

XIII Reunión Anual CIBERER

Libro de resúmenes

Casteldefells, Barcelona
11-13 de marzo 2020



CONTENIDO

PRESENTACIÓN	3
PROGRAMA RESUMIDO	5
PROGRAMA DETALLADO DE LAS PRESENTACIONES CIENTÍFICAS	
PRESENTACIONES ORALES	7
<i>MIÉRCOLES 11, 12:30 - 14:00</i>	7
<i>MIÉRCOLES 11, 15:30 - 17:00</i>	7
<i>JUEVES 12, 8:30 - 10:30</i>	8
<i>JUEVES 12, 11:00 - 14:00</i>	9
<i>JUEVES 12, 15:15 - 16:45</i>	9
<i>VIERNES 13, 8:30 - 10:00</i>	10
<i>VIERNES 13, 11:00 - 13:15</i>	10
TALLERES DE FORMACIÓN	11
PÓSTERES	11
LISTADO DE RESÚMENES	
PRESENTACIONES ORALES	17
<i>MIÉRCOLES 12:30 - 14:00</i>	17
<i>MIÉRCOLES 15:30 - 17:00</i>	21
<i>JUEVES 8:30 - 10:30</i>	25
<i>MESA REDONDA, JUEVES 11:00 - 14:00</i>	30
<i>PRESENTACIONES NUEVOS GRUPOS, JUEVES 15:15 - 16:45</i>	32
<i>VIERNES 8:30 - 10:00</i>	33
<i>VIERNES 11:00 - 13:15</i>	37
TALLERES	41
PÓSTERES	42
NOTAS	60

PRESENTACIÓN

Queridos compañeros,

Bienvenidos a la 13ª Reunión Anual del CIBERER, donde tendremos la ocasión conocer los resultados de la actividad científica y traslacional de los grupos de investigación.

El número de grupos que conforman el CIBERER a lo largo de estos años ha ido variando, debido a incorporaciones, separaciones y cierre de unidades, desde los 45 que hubo inicialmente, llegando a ser hasta 62 grupos y 20 Grupos Clínicos Vinculados. Ahora mismo está compuesto por 60 grupos de pleno derecho y 18 GCV gracias a la incorporación este año a 4 nuevos grupos de pleno derecho que presentarán en este encuentro su actividad poniendo en valor su futura contribución para nuestro centro. ¡Bienvenidos Mario, Eduardo, Ángela y Víctor!

Quiero destacar también el papel imprescindible de las asociaciones de pacientes en nuestro centro como interlocutores activos, que trabajan en primera línea para dar apoyo y hacer oír la voz de los afectados. Contaremos con la participación de nuestro Consejo Asesor de Pacientes (CAP) cuyos miembros han sido renovados este año, además de representantes de la Federación Española de Enfermedades Raras (FEDER).

Por otra parte, espero que disfrutéis de la experiencia de investigadores de renombre internacional que trabajan en el campo de la terapia génica a través de una mesa redonda específica. Como sabéis, desde el CIBERER trabajamos activamente en la consecución de los objetivos IRDiRC, en concreto en la consecución de 1.000 tratamientos en ER, prueba de ello son las 10 designaciones de medicamentos huérfanos de las cuales actuamos como promotor.

Espero que disfrutéis de este encuentro, momento idóneo para intercambiar experiencias, conocimientos y planificar las actividades cooperativas dentro de esta red.

Un fuerte abrazo, Pablo



Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER

PROGRAMA RESUMIDO

Miércoles 11 de marzo

10:30 – 11:00 Recepción y café de bienvenida

11:00 – 11:30 Inauguración

- Margarita Blázquez, Subdirectora General de Redes y Centros de Investigación Cooperativa del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)
- Juan Carrión, Presidente de la Federación Española de Enfermedades Raras (FEDER)
- Javier Pérez-Mínguez, Representante del Consejo Asesor de Pacientes (CAP) del CIBERER
- Josep Torrent, Presidente del Scientific Advisory Board (SAB) del CIBERER
- Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER

