



**Fundació**  
La Marató de TV3

21è SIMPOSIUM  
Malalties del cor



# **INVESTIGACIÓ DELS INTERACTORS GENÈTICS I MECANÍSTICS EN LA CARDIOMIOPATIA FAMILIAR MITJANÇANT EL MODELATGE AVANÇAT DE MALALTIES**

**Ángel Raya Chamorro**

Centre Medicina Regenerativa de Barcelona

**José Luís de la Pompa Mínguez**

Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III - Madrid

**Juan Ramón Gimeno Blanes**

Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria Virgen de la Arrixaca - Múrcia

## 1. Resum

La miocardiopatia hipertròfica (MCH) és la malaltia cardíaca hereditària més freqüent i afecta un 0,2% de la població. L'HCM és una malaltia marcada per una heterogeneïtat fenotípica i genotípica. La miocardiopatia de no compactació esquerra ventricular (LVNC) està associada freqüentment amb HCM, però es desconeix si HCM i LVNC són entitats de malalties genèticament o mecànicament connectades. El nostre objectiu principal és identificar els interactors genètics i el mecanisme que vinculen HCM i LVNC, fet que pot explicar la comorbiditat present en un subconjunt de pacients amb HCM, així com aclarir la relació genotip-fenotip, actualment poc coneguda en cardiomiopaties hereditàries. Amb l'objectiu d'assolir aquest propòsit, proposem generar el següent:

- 1) Dades clíniques i imatges d'una gran cohort de pacients amb MCH (1.090), que s'analitzarà per establir la prevalença d'LVNC.
- 2) Una seqüenciació de nova generació (exoma) en un grup seleccionat de 50 famílies amb HPC i LVNC, seguida d'anàlisis de patogenicitat i cosegregació i per correlació genotip-fenotip.
- 3) Models de malaltia avançats que utilitzin línies de cèl·lules mares pluripotents induïdes (iPSC) de pacients amb HCM i LVNC amb mutacions conegudes, i òrgans de miocardi-endocardi generats *in vitro*.
- 4) Els interactors putatius que uneixen HCM i LVNC, que es troben en estudis genètics de pacients i anàlisis de mecanisme en models avançats de malalties, que es validaran funcionalment utilitzant línies cel·lulars derivades de pacients i peixos zebra.

Per tant, els nostres resultats haurien d'aconseguir el següent:

- 1) Identificar variants genètiques que predisposen els pacients amb MCH a desenvolupar LVNC.
- 2) Identificar mecanismes patògens que cooperen en els cardiomiòcits derivats del pacient per desenvolupar fenotips HCM o LVNC.

3) Proporcionar una comprensió més clara de la relació genotip-fenotip en les cardiomiopaties hereditàries

## **2. Resultats**

### **Objectiu específic 1: identificació de variants genètiques que predisposen els pacients amb HCM a manifestar LVNC**

#### Tasca específica 1.1: selecció del pacient per a l'anàlisi d'imatges

El soci 3 va produir i revisar una llista de pacients amb HCM amb imatges eco d'alta qualitat (grup 1-Eco, n = 800), dels quals el 29% complien els criteris d'LVNC. També es va produir una llista de pacients amb imatges CMR disponibles per fer-ne una avaluació tradicional i automàtica (programari dedicat) (grup 1-CMR, n = 299). Tots els casos d'aquest grup van ser revisats i classificats segons si complien els criteris vigents d'LVNC (27%) o no (73%). També es va produir una llista addicional de portadors silenciosos (sense LVH) amb CMR disponible (grup 2, n = 35), i es va completar així la tasca de selecció de pacients.

