



microRNAs (miRNAs) as novel biomarkers of Acute Kidney Injury

MARÍA LAURA GARCÍA BERMEJO, PhD

Head of Cell Response to Ischemia Lab

Systems Pathologies and Cancer Area

Instituto Ramon y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS)

Associate Professor of Physiology

School of Medicine

Alcala University



Renal ischemic damage in clinical practice

Renal Transplantation:

(Spain 2.500/year)

- 25- 50% **Ischemic damage:**
 - dialysis
 - chronic allograft dysfunction
 - contributes to allograft rejection

Acute Kidney Injury

Renal dysfunction:

↑ ↑ Creatinine and BUN
↓ ↓ Creatinine clearance

Incidence:

3.000-5.000 mil hab /year
ICU: 30%

Mortality average: 50%
ICU: 80%;

Aethiologies:

- septic
- toxic
- ischemic: politrauma
aneurism
cardiac surgery: 60%

Acute Kidney Injury (AKI): Diagnostic and long term Biomarkers

- **Creatinine:**

- Widely used AKI biomarker in clinical practice
- Creatine metabolism.
- Freely filtered in the glomerulus



Important Limitations:

- Modified by non-renal factors: age, gender, muscle mass, diet.
- Secretion modified by drugs
- Consequence of renal tissue injury
- Does not reflect GFR changes in real-time
- **Creatinine does not allow AKI long term evolution**

AKI Diagnosis delay

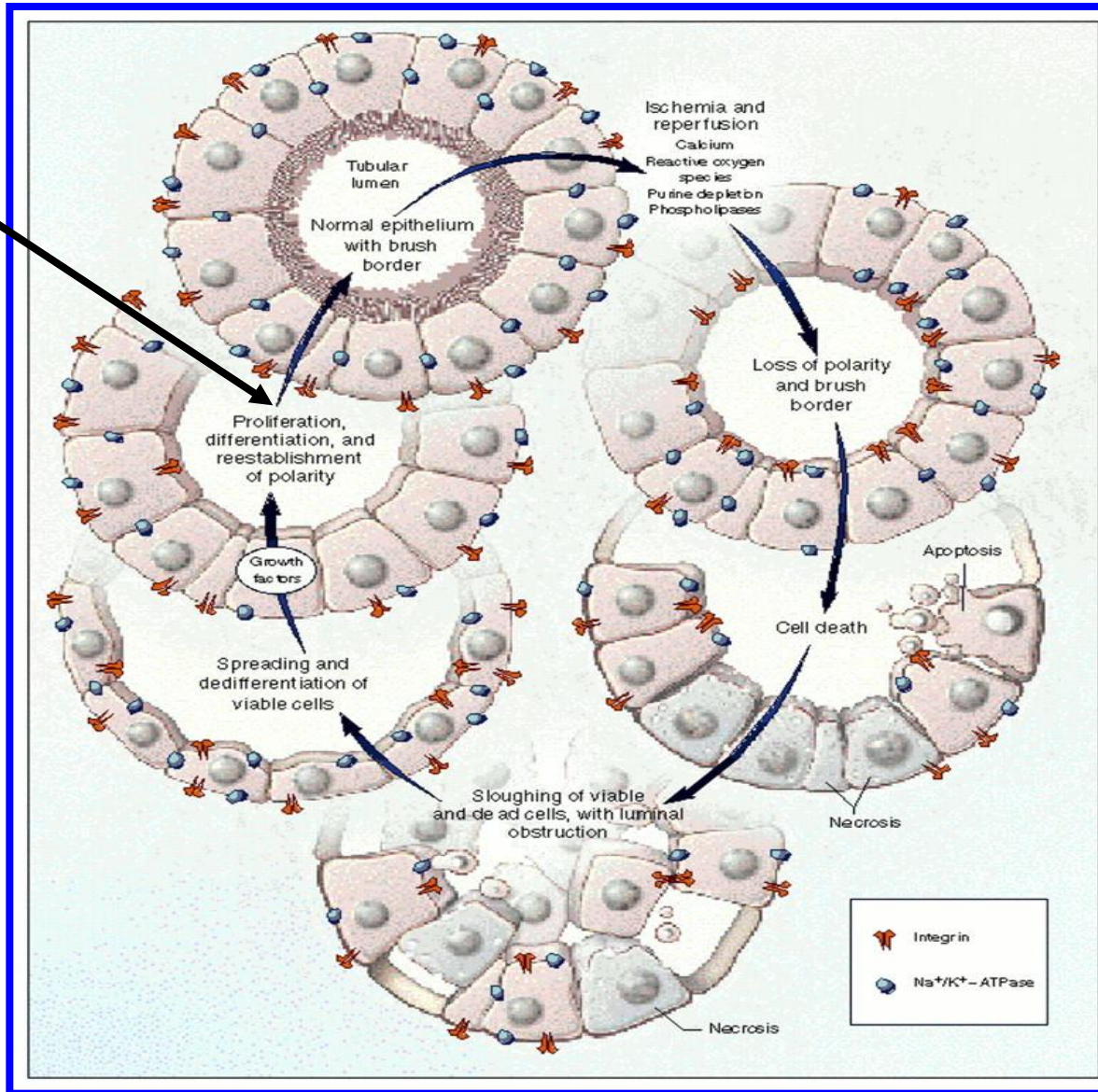
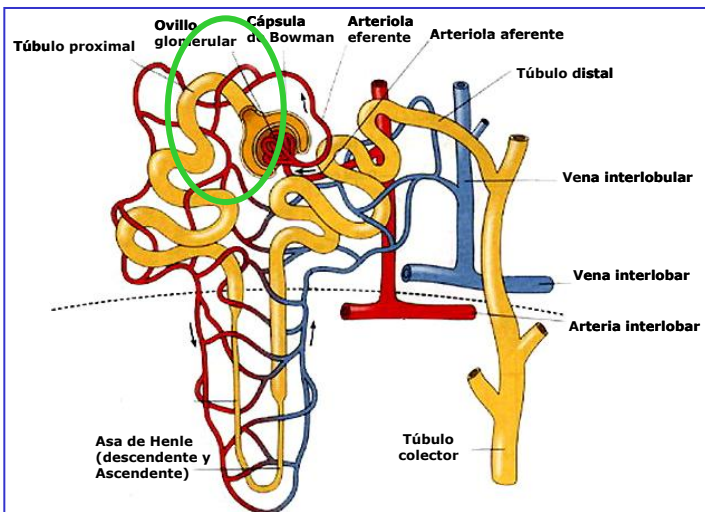


Need of novel AKI Biomarkers

Damage and repair in proximal tubules during I/R:

Acute Tubular Necrosis (ATN)

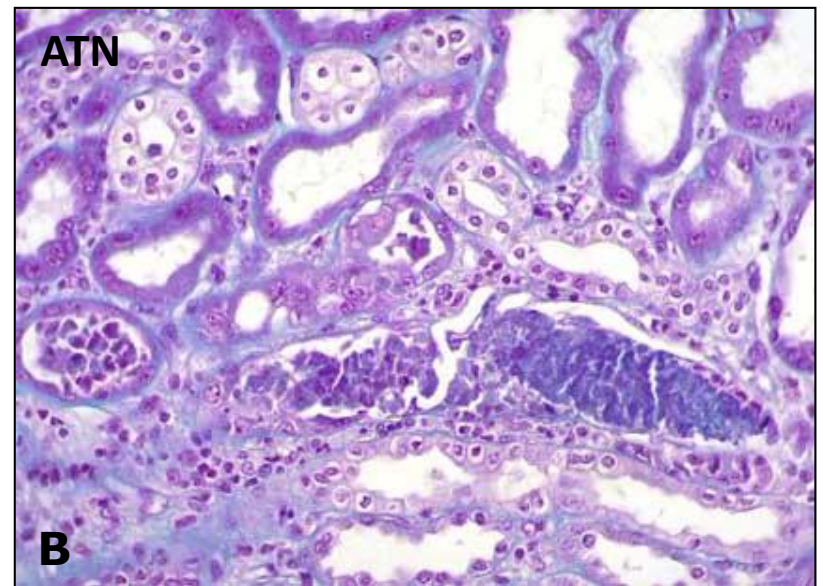
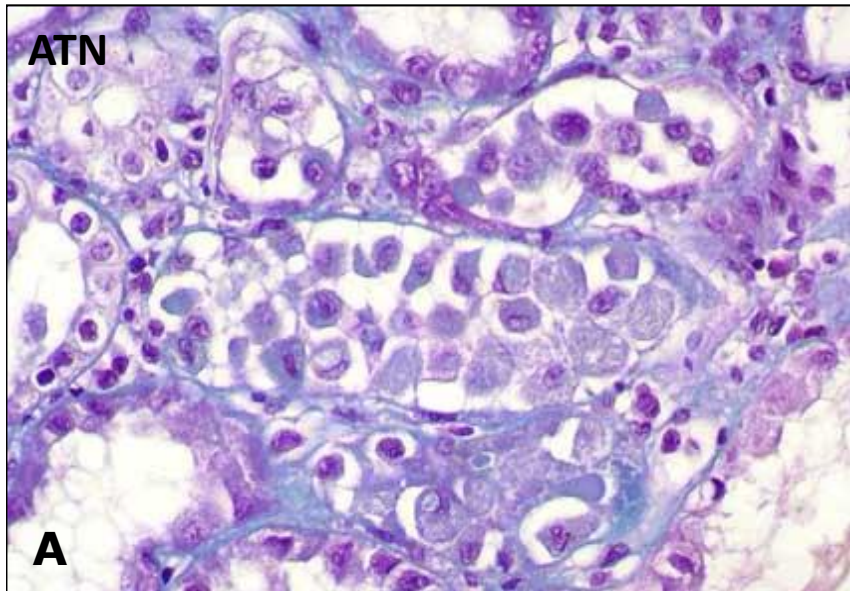
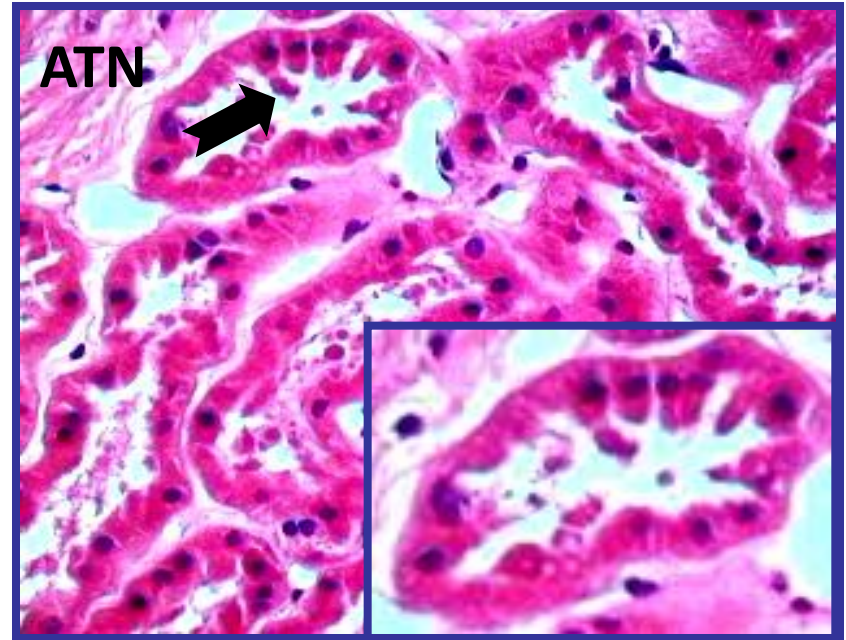
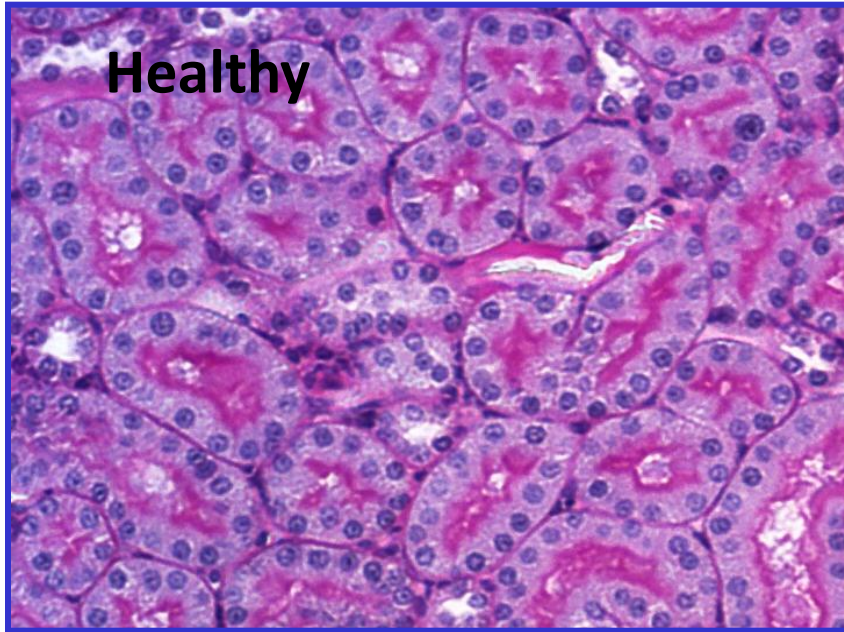
Repair by
local pluripotent cells
and
bone marrow stem cells



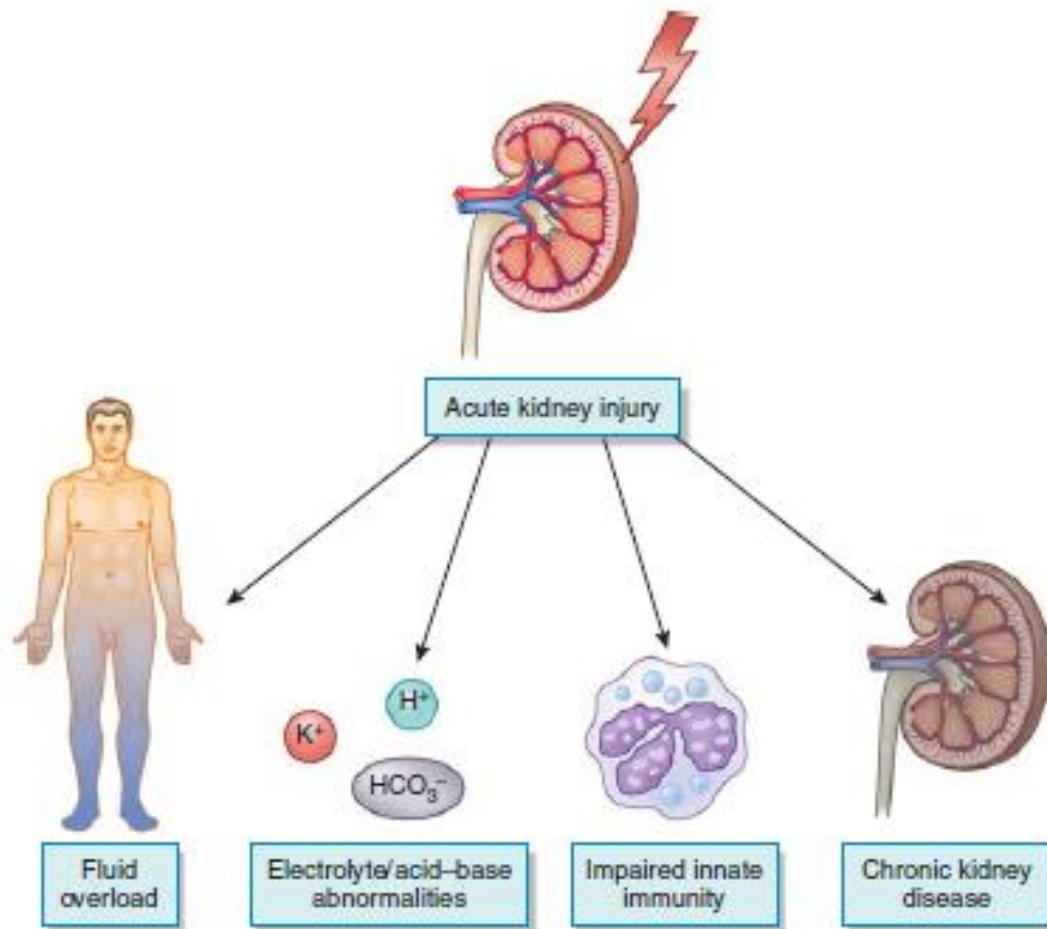
Thadhani et al., *New England Journal of Medicine* 334(22): 1996.