11:30 – 12:30 Presentación general CIBERER

12:30 – 14:00 Presentaciones de Resultados I. Dos sesiones en paralelo

14:00 – 15:30 Almuerzo

15:30 – 17:00 Presentaciones de Resultados II. Dos sesiones en paralelo

17:00 – 17:30 Pausa café

17:30 – 19:00 Reuniones de Pdl

- Pdl Medicina Genómica Traslacional: Sala Olímpic 1
- Pdl Medicina Mitocondrial y Metabólica Hereditaria: Sala Barcelona
- Pdl Medicina Pediátrica y del Desarrollo: Sala Olímpic 2
- Pdl Patología Neurosensorial: Sala Rocallis
- Pdl Medicina Endocrina: Sala Calma 4
- Pdl Cáncer Hereditario, Enfermedades Hematológicas y Dermatológicas: Sala Calma 1+2+3

19:00 – 20:30 Tiempo para reuniones y networking

20:30 Cena

Jueves 12 de marzo

8:30 – 10:30 Presentaciones de Resultados III. Dos sesiones en paralelo

10:30 – 11:00 Pausa café

11:00 – 14:00 MESA REDONDA sobre Terapia Génica. Sesión en sala única con charlas de invitados

- Bernhard Gentner: Hematopoietic Stem and Progenitor Cell (HSPC)-Based Gene Therapy (GT) for Mucopolysaccharidosis type I Hurler (MPS-IH): Preliminary Results from a Phase I/III Trial
- Fátima Bosch: Translational Gene Therapy Approaches to treat Mucopolysaccharidosis
- Michel Michaelides: Update on Genetic Therapies for Inherited Retinal Diseases
- Cristina Fillat: AAV-GCDH gene therapy in a preclinical model of glutaric aciduria type I
- Xavier Anguela: AAV-based gene therapy for the treatment of the hemophilias
- Juan Bueren: Advances in the Gene Therapy of Patients with Fanconi Anemia

14:00 – 15:15 Almuerzo

15:15 – 16:45 Presentaciones nuevos grupos. Sesión en sala única

- Mario Fernández Fraga (U766)
- Eduardo López Granados (U767)
- Víctor Mulero Méndez (U768)
- Ángela Nieto (U769)

16:45 – 18:15 Presentaciones de Resultados IV (Pósteres) / Cafés

18:15 – 19:15 Talleres de Formación

19:15 - 20:30 En paralelo reunión de Jefes de Grupo (Sala Barcelona) /
reunión de contratados (Sala Calma 1+2+3)

21:00 Cena

Viernes 13 de marzo

8:30 – 10:00 Presentaciones de Resultados V. Dos sesiones en paralelo

10:00 – 11:00 Pausa café / Tiempo para reuniones y networking

11:00 – 13:15 Presentaciones de Resultados VI. Sesión en sala única

13:15 Despedida

13:30 – 15:00 Almuerzo

PROGRAMA DETALLADO DE LAS PRESENTACIONES CIENTÍFICAS

PRESENTACIONES ORALES

Miércoles 11, 12:30 - 14:00

Sala Barcelona

- 01. The involvement of complement and coagulation cascades in early severe preeclampsia revealed by maternal proteomics**
Grupo CIBERER: U719 Grupo de Investigación en Medicina Fetal y Perinatal. Servicio de Medicina Materno Fetal, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona
- 02. Intramolecular FRET analysis to study LAT transporters mechanism: molecular defect of a mutated residue in Lysinuric Protein Intolerance (LPI)**
Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB-Barcelona), Barcelona
- 03. Loss of CLRN function produces a neuropsychiatric disorder and a metabolic phenotype that mimics Hartnup disease**
Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Fundació para la Investigació y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona
Otros grupos: U732
- 04. Untangling epileptic mechanisms in Lafora disease**
Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia

Sala Calma 1+2+3

- 05. Analysis of the structural and metabolic consequences of McArdle disease using the murine model**
Grupo CIBERER: U701 Grupo de investigación en patología neuromuscular y mitocondrial, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca (VHIR), Barcelona
Otros grupos: U723, U762
- 06. Mouse models for Retinitis Pigmentosa and Enhanced S-cone syndrome generated by CRISPR/Cas9 gene editing**
Grupo CIBERER: U718 Genètica Molecular Humana, Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística. Facultat de Biologia, Universidad de Barcelona, Barcelona
- 07. Efectos del entrenamiento y mecanismos de la degeneración cerebelosa en un modelo de enfermedad mitocondrial: el ratón Harlequin**
Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
- 08. Deficiencia congénita de CAD (MIM #114010). Desarrollo de un modelo celular de la enfermedad para su uso en la identificación rápida de variantes patogénicas**
Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia

Miércoles 11, 15:30 - 17:00

Sala Barcelona

- 09. Evaluación de las membranas asociadas a retículo endoplásmico y mitocondria (MAM) en la ataxia de Friedreich**
Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultat de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia, Valencia
- 010. The Charcot-Marie-Tooth protein GDAP1 and inter-organelle membrane contact sites**
Grupo CIBERER: U732 Neurogenética y Medicina Molecular, Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Fundación para la Investigación y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona

O11. Neuropatía periférica en el Síndrome Cornelia de Lange

Grupo CIBERER: GCV02 Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza

O12. Delineating the neurological phenotype in children with ECHS1 and HIBCH genetic defects

Grupo CIBERER: GCV09 Servicio de Neurología Infantil / Errores Congénitos del Metabolismo, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Institut de Recerca Vall d'Hebron (VHIR), Barcelona
Otros grupos: U703, U737, GCV06, GCV07

Sala Calma 1+2+3

O13. Haploinsuficiencia de la proteína FHR-5 del Complemento en 2 pacientes de Síndrome Hemolítico-Urémico y Glomerulonefritis Membranoproliferativa

Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Servicio de Alergia, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U738

O14. Biallelic variants in SVBP cause centrosome instability leading to complex hereditary spastic paraplegia

Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL -Hospital Duran i Reynals, Fundació IDIBELL, Barcelona

O15. Acquisition of sialic acid binding capacity by FHR-1 predispose to atypical Hemolytic Uremic Syndrome

Grupo CIBERER: U738 Patología Molecular y Genética del Complemento, Centro de Investigaciones Biológicas, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

O16. CIBERER Biobank: plataforma al servicio de la investigación biomédica en Enfermedades Raras

Grupo CIBERER: CIBERER Biobank, FISABIO-Salud Pública, Valencia
Otros grupos: U733, U755

Jueves 12, 8:30 - 10:30

Sala Barcelona

O17. Estudio preclínico de la administración intracerebroventricular de TRIAC como potencial herramienta en el tratamiento del síndrome de Allan-Herndon-Dudley

Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

O18. β 2-adrenergic receptor as new therapeutic target for clear cell Renal Carcinoma Cells from von Hippel-Lindau disease

Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

O19. A drug repurposing strategy for the treatment of Charcot Marie Tooth disease

Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBM-SO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
Otros grupos: U732, U743

O20. Metformin and salicylate synergistically activate AMPK and prevent polyglutamine toxicity in Caenorhabditis elegans

Grupo CIBERER: U755 Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital la Fe, Valencia

O21. Crystal structure of human PMM2 enzyme as a model to evaluate missense variants amenable to be rescued using pharmacological chaperones

Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
Otros grupos: U739

Sala Calma 1+2+3

O22. Towards the lentiviral-mediated gene therapy for Glanzmann thrombasthenia

Grupo CIBERER: U765 Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia
Otros grupos: U710

- O23. Lentiviral-mediated Phenotypic Correction of CD34+ Cells from RPS-19-deficient Diamond-Blackfan Anemia Patients**
Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid
Otros grupos: GCV19, GCV17, GCV18
- O24. Cerebellar Astrocyte Transduction as Gene Therapy for Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts**
Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona
Otros grupos: U730
- O25. Reverse mosaicism is associated with improved outcomes in Fanconi anemia**
Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Universidad Autònoma de Barcelona, Barcelona
Otros grupos: U710, GCV16, GCV17, GCV18, GCV19
- O26. Cambiando el paradigma de investigación en enfermedades raras con modelos mecanísticos de pathways e inteligencia artificial**
Grupo CIBERER: U715 Area de Bioinformática, Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla
Otros grupos: U702, U735, U745, U714, U755, U756, U760, U704, U718