#### Tasca específica 1.2: imatge cardíaca

El soci 3 va completar la revisió d'imatges d'ecocardiografia emmagatzemades (n = 1.090) (Xcelera) i ressonància magnètica cardíaca (n = 424) (PACS i Xcelera) de pacients amb HCM. Es van elaborar les llistes de pacients dels 3 grups i es va recollir la informació clínica en una base de dades dedicada. Es van revisar el 100% d'imatges ecocardiogràfiques i es van classificar els individus segons criteris LVNC i no LVNC. Es van revisar el 100% de les imatges de CMR i es van classificar els pacients de manera similar segons si complien o no els criteris de CMR LVNC. Les imatges de CMR també es van recollir i es van convertir al format de fitxer adequat per a la mesura automatitzada de les trabeculacions. L'anàlisi d'aquestes imatges l'ha completada l'enginyer contractat.

#### Tasca específica 1.3: selecció del pacient per a estudis genètics

A partir dels resultats preliminars de l'anàlisi d'imatges cardíques, el soci 3 va produir una llista de 50 famílies candidates amb HCM i LVNC. La llista final es va anotar completament amb els resultats de la trabeculació de l'anàlisi automatitzada d'imatges

de CMR amb un programari dedicat. Per a l'anàlisi d'exomes es van prioritzar les famílies amb un nombre més gran d'individus afectats, i se'n van recollir mostres, que es van emmagatzemar en un biobanc (IMIB) i se'n va extreure ADN. En coordinació amb el soci 2, es van seleccionar 50 famílies més no relacionades amb l'LVNC per a la seqüenciació profunda, i se'n van recollir mostres, que es van emmagatzemar en un biobanc (IMIB) i se'n va extreure ADN.

#### Tasca específica 1.4: seqüenciació de propera generació

La seqüenciació d'exomes es va completar en un esforç coordinat pels socis 1, 2 i 3 sobre mostres de casos índex i familiars avaluats de les 50 famílies inicialment seleccionades amb HCM-LVNC i de casos índex i familiars avaluats de les 50 famílies addicionals amb LVNC. Les variants detectades es van confirmar mitjançant la seqüenciació de Sanger. Els estudis de patogenicitat de les variants, la cosegregació i les correlacions genotip/fenotip els van dur a terme els socis 2 i 3. Aquestes activitats van permetre identificar gens candidats així com generar els models de ratolí següents (vegeu-ne més detalls a la tasca específica 3.1): Bcl7a<sup>AG,GA/+</sup>, Mib1<sup>V943F/+</sup>, Cep192<sup>T1522M/+</sup> i Tmx3<sup>F191X/+</sup>.

### **Objectiu específic 2: generació de models avançats de malaltia per investigar les interaccions mecanicistes entre HCM i LVNC**

#### Tasca específica 2.1: edició del genoma d'iPSC específic per al pacient

Les línies iPSC que representaven dos pacients amb HCM que portaven la mutació de K600fs en MYBPC3, disponibles al laboratori del soci 1, es van corregir mitjançant l'edició gènica amb CRISPR/Cas9 per generar controls isogènics. Es van editar de manera similar els iPSC específics dels pacients que contenien la mutació MIB1<sup>R530X</sup> per produir controls isogènics. També es va editar amb èxit un iPSC de tipus salvatge usat com a control per incorporar la mutació MIB1<sup>R530X</sup>. La correcció gènica de les línies iPSC específiques del pacient que portaven la mutació MIB1<sup>V943F</sup> presentaven dificultats addicionals. Per solucionar-ho, el soci 1 va provar i implementar una plataforma robusta basada en la nucleofeció de la proteïna Cas9 i els sgRNA modificats químicament per millorar l'eficàcia de l'edició del genoma. A més, el procés de cribratge es va optimitzar encara més per a la selecció de clons iPSC editats amb èxit. Aquestes modificacions van suposar la generació exitosa de controls isogènics per a les línies iPSC que porten la mutació MIB1<sup>V943F</sup>, la introducció de la mutació MIB1<sup>V943F</sup> en el

control iPSC i la introducció de la mutació MYBPC3<sup>K600fs</sup> en heterozigosi en dos hiPSC de control de tipus salvatge diferents. L'optimització de l'edició del genoma que contenia grans insercions es va fer comparant diferents mides de braços d'homologia i formats de plantilla. Per a això es va desenvolupar una línia de reporter fluorescent hiPSC per a NKX2.5 (el principal factor de transcripció expressat en progenitors cardíacs). La purificació de poblacions de progenitor cardíac precoç va ser fonamental per al desenvolupament d'organoides cardíacs (vegeu la tasca específica 2.4 més endavant).