Humphreys et al., *PNAS* 108 (22), 2011

Acute Tubular Necrosis (ATN) in humans



AKI Outcome: Electrolyte abnormalities, immunity impairment and Chronic Kidney disease development



Biomarkers for AKI long term outcome are NOT available

Chronic kidney disease definition

Table 1. Stages of Chronic Kidney Disease and Prevalence in Adults.*

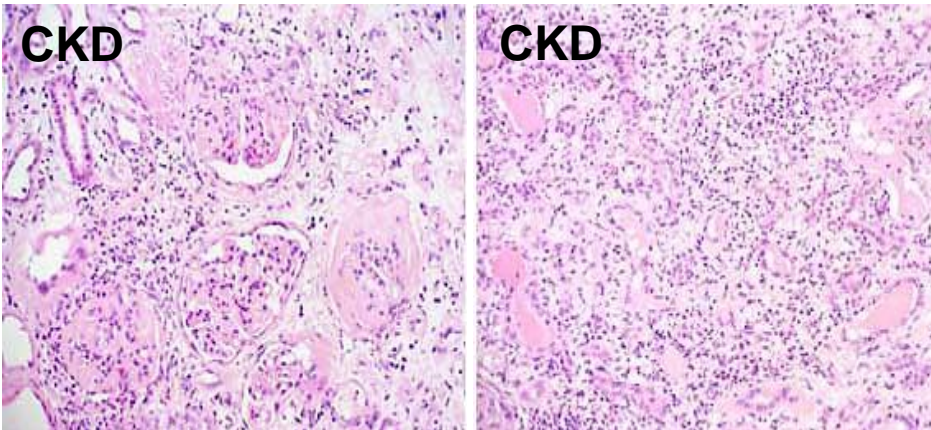
Stage	Description	Estimated GFR [†] ml/min/1.73 m ²	Prevalence %	No. of Patients millions
I	Kidney damage with normal or increased GFR	>90	1.78	3.6
II	Kidney damage with small decrease in GFR	60–89	3.24	6.5
III	Kidney damage with moderate decrease in GFR	30–59	7.69	15.5
IV	Kidney damage with large decrease in GFR	15–29	0.35	0.7
V	Kidney failure with need for dialysis (end-stage renal disease)	<15	0.25	0.5

* Data are from National Kidney Foundation guidelines,¹ Coresh et al.,² and the U.S. Renal Data System.³

[†] The abbreviated Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formula was used to estimate the glomerular filtration rate (GFR).^{1,2,4}

Functional definition:

Drop in glomerular rate filtration

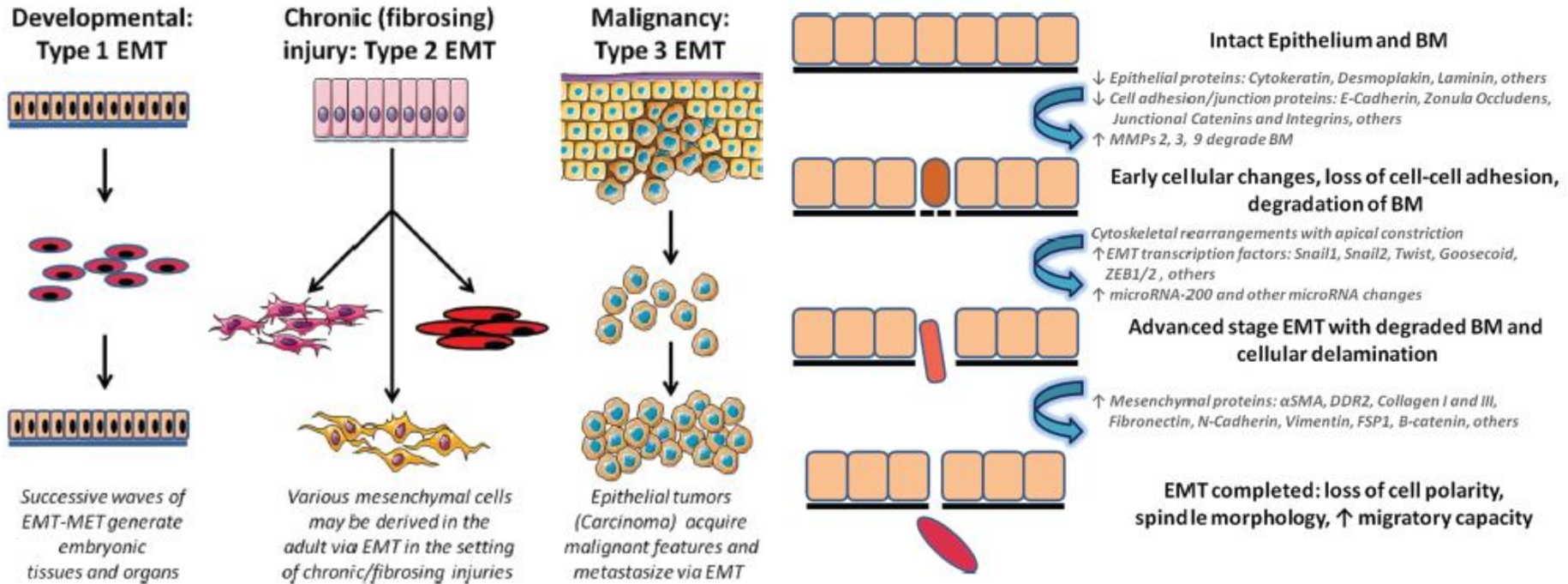


Histopathological definition:

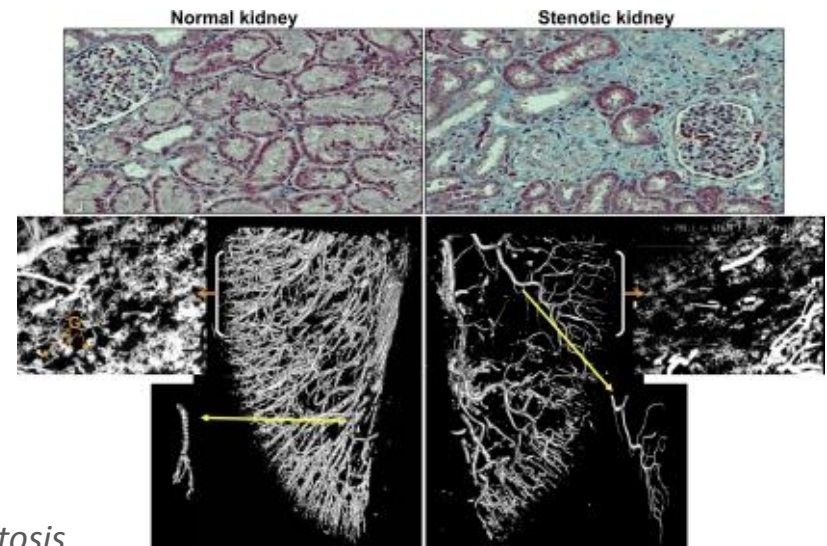
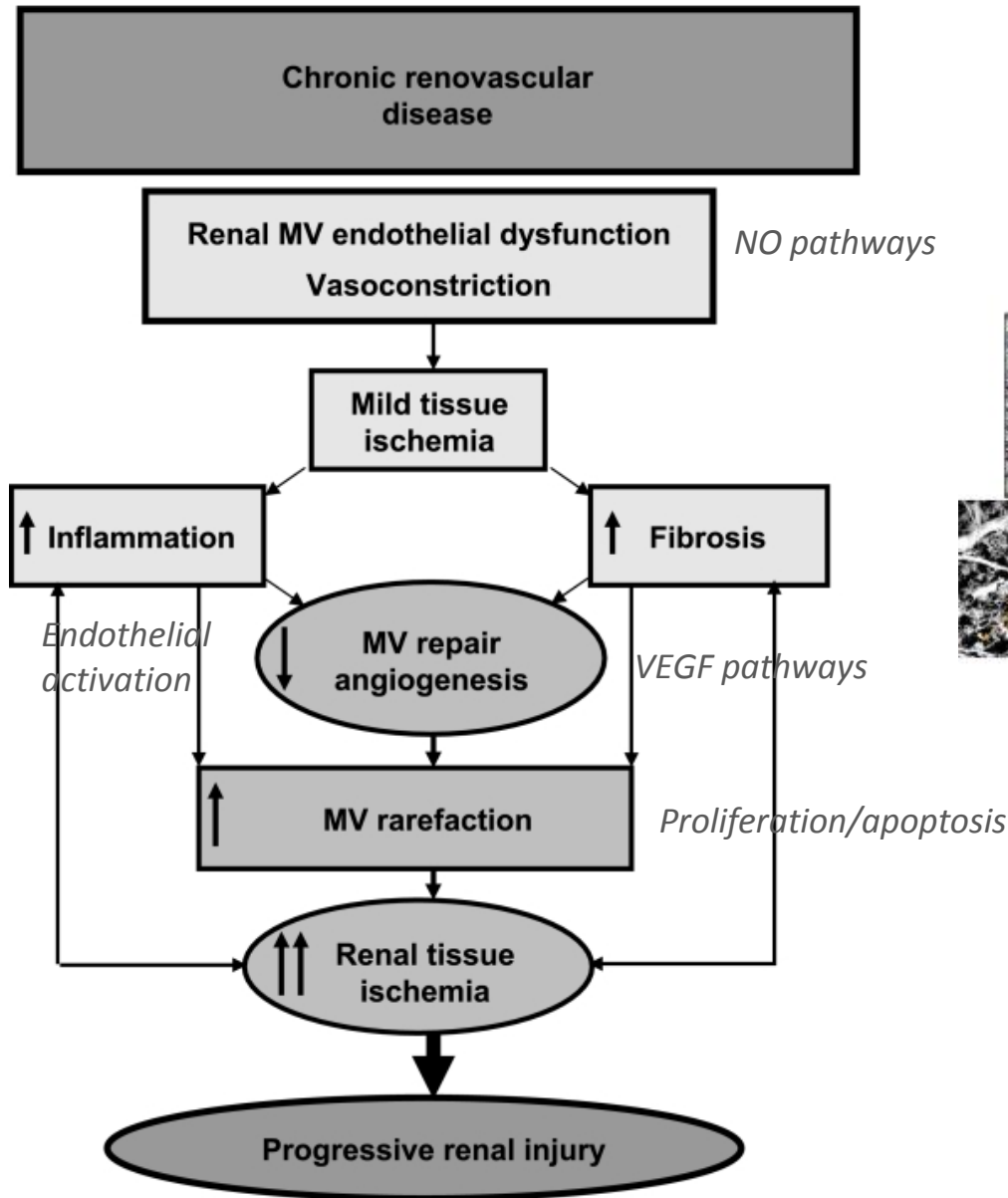
Tubulointerstitial fibrosis :

- Failure in regeneration of tubular epithelium
- Fibrogenesis:
 - EMT from epithelium
 - accumulation of activated fibroblasts,
- Microvascular alterations (EndMT, rarefaction)
- Permanent inflammation

Chronic kidney disease: Epithelial mesenchymal transition (EMT) Process

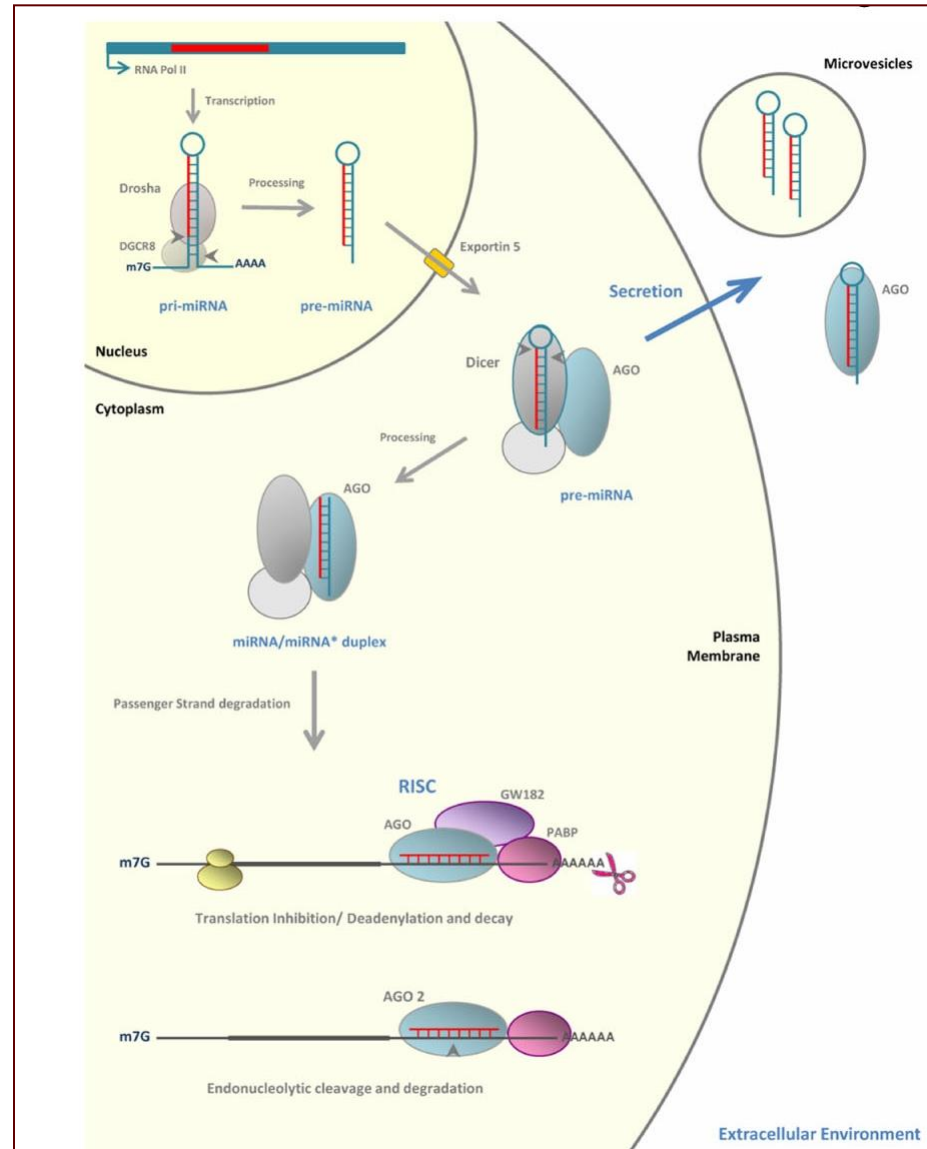


Chronic kidney disease: Vascular Alterations , rarefaction



microRNAs Biogenesis and function

- Small endogenous RNA molecules (20-25 nt).
- Post-transcriptional negative regulation of gene expression.
- More than 90% of genes in mammals.
- Action mechanism in animals:
 - Translational Repression
 - mRNA deadenylation and degradation
- Target mRNA → recognition of small complementary sequences



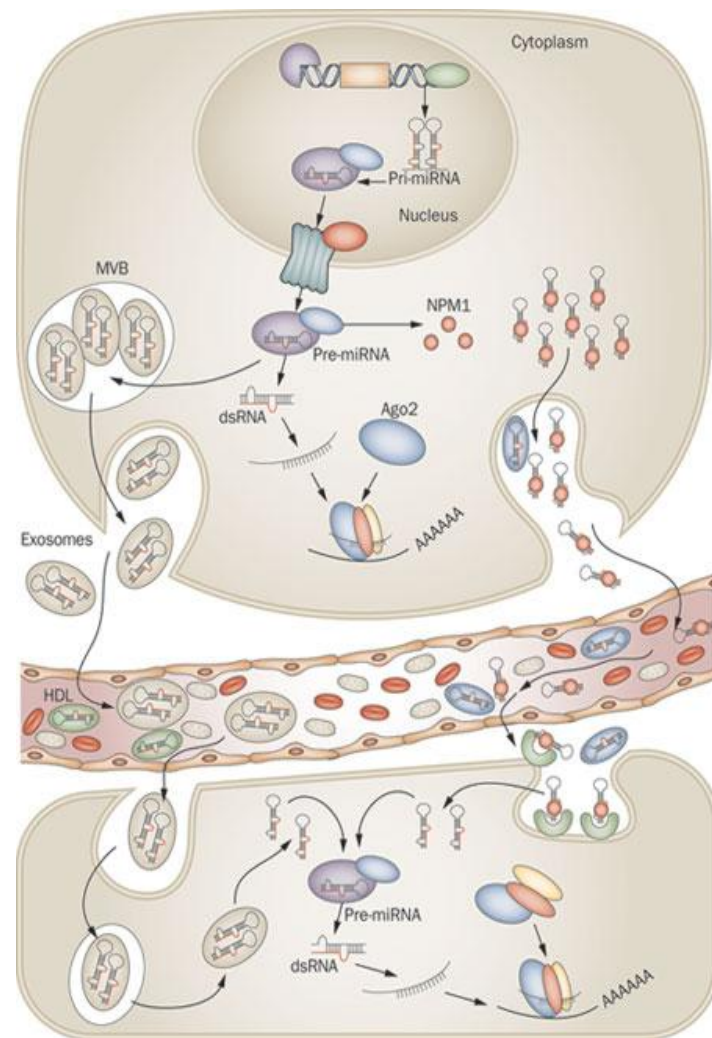
microRNAs as novel biomarkers

miRNA Secretion to Extracellular environment.

