. DOGV. 18 de agosto 1987. 5.000.000.- Pts.
- “Interacción del receptor nicotínico de acetilcolina con proteína periféricas. Papel de la fosforilación”. FISS. 1987. J.A. Ferragut. 1.200.000.- Pts.
- “Mecanismo moleculares de resistencia múltiple a agentes de quimioterapia”. FISS. 1987. J.M. González Ros. 1.600.000.- Pts.
- “Fármacos alto riesgo en recién nacidos”. Excm. Diputación Provincial de Alicante. 1987. J.F. Horga. 3.410.000.- Pts.
- “Efectos neurofisiológicos del ácido hialurínico”. Matrix Biology Ins. 1988. C. Belmonte. 1.493.128.- Pts.
- “Modulación de canales iónicos y uniones intercelulares en las células endocrinas pancreáticas”. CICYT. PB87-0789. B. Soria. 9.000.000.- Pts.
- “Crio-ultramicrotomía”. Dirección General de Investigación. Promoción General de Conocimiento. 1988. J. Merchán. 12.000.000.- Pts.
- “Desarrollo de las conexiones córtico-corticales en rata normales e hipotiroideas”.

Subvenciones

- PB88/0291.
P. Berbel. 4.435.000.- Pts.
- “Desarrollo del cuerpo calloso en ratas normales e hipotiroideas”. Grupos Precompetitivos. 1988.
P. Berbel. 400.000.- Pts.
- “Fluorimetro de alta sensibilidad”. CICYT.
in-88/0136. J.M. González Ros. 8.000.000.- Pts.
- “Interacciones lípido-proteína en el receptor nicotínico de acetilcolina”. DGICYT.
PB87/0790. 1988-1991.
J.M. González Ros. 8.000.000.- Pts.
- “Clonaje y secuenciación de los genes que codifican los antígenos neurales MAD-12 y MAD-5 en el genoma de rata”. CICYT. PM 88-0182. Fernando Moya. 6.000.000.- Pts.
- “Papel de la membrana plasmática en la resistencia celular a agentes antineoplásicos”. DGICYT.
1988-90. J. Ferragut. 5.700.000.- Pts.
- “Infraestructura”. Generalitat Valenciana. 1988. V. Ceña. 2.000.000.- Pts.
- “Drosophila”. CICYT. 1988-91.
J. Miquel. 14.126.000.- Pts.
- “La señal del calcio y el ciclo secretor en la célula cromafín”. CICYT. 1988-91. S. Viniegra. 6.500.000.- Pts.
- “Estudio en nervios periféricos del desarrollo molecular de la polineuropatía inducida por organofosforados”. FISS 88/229.
E. Vilanova. 2.600.000.- Pts.
- FISS 88/1905. E. Vilanova. 4.100.000.- Pts.
- “Estudio del nervio hipogástrico ligado de gato: un modelo para estudiar la electrofisiología de la secreción”. CICYT PM88-0204.
V. Ceña. 1989-93. 15.780.000.- Pts.
- FISS. C. González. 1988-90. 1.500.000.- Pts.
- FISS. V. Ceña. 1988-90. 1.500.000.- Pts.
- “Infraestructura”. Generalitat Valenciana. V. Ceña. 1989. 4.500.000.- Pts.
- “Ayuda Bibliográfica”. Departamentos de Fisiología, Neuroquímica y Fisiología. CICYT. 1989. 10.000.000.- Pts.
- Estudio en nervios periféricos del desarrollo molecular de la polineuropatía inducida por órganos fosforados. FISS. 89/0874. E. Vilanova. 2.750.000.- + 2.950.000.- Pts.
- “Control trófico de las propiedades eléctricas neuronales”. CAICYT PM89-0021.
R. Gallego. 12.300.000.- Pts.
- “Análisis de imagen”. Programa al Fomento de la Investigación Científica y Tecnológica. Dirección General Enseñanzas Univers. e Investigación (Conselleria Cultura, Educación y Ciencia. Generalitat Valenciana). 1989. J. Merchán. 7.000.000.- Pts.
- “La función neurosecretora: Bioquímica y biología molecular y celular de neuroreceptores y canales iónicos de la célula cromafín. CICYT. M. Criado. 1990-93. 9.900.000.- Pts.
- “Estudio de nervios periféricos del desarrollo molecular de la polineuropatía inducida por organofosforados”. CICYT. SAL-1056. 1990-93. E. Vilanova. 14.600.000.- Pts.
- Acción Especial DGICYT. 1990. J. M. González Ros. 2.000.000.- Pts.
- “Material complementario equipo de fluorescencia”. Infraestructura Generalitat Valenciana. 1990. J. M. González Ros. 5.000.000.- Pts.
- “Efectos de las antagonistas de sustancias P sobre la nocicepción corneal”. Centro de Investigaciones Oculares. Fundación Investigación y Estudios de Alicante. 1989. C. Belmonte. 7.580.000.- Pts.
- “Efectos de las antagonistas de sustancias P sobre la nocicepción corneal”. Centro de Investigaciones Oculares. Fundación Investigación y Estudios de Alicante. 1990. C. Belmonte. 7.300.000.- Pts.
- “Integridad del acomplamiento estímulo-secreción en células beta humanas destinadas al trasplante”. FISS. 90E1262-6-F. 1990. B. Soria. 19.382.000.- Pts.
- “Nocioceptores corneales: Mecanismos de transducción y de interacción trófica en el tejido Diana”. DGICYT. PM90-0113. 1990. C. Belmonte. 10.700.000.- Pts.
- Ayuda para Reunión Científica. “Primera reunión nacional del grupo español de islotes Pancreáticos”. FISS. 90/8065. 1990. B. Soria. 300.000.- Pts.
- Infraestructura Generalitat. 1990. A. Morales. 5.000.000.- Pts.
- Ayuda para adquisición de un equipo de microscopia óptica. DGICYT. Promoción General del Conocimiento 90/0068. 1990. J. Merchán Cifuentes. 8.000.000.- Pts.