### Tasca específica 2.2: diferenciació cardíaca de la iPSC específica del pacient

El soci 1 va aconseguir una diferenciació cardíaca del control, MYBPC3<sup>K600fs</sup> i iPIB mutant MIB1<sup>R530X</sup> mitjançant condicions de diferenciació monocapa i en capes d'alimentació de cèl·lules endocàrdiques ventriculars embrionàries de ratolí (MEVEC, proporcionades pel soci 2). L'abast de la diferenciació es va examinar mitjançant qRT-PCR de diversos marcadors cardíacs i es va considerar massa immadur. Per superar aquest problema, vam implementar diversos sistemes per augmentar la maduració cardíaca:

- 1) L'ús de factors i hormones procardiogèniques, com la triiodotironina (T3) en combinació amb el factor de creixement d'insulina 1 (IGF-1) i la dexametazona, que va tenir com a resultat que els cardiomiòcits mostressin un augment de la resposta hipertròfica i més capacitat de contracció.
- 2) L'ús d'un bioreactor paral·lelitzat per a perfusions contínues i estimulació elèctrica i registre de construccions a escala macrocardíaca.

Mitjançant una combinació d'aquests mètodes, el soci 1 va configurar les condicions per detectar fenotips relacionats amb l'HCM en cardiomiòcits d'iPSC que portaven la mutació MYBPC3<sup>K600fs</sup> i va obtenir mostres durant la diferenciació cardíaca de les línies iPSC específiques del pacient i controls isogènics descrits en la tasca específica 2.1.

### Tasca específica 2.3: perfil de l'expressió durant la diferenciació cardíaca

Es van diferenciar hiPSC derivades de pacients amb HCM o LVNC en cardiomiòcits juntament amb les seves línies isogèniques corregides per CRISPR. Es van prendre mostres en diferents moments per perfilar l'expressió gènica. Les anàlisis preliminars van identificar biomarcadors hipertròfics importants, com ara NPPA, regulats en

cardiomiòcits derivats d'HCM iPSC, que van posar en relleu el potencial d'aquest sistema per recapitular els fenotips del pacient. D'altra banda, de l'ARN total extret de les mostres de cardiomiòcits en diferents moments del procés de diferenciació se'n va controlar la qualitat i es va enviar al soci 2 per obtenir una expressió gènica d'RNAseq. Actualment s'estan comparant els resultats d'aquestes anàlisis amb els dels models de ratolí (vegeu la tasca específica 3.1) i es presentaran per publicar-los properament.

#### Tasca específica 2.4: anàlisi d'organoides de miocardi-endocardi

El soci 1 ha desenvolupat un sistema *in vitro* d'organoide cardíac 3D que s'assembla a les primeres etapes del desenvolupament cardíac. Es basa en el cocultiu de progenitors cardíacs primerencs i cèl·lules endotelials ventriculars. Utilitzant el reporter de fluorescència descrit en la tasca específica 2.1, hem pogut cocultivar progenitors cardíacs purificats per FACS juntament amb cèl·lules endotelials ventriculars en esferoides 3D. Les cèl·lules endotelials ventriculars es van poder integrar dins dels cardiomiòcits i en van promoure el creixement i maduració. La generació de cultius organoides cardíacs en 3D es va provar amb cardiomiòcits derivats de control de tipus salvatge hiPSC i es va comparar amb iPSC que portava la mutació MIB1<sup>R530X</sup> per a una validació addicional. En aquest cas, vam trobar que els senyals secretats dins del sistema de cocultiu disminueixen en els mutants, cosa que posa de manifest l'ús potencial d'aquest sistema de cocultiu 3D per a la validació d'altres objectius.