- Carried by:
 - Microvesicles (MVB)
 - Proteins (Ago2)
- miRNA detection in cell-free body fluids:
 - Urine
 - Serum
- miRNA secretion → Highly regulated

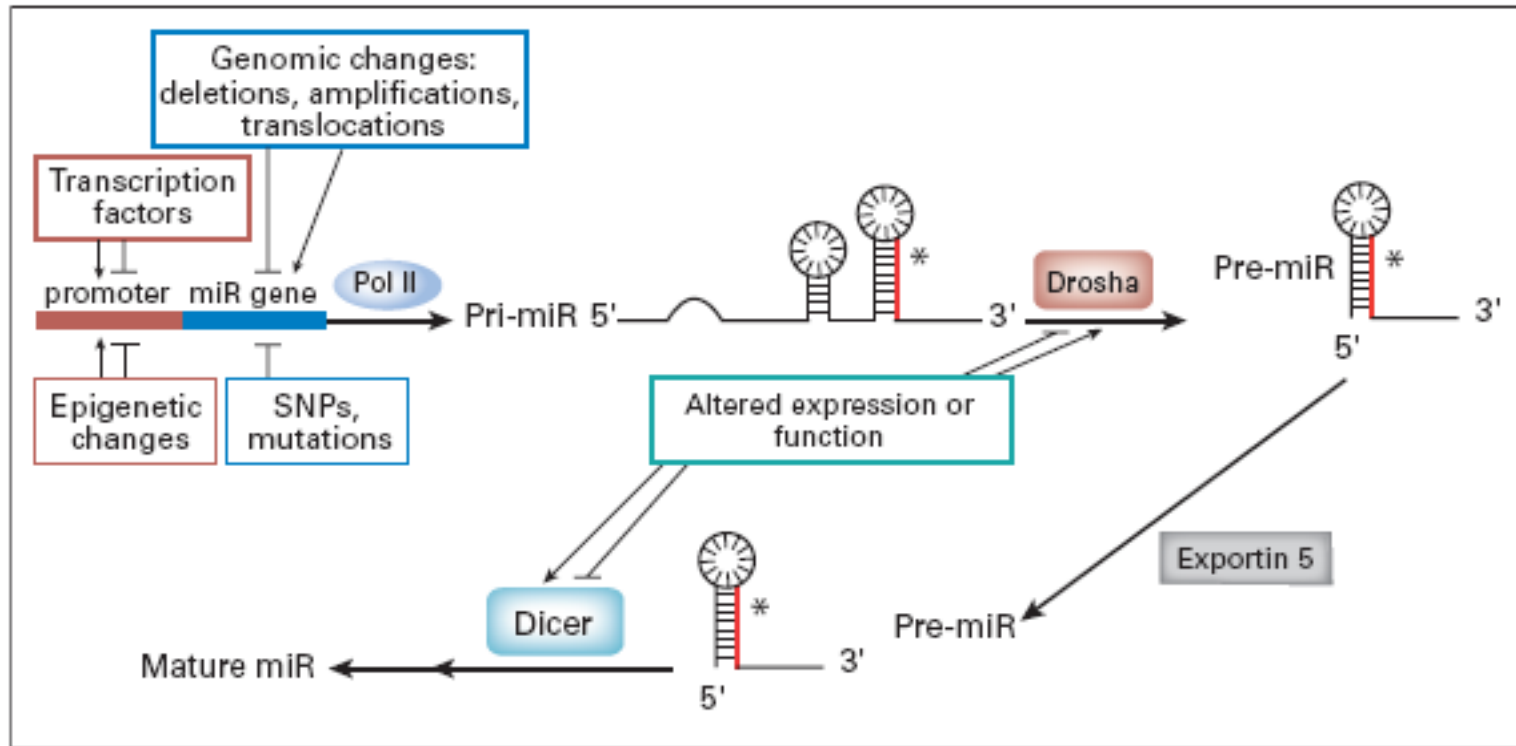


Extracellular miRNAs are biomarkers
of a wide range of diseases



(Cortez MA et al., 2011)

microRNAs own regulation



**Deregulation of miRNAs expression :
PATHOLOGIES**

microRNAs as novel therapeutic targets

miRNA can be modulated in vivo and in vitro by:

- premiRs: overexpression systems adding mature miRNAs
- antimiRs: inhibition systems based on siRNA technology
- *In vitro*: transfecting cells with liposomal vehicles
- *In vivo*: using liposomal vehicles or viral vectors (LTV and AAV) coupled to GFP/luciferase or nanoparticles RGD peptides

miRNA can be modulated in humans:

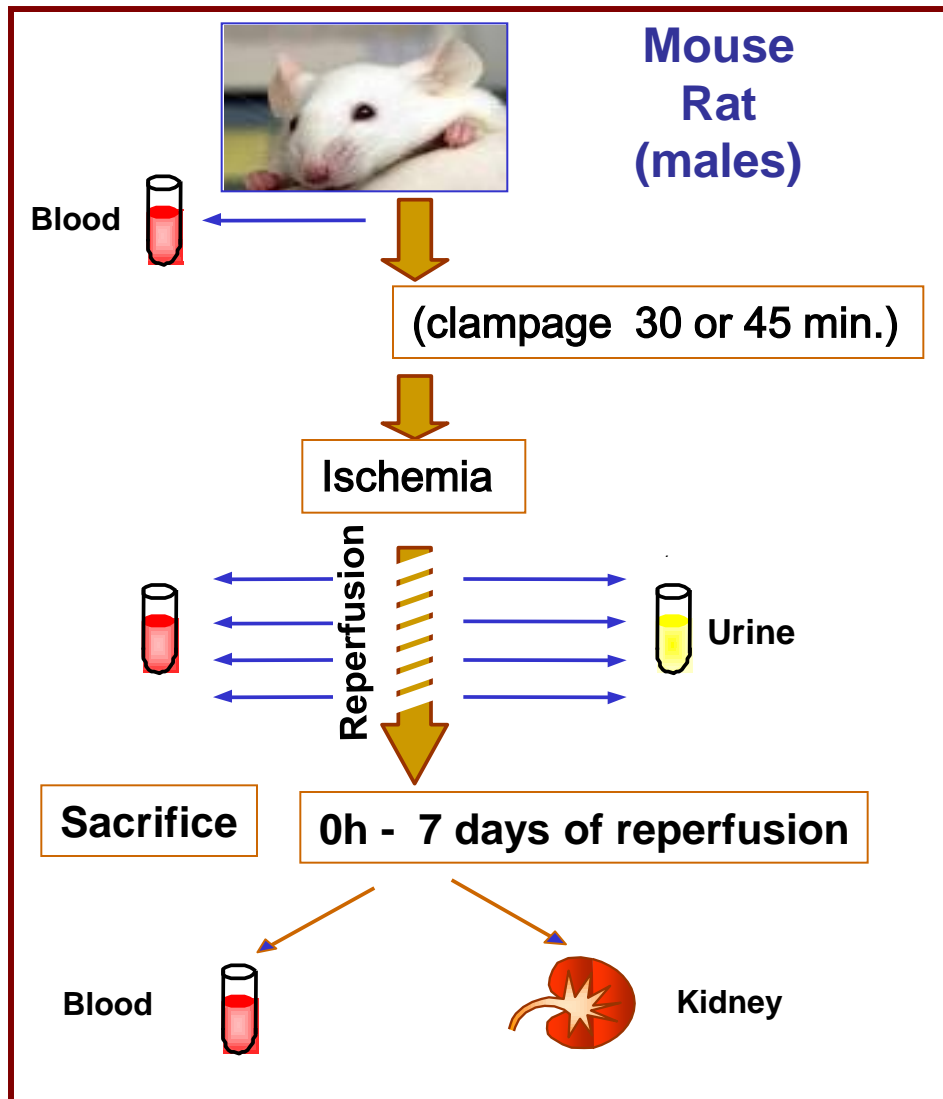
- Clinical assays for Hepatitis C (Miravirsen, LNA-anti-miR-122)

**miRNAs as pathophysiological mechanisms in renal pathologies:
AKI and CKD**

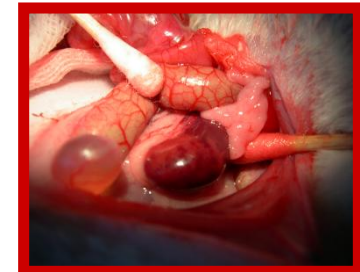
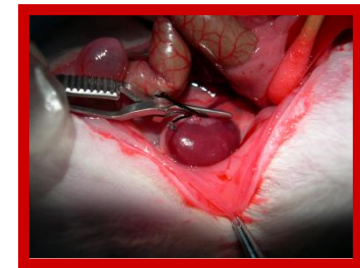
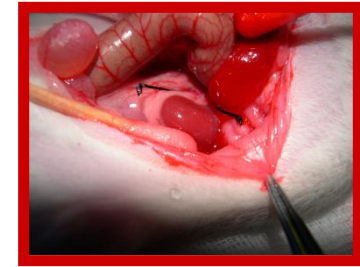
Establishment and characterization of experimental models:

- *in vivo* models of ischemia/reperfusion
- *in vitro* model of hypoxia/reoxygenation
- *in vivo* model of 5/6 Nephrectomy

Ischemia/reperfusion *in vivo* model (AKI)



SURGERY



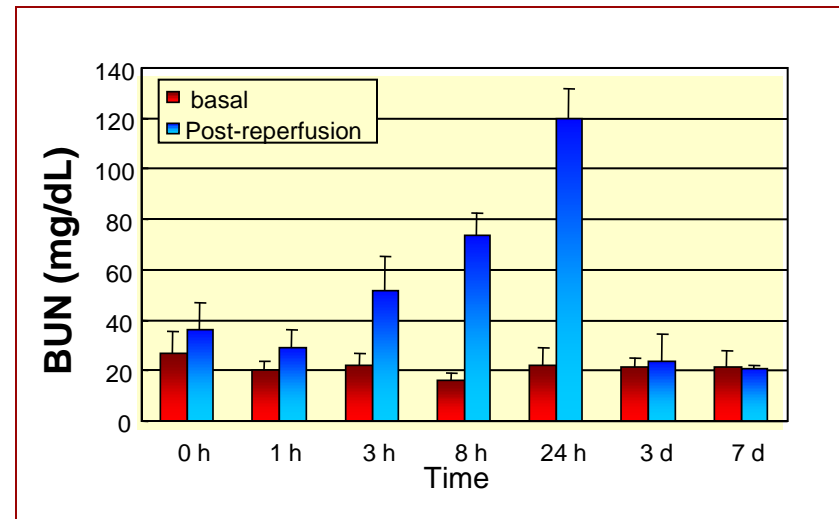
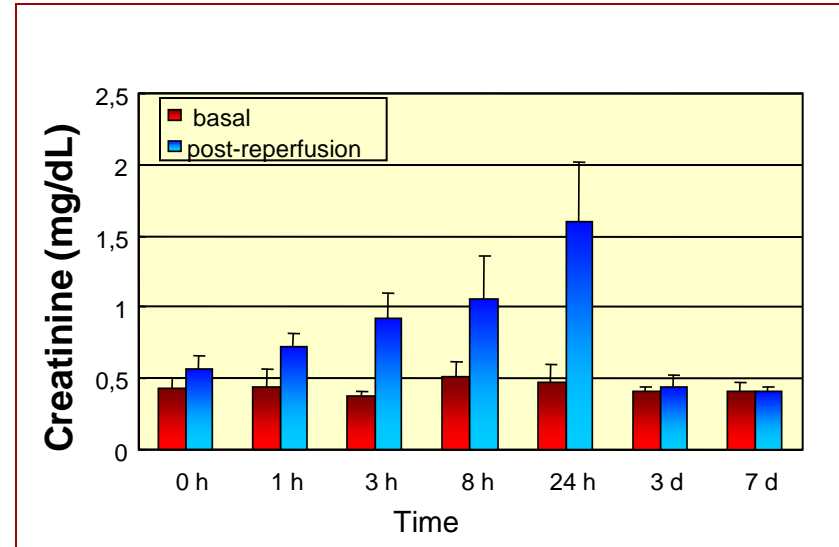
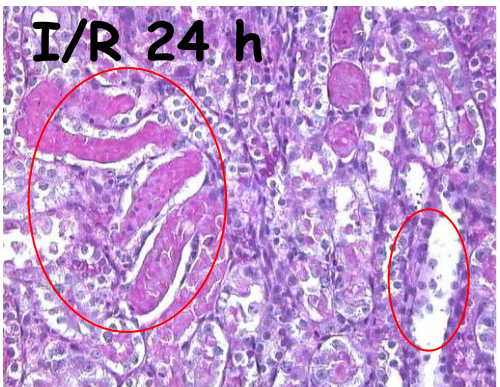
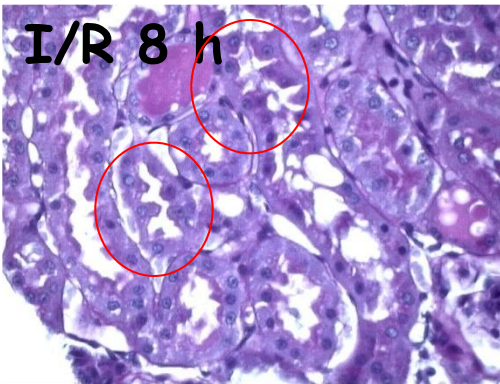
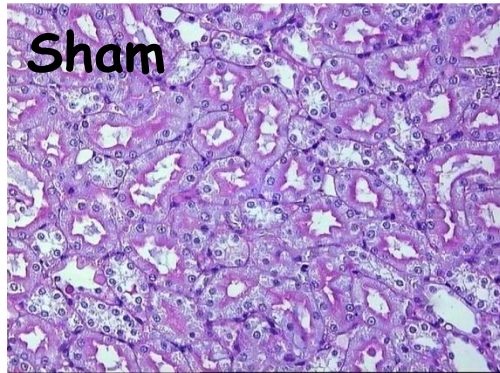
Molina et al., JASN 16 (2), 2005

Sáenz-Morales et al., Cell Physiol Biochem 23(4), 2009

Sáenz-Morales et al., Kidney Int 77 (9), 2010

Conde et al., Plos One 7 (3): e33258,2012

Tubular damage in the I/R model: histopathology and renal dysfunction

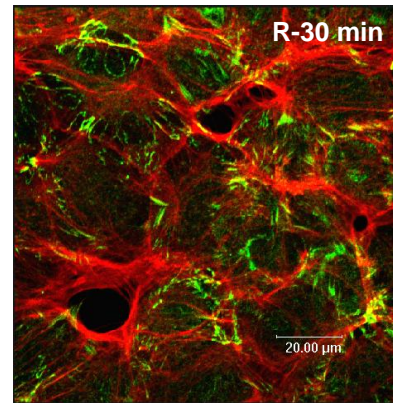
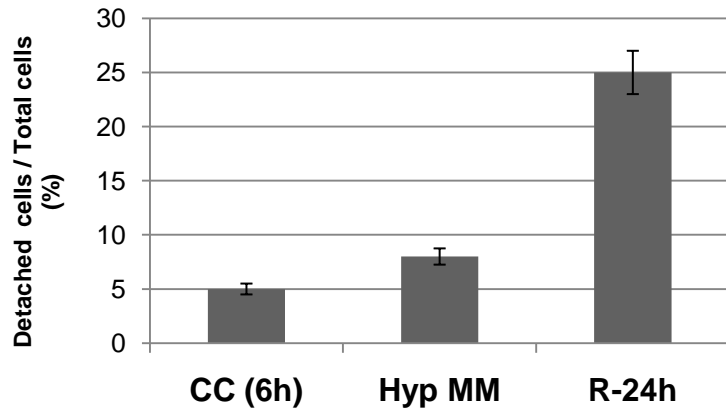
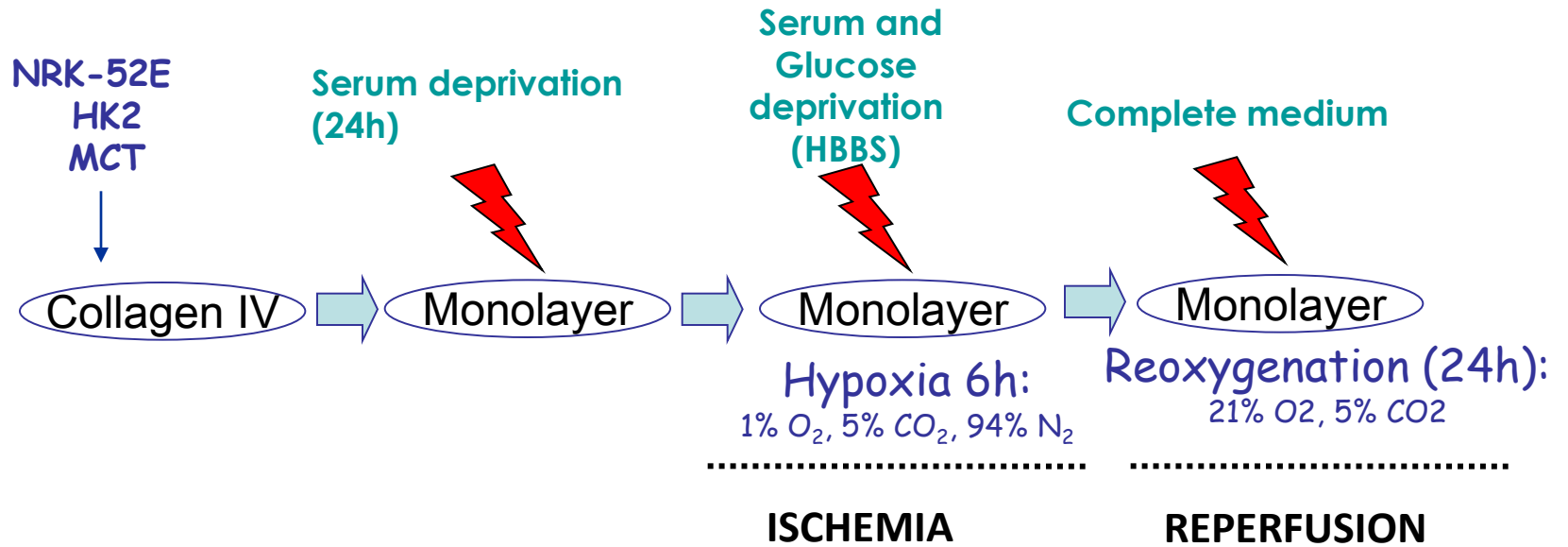