Lista de Publicaciones en el período 1985-1990

División de Neurobiología Molecular

- Lindstrom, J., Hochschwender, S., Wan, K., Ratnam, M., Criado, M. (1985). Use of monoclonal antibodies in exploring the structure of acetylcholine receptor. *Biochem. Soc. Trans.* 609: 14-16.
- Criado, M., Hochschwender, S., Sarin, V., Fox, J., Lindstrom, J. (1985). Evidence for unpredicted transmembrane domains in acetylcholine receptor subunits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 2004-2008.
- Criado, M., Sarin, V., Fox, J., Lindstrom, J. (1985). Structural localization of the sequence alpha 235-242 of the nicotinic acetylcholine receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 128: 864-871.
- Vaz, W.L.C., Criado, M. (1985). A comparison of the translational diffusion of a monomer and an oligomer of the acetylcholine receptor protein reconstituted into soybean lipid bilayer. *Biochim. Biophys. Acta*, 819: 18-22.
- Criado, M., Lindstrom, J., Anderson, C.G., Dennert, G. (1985). Cytotoxic granules from killer cells: specificity of granules from killer cells: specificity of granules and insertion of channels of defined size into target membranes. *J. Immunol.*, 135: 4245-4251.
- Lindstrom, J., Hochschwender, S., Wan, K., Ratnam, M., Criado, M. (1985). Monoclonal antibodies: biological and clinical applications. Ed. Pinchera, Doria, Dammacco, Bergellesi. Milan. pp. 221-231.
- Lindstrom, J., Criado, M., Lam, H. (1986). Nicotinic acetylcholine receptor. NATO series. Ed. A. Maelicke. Springer-Verlag. Berlin. Vol. 3. pp. 19-33.
- Ratnam, M., Sargent, P., Criado, M., Lindstrom, J. (1986). Location of antigenic determinants on primary sequences of the subunits of the nicotinic acetylcholine receptor by peptide mapping. *Biochemistry*, 25: 2621-2632.
- Criado, M., Sarin, V., Fox, J., Lindstrom, J. (1986). Evidence that the acetylcholine binding site is not formed by the sequence alpha 127-143 of the acetylcholine receptor. *Biochemistry*, 25: 2839-2846.
- Ratnam, M., Gullick, W., Spiess, J., Wan, K., Criado, M., Lindstrom, J. (1986). Structural heterogeneity of the alpha subunits of the nicotinic acetylcholine receptor in relation to agonist affinity alkylation. *Biochemistry*, 25: 4268-4275.
- Barceló, F., Barceló, I., Gavilanes, J.A., Ferragut, J.A., Yanovich, S., González-Ros, J.M. (1986). Interaction of anthracyclines with nucleotides and related compounds studied by spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, 884: 172-181.
- Lindstrom, J., Criado, M., Ratnam, M., Whithing, P., Ralston, S., Rivier, J. (1987). Monoclonal antibodies for the study of acetylcholine receptors. *Ann. New York Acad. Sci.*, 505: 208-225.
- Criado, M., Keller, B.U. (1987). A membrane fusion strategy for single channel recordings of membranes usually non-accessible to patch-clamp pipette electrodes. *FEBS Lett.*, 224: 172-176.
- Artigues, A., Villar, M.T., Ferragut, J., González-Ros, J.M. (1987). Thermal perturbation of membrane-bound acetylcholine receptor from Torpedo: effects of cholinergic ligands and membrane perturbants. *Arch. Biochem. Biophys.*, 258: 33-41.
- Keller, B.U., Hedrich, R., Vaz, W.L.C., Criado, M. (1988). Single channel recordings of reconstituted ion channel proteins: an improved technique. *Eur. J. Physiol.*, 411: 94-100.
- Criado, M., Witzemann, V., Koenen, M., Sakmann, B. (1988). Nucleotide sequence of the rat muscle acetylcholine receptor epsilon-subunit. *Nucleic Acids Res.*, 16: 10920.
- Barceló, F., Martorell, J., Gavilanes, F., González-Ros, J.M. (1988). Equilibrium binding of Daunomycin and Adriamycin to calf thymus DNA: temperatura and ionic strength dependence. *Biochem. Pharmacol.*, 37: 2133-2138.
- Ferrer-Montil, A.V., González-Ros, J.M., Ferragut, J. (1988). Association of Daunomycin to membrane specific domains studied by fluorescence resonance energy transfer. *Biochim. Biophys. Acta*, 937: 379-386.
- Villar, M.T., Artigues, A., Ferragut, J.A., González-Ros, J.M. (1988). Phospholipase A2 hidrolisis products as membrane-specific perturbants to probe structural features of the nicotinic acetylcholine receptor. *Biochim. Biophys. Acta*, 938: 35-43.
- Ferragut, J.A., González-Ros, J.M., Ferrer-Montiel, A.V., Escriba, P.V. (1988). The surface charge of membranes modulates their interaction with Daunomycin. *Proc. New York Acad. Sci.*, 551: 443-445.
- Martínez-Carrión, M., Clarke, J.C., González-Ros, J.M., García-Borron, J.C. (1988). Fluorescence probes for the acetylcholine receptor surface environments. En *"Fluorescence studies on biological membranes"*. Ed. H.J. Hilderson. Plenum Press. New York. pp. 363-392.
- Witzemann, V., Barg, B., Criado, M., Stein, E., Sakmann, B. (1989). Developmental regulation of five subunit specific mRNAs encoding acetylcholine receptor subtypes in rat muscle. *FEBS Lett.*, 242: 419-424.