### **Objectiu específic 3: validació funcional d'interactors genètics o mecànics**

#### Tasca específica 3.1: validació funcional de variants genètiques rares

Tal com es descriu a la tasca específica 1.4, les anàlisis de seqüenciació d'exomes van identificar dos nous gens candidats que causen LVNC en la família extensa que portava la mutació MIB1<sup>R530X</sup>: APCDD1 i ASXL3, per als quals es van trobar mutacions sense sentit en cosegregació amb LVNC i amb mutació en MIB1. La validació funcional d'aquests resultats es va dur a terme generant noves línies de ratolins modificats genèticament mitjançant l'edició gènica basada en CRISPR/Cas9. Concretament, els al·lels mutants d'Apccd1 i Asxl3 es van generar per microinjecció d'ARNgs, proteïna Cas9 i ssODNs en els pronucleus d'embrions de ratolins d'una etapa cel·lular que porta l'al·lel Mib1<sup>R530X</sup>. Actualment s'està acabant l'anàlisi d'aquests ratolins mutants, però els resultats fins ara indiquen que els animals heterozigots triples mostren un fenotip LVNC. En la família que porta la mutació MIB1<sup>V943F</sup> es van identificar tres mutacions

cosegregants en els gens CEP192, BCL7A i TMX3. La validació funcional es va dur a terme generant línies de ratolins que transportaven les mutacions Cep192, Tmx3 o Bcl7A de manera independent o en combinació amb l'al·lel Mib1<sup>V943F</sup>. Si bé la caracterització detallada d'aquests models de ratolins s'estendrà més enllà de la línia de temps d'aquest projecte, les nostres dades preliminars indiquen que els ratolins heterozigots triple mutants per Mib1<sup>V943F</sup>, Cep192 i Tmx3 desenvolupen anormalitats de vàlvules cardíaques amb alta penetració. En conjunt, els nostres resultats donen suport a la hipòtesi que l'LVNC (almenys la que comporta alteracions de la senyalització *notch*) té una herència autosòmica dominant oligogènica, més que no pas monogènica.

### Tasca específica 3.2: validació funcional de les vies de senyalització

Hem generat ratolins amb mutacions dirigides en MIB1 idèntiques als al·lells identificats en pacients amb LVNC (Val943Phe i Arg530X), mitjançant la tecnologia CRISPR/Cas9. Hem establert línies de cria que transporten les dues mutacions i les hem criat amb l'al·lel Mib1<sup>flox</sup>. Curiosament, la mutació R530X combinada en trans amb l'al·lel *floxed* inactivat al miocardi (Mib1<sup>R530X</sup>/Mib1<sup>flox</sup>; cTnT-Cre/+) provoca LVNC, mentre que la mutació V943F no causa LVNC en cap estat (V943F/+, V943F/V943F o Mib1<sup>V943F/flox</sup>; cTnT-Cre/+). Ja hem criat els dos genotips amb els al·lells nuls per a Notch1 i RBPJ, el receptor principal i l'efector únic de la ruta *notch*, per intentar examinar si aquests al·lells Mib1 comprometen la funció de senyalització de *notch* en reduir la quantitat de funció de tipus *notch* de tipus salvatge, en un experiment típic de sensibilització genètica. Tenim previst acabar aquesta part del projecte la primavera del 2020 i enviar els resultats per a la seva publicació.

## **3. Rellevància i possibles implicacions futures**

### **Rellevància**

Aquest projecte ha fet avançar els nostres coneixements sobre els mecanismes moleculars subjacents a l'LVNC i les cardiomiopaties relacionades, i es preveu que ajudi al disseny d'estratègies preventives o terapèutiques per a aquestes malalties prevalents. En particular, el desenvolupament amb èxit d'aquest projecte ha generat nous coneixements sobre les bases moleculars i cel·lulars de l'HCM i de l'LVNC: hi havia molt pocs coneixements sobre el procés de compactació trabecular i l'aparició d'hipertròfia cardíaca i com la seva alteració pot causar cardiomiopatia. Els nostres

resultats han contribuït a millorar la comprensió d'aquestes dues malalties i, per tant, al disseny de nous enfocaments diagnòstics i terapèutics.