Sáenz-Morales et al., *Cell Physiol Biochem* 23(4), 2009

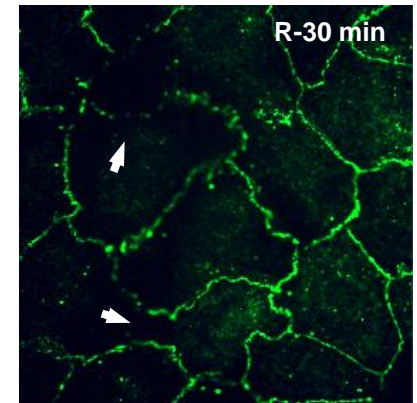
Sáenz-Morales et al., *Kidney Int* 77 (9), 2010

Conde et al., *Plos One* 7 (3): e33258, 2012

Mimicking I/R *in vitro*: Hypoxia/reoxygenation model (H/R)

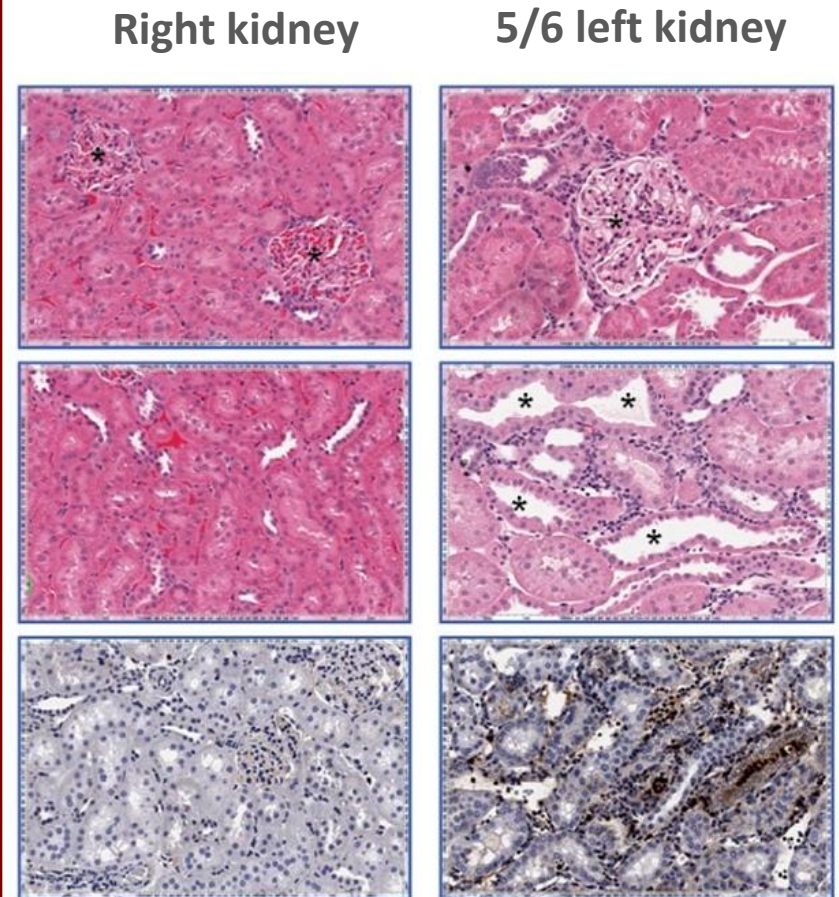
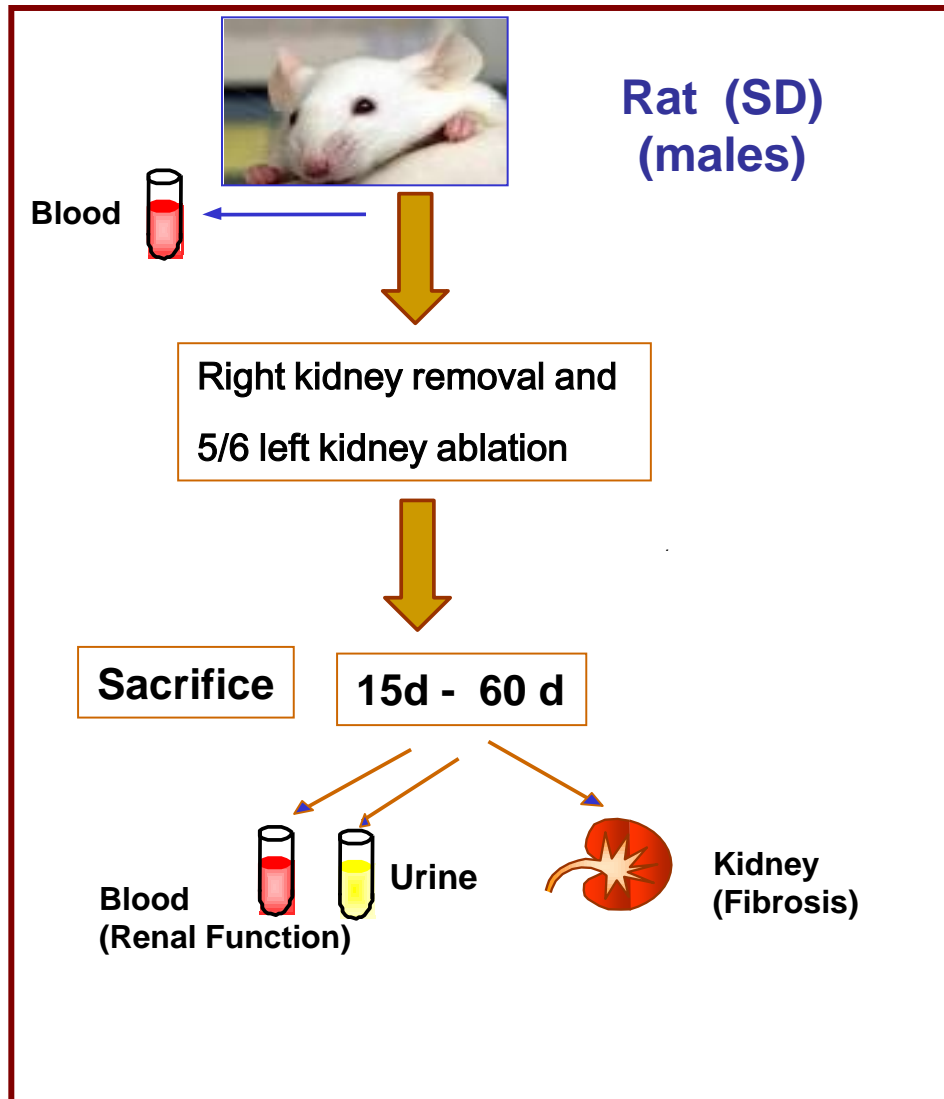


Paxillin-Actin



ZO-1

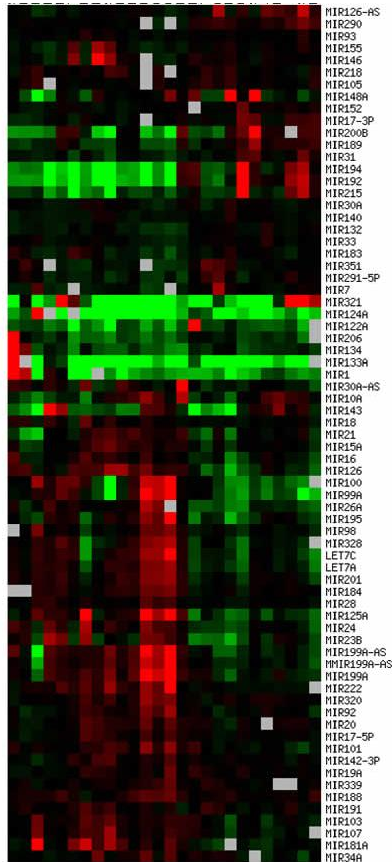
5/6 Nephrectomy *in vivo* model (CKD)



**Identification of miRNAs involved
in the tubular reponse to ischemia/reperfusion:
experimental studies**

Identification of miRNAs in response to Hypoxia/Reoxygenation: NRK-52 Cells (rat proximal tubule epithelial cells)

Heatmap
(Microarrays)

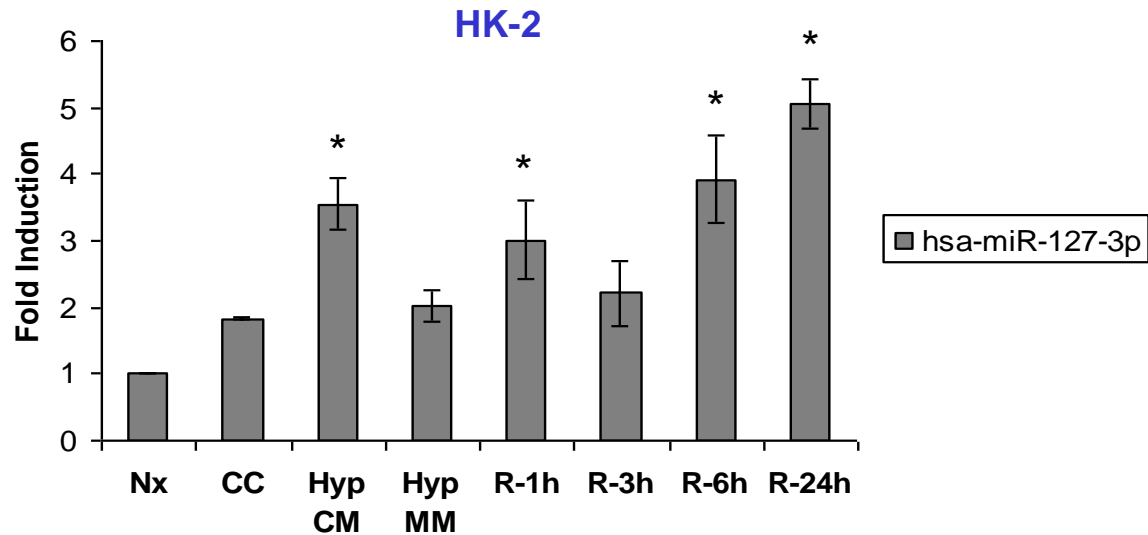
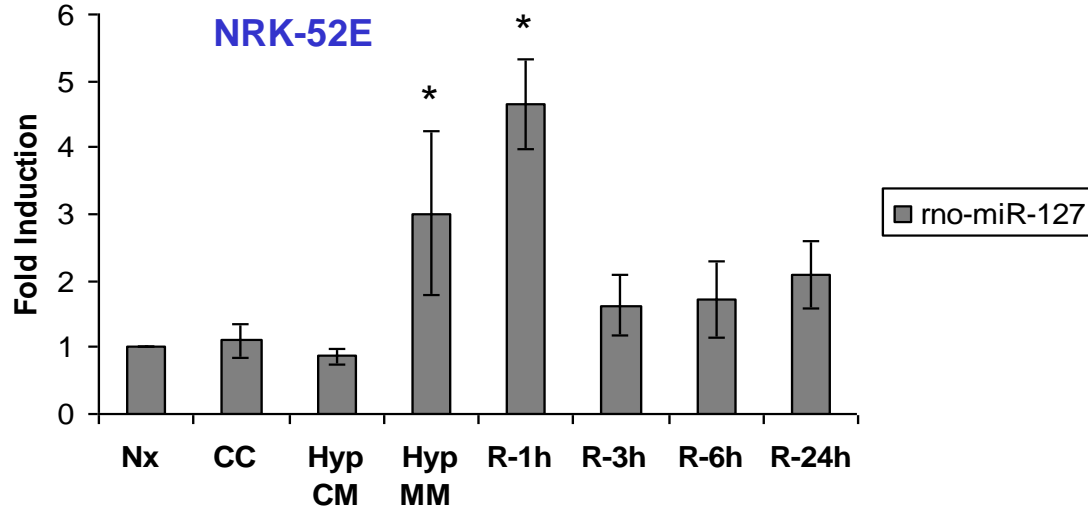


Control vs Hypoxia		Hypoxia vs Reoxygenation	
miRNA	Fold change	miRNA	Fold change
rno-miR-101a	1	rno-miR-101a	2,63
rno-miR-127	1,16	rno-miR-127	2,46
rno-miR-129*	1	rno-miR-129*	2,13
rno-miR-154	1	rno-miR-154	8,03
rno-miR-28	1,27	rno-miR-28	1,90
rno-miR-376b	1,33	rno-miR-376b	6,70
rno-miR-223	1	rno-miR-223	-1,91



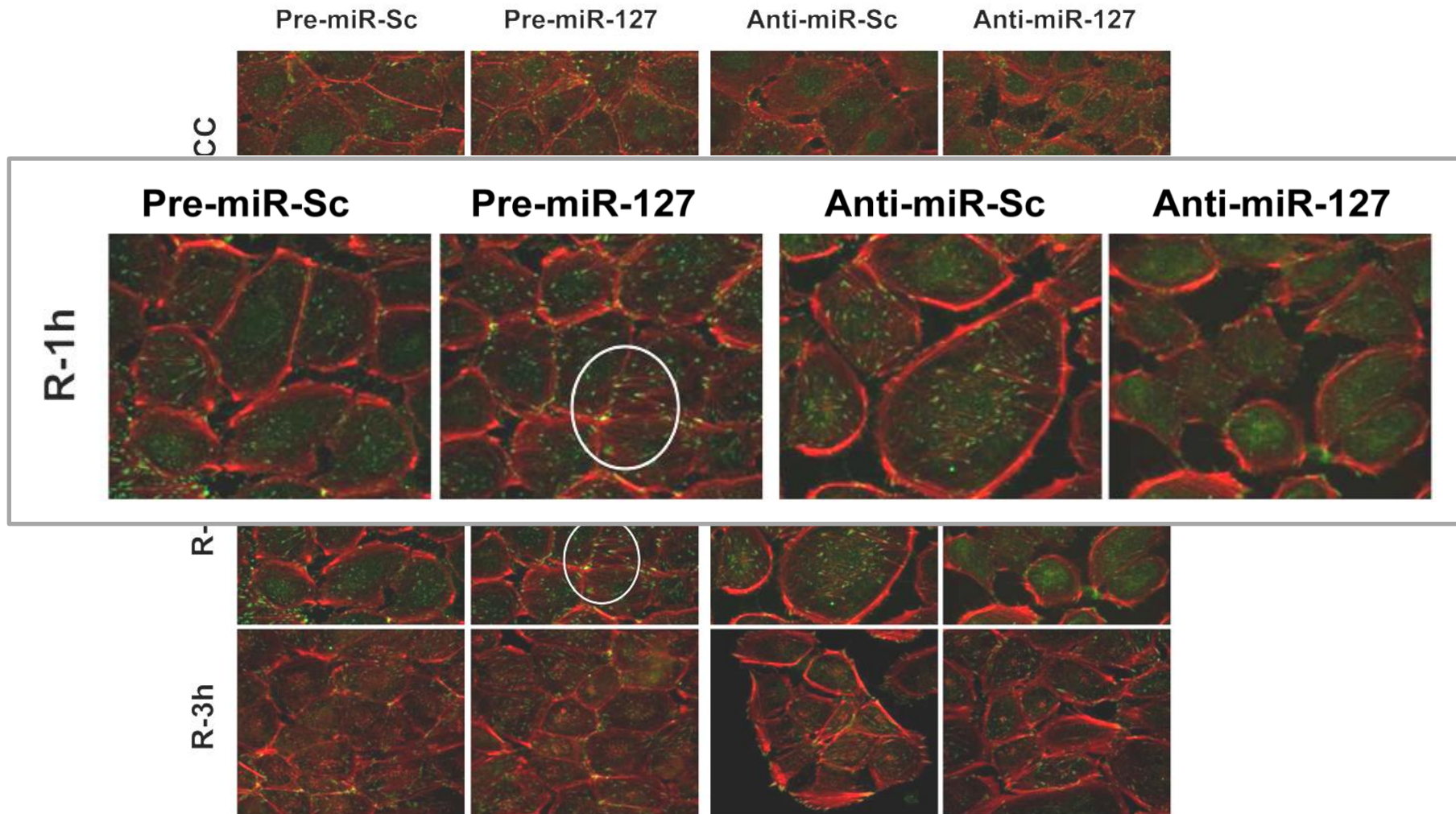
Confirmation by qRT-PCR

Confirmation of miRNAs expression during H/R in proximal tubule epithelial cells: miR-127 is upregulated during hypoxia