Jueves 12, 11:00 - 14:00

Sala Barcelona

- O27. Hematopoietic Stem and Progenitor Cell (HSPC)-Based Gene Therapy (GT) for Mucopolysaccharidosis type I Hurler (MPS-IH): Preliminary Results from a Phase I/II Trial**
Bernhard Gentner. San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy, Milán (Italia)
- O28. Translational Gene Therapy Approaches to treat Mucopolysaccharidosis**
Fàtima Bosch. CIBERDEM, Centro de Biotecnología Animal y Terapia Génica, Universidad Autònoma de Barcelona, Barcelona
- O29. Update on Genetic Therapies for Inherited Retinal Diseases**
Michel Michaelides, Department of Genetics, University College London, Londres (Reino Unido)
- O30. AAV-GCDH gene therapy in a preclinical model of glutaric aciduria type I**
Grupo CIBERER: U716 Genes y Enfermedad, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona
Otros grupos: U737
- O31. AAV-based gene therapy for the treatment of the hemophilias**
Xavier Anguela. Center for Cellular and Molecular Therapeutics. The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia (E.E.U.U)
- O32. Advances in the Gene Therapy of Patients with Fanconi Anemia**
Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid

Jueves 12, 15:15 - 16:45

Sala Barcelona

- O33. Biomarcadores epigenómicos en tumores medulares de tiroides y adenomas hipofisarios**
Grupo CIBERER: U766 Centro de Investigación en Nanomateriales y Nanotecnología, CSIC, Asturias
- O34. Líneas de investigación de la Unidad 767**
Grupo CIBERER: U767 Instituto de Investigación Hospital La Paz, Madrid
- O35. Modelos de pez cebra para el estudio funcional y desarrollo de terapias de enfermedades raras**
Grupo CIBERER: U768 Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Biología UMU, Universidad de Murcia, Murcia
- O36. The EMT beyond cell migration: Snail in the control of bone length**
Grupo CIBERER: U769 Instituto de Neurociencias UMH-CSIC, Alicante

Viernes 13, 8:30 - 10:00

Sala Barcelona

- O37. Implementación de un panel de genes para el diagnóstico genético de la discinesia ciliar primaria**
Grupo CIBERER: U712 Crecimiento y Desarrollo, Institut de Recerca Vall d'Hebron - Hospital Universitari Vall d'Hebron, Fundació Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca (VHIR), Barcelona. Otros grupos: U701
- O38. Five new cases of syndromic intellectual disability due to KAT6A mutations: widening the molecular and clinical spectrum**
Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid
Otros grupos: U720, U735, U703
- O39. A DM1 family with interruptions associated with atypical symptoms and late onset but not with a milder phenotype**
Grupo CIBERER: GCV08 Servicio de Pediatría / Sección de Nefrología Pediátrica, Genética y Metabolismo, y Nutrición. Unidad de Enfermedades Raras, Hospital Universitario 'Germans Trias i Pujol', Instituto de Investigación "Germans Trias i Pujol" (IGTP), Barcelona
- O40. Grupo de trabajo de Bioinformática: elaboración de recursos compartidos, metodologías de benchmarking y guías de buenas prácticas para el análisis de datos de NGS en diagnóstico clínico**
Grupo de trabajo de Bioinformática: U702, U704, U711, U715, U723, U726, U728, U732, U734, U735, U741, U745, U753, U759