### **Possibles implicacions futures**

- Els nostres resultats es poden aplicar per millorar els tractaments i la decisió clínica: el nostre treball ha contribuït a establir criteris genètics i d'imatge per al diagnòstic d'HCM i LVNC i a una millora de l'estratificació del pacient.
- Aquest projecte ha generat informació valuosa per prendre decisions o adoptar polítiques administratives i per a l'assessorament genètic precís per a l'LVNC, de manera que es pot millorar la gestió del pacient, cosa que ajuda a racionalitzar i reduir costos al nostre sistema nacional de salut.
- La implementació d'aquest projecte ha d'ajudar a millorar la qualitat de vida dels pacients amb LVNC i la satisfacció general dels pacients. La nostra recerca ha contribuït a millorar el diagnòstic genètic tant de l'HCM com de l'LVNC i a gestionar millor els pacients, a partir de la nova informació genètica i d'imatge disponible.

## **4. Bibliografia científica generada**

### **Publicacions**

Casanova JD, González-Carrillo J, Martín-Jiménez J, Cuenca-Muñoz J, Burillo E, de la Pompa JL, Raya A, Gimeno-Blanes JR, Sabater-Molina M, Bernabé-García G.  
*Trabeculated myocardium in Hypertrophic Cardiomyopathy.*  
Clinical implications (en revisió).

### **2019**

Benzoni P, Camprostrini G, Bertini V, Marchina E, Iascone M, Ahlberg G, Olesen MS, Crescini E, Mora C, Bisleri G, Muneretto C, Ronca R, Presta M, Poliani PL, Piovani G, Verardi R, Di Pasquale E, Consiglio A, Raya A, Baruscotti M, DiFrancesco D, Memo M, Barbuti A, Dell'Era P.  
*Human iPSC modeling of a familial form of atrial fibrillation reveals a gain of function of If and ICaL in patient-derived cardiomyocytes.*



Cardiovasc Res, 2019, pii: cvz217. doi: 10.1093/cvr/cvz217. IF ISI: 6.290. PMID: 31504264.

Castaño J, Aranda S, Bueno C, Calero-Nieto FJ, Mejia-Ramirez E, Blanco E, Wang X, Prieto C, Zabaleta L, Rovira M, Gottgens B, Di Croce L, Menendez P, Raya A, Giorgetti A.

*GATA2 directly represses cardiac fates to promote hematopoietic specification of human mesoderm.*

Stem Cell Rep, 2019, 13:1-15. IF ISI: 5.499. PMID: 31402335.

Garcia-Puig A, Mosquera, JL, Jimenez-Delgado S, Garcia-Pastor C, Jorba I, Navajas D, Canals F, Raya A.

*Proteomics analysis of extracellular matrix remodeling during zebrafish heart regeneration.*

Mol Cell Proteomics, 2019, 18(9):1745-1755. IF ISI: 4.828. PMID: 31221719.

Travisano SI, Oliveira SL, Prados B, Grego-Bessa J, Piñeiro-Sabarís R, Bou V, Gómez MJ, Sánchez-Cabo F, MacGrogan D, de la Pompa JL.

*Coronary arterial development is regulated by a Dll4-Jag1-EphrinB2 signaling cascade.* Elife 8, 2019. pii: e49977. IF ISI: 7.551. PMID: 31789590.

Torregrosa-Carrión R, Luna-Zurita L, García-Marqués F, D'Amato G, Piñeiro-Sabarís R, Bonzón-Kulichenko E, Vázquez J, de la Pompa JL.