Lista de Publicaciones en el período 1985-1990

- Artigues, A., Villar, M.T., Fernández, A.M., Ferragut, J.A., González-Ros, J.M. (1989). Cholesterol stabilizes the structure of the nicotinic acetylcholine receptor reconstituted in lipid vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, 985: 325-330.
- González-Ros, J.M., Ferrer-Montiel, A.V., Soto, F., Escriba, P.V., Ferragut, J.A., (1989). Interaction of anthracyclines with plasma membranes from tumor cells: implications on drug resistance. *Biochem. Soc. Trans.*, 17: 964-965.
- Criado, M., Koenen, M., Sakmann, B., (1990). Assembly of an adult type acetylcholine receptor in a mouse cell line transfected with rat muscle epsilon-subunit DNA. *FEBS Lett.* 270: 95-99.
- Witzemann, V., Stein, E., Barg, B., Kono, T., Cuess, W., Hofman, M., Criado, M., Sakmann, B., (1990). Primary structure and functional expression of the α , β , γ , and E-subunits of the acetylcholine receptor from rat muscle. *Eur. J. Biochem.* 194: 437-448.
- Gavilanes, F., Gómez-Gutiérrez, J., Aracil, M., González-Ros, J.M., Ferragut, J.A., Guerrero, E., Peterson, D.L. (1990). Hepatitis B surface antigen: role of lipids in maintaining the structural and antigenic properties of protein components. *Biochem. J.*, 265: 857-864.
- P.V. Escriba, A.V. Ferrer-Montiel, J.A. Ferragut and J.M. González-Ros. (1990). "Role of membrane lipids in the interaction of daunomycin with plasma membranes from tumour cells: Implications in drug resistance phenomena. *Biochemistry* 29, 7275-7282.
- L.M. García-Segura, J.A. Ferragut, P.V. Escriba, A.V. Ferrer-Montiel and J.M. González-Ros. (1990). "Ultrastructural alteration in plasma membranes from drug-resistant P388 leukemia cells". *Biochim. Biophys. Acta* 1029: 191-195.
- G. Riquelme, E. López, L.M. García-Segura, J.A. Ferragut and J.M. González-Ros. (1990). "Giant liposomes: A model system in which to obtain patch-clamp recording of reconstituted ion channels". *Biochemistry*, 29: 11215-11222.
- G. Riquelme, E. Morato, E. López, A. Ruiz-Gómez, J.A. Ferragut, J.M. González-Ros and F. Mayor, Jr. 1990. "Agonist binding to purified Glycine Receptor reconstituted into giant liposomes elicits two types of chloride currents". *FEBS Lett.* 276: 54-58.
- Ferrer R., Sala S., Sánchez-Andrés J.V., & Soria B. Further evidence that Zn^{2+} blocks voltage-dependent Ca^{2+} channels in the mouse pancreatic B-cell. 1985. *Biochemical Society Transactions*. 13: 680-681.
- Palafox, I., Sánchez-Andrés, J.V., Sala, S., Ferrer, R., Soria, B. 1987. Muscarinic Receptors and the control of glucose-induced electrical activity in the Pancreatic B-cell. En: *Biophysics of the Pancreatic B-cell* (E. Rojas, I. Atwater & B. Soria Eds.). 351-358. Plenum Press. New York.
- Sala, S., Matteson, D.R. Single-channel recording of two types of calcium channels in rat pancreatic B-cells. 1990. *Biophysical Journal*. 58: 567-571.
- Hernández, M.A., Avila, J., Moya, F., and Alberto, C. (1989). Rearrangement of microtubule associated protein parallels the morphological transformation of neurons from dorsal root ganglion. *Neuroscience* 29 (2) 471-477.
- Fernando Jiménez, Ernst-Otto Bockamp, Santiago de la Escalera and Fernando Moya. (1989). Characterization of a membrane protein transiently expressed in the developing nervous system of *Drosophila*. Second European Meeting on the Neurogenetics of *Drosophila*. *J. Neurogenetics* 5: 263-264.
- Santiago de la Escalera, Ernst-Otto Bockamp, Fernando Moya, Michael Piovant and Fernando Jiménez. (1990). Characterization and gene cloning of neurotactin, a *Drosophila* transmembrane protein related to cholinesterases. *The EMBO journal*, vol. 9 n.º 11. pp. 3593-3601.
- Patrick Wood, Fernando Moya, Charles Eldridge, Geoffrey Owens, Barbara Ranscht, Melitta Schachner, Mary Bunge and Richard Bunge. (1990). Studies of the initiation of myelination by Schwann Cells. *Ann.N.Y. Acad. Sci.* 605: 1-14.

División de Neurobiología Celular

- Ceña, V., García, A.G., González-García, C., Kirpekar, S.M. (1985). Ion-dependence of the release of noradrenaline by tetraethylammonium and 4-aminopyridine from cat splenic slices. *Br. J. Pharmacol.*, 84: 229-308.
- Ceña, V., García A.G., Khoyi, M., Saloices, M., Sánchez-García, P. (1985). Effect of dihydropyridine BAY-K-8644 on the release of 3H-noradrenaline from isolated rat vas deferens. *Br. J. Pharmacol.*, 85: 691-696.
- García, A.G., Sala, F., Reig, J.A. (1985). Activation of Chromaffin cell calcium channels by Novel dihydropyridine. *Nature*, 313: 503-504.
- García, A.G., Sala, F., Ladona, M.G., Ceña, V., Montiel, C. (1985). Analysis of the catecholamine secretory process by using a novel dihydropyridine calcium "agonist"