Sala Calma 1+2+3

- O41. La relevancia funcional de los elementos reguladores de la expresión génica en las enfermedades raras**
Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
- O42. Mutations in NDUFA8 as a novel cause of complex I deficiency**
Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona
Otros grupos: U723
- O43. Variante patogénica en KLHL11 en seis individuos de una familia con liquen plano, alteraciones ungueales y cáncer. ¿Una nueva entidad con un nuevo gen?**
Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U753, U731, U756, U760
- O44. La infiltración grasa en los muslos se asocia con bajo rendimiento muscular en pacientes con síndrome de Cushing en remisión. Resultados preliminares del grupo de trabajo: "Diagnóstico de alteraciones musculares en pacientes con ER endocrino-metabólicas"**
Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología., Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, Barcelona
Otros grupos: U762

Viernes 13, 11:00 - 13:15

Sala Barcelona

- O45. De la terapia a la prevención de enfermedades raras: nuevos escenarios**
Eduardo Tizzano, Vall d'Hebron Institut de Recerca, Barcelona
- O46. Systems biology and bioinformatics-based workflows applied to rare disease data**
Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga
Otros grupos: U759; U746
- O47. Presente y futuro del programa CIBERER de enfermedades raras sin diagnóstico genético (ENoD)**
Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona
Otros grupos: U715
- O48. Mosaic Finder: una herramienta para la detección y cuantificación de alelos muy poco frecuentes**
Grupo CIBERER: U728 Servicio de Genética, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U756, U710, U745, U761

O49. Búsqueda de nuevos genes candidatos en enfermedades genéticas por medio de un algoritmo basado en biología de redes

Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

O50. scoreInvHap: Inversion genotyping to understand germline and common diseases

Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona

TALLERES DE FORMACIÓN

Jueves 12, 18:15 - 19:15

Sala Barcelona

T1. Búsqueda de variantes patogénicas en enfermedades raras usando MMP

María Peña. Plataforma Bioinformática de Enfermedades Raras (CIBERER BIER)

Sala Calma 1+2+3

T2. Taller Human Phenotype Ontology (HPO)

Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

PÓSTERES

P1. Servicio de Cromatografía Líquida

Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla

P2. CSVS la base de datos de variabilidad de la población española y el primer panel de imputación del genoma español

Grupo CIBERER: U715 Joaquin, Area de Bioinformática, Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla
Otros grupos: U702, U704, U711, U728, U732, U745, U746, U755

P3. Exploring miRNA-mRNA networks involved in rare disease

Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga
Otros grupos: U746, U759, U742

P4. La disminución de miR-335.5P en suero de pacientes con esclerosis lateral amiotrófica puede contribuir a la disfunción mitocondrial y apoptosis

Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, Barcelona

P5. Identificación de miRNAs reguladores de rutas moleculares en modelos celulares de Ataxia de Friedreich

Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia, Valencia

P6. Puesta a punto de un algoritmo molecular diagnóstico en pacientes con ELA y/o DFT

Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

P7. Inactivación del cromosoma X específica de alelo en pacientes con síndrome de Rett

Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Fundación para la Investigación y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona

P8. Efficient application of next-generation sequencing for the diagnosis of neurodevelopmental diseases