*NOTCH activation promotes valve formation by regulating the endocardial secretome.*

Mol Cell Proteomics, 2019, 18(9):1782-1795. IF ISI: 4.828. PMID: 31789590.

Valls-Margarit M, Iglesias-García O, Di Guglielmo C, Sarlabous L, Paoli R, Comelles J, Blanco D, Jimenez-Delgado S, Castillo-Fernández O, Samitier J, Jané R, Martínez E, Raya A.

*Engineered macroscale cardiac constructs elicit human myocardial tissue-like functionality.*

Stem Cell Rep, 2019, 13:207-20. IF ISI: 5.499. PMID: 31231023.

Uroz M, Garcia-Puig A, Tekeli I, Elosegui-Artola A, Albertazzi L, Roca-Cusachs P, Raya A, Trepas X. *Traction forces at the cytokinetic ring regulate cell division and polyploidy in the migrating zebrafish epicardium.*

Nat Mat, 2019, doi: 10.1038/s41563-019-0381-9. IF ISI: 38.887. PMID: 31160803.

## **2018**

Del Monte-Nieto G, Ramialison M, Adam AAS, Wu B, Aharonov A, D'Uva G, Bourke LM, Pitulescu ME, Chen H, de la Pompa JL, Shou W, Adams RH, Harten SK, Tzahor E, Zhou B, Harvey RP.

*Control of cardiac jelly dynamics by NOTCH1 and NRG1 defines the building plan for trabeculation.*

Nature, 2018, 557(7705):439-445. IF ISI: 43.70. PMID: 29743679.

Eley L, Alqahtani A, MacGrogan D, Salguero-Jiménez A, Richardson RV, Murphy L, Sintés Rodríguez San Pedro M, Tiurma S, McCutcheon L, Gilmore A, de la Pompa JL, Chaudhry B, Henderson DJ. *A novel source of arterial valve cells linked to bicuspid aortic valve without raphe in mice.*

Elife 7, 2018, pii:e34110. IF ISI: 7.551. PMID: 29956664.

Notari M, Ventura-Rubio A, Bedford-Guaus SJ, Jorba I, Mulero L, Navajas D, Martí M, Raya A.

*The local microenvironment limits the regenerative potential of the mouse neonatal heart.*

Sci Adv, 2018, 4:eaao5553. IF ISI: 12.804. PMID: 29732402.

MacGrogan D, Münch J, De la Pompa JL.

*Notch and interacting signalling pathways in cardiac development, disease, and regeneration.*

Nat Rev Cardiol, 2018, 15(11):686-704. IF ISI: 17.42. PMID: 30287945.

Matamoros-Angles A, Gayosso LM, Richaud-Patin Y, di Domenico A, Vergara C, Hervera A, Sousa A, Fernández-Borges N, Consiglio A, Gavín R, Lopez de Maturana R, Ferrer I, López de Munain A, Raya A\*, Castilla J\*, Sánchez-Pernaute R\*, del Río JA\*.

*iPS cell cultures from a Gerstmann-Sträussler-Scheinker patient with the Y218N PRNP mutation recapitulate Tau pathology.*

Mol Neurobiol, 2018, 55:3033-48. IF ISI: 4.586. PMID: 28466265.

Papoutsi T, Luna-Zurita L, Prados B, Zaffran S, de la Pompa JL.

*Bmp2 and Notch cooperate to pattern the embryonic endocardium.*

Development, 2018, 145(13). pii: dev163378. IF ISI: 5.763. PMID: 29853617.

Prados B, Gómez-Apiñániz P, Papoutsi T, Luxán G, Zaffran S, Pérez-Pomares JM, de la Pompa JL.

*Myocardial Bmp2 gain causes ectopic EMT and promotes cardiomyocyte proliferation and immaturity.*

Cell Death Dis, 2018, 9(3):399. doi: 10.1038/s41419-018-0442-z. IF ISI: 5.959.

PMID: 29540665.