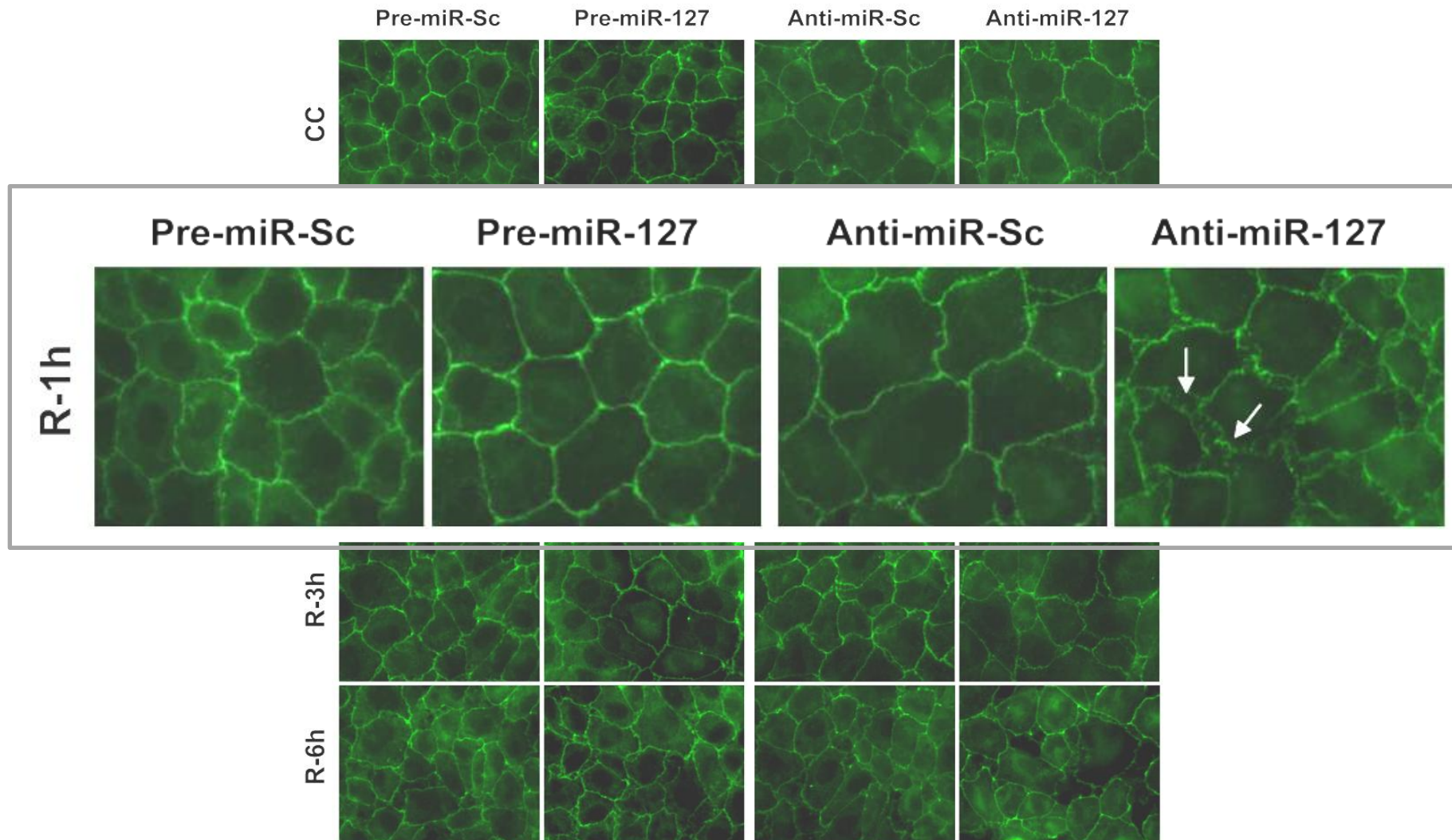
Biological significance of miR-127 in H/R: FAC assembly

Actin - Paxillin Immunofluorescence in NRK-52E cells



Biological significance of miR-127 in H/R: TJ integrity

- ZO-1 Immunofluorescence in NRK-52E cells



miR-127 Target prediction

- Bioinformatics target Prediction

- microCosm www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/
- Targetscan 4.1 www.targetscan.org/
- Pictar I www.mdc-berlin.de



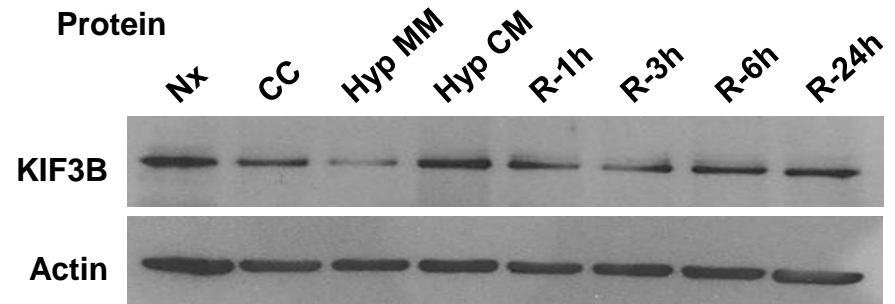
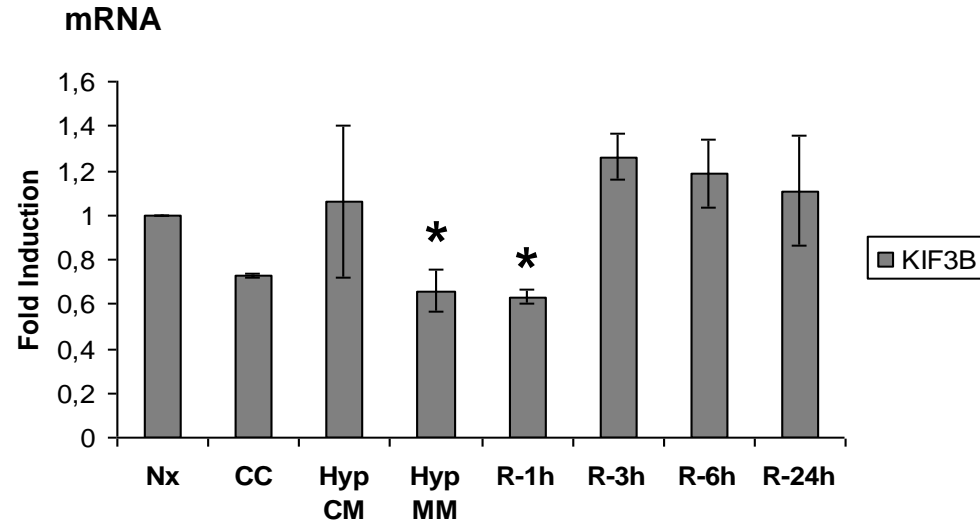
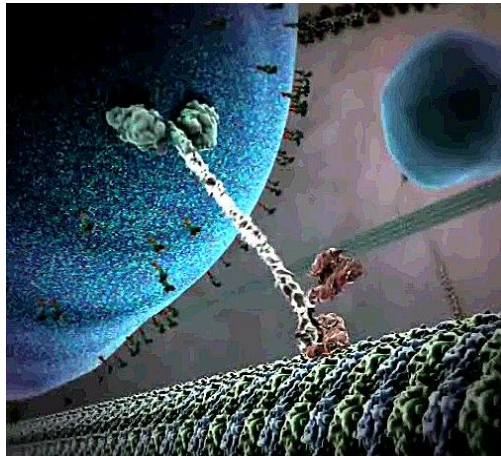
- Potential Targets Selection

Human ortholog of target gene	Gene name
SETD8	SET domain containing (lysine methyltransferase) 8
KIF3B	kinesin family member 3B
MAPK4	Mitogen activated protein kinase 4
ZC3H4	zinc finger CCCH-type containing 4
ABBA-1	actin-bundling protein with BAIAP2 homology
RIMS4	regulating synaptic membrane exocytosis 4

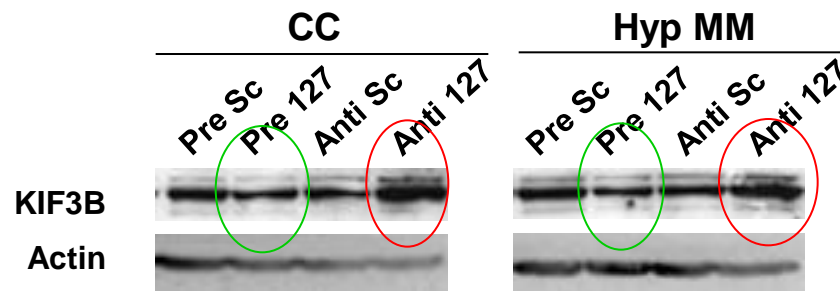
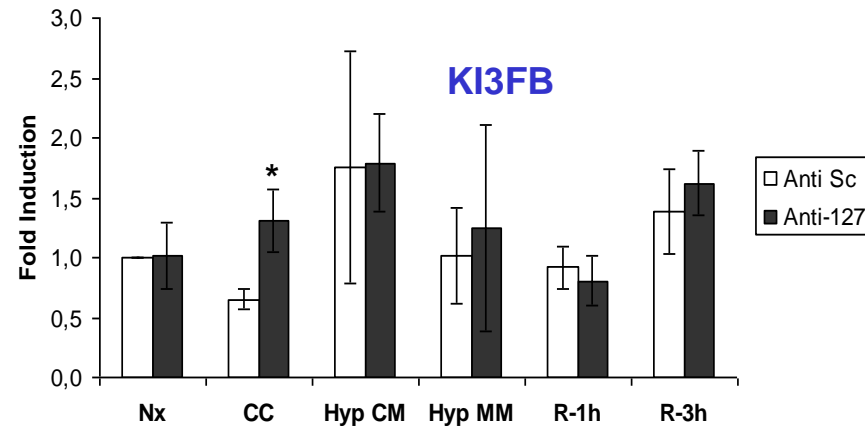
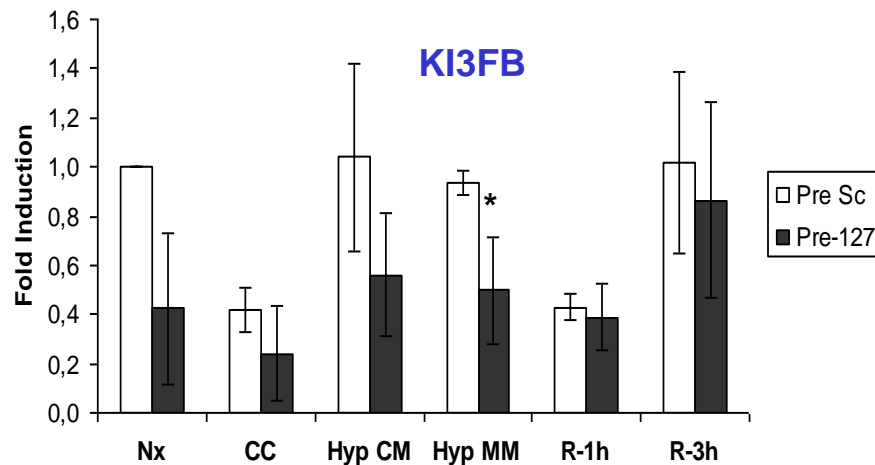
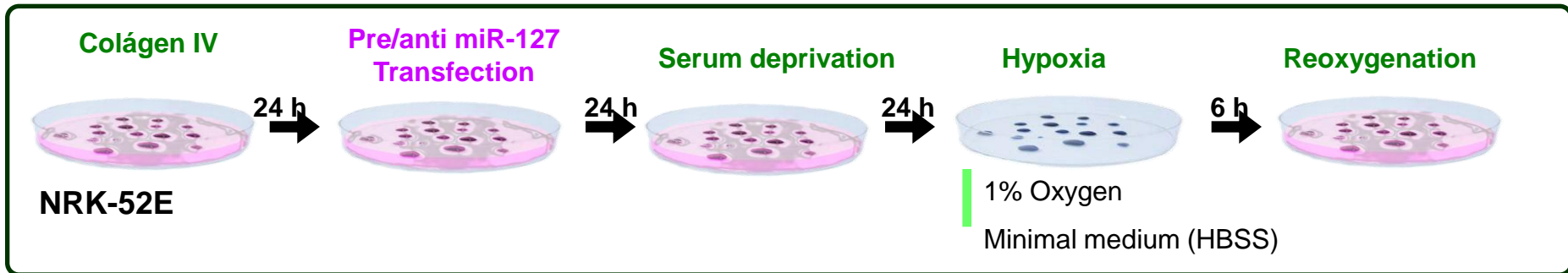
miR-127 target identification:

KIF3B expression is modulated in NRK52E cells during H/R

- **Kinesin Family Member 3B (KIF3B)**
 - Kinesin II Complex component (motor)
 - Anterograde microtubule transport
 - Organelles Distribution
 - Receptors and channels Recycling

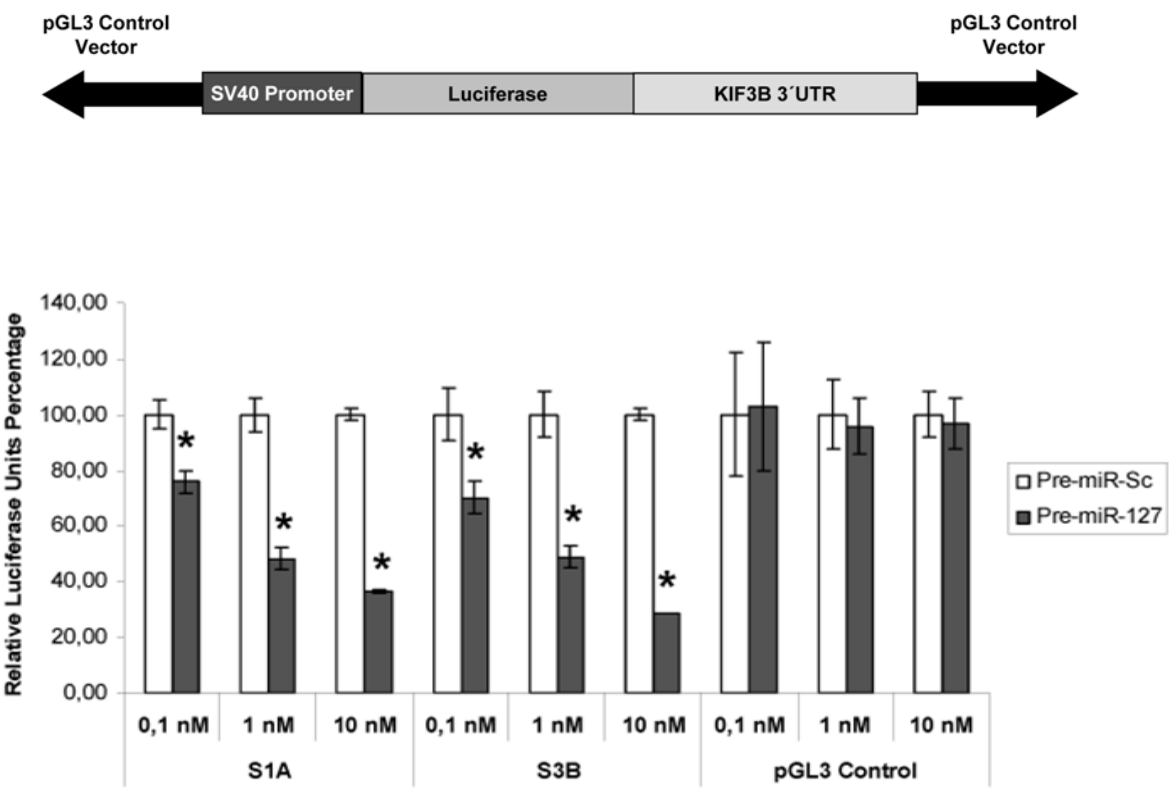


KI3FB is a miR-127 Target in NRK52E cells during H/R



KIF3B is a real miR-127 target in rat proximal tubule cells during H/R

- mRNA Instability by Luciferase Assays → KIF3B 3'UTR constructions



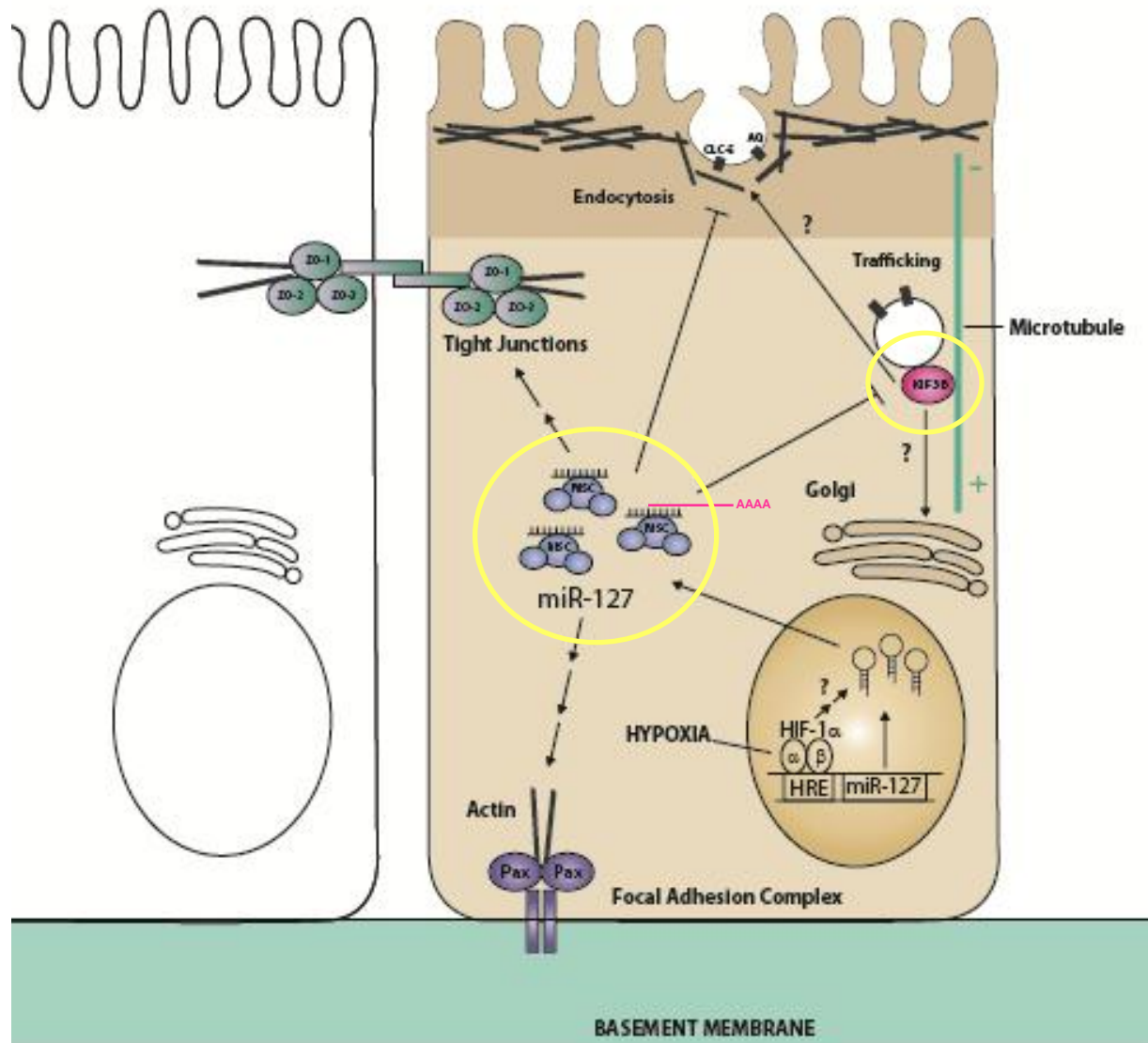
miR-127 and KIF3B in proximal tubule cells response to I/R: AKI Pathophysiology