- and postassium or caocium gradients. En *Regulation of Transmitter function: basic and clinical aspects*. Elsevier Science Publishers. Vol. 17.
- Cortes, E., Viniegra, S., Aguilar, M.S., Gallar, J. (1985). Citrate determination with aconitase immobilized on solid support. *Int. J. Biochem.*, 17: 131-134.
- Valdeolmillos, M., Eisner, D.A. (1985). The effects of ryanodine on calcium-overloaded sheep cardiac Purkinje fibers. *Circulation Res.*, 56: 452-456.
- Eisner, D.A., Valdeolmillos, M. (1985). The mechanism of the increase of tonic tension produced by caffeine in sheep cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 364: 313-326.
- Soria, B., Arispe, N., Quinta-Ferreira, M.E., Rojas, E. (1985). Differential blockage of two types of potassium channels in the crab giant axon. *J. Memb. Biol.*, 84: 127-135.
- Quinta-Ferreira, M.E., Soria, B., Rojas, E. (1985). Monovalent cation permeabilities of the potassium system in the crab giant axons. *J. Memb. Biol.*, 84: 117-126.
- Ferrer, R., Sala, S., Sánchez-Andrés, J.V., Soria, B. (1985). Further evidence that zinc blocks voltage dependent calcium channels in the mouse pancreatic B-cell. *Biochem. Soc. Trans.*, 13: 680-681.
- Morales, A., Jorda, J.J., Lobo, P. (1985). Passive mechanical properties of the aorta during pregnancy in rats. *Artery*, 13: 165-186.
- Ripoll, C., Soria, B. (1985). Anthrolycholine bromide reveals two muscarinic binding sites in rat brain cortex membranes. *Biochem. Soc. Trans.*, 13: 703-704.
- García, A.G., Artalejo, C.R., Borges, R., Reig, J.A., Sala, F. (1986). Pharmacological properties of the chromaffin cell calcium channel. En *"Biophysics of the pancreatic Beta cells"*. Eds. Atwater, I., Rojas, E., Soria, B. Plenum Press. pp. 139-158.
- Ceña, V., García, A.G., Pi, F., Sánchez-García, P. (1986). Presence of a noradrenaline uptake system on a ligated cat sympathetic nerve. *J. Physiol.*, 372: 351-362.
- Van Veen, T., Elofsson, R., Hartwig, H.G., Mochizuki, M., Ceña, V., Klein, D.C. (1986). Retinal S-antigen: immunocytochemical and immunochemical studies on distribution in animal photoreceptors and pineal organs. *Exp. Biol.*, 45: 15-25.
- Eisner, D.A., Valdeolmillos, M. (1986). A study of intracellular calcium oscillations in sheep cardiac Purkinje fibres measured at the single cell level. *J. Physiol.*, 372: 539-556.
- Eisner, D.A., Valdeolmillos, M. (1986). Measurement of intracellular calcium during the developmet spontaneous relaxation of tonic tension in sheep cardiacc Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 375: 269-281.
- Eisner, D.A., Valdeolmillos, M., Lederer, W.J., Cannell, M.B. (1986). Electrophysiological effects of cardiac glycosides. En: *Cardiac glycosides 1785-1985 biochemistry, pharmacology and clinical relevance*. Eds. E. Erdmann, K. Greef, J.C. Skou. Springer-Verlag. New York. pp. 69-78.
- Eisner, D.A., Valdeolmillos, M. (1986). Na-Ca exchange in cardiac mucle. En *Membranes and cell function*. Ed. Ch. Luttgau. pp. 443-455.
- Cannell, M.B., Eisner, D.A., Lederer, W.J., Valdeolmillos, M. (1986). Effects of membrane potential on intracellular calcium concentration in sheep Purkinje fibres in sodium-free solutions. *J. Physiol.*, 381: 311-331.
- Soria, B., Ferrer, R. (1986). Graded spike electrogenesis in mouse pancreatic B-cell. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 211: 235-246.
- Palafox, I., Sánchez-Andrés, J.V., Sala, S., Ferrer, R., Soria, B. (1986). Muscarinic control of glucose induced electrical activity in pancreatic B-cell. *Adv. Exp. Biol. Med.*, 211: 351-358.
- Marques, A., Ferrer, R., Ripoll, C., Soria, B. (1986). Evidence for a histaminergic modulation of pancreatic B-cell. *Adv. Exp. Biol. Med.*, 211: 359-365.
- Soria, B., Rojas, E. (1986). TEA-resistant potassium channels in the crab giant axon. *Gen. Physiol. Biophys.*, 6: 575-580.
- Atwater, I., Rojas, E., Soria, B. (1986). Biophysics of the Pancreatic B-cell. Plenum Press. New York.
- Borges, R., Sala, F., García, A.G. (1986) Continuous monitoring of catecholamine release from perfused cat adrenal. *J. Neuroci. Meth.* 16: 289-300.
- Sala, F., Fonteriz, R.I., Borges, R., García, A.G. (1986). Inactivation of potassium-evoked adrenomedullary catecholamine release in the presence of calcium strontium or Bay-K-8644. *FEBS Lett.* 1996: 34-38.
- Gallego, R., Ivorra, I., Morales, A. (1987). Effects of central or peripheral axotomy on membrane properties of sensory neurones in the petrosal ganglion of the cat. *J. Physiol.* (London), 391: 39-56.
- Gallego, R., Geijo, E. (1987). Chronic block of the cervical trunk increases synaptic efficacy in the superior and stellate ganglia of the guinea pig. *J. Physiol.* (London), 382: 449-462.
- Morales, A., Ivorra, I., Gallego, R. (1987). Membrane properties of glossophsyrged sensory neurons in the petrosal ganglion of the cat. *Brain Res.*, 401: 340-346.