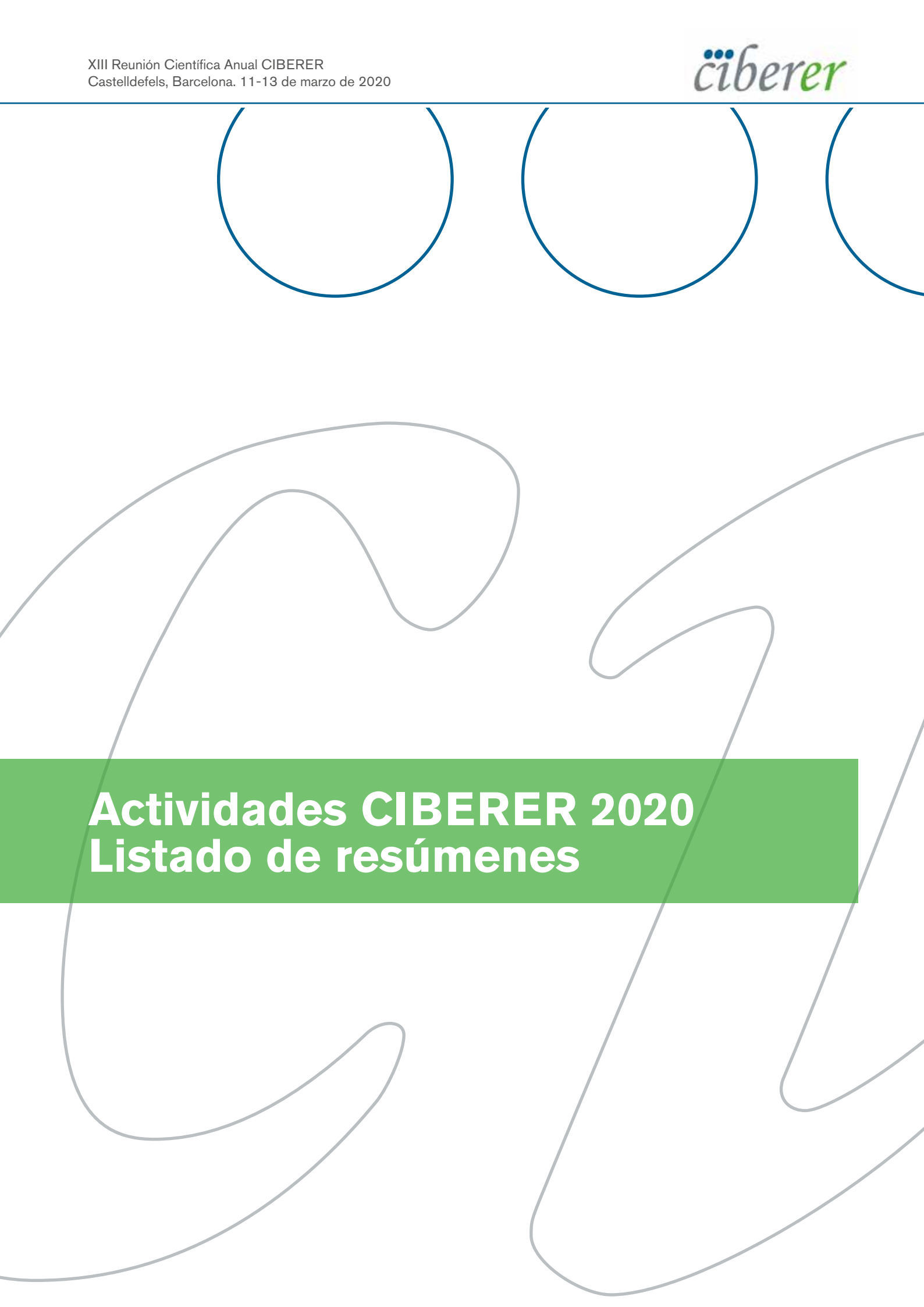
Grupo CIBERER: U726 Grupo de Investigación en Genética de Enfermedades Raras, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular del Hospital Clínico Barcelona, Barcelona

P9. Explorando la contribución al TDAH de genes implicados en trastornos mendelianos (OMIM) con síntomas de hiperactividad y/o inatención

Grupo CIBERER: U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona, Barcelona