- AKI alterations:

- Cell adhesion
- Cell trafficking
- Cell polarity

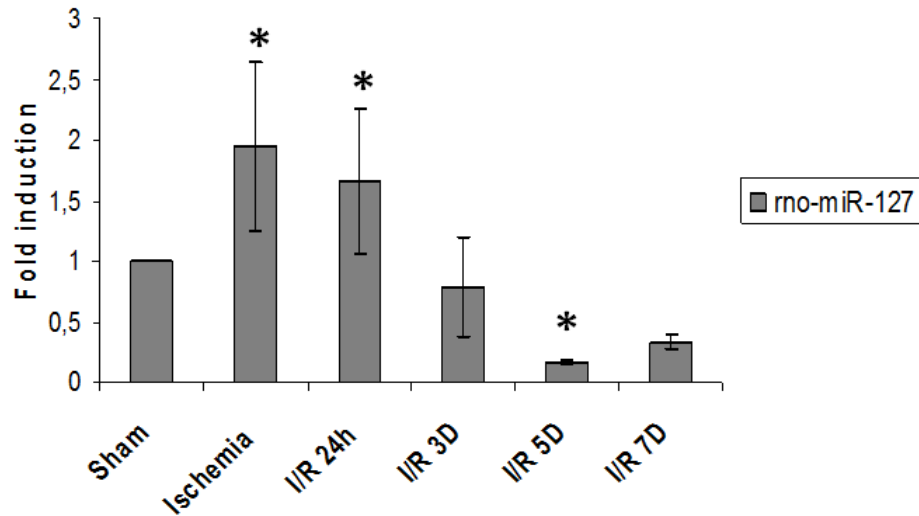
- Critical mediators of AKI Pathophysiology

- Potential therapeutic targets:
preclinical models :
miR-127 in I/R

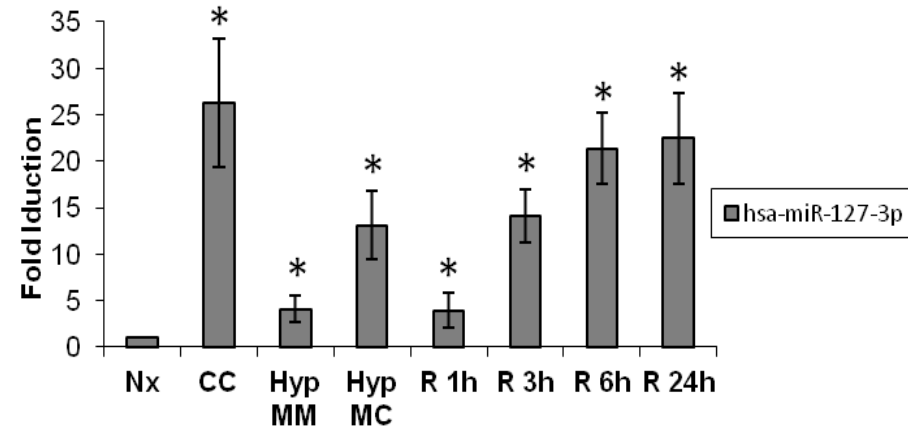


miR-127 is modulated also *in vivo* during I/R and can be detected in cell supernatants

miR-127 in renal tissue



miR-127 in HK2 supernatants



Induction of miR-127 during ischemia and at **24 hours** (ATN and renal dysfunction)



miR-127 is a Renal injury Biomarker and could be detected in serum???

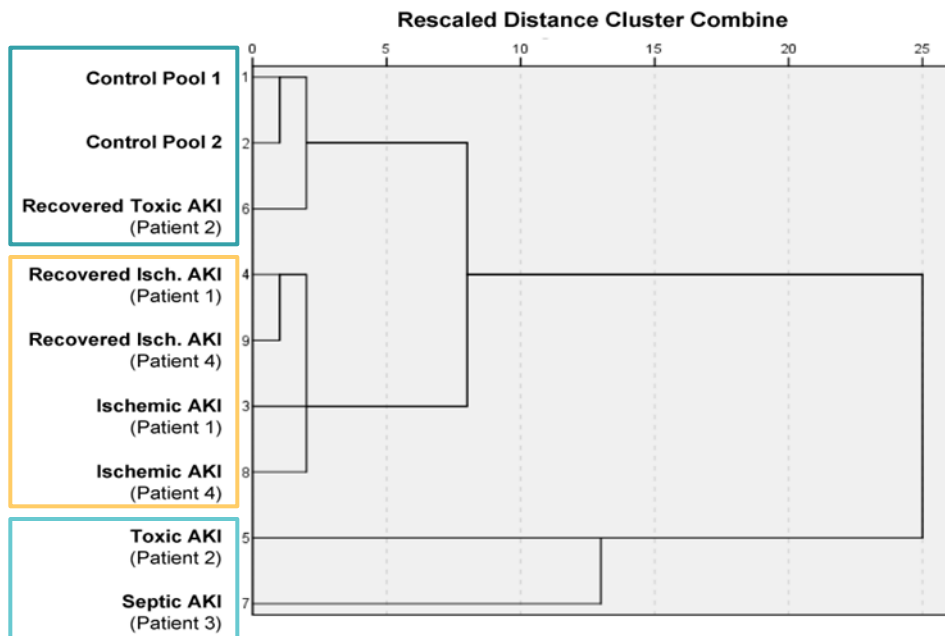
**Identification and validation of serum miRNAs
as new biomarkers of Acute Kidney Injury**

Serum miRNA profile is different between AKI patients and healthy controls:

- **Screening Experiment** → RT-PCR Taqman Low Density Arrays

- 2 Pool of Healthy Control.
- 2 Ischemic AKI Patients: Day 0 (Diagnosis), Day 7-10 (Recovery).
- 1 Toxic AKI Patient: Day 0 (Diagnosis), 2 months (Recovery) .
- 1 Septic AKI Patient: Day 0 (Diagnosis), Exitus.

- **Raw Cq Data Analysis** → Hierarchical clustering



- Discriminate between AKI patients and Healthy controls
- Different Recovery Degrees
- Differentiate among AKI Etiologies

Screening Data Analysis Workflow:

1.- Raw Data Mangement

2.-Bioinformatics Functional Studies

	Raw Cq Data	Fold Change	p-value	TargetScan
1) Elimination of miRNAs not detected in all samples	AKI Biomarkers			↓ DATABASE <i>W et al., 2009)</i>
	hsa-miR-101-1	-2.75	0.061	
	hsa-miR-127-3p	-1.98	0.08	
	hsa-miR-210	-3.15	0.03	
	hsa-miR-126	-5.75	0.036	
	hsa-miR-26b	-7.52	0.024	
2) Elimination of miRNAs with no significant difference between control and AKI	hsa-miR-29a	-6.62	0.031	↓ Validation of expression, functional data
	hsa-miR-146a	-8.50	0.021	
	Ischemic AKI			
	hsa-miR-27a	-5.09	0.001	
3) Pool average and Fold Change (Δ)	Ischemic AKI Recovery			
	hsa-miR-93*	-22.03	0.017	
	Toxic and Septic AKI			↓
hsa-miR-10a	32.21	0.001		

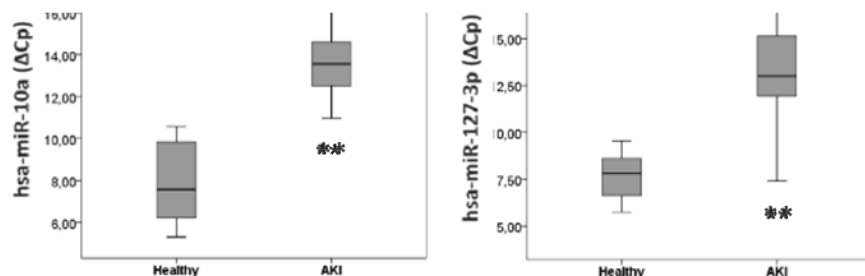
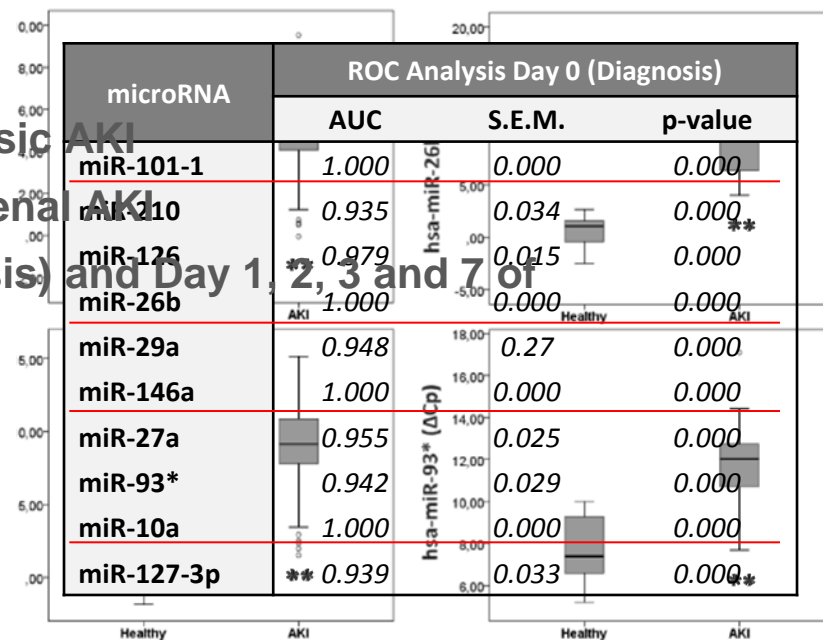
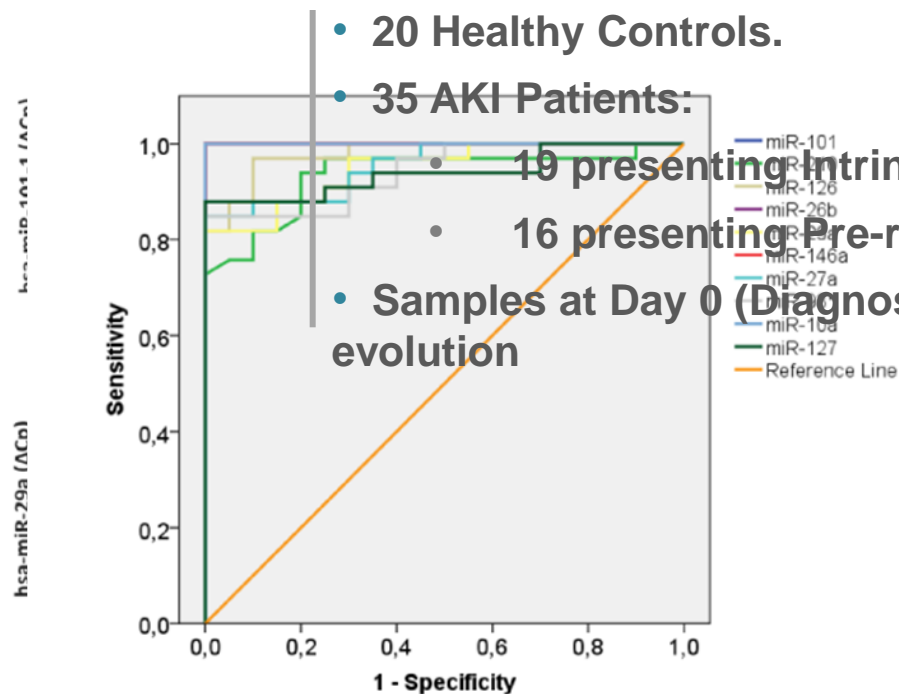
Fold Expression Data

Selection of 10 miRNAs Panel

- (Kruskal-Wallis) **Statistical Analysis**
- ± 2 Fold Change
 - Statistical significance

Validation I: ICU Patients vs Healthy control

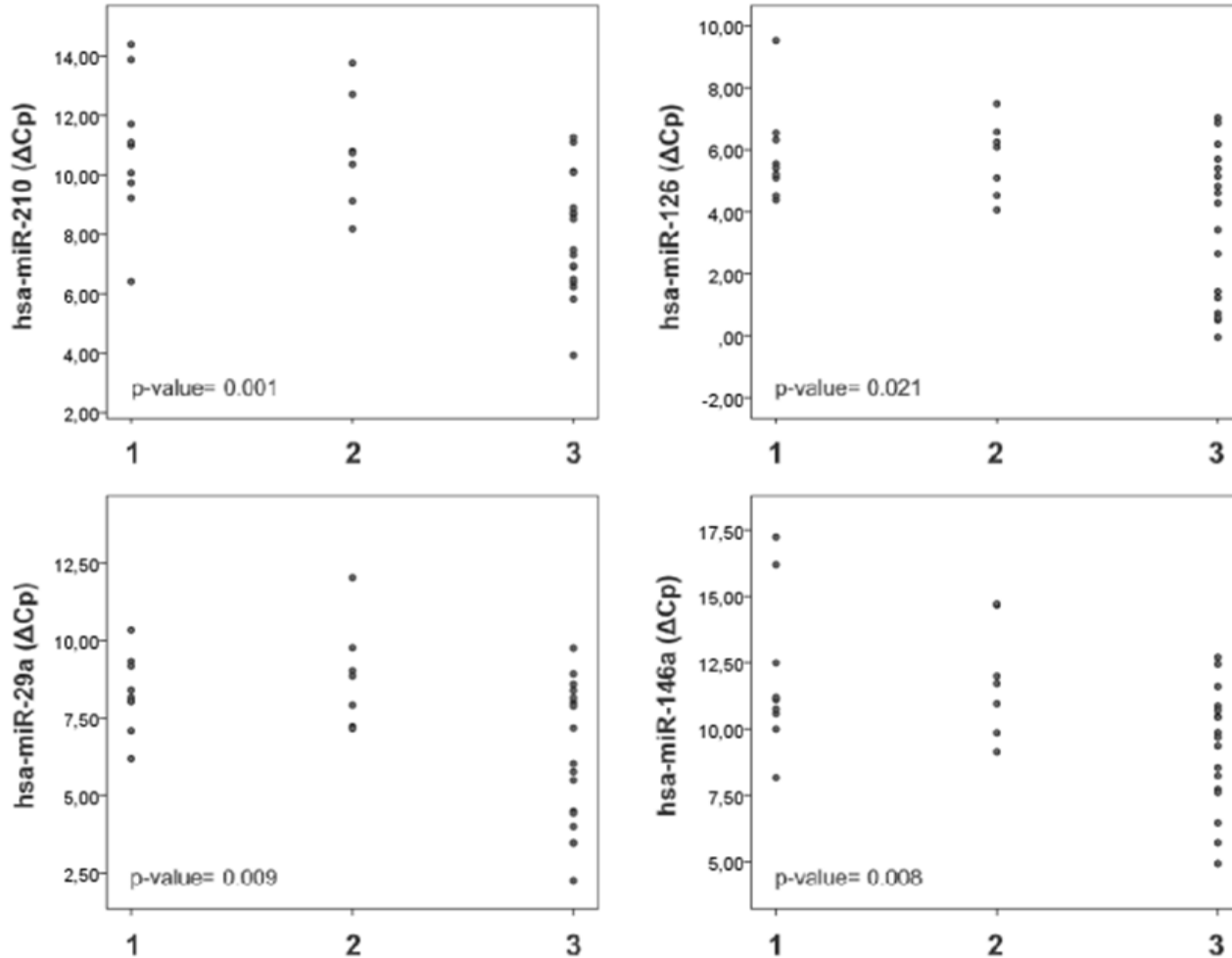
ICU Patients and Healthy Control Cohorts