Lista de Publicaciones en el período 1985-1990

- Coria, F., Fernández, R., Silos, I. and Geijo, E. (1987). Cytochemical Characteristics of the axon membrane at nodes of ranvier in resting, tetrodotoxin-blocked and electrically stimulated peripheral nerves of the rat. *Experimental Neurology*, 96: 61-67.
- Ceña, V., González-García, C., Svoboda, P., Weller, J.L., Klein, D.C. (1987). Developmental study of ouabain-inhibition of adrenergic induction of rat pineal serotonin-N-acetyltransferase (EC 2.3.1.87). *J. Biol. Chem.*, 262: 14467-14471.
- Orts, A., Orellana, C., Canto, T., Ceña, V., González-García, C., García, A.G. (1987). Propanolol isomers and clonidine inhibit adrenomedullary catecholamine release by mechanisms unrelated to adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.*, 92: 795-801.
- González-García, C., Ceña, V., Klein, D.C. (1987). Alpha Na⁺ K⁺ ATPase-mediated ouabain inhibition of adrenergic induction of pineal N-acetyltransferase (E.C. 2.3.1.87) activity. *Molec. Pharmacol.*, 32: 792-797.
- García, A.G., Sala, F., Ceña, V., Montiel, C., Ladona, M.G. (1987). Modulation by calcium of the kinetics of the chromaffin cell secretory response. En *Stimulus-secretion coupling in chromaffin cells*. Ed. K. Rosenheck. pp.
- Ho, A.K., Ceña, V., Klein, D.C. (1987). Cardiac glycosides stimulate phospholipase C activity in rat pinealocytes. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 142: 819-825.
- Sugden, D., Ceña, V., Klein, D.C. (1987). Hydroxyindole-O-methyl transferase. *Methods in Enzymology*, 142: 590-596.
- Eisner, D.A., Valdeolmillos, M., Wray, S. (1987). The effects of membrane potential on active and passive transport in Xenopus oocytes. *J. Physiol.*, 381: 643-659.
- Blasi, J., Ceña, V., González-García, C., Solsona, C., Marsal, J. (1988). Ouabain-induced acetylcholine release independent of extracellular calcium from pure cholinergic synaptosomes. *Neurochem. Res.*, 13: 1035-1041.
- Reig, J.A., Klein, D.C. (1988). Submicrogram quantities of unstained proteins are visualized on polyvinylidene difluoride membranes by transillumination. *Applied and Theoretical Electrophoresis*, 1: 59-60.
- Gutiérrez, L.M., Ballesta, J.J., Hidalgo, M.J., Gandía, L., García, A.G., Reig, J.A. (1988). A two-dimensional electrophoresis study of phosphorylation and dephosphorylation of chromaffin cell proteins in response to a secretory stimulus. *J. Neurochem.*, 51: 1023-1030.
- Viniegra, S., Rabito, C.A. (1988). Development and polarization of Na⁺/H⁺ antiport system during reorganization of LLC-PK1 cells into epithelial membrane. *J. Biol. Chem.*, 263: 7099-7104.
- Llinas, R. and Geijo Barrientos, E., (1988). In vitro studies of mammalian thalamic and reticularis Thalamic neurons. In *Cellular Thalamic Mechanisms*, M. Bentivoglio and R. Spreafico eds. Elsevier. pp.
- Smith, G.L., Valdeolmillos, M., Allen, D.G., Eisner, D.A. (1988). The effects of rapid application of caffeine on the intracellular calcium concentration in ferret papillary muscles. *J. Gen. Physiol.*, 92: 351-368.
- Sánchez-Andrés, J.V., Ripoll, C., Soria, B. (1988). Evidence that muscarinic potentiation of insulin release is initiated by an early calcium entry. *FEBS Lett.*, 231: 144-147.
- Belmonte, C., Gallego, R., Morales, A. (1988). Membrane properties of primary sensory neurones of the cat after peripheral reinnervation. *J. Physiol.*, 405: 219-232.
- Ballesta, J.J., Palmero, M., Hidalgo, M.J., Gutiérrez, L.M., Reig, J.A., Viniegra, S., García, A.G. (1989). Separate binding and functional sites for w-conotoxin and nitrendipine suggest two types of calcium channels in bovine chromaffin cells. *J. Neurochem.*, 53: 1050-1056.
- Gutiérrez, L.M., Hidalgo, M.J., Ballesta, J.J., Palmero, M., Reig, J.A., García, A.G., Viniegra, S. (1989). Phosphorylation of myosin light chain from adrenomedullary chromaffin cells in culture. *Biochem. J.*, 264: 589-596.
- McCabe, R.T., Schoenheimer, J.A., Skolnick, P., Newman, A.H., Rice, K.C., Reig, J.A., Klein, D.C. (1989). 3H-AHNO86 acylates peripheral benzodiazepine receptors in the rat pineal. *FEBS Lett.*, 244: 263-267.
- Ceña, V., Stutzin, A., Rojas, E. (1989). Effects of calcium and BAY-K-8644 on L-type calcium currents in bovine chromaffin cells. *J. Membr. Biol.*, 112: 255-265.
- O'Neill, S.C., Valdeolmillos, M., Eisner, D.A. (1989). The effects of nickel on contraction and membrane current in isolated rat myocytes. *Q.J. Exp. Physiol.*, 73: 1017-1020.
- Eisner, D.A., Kenning, N.A., O'Neill, S.C., Pocock, G., Richards, C.D., Valdeolmillos, M. (1989). A novel method for the absolute measurement of intracellular pH applicable to any pH indicator. *Eur. J. Physiol.*, 413: 553-558.
- Eisner, D.A., Nichols, C.G., O'Neill, S.C., Smith, G.L., Valdeolmillos, M. (1989). The effects of metabolic inhibition on intracellular calcium and pH in isolated rat ventricular cells. *J. Physiol.*, 411: 393-418.