Salguero-Jiménez A, Grego-Bessa J, D'Amato G, Jiménez-Borreguero LJ, de la Pompa JL.

*Myocardial Notch1-Rbpj deletion does not affect NOTCH signaling, heart development or function.*

PLoS One, 2018, 13(12):e0203100. IF ISI: 2.776. PMID: 30596653.

## **2017**

Gálvez-Montón C, Soler-Botija C, Iborra-Egea O, Díaz-Güemes I, Martí M, Iglesias-García O, Prat-Vidal C, Crisóstomo V, Llucà-Valldeperas A, Perea-Gil I, Roura S, Sánchez-Margallo FM, Raya A, Bayes-Genis A.

*Preclinical safety evaluation of allogeneic iPS cell-based therapy in a swine model of myocardial infarction.*

Tissue Eng Part C Methods, 2017, 23:736-44. IF ISI: 2.638. PMID: 28699384.

Pulecio J, Verma N, Mejía-Ramírez E, Huangfu D, Raya A.

*CRISPR/Cas9-based engineering of the epigenome.*

Cell Stem Cell, 2017, 21:431-47. IF ISI: 23.394. PMID: 28985525.

Tekeli I, Garcia-Puig A, Notari M, García-Pastor C, Aujard I, Jullien L, Raya A.

*Fate predetermination of cardiac myocytes during zebrafish heart regeneration.*

Open Biol, 2017, 7. pii: 170116. doi: 10.1098/rsob.170116. IF ISI: 3.890. PMID: 28659386.

## 2016

Pulecio J, Alejo-Valle O, Capellera-Garcia S, Vitaloni M, Rio P, Mejía-Ramírez E, Caserta I, Bueren JA, Flygare J, Raya A.

*Direct conversion of fibroblasts to megakaryocyte progenitors.*

Cell Rep, 2016, 17(3):671-683. IF ISI: 8.282. PMID: 27732845.

Tekeli I, Aujard I, Trepas X, Jullien L, Raya A\*, Zalvidea D\*.

*Long-term in vivo single cell lineage tracing of deep structures using three-photon activation.*

Light Sci Appl, 2016, 5: e16084. IF ISI: 14.098. PMID: 30167169.

## Tesis doctorals

*Development of a biomimetic mechanical stimulation system to improve the maturation of human iPS-derived myocardial grafts*, de Juan Crespo Santiago, Universitat de Barcelona, 21/07/2016; excel·lent *cum laude*.

*Biotechnological approaches to cardiac differentiation of human induced pluripotent stem cells*, de Claudia Di Guglielmo, Universitat de Barcelona, 09/02/2016; excel·lent *cum laude*.

*Bioengineering approach to study the role of cell migration during zebrafish heart regeneration*, d'Isil Tekeli, Universitat de Barcelona, 03/02/2016; excel·lent *cum laude*.

*Development of an advanced 3D culture system for human cardiac tissue engineering*, de Maria Valls Margarit, Universitat de Barcelona, 07/07/2017; excel·lent *cum laude*.

*Coronary vessel development in the mouse: Role of Notch signaling*, de Stanislawo Travisano, Universidad Autónoma de Madrid, 15/10/2018; excel·lent *cum laude*.

*Study of extracellular matrix remodeling and the role of periostin b during zebrafish heart regeneration*, d'Anna Garcia-Puig, Universitat de Barcelona, 22/03/2019; excel·lent *cum laude*.

*Role of Nrg1 in mouse heart development*, de Paula Gómez Apiñániz, Universidad Autónoma de Madrid; 28/06/2019; excel·lent *cum laude*.

*Role of caveolin-1 and midkine-a in zebrafish heart regeneration*, de Dimitrios Grivas; Universidad Autónoma de Madrid, 19/12/2019; excellent *cum laude*.

*Modelling the heterogeneity and complex inheritance of Left Ventricular Non-Compaction*, de Marcos Sigüero-Alvarez; Universidad Autónoma de Madrid, 17/01/2020; excellent *cum laude*.