Day 0 (Diagnosis) samples from AKI Patients compared to Healthy controls

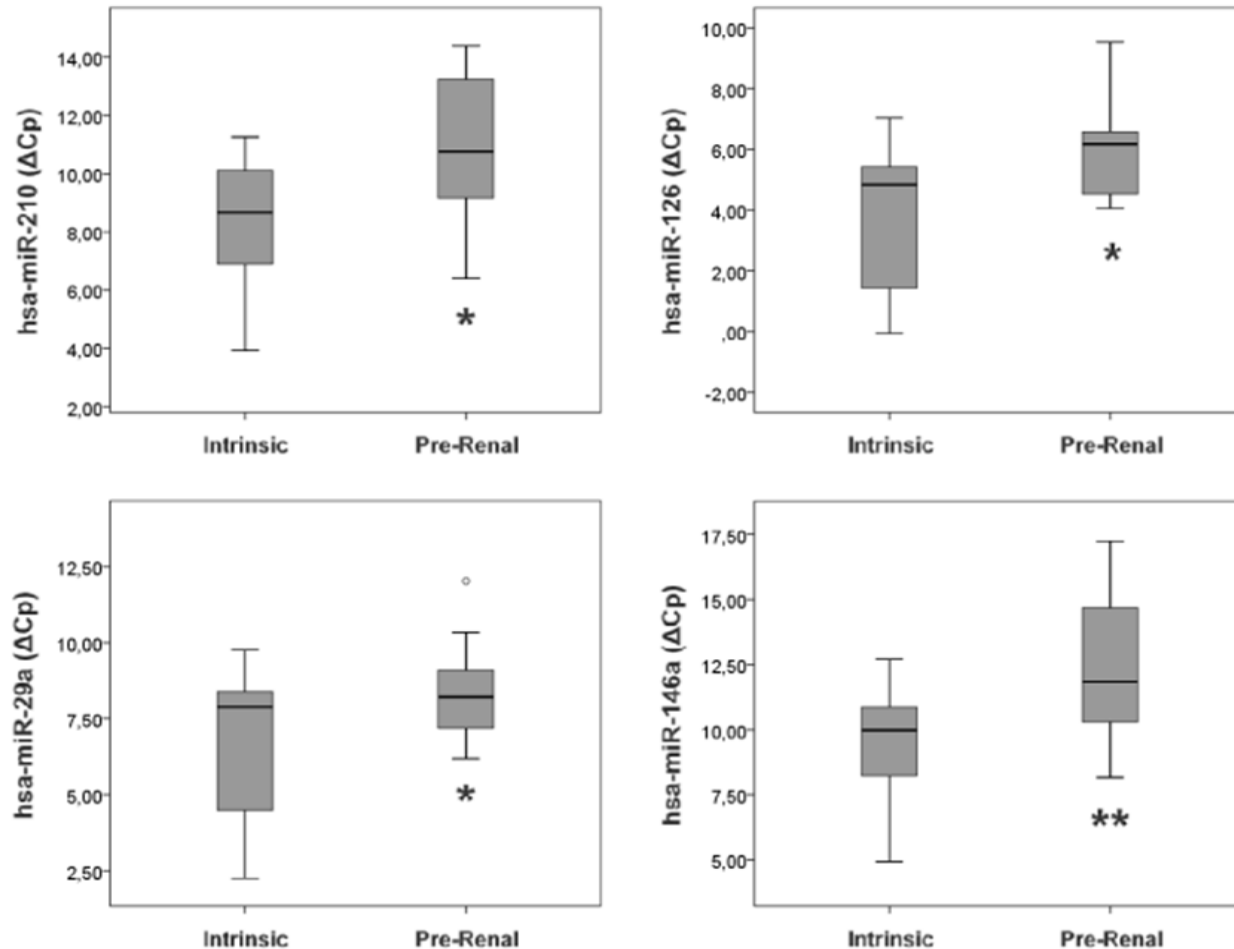
Validation I: ICU Patients vs Healthy control

- Serum microRNA levels correlate with AKI Severity (AKIN Stages 1, 2 and 3)



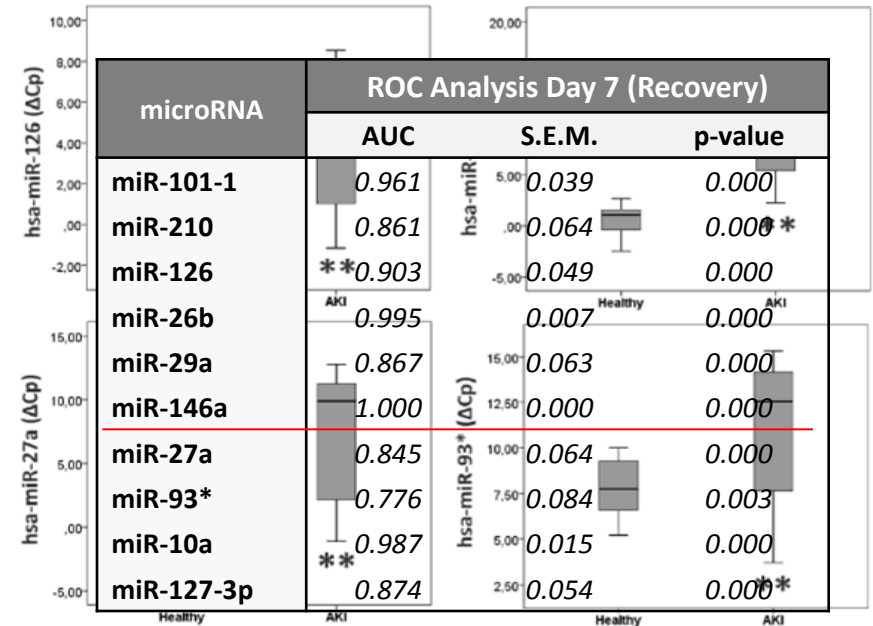
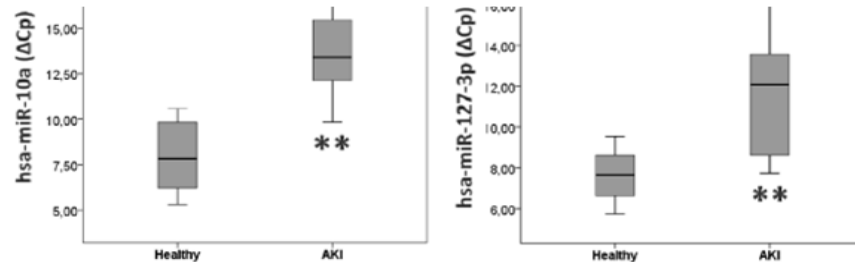
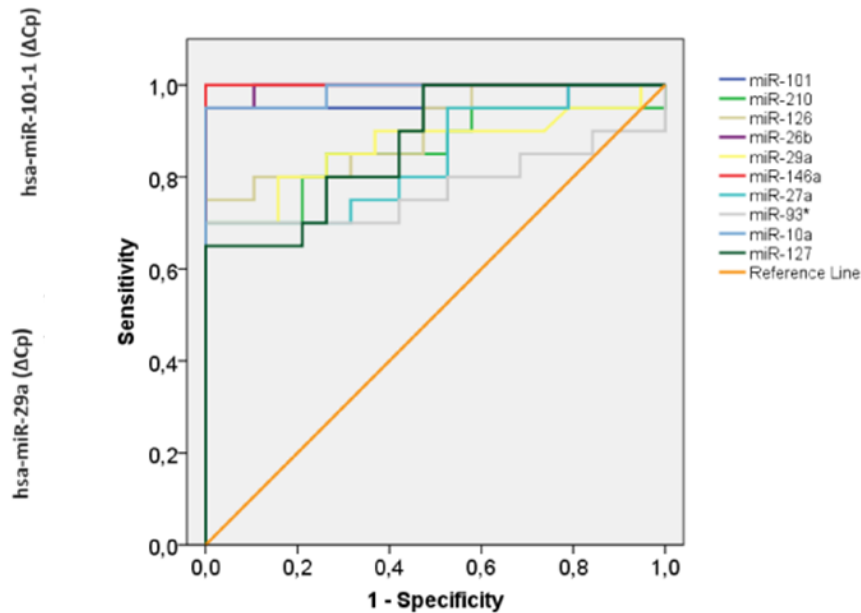
Validation I: ICU Patients vs Healthy control

- Serum microRNA can distinguish between Intrinsic and Pre-renal AKI



Validation I: ICU Patients vs Healthy control

- Serum microRNAs as potential biomarkers of long-term outcome

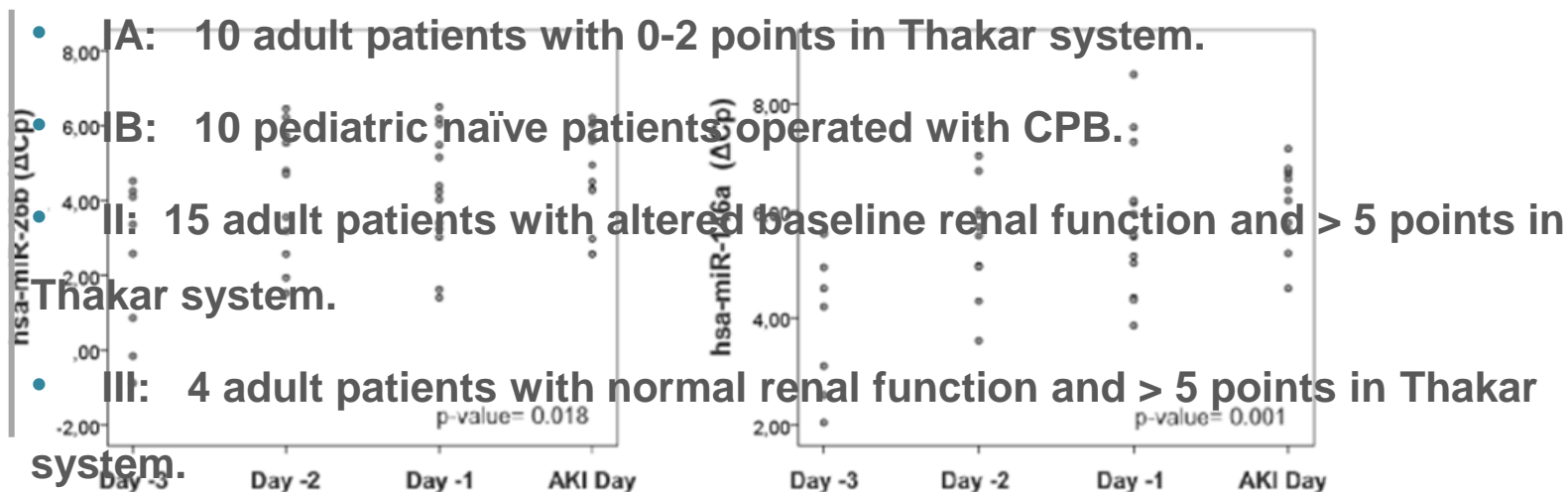


Normalized Serum Creatinine levels

Day 7 samples from AKI Patients compared to Healthy controls

Validation II: Cardiac surgery Patients

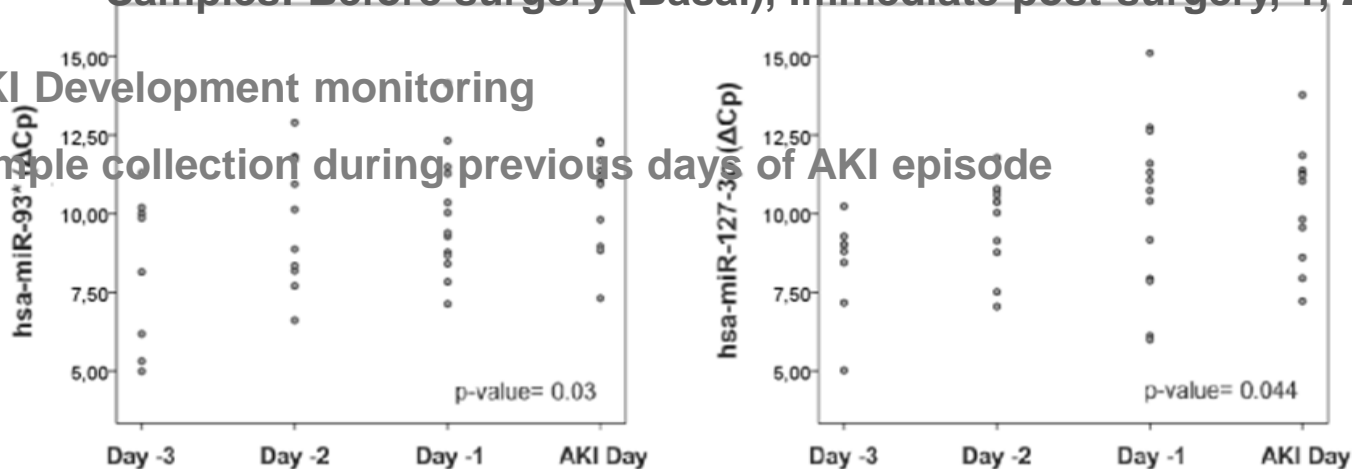
- Cardiac surgery Patients as early biomarkers of AKI



- Samples: Before surgery (Basal), Immediate post-surgery, 1, 2, 3, 7 Days

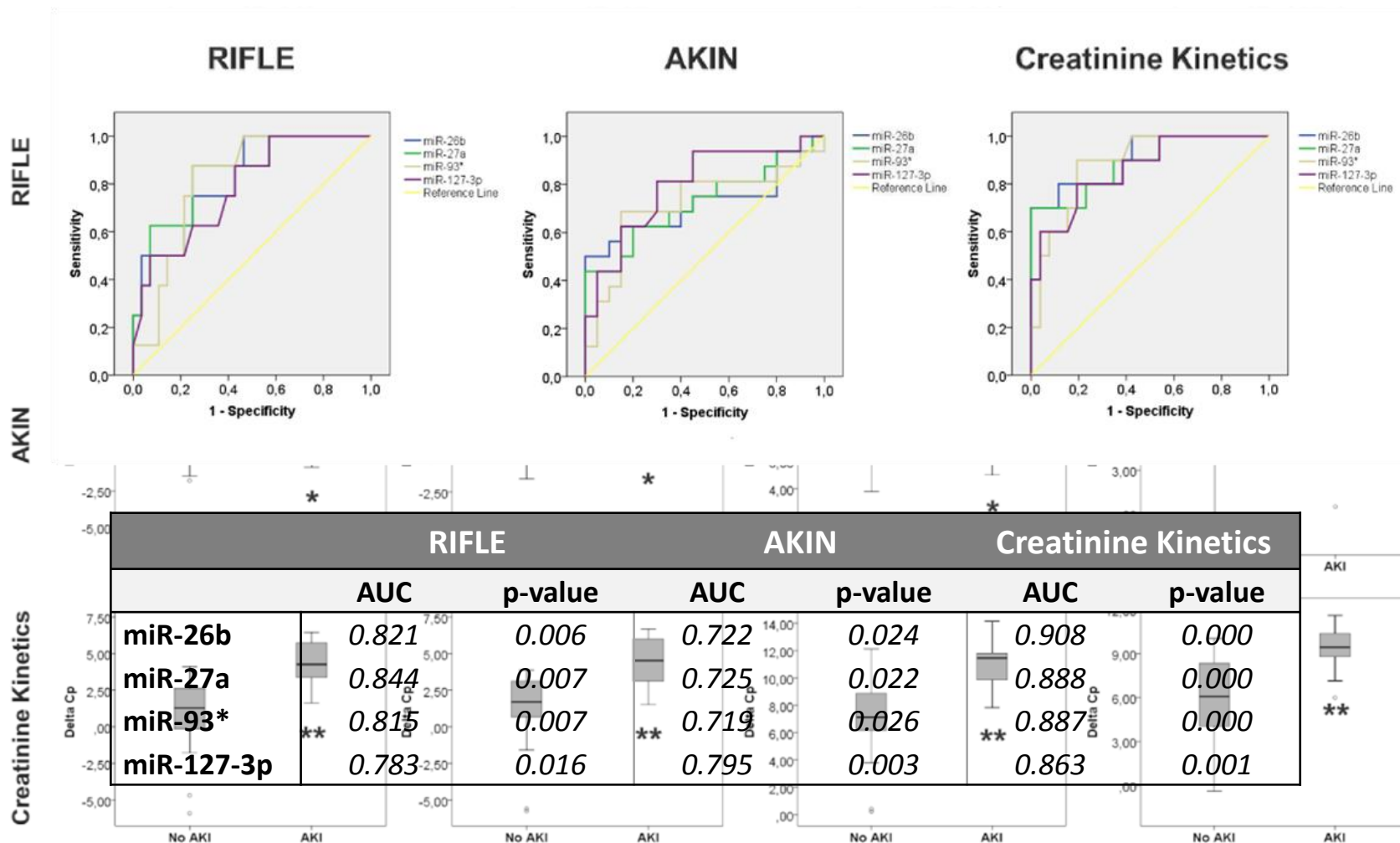
- AKI Development monitoring

- Sample collection during previous days of AKI episode



Validation II: Cardiac surgery Patients

- Serum microRNAs are biomarkers of AKI predisposition



Validation III : Clinical Trial Funding by Laboratorios Rubió (2.5 million €)