- Biscoe, T.J., Duchen, M.R., Eisner, D.A., O'Neill, S.C., Valdeolmillos, M. (1989). Measurement of intracellular Ca^{2+} in dissociated type I cells of the rabbit carotid body. *J. Physiol.*, 416: 421-434.
- Valdeolmillos, M., O'Neill, S.C., Smith, G.L., Eisner, D.A. (1989). Calcium-induced calcium release activates contraction in intact cardiac cells. *Eur. J. Physiol.*, 413: 676-678.
- O'Neill, S.C., Valdeolmillos, M., Smith, G.L., Eisner, D.A. (1989). The effects of metabolic inhibition on intracellular pH and Ca^{2+} . *Mol. Cell. Biochem.*, 89: 199-203.
- Valdeolmillos, M., Santos, R.M., Contreras, D., Soria, B., Rosario, L.M. (1989). Glucose-induced oscillations of intracellular Ca^{2+} concentration resembling bursting electrical activity in single mouse islets of Langerhans. *FEBS Lett.*, 259: 19-23.
- Rosario, L.M., Soria, B., Feuerstein, G., Pollard, H.B. (1989). Voltage-sensitive calcium flux into bovine chromaffin cells occurs through DHP-sensitive and DHP and W-conotoxin-insensitive pathways. *Neuroscience*, 29: 735-747.
- Ballesta, J.J., Borges, R., García, A.G., Hidalgo, M.J. (1989). Secretory and Radioligand Binding Studies on Muscarinic Receptors in Bovine and Feline Chromaffin Cells. *J. Physiol.*, 418: 411-426.
- Reig, J.A., Li-Yu, Klein, D.C. (1990). Pineal transduction. *J. Biol. Chem.*, 265: 5816-5824.
- Shyjan, A.W., Ceña, V., Klein, D.C., Levenson, R. (1990). Differential expression and enzymatic properties of the Na^{+} , K^{+} -ATPase α 3 isoenzyme in rat pineal glands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 1178-1182.
- Cena, V., Rojas, E. (1990). Kinetic characteristics of calcium-dependent, cholinergic receptor controlled ATP secretion from adrenal medullary chromaffin cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1023: 213-222.
- Valdeolmillos, M., Eisner, D.A. (1990). A practical introduction to the use of intracellular fluorescent indicators. En *New methods in the study of transport across the cell membrane*. Eds. D.L. Yudilevich, R. Deves, S. Peran, Z.I. Cabantchik. Plenum Press.
- Gallego, R., Adrover, E. (1990). Axotomy decreases conduction velocity of unmyelinated sensory fibres. *Brain Res.* 523: 298-300.
- Gallego, R., Morales, A., Belmonte, C. (1990). Membrane properties of cat carotid neurons after peripheral regeneration. En: *Arterial Chemoreception*. Eds. Eyzaguirre, C., Fidone, S.J., Fitzgerald, R.S., Lahiri, S., McDonald, D.M., Springer Verlag: New York. Pág. 215-219.
- Duchen, M.R., Valdeolmillos, M., O'Neill, S.C., Eisner, D.A. (1990). Effects of metabolic blockade on the regulation of intracellular calcium in dissociated mouse sensory neurones. *J. Physiol.*, 424: 411-426.
- Sala, F., Hernández Cruz, A. (1990). Calcium diffusion modeling in a spherical neuron: Relevance of buffering properties. *Biophysical Journal*, 57: 313-324.
- Hernández Cruz, A., Sala, F., Adams, P.R. (1990). Subcellular calcium transients visualized by confocal microscopy in a voltage-clamped vertebrate neuron. *Science*, 247: 858-862.
- Ballesta, J.J., García, A.G., Gutiérrez, L.M., Hidalgo, M., Palmero, M., Reig, J.A., Viniegra, S. (1990). Separate ^3H -nitrendipine binding sites in mitochondria and plasma membranes of bovine adrenal medulla. *Br. J. Pharmacol.*, 101: 21-26.
- González-García, C., Keiser, H.R. (1990). Angiotensin II and angiotensin converting enzyme binding in human adrenal gland and pheochromocytomas. *Journal of Hypertension*, 8: 433-441.

División de Neurobiología de Sistemas, Funciones Superiores y Comportamiento

- Berbel, P.J., Escobar del Rey, F., Morreale de Escobar, G., Ruiz-Marcos, A. (1985). Effect of hypothyroidism on the size of dendritic spines of pyramidal neurons of the rat visual cortex. *Brain Res.*, 337: 217-223.
- Merchán, M.A., Collía, F., Merchán, J.A., Saldaña, E. (1985). Distribution of primary afferent fibres in the cochlear nuclei. *J. Anat.* 121: 141-146.
- Steriade, M., Deschenes, M., Domich, L., Mulle, C. (1985). Abolition of spindle related activity in thalamic neurones disconnected from reticularis nucleus. *J. Neurophysiol.*, 54: 1473-1497.
- Berbel, P.J., (1986). Chromation at low temperatures improves impregnation of neurons in Golgi-aldehyde methods. *J. Neurosci. Meth.*, 17: 255-259.
- Catsicas, S., Berbel, P.J., Innocenti, G.M. (1986). A combination of Golgi impregnation and fluorescent retrograde labeling. *J. Neurosci. Meth.*, 18: 325-332.
- Belmonte, C., Zuazo, A., Ibáñez, J. (1986). Sensory nerve responses elicited by experimental ocular hypertension. *Exp. Eye Res.*, 43: 759-770.
- Prieto, J.J., Merchán, J.A., Gil-Loyzaga, P., Rueda, J. (1986). Subsurface material in outer hair cells. *Hearing Res.*, 21: 277-288.

Lista de Publicaciones en el período 1985-1990

- Prieto, J.J., Merchán, J.A. (1986). Tannic acid staining of the cell coat of the organ of Corti. *Hearing Res.*, 24: 237-241.
- Merchán, J.A., Sánchez, F., Rueda, J. (1986). Sensorineural interactions in the embryonic stages. *Acta Otolaryngol. Suppl.*, 429: 11-26.
- Rueda, J., Juiz, J.M., Prieto, J.J., Angulo, A. (1986). A Golgi study on the nucleus Accumbens Septi of the rat. *J. Hirnfors.*, 27: 515-520.
- Steriade, M., Domich, L., Oakson, G. (1986). Reticularis thalamic neurons: activity changes during shifts in states of vigilance. *J. Neurosci.*, 6: 68-81.
- Domich, L., Oakson, G., Steriade, M. (1986). Thalamic burst patterns in the naturally sleeping cats. A comparison between control relays thalamic and reticularis neurones. *J. Physiol.*, 379: 429-449.
- Domich, L. (1986). A pacemaker of thalamocortical circuits: The reticularis nucleus. *Physiology Canada*, 21: 73-76.
- Domich, L., Bouchaud, N.D., Loget, P. (1986). Alterations of the functional properties of the parallel fibers in the cerebellum of the Scrapie mouse. *Arch. Ital. Biol.*, 124: 1-22.
- Merchán, M.A., Collía, F., Merchán, J.A., Ludeña, M.D. (1987). Distribution of primary cochlear afferents in the bulbar nuclei of the rat. A horseradish peroxidase (HRP) study in parasagittal sections. *J. Anat.*, 144: 71-80.
- Berbel, P.J., Martínez, F.J., López-García, C. (1987). Intrinsic organization of the medial cerebral cortex of the lizard *Lacerta ptyusensis*. A Golgi study. *J. Morphol.*, 194: 275-286.
- Belmonte, C., Pérez, E., Gallar, J., López-Briones, L.G. (1987). Chronic stimulation of ocular sympathetic fibers in unanesthetized rabbits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 28: 194-197.
- Belmonte, C., Pérez, E., López-Briones, L.G., Gallar, J. (1987). Effects of chronic sympathetic stimulation on corneal wound healing. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 28: 221-224.
- Belmonte, C., Bartels, S.P., Liu, J.H., Neufeld, A.H. (1987). Effects of stimulation of the ocular sympathetic nerves on IOP and aqueous humor flow. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 28: 1649-1654.
- Belmonte, C., Gallar, J., M.A., Rebollo, I. (1988). Effects of capsaicin on the neural discharge of corneal sensory fibres in the anaesthetized cat. *J. Physiol.* 401: 57P.
- Gallar, J., Pozo, M.A., Rebollo, I., Belmonte, C. (1990). Effects of capsaicin on corneal wound healing. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 31: 1968-1974.
- Cuenca, N., Fernández, E., De Juan, J., Carreres, J., Iñiguez, C. (1987). Postnatal development of microtubules and neurofilaments in the rat optic nerve. A quantitative study. *J. Comp. Neurol.*, 263: 613-617.
- Rueda, J., Juiz, J.M., Sen, C., Merchán, J.A. (1987). Neuronal loss in the spiral ganglion of young rats. *Acta Otolaryngol.*, 104: 417-429.
- Prieto, J.J., Merchán, J.A. (1987). Regional specialization of the cell coat in the hair cells of the organ of Corti. *Hearing Res.*, 31: 223-228.
- Coca-Prados, M., López-Briones, L.G. (1987). Evidence that the alpha an alpha (+) isoforms of the catalytic subunit of (Na^+ , K^+)ATPase reside in distinct ciliary epithelial cells of the mammalian eye. *Biochem Biophys Res. Comm.* 145: 460-466.
- Steriade, M., Domich, L., Oakson, G., Deschenes, M. (1987). Spindles oscillations and rhythmic burst on deafferented reticularis nucleus. *J. Neurophysiol.*, 57: 260-273.
- Domich, L., Oakson, G., Deschenes, M., Steriade, M. (1987). Thalamic and cortical spindles during early ontogenesis in kittens. *Develop. Brain Research*, 31: 140-144.
- Berbel, P. ((1988). Cytology of medial and dorsomedial cerebral cortices in lizards: a Golgi study. En *Recent advances in understanding the structure and function of the forebrain in reptiles*. Comp. Physiol. Vol. 1. Eds. W.K. Schwerdtfeger, W.J. Smeets. Karger Verlag. Basel. pp. 12-19.
- Innocenti, G.M., Berbel, P.J., Clarke, S. (1988). Development of projections from auditory to visual areas in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 272: 242-259.
- López-García, C., Martínez-Guijarro, F.J., Berbel, P.J., García-Verdugo, J.M. (1988). Long-spined polymorphic neurons of the Medial cortex of lizards: a Golgi, Timm and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.*, 272: 409-423.
- Berbel, P.J., Innocenti, G.M. (1988). The development of the corpus callosum in the cat: a light and electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.*, 276: 132-156.
- Rueda, J., Lim, D.J. (1988). Possible Transient stereociliary adhesion molecules expressed during cochlea development: a preliminary study. En *Glycoconjugates in Medicine*. Eds. M. Ohyama, T. Muramatsu. PFS. Tokyo. pp. 338-350.
- Juiz, J.M., Rueda, J., Merchán, J.A. (1988). Reversible damage to the nerve fibres in the organ of Corti after surgical opening of the cochlea in the rat. *Acta Otolaryngol.*, 106: 29-38.
- Álvarez-Bolado, G., Merchán, J.A. (1988). Synaptic endfeet in the acoustic nerve