Sinopsis	microRNAs como biomarcadores de IRA en pacientes en UCI
Título	Estudio observacional prospectivo unicéntrico de evaluación diagnóstica del fracaso renal agudo en pacientes Ingresados en UCI mediante un panel de microRNAs.
Código	Pendiente de asignación
Población de pacientes	En este estudio se incluirán pacientes con 18 o más años que ingresen en UCI con criterio de enfermedad médica grave o cuidados postoperatorios con una estancia mínima estimada en UCI superior a 48 horas.
Principales criterios de inclusión y exclusión	Los principales criterios de inclusión son: <ul style="list-style-type: none"> - Edad \geq 18 años - Pacientes con sepsis, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), o nivel de puntuación de la escala SOFA superior a 4. - Pacientes intervenidos de cirugía abdominal en los que se estime una estancia mínima en UCI de 48 horas.
	Los principales criterios de exclusión son: <ul style="list-style-type: none"> - Pacientes con ERC en tratamiento dialítico o con un filtrado glomerular basal estimado inferior a 30 ml/min/1,73 m² - Pacientes receptores de Tx renal - Pacientes que hayan desarrollado FRA grado II o superior al momento del ingreso en UCI o durante el ingreso previo a la cirugía
Definición de FRA	A efectos del presente estudio se considerará FRA la aparición durante los 5 primeros días después del ingreso en UCI postoperatorio de una elevación de la Cr igual o superior a un grado II de la clasificación funcional de FRA de la KDIGO
Objetivos del estudio	Principal: <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar la capacidad diagnóstica de un panel de microRNAs, medidos diariamente desde el ingreso durante el tiempo que el paciente permanezca en UCI (máximo de seguimiento 7 días) Se determinarán la sensibilidad, especificidad y los cocientes de probabilidad. Secundarios: <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar la capacidad predictiva de un panel de microRNAs para determinar la necesidad de tratamiento renal sustitutivo y la mortalidad durante la hospitalización - Otros pendientes de definir
Diseño del estudio	Estudio observacional unicéntrico prospectivo
Metodología	A los pacientes que ingresen en UCI se les explicará la finalidad del estudio y se les propondrá participar. A aquellos que acepten, tras firmar el correspondiente consentimiento se les obtendrá una muestra de sangre basal (día 0) y se tomará una muestra de orina. Con posterioridad, mientras sigan ingresados en la UCI (máximo 7 días) se colectarán para el estudio sendas muestras diarias de sangre y orina. Todas las muestras se centrifugarán y el suero/plasma obtenido se separará en alícuotas de 250 μ l que se congelarán a -70°C. Las orinas se alícuotarán en volúmenes de --- Las muestras serán remitidas para su almacenaje en el Biobanco
	del HRYC. Se analizarán las muestras de todos los pacientes que desarrollen FRA según el criterio establecido y el de un número equivalente de pacientes sin alteración de su función renal a lo largo del ingreso, elegidos de forma aleatoria de entre todos los pacientes participantes.
Número de pacientes del estudio	El resultado primario del estudio será la validez diagnóstica del panel de microRNAs para diagnosticar el desarrollo de FRA. Esta validez será evaluada mediante el área bajo la curva ROC (ABC-ROC). Se asume que la incidencia de FRA en esta población es del 15%. Para el cálculo del nº de pacientes a evaluar se parte de una hipótesis nula que plantea que el ABC-ROC es igual a 0.75. Para rechazar esta hipótesis y aceptar la hipótesis de trabajo de que el ABC-ROC es 0.85, con un nivel de significación del 5% y una potencia del 90%, se necesitarían 85 pacientes con diagnóstico de FRA. Para alcanzar este número de pacientes, con una estimación de pérdidas en el estudio del 15%, se necesitaría reclutar 670 pacientes.
Número de centros de estudio	El estudio podría realizarse en las UCI del Hospital Universitario Ramón y Cajal . Se estima que para reclutar los 670 pacientes requeridos en un plazo razonable (6-8 meses, contados a partir de la visita de Inicial. (El estudio podría hacerse con carácter multicéntrico)

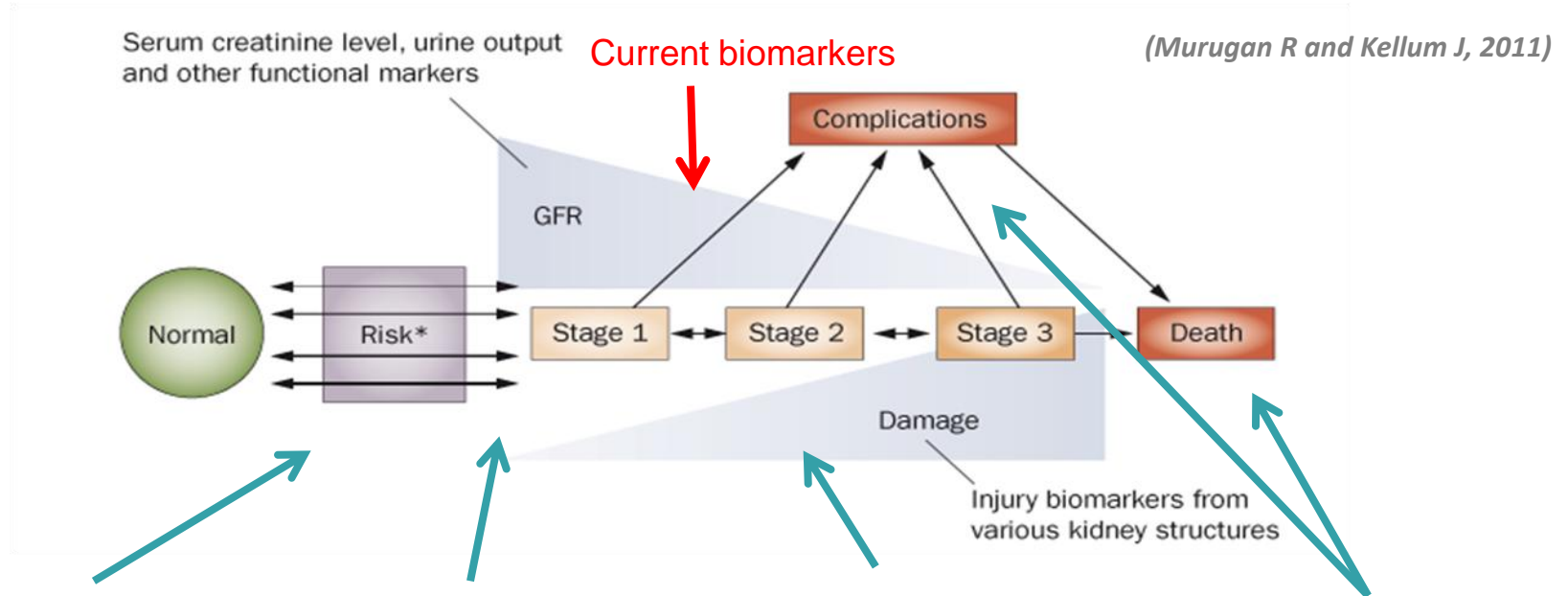
UCI: HURYC: 670 patients

Sinopsis	microRNAs como biomarcadores de IRA en Cirugía Cardíaca
Título	Estudio observacional prospectivo multicéntrico de evaluación diagnóstica del fracaso renal agudo asociado a la cirugía cardíaca mediante un panel de microRNAs
Código	Pendiente de asignación
Población de pacientes	En este estudio se incluirán pacientes con 18 o más años que vayan a ser operados de cirugía cardíaca mayor con derivación cardiopulmonar (DCP)
Principales criterios de inclusión y exclusión	Los principales criterios de inclusión son: <ul style="list-style-type: none"> - Edad \geq 18 años - Programados para Cirugía Cardíaca mayor con DCP - Otros pendientes de definir
	Los principales criterios de exclusión son: <ul style="list-style-type: none"> - Pacientes con IRC en tratamiento dialítico - Pacientes receptores de Tx renal - Pacientes operados de forma emergente - Pacientes que hayan desarrollado FRA grado II o superior durante el ingreso previo a la cirugía - Pacientes con neuropatía de cualquier origen conocida
Definición de FRA	A efectos del presente estudio se considerará FRA la aparición durante los 5 primeros días del postoperatorio de una elevación de la Cr igual o superior a un grado II de cualquiera de las clasificaciones funcionales de FRA (RIFLE, AKIN o cinética) con respecto al valor basal de referencia
Objetivos del estudio	Principal: <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar la capacidad diagnóstica de un panel de microRNAs (medidos durante las primeras 24h tras la cirugía) para el desarrollo de FRA asociado a la cirugía cardíaca durante los primeros 5 días del postoperatorio. Se determinarán la sensibilidad, especificidad y los cocientes de probabilidad. Secundarios: <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar la capacidad predictiva de un panel de microRNAs (medidos en las 24h antes de la cirugía) para el desarrollo de FRA asociado a la cirugía cardíaca durante los primeros 5 días del postoperatorio. - Estudiar la cinética del panel de biomarcadores en pacientes operados de cirugía cardíaca - Otros pendientes de definir
Diseño del estudio	Estudio observacional multicéntrico prospectivo
Metodología	A los pacientes que vayan a ser operados de cirugía cardíaca con DCP de forma programada o urgente se les explicará la finalidad del estudio y se les propondrá participar. A aquellos que acepten, tras firmar el correspondiente consentimiento se les extraerán muestras de sangre y orina en los siguientes momentos: basal antes de la cirugía, el postoperatorio inmediato (a la 6 \pm 2 h y a las 12 \pm 2 h del comienzo de la CEC), y los días 1, 2, 3 y 5 del postoperatorio. Todas las muestras se centrifugarán y el suero/plasma obtenido se separará en alícuotas de 250 μ l que se congelarán a -70°C. Las muestras serán remitidas para su
	almacenaje en el Biobanco del HRYC. Se analizarán las muestras de todos los pacientes que desarrollen FRA según el criterio establecido y el de un número equivalente de pacientes sin alteración de su función renal durante el postoperatorio, elegidos de forma aleatoria de entre todos los pacientes participantes.
Número de pacientes del estudio	El resultado primario del estudio será la validez diagnóstica del panel de microRNAs para diagnosticar el desarrollo de FRA. Esta validez será evaluada mediante el área bajo la curva ROC (ABC-ROC). Para el cálculo del nº de pacientes a evaluar se parte de una hipótesis nula que plantea que el ABC-ROC es igual a 0.75. Para rechazar esta hipótesis y aceptar la hipótesis de trabajo de que el ABC-ROC es 0.85, con un nivel de significación del 5% y una potencia del 90%, se necesitarían 80 pacientes con diagnóstico de FRA. Asumiendo una incidencia de FRA del 7% y una estimación conservadora de pérdidas en el estudio del 15%, se necesitaría reclutar 1345 pacientes.
Número de centros de estudio	El número de centros necesarios está en relación con el número de pacientes necesarios. Se estima que para reclutar los 1345 pacientes requeridos en un plazo razonable (4 – 6 meses contados a partir de la visita de inicio de cada centro) se precisarían 20 centros

CS: Multicentric (20): 1345 patients

microRNAs in AKI patients management

- Dynamic Concept of AKI



Phase 1: Risk Identification

- Predisposition before CS
(*miR-26b, miR-27a, miR-93*, miR-127*)

Prevention

Phase 2: Early Injury Detection

- High Diagnostic value
- Early diagnosis in CS
(*miR-210, miR-146a, miR-93*, miR-127*)

Early Therapy

Phase 3: Injury and Repair Monitoring

- Correlation with severity
(*miR-210, miR-146a, miR-126, miR-126*)
- Recovery degrees

Personalized Therapy

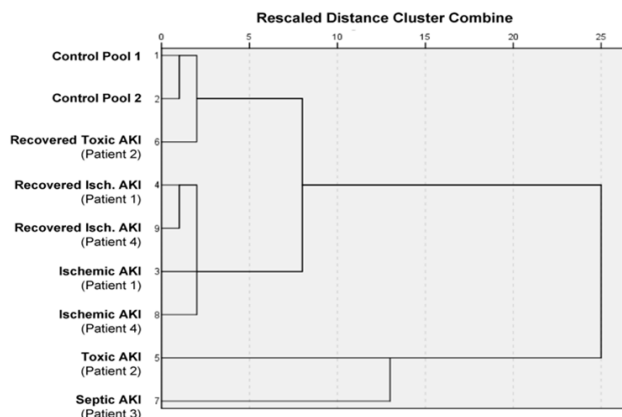
Phase 4: Outcome?

- Long-term biomarkers

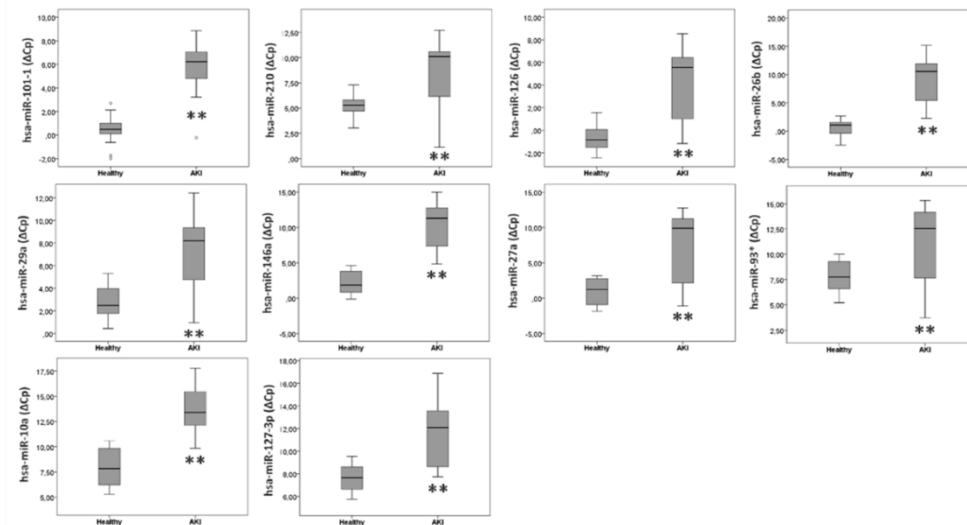
**Chronic Disease
Dialysis
Survival**

microRNAs as Biomarkers of Long-Term Outcome

Hierarchical Clustering Analysis

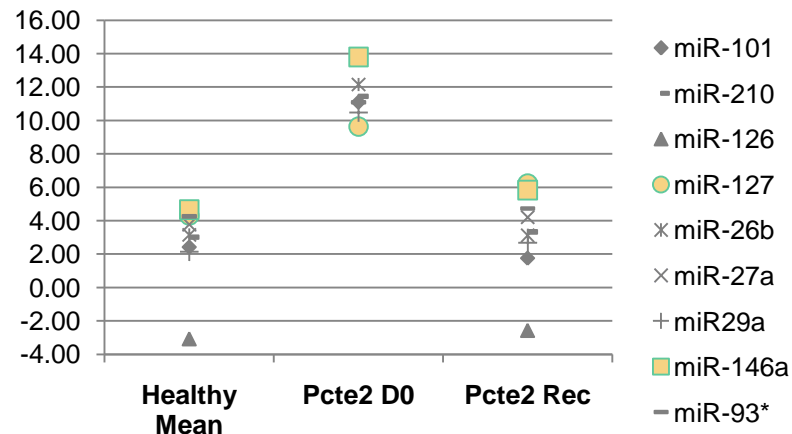


ICU Patient Day 7 data



Preliminary Long-Term Recovery Expression data

	Pool 1	Pool2	Pcte2 D0	Pcte2 Rec
miR-101	2,61	2,24	11,09	1,76
miR-210	2,97	3,07	11,44	3,33
miR-126	-2,99	-3,18	13,80	-2,58
miR-127	4,81	3,81	9,63	6,23
miR-26b	3,36	2,93	12,15	3,12
miR-27 ^a	3,39	4,14	13,80	4,20
miR-29 ^a	2,49	1,81	10,47	2,68
miR146a	4,44	4,88	13,80	5,83
miR-93*	3,89	4,63	11,09	4,73
miR-10a	12,64	12,89	13,80	13,26



miRNAs in CKD as biomarkers and novel therapeutic targets (PS12/00094)

- Biological significance of AKI-associated miRNAs in long term *in vitro* H/R experimental model, in HK2 cells and HMEC cells, modulating miRNAs by pre-miRs and anti-miRs
- Expression of miRNAs using an in vivo model of renal I/R in long term progression
- miRNAs expression in the 5/6 Nephrectomy model (chronic damage model)
- miRNAs expression in AKI long term and CKD patients: Clinical correlation for identification of novel CKD biomarkers
- Mechanisms involving miRNAs for CKD development in vitro: effects of miRNAs regulation and miRNAs-targets characterization
- Mechanisms involving miRNAs for CKD development in vivo: effects of miRNAs in the 5/6 Nephrectomy model (chronic damage model)

ACKNOWLEDGEMENTS

IRYCIS (HURYC)

Nephrology Dpt,

Dr F. Liaño,
Dr. B Ponte

Anaesthesiology Dpt.

Dr A. M Candela Toha

Pathology Dpt.

Dr A. Sainz

Biobank-HRYC.

Dr A. Torres

I PRINCESA (HLP)

Nephrology Dpt.

Dr. J.A. Sánchez-Tomero,

Immunology Dpt.

Dr. M. Ortiz de Landázuri,

IDIPAZ (HULP)

Nephrology Dpt.

Dr. Rafael Selgas
Dr. C Jiménez

IIB-UAM

Dr. Luis del Peso

IIB-CSIC

Dr. T Iglesias

CBMSO-CSIC

Dr. M. Fresno

Dr. M López Cabrera

Dr. Santiago Lamas

Goethe Univ, Germany

Dr- B Brüne

Hubrecht Lab, The Netherlands

Dr- E. Cuppen

Funding:

ISCIII FIS 01/3001; PI 03/0681; PI 06/0539; PS 09/02183; PS 12/00094
FMMA 010/2004; 185/2006; 179/2008; 0063/2013.

CAM S-SAL 0311/2006; CAM S2010/BMD-2378

RedinRen RD12/0021/0020

EU COST- TCM- 223154

HypoxiaNet FP7 COST-TD 0901

FIBIO 122/2009

Laboratorios Rubió

Roche Diagnostics

Cellular Responses to Ischemia Lab. Madrid, Spain, 2006-2013

M Marta Escribese Alonso
María García Martos
David Sáenz Morales
Elisa Conde Moreno
Laura Alegre Zahonero
Ignacio Blanco Sánchez
Belén Ponte
Elia Aguado Fraile
Laura Martín Gómez
Edurne Ramos Muñoz
Marina Alonso
E. Macarena Rodriguez Serrano

Estudiantes:
Gonzalo de las Casas
Patricia Corrales Cardón

Visitantes (estancias breves):
Leticia Muñoz
María Úbeda