- nucleus of the rat. An electron microscopic study. *J. Anat.* 159: 19-28.
- Belmonte, C., Gual, A., Mintenig, G. (1989). Intraocular pressure effects of water loading and venous compression tests in normal and denervated pigmented rabbits. *Exp. Eye Res.*, 48: 365-374.
- Cuenca, N., Kolb, H. (1989). Morphology and distribution of Neurons immunoreactive for substance P in the turtle retina. *J. Comp. Neurol.*, 290: 391-411.
- Rueda, J., Juiz, J.M., Merchán, J.A. (1989). Surgical trauma to the cochlea results in reversible damage to spiral ganglion type I neurons. *Acta Otolaryngol.*, 107: 59-67.
- Juiz, J.M., Altschuler, R., De Blas, A.L. (1989). Immunocytochemical localization of the GABA_A/benzodiazepine receptor in the guinea pig cochlear nucleus: evidence for receptor localization heterogeneity. *Brain Res.*, 504: 178-189.
- Iníguez, C., Tamayo, P., Gayoso, M., Romero, E., De Juan, J. (1990). Alterations in prolactin secretion during the first postnatal month following perinatal dopaminergic blockade with haloperidol. *Neuroendocrinology*, 51: 700-704.
- Wang, H.H., Cuenca, N., Kolb, H. (1990). Development of morphological types and distribution patterns of amacrine cells immunoreactive to tyrosine hydroxylase in the cat retina. *Visual Neurosci.*, 4: 159-175.
- Prieto, J.J., Rueda, J., Merchán, J.A. (1990). The effect of hypothyroidism on the development of the glycogen content of organ of Corti's hair cells. *Dev. Brain Res.*, 51: 138-141.
- Prieto, J.J., Rueda, J., Merchán, J.A. (1990). Two different secretion mechanisms in the inner ear's interdental cells. *Hearing Res.*, 45: 51-62.
- Prieto, J.J., Rueda, J., Sala, M.L., Merchán, J.A. (1990). Lectin staining of saccharides in the normal and hypothyroid developing organ of Corti. *Dev. Brain Res.*, 52: 141-149.
- Prieto, J.J., Rubio, M.E., Merchán, J.A. (1990). Localization of anionic sulfate groups in the tectorial membrane. *Hearing Res.*, 45: 283-294.
- Rueda, J., Prieto, J.J., Merchán, J.A. (1990). Development of glycogen content in normal and hypothyroid organ of Corti. *Adv. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 45: 31-33.
- Rueda, J., Prieto, J.J., Merchán, J.A. (1990). Secretion of carbohydrates by the hypothyroid Kölliker's organ. *Adv. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 45: 34-37.
- Lim, D.J., Rueda, J. (1990). Distribution of glycoconjugates during cochlea development. A histochemical study. *Acta Otolaryngol.*, 110: 224-233.
- López-Briones, L.G., Wax, M.B., Coca-Prados, M. (1990). Regulation of protein phosphorylation in ocular ciliary epithelial cells by A, C and Ca²⁺ / Calmodulin-dependent protein kinases. *Exp. Eye Res.*, 51: 277-286.
- Angulo, A., Merchán, J.A., Merchán, M.A. (1990). Morphology of the rat cochlear primary afferents during prenatal development: A Golgi and Cajal study. *J. Anat.* 168: 241-255.
- Rueda, J., Prieto, J.J., Merchán, J., Sala, M.L. (1990). Secretion of carbohydrates by the hypothyroid Killiker's organ. *Adv. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 45: 133-136.
- Angulo, A., Merchán, J., (1990). Prenatal development of the cochlear nerve in the albino rat. *J. Hirnfors.*, 31: 13-23.
- Rueda, J., Prieto, J.J., Merchán, J., (1990). Development of glycogen content in normal and hypothyroid organ of Cort. *Adv. Otol. Rhinol. Laryngol.* 45: 140-143.
- Prieto, J.J., Rueda, J., Merchán, J.A., Rubio, M.E., (1990). Polycarpine elicits. The secretory activity of inner ear's interdental cells. *Hearing Research*. 54: 59-66.
- López, I., Juiz, J.M., Altschuler, R.A., Meza, G. (1990). GABA immunoreactivity in the crista ampullaris of the guinea pig. *Brain Res.* 530: 170-175.

División de Neurobiología Aplicada

- Vicedo, J.L., Pellin, M.C., Vilanova, E. (1985). Phthalates and organophosphorus compounds as cholinesterase inhibitors in fractions of industrial hexane impurities. *Arch. Toxicol.*, 57: 46-52.
- Miquel, J., Philpott, D.E. (1985). Structural correlates of aging in *Drosophila*: relevance to the cell differentiation, rate-of-living and free radical theories of aging. En: *Insect Aging: Strategies and Mechanisms*. Eds. K.G. Collatz, R.S. Sohal. Springer. Berlin-New York. pp. 117-129.
- Weber, H.U., Miquel, J. (1985). Antioxidant supplementation and longevity. En: *Nutritional Aspects of Aging*. Ed. L. Chen. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. pp. 42-49.
- Fleming, J.E., Miquel, J., Bench, K.G. (1985). Age dependent changes in mitochondria. En: *Molecular Biology of Aging*. Eds. A.D. Woodhead, A.D. Blackett, A. Hollaender. Plenum Publishing Co. New York. pp. 143-156.
- Philpott, D.E., Kato, K., Corbett, R., Stevenson, J., Black, S., Sapp, W., Miquel, J., Lindseth, K., Benton, E. (1985). The effects of high energy (HZE) particle