- P10. Variantes heterocigotas en GLI1 son un hallazgo frecuente en Polidactilia Postaxial aislada tipo A o B**
Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
Otros grupos: U753, U755, GCV01, GCV03
- P11. Identification of a GPCR network regulating GlialCAM/MLC1: implications in MLC**
Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona
Otros grupos: U730
- P12. Early sensory processing in anti-NMDAR encephalitis.**
Grupo CIBERER: U764 Servicio de Neurología, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona
- P13. Reactive Glia-Derived Neuroinflammation: a Novel Hallmark in Lafora Progressive Myoclonus Epilepsy That Progresses with Age**
Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia
Otros grupos: U733
- P14. Unmasking Retinitis Pigmentosa complex cases by a whole genome sequencing pipeline based on open-access tools: Hidden recessive inheritance and potential oligogenic variants**
Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Medicina Materno Fetal, Genética y Reproducción, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud de Sevilla, Sevilla
- P15. Distrofias hereditarias de retina: Concurrencia de varios genes responsables**
Grupo CIBERER: U755 Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital la Fe, Valencia
- P16. Implication of non-coding variants and mosaicism to the phenotypic variability of aniridia and related PAX6-associated disorders**
Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid
Otros grupos: U728
- P17. Mutaciones identificadas en una cohorte española de personas con albinismo**
Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
Otros grupos: U704, U711
- P18. IGF-1 and DUSP1: revealing the genetic factors that modulate the progression of age-related hearing loss**
Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
Otros grupos: U757, U733
- P19. Glioma óptico en la neurofibromatosis tipo 1: Búsqueda de biomarcadores de susceptibilidad**
Grupo CIBERER: U728 Servicio de Genética, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
- P20. Identificación y caracterización de variantes estructurales causantes de deficiencia de antitrombina mediante secuenciación por nanoporos: aplicación de esta nueva tecnología en enfermedades raras**
Grupo CIBERER: U765 Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia
- P21. Myelination processes as a biomarker in MCT8-deficiency**
Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
- P22. Análisis clínico y molecular de pacientes pediátricos y adultos jóvenes con diagnóstico de adenoma hipofisario**
Grupo CIBERER: U725 Grupo de investigación en Endocrinología y Diabetes, Hospital Universitario Cruces, Asociación Instituto de Investigación Sanitaria de Biocruces, Vizcaya
- P23. Physiopathological bases of the disease caused by HACE1 mutations: alterations in autophagy, mitophagy and oxidative stress response**
Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona
Otros grupos: U722

- P24. MOSMO (MODulator of SMOothened) genes as candidate genes for the rare 16p12.2 deletion syndrome**
Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
- P25. Yap/Taz-Tead activity controls RPE integrity: possible implications in RPE pathologies**
Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
- P26. Slc7a7-Mediated Arginine transport compromises erythrocyte function in Slc7a7-deficient mice**
Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB-Barcelona), Barcelona
Otros grupos: U703
- P27. The structure of human PLP homeostasis protein (PLPHP) sheds light on a novel type of hereditary vitamin B6-dependent epilepsy**
Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia
- P28. Cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells as a disease model for propionic acidemia**
Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- P29. A role of the long intergenic non-coding RNA p21 in the development of T-cell lymphoblastic lymphomas**
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- P30. Characterization of the coagulation FXII T309K mutation in patients with Hereditary Angioedema**
Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Servicio de Alergia, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U755
- P31. Revisión de estrategias terapéuticas para la Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria**
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
- P32. GCDH targeted gene edition rescues Glutaric Aciduria type-I phenotype in a SH-SY5Y cellular model**
Grupo CIBERER: U716 Genes y Enfermedad, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona
Otros grupos: U737
- P33. Beneficios del tratamiento temprano con metformina frente a su administración en edades avanzadas en modelos animales de la enfermedad de Lafora**
Grupo CIBERER: U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- P34. The use of PanDrugs to prioritize anticancer drug treatments in a case of T-ALL based on individual genomic data**
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- P35. Nuevas terapias para la deficiencia de coenzima Q10**
Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla
Otros grupos: U703
- P36. Producción de un Medicamento de Terapias Avanzadas para el tratamiento de Enfermedades Raras epiteliales a un coste asumible para el Sistema Nacional de Salud**
Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, Madrid
- P37. In vitro cell model to assay the activity of telomerase gene mutations in TERT and TERC found in spanish patients and the effect of GSE4 expression**
Grupo CIBERER: U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid
Otros grupos: U710
- P38. Ensayo clínico abierto, fase I para evaluar la seguridad y respuesta clínica preliminar del uso de células madre mesenquimales alogénicas de médula ósea en niños y adolescentes con adrenoleucodistrofia ligada a X**
Grupo CIBERER: GCV06 Servicio de Neurología Pediátrica, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Fundación para la Investigación Biomédica Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid

The background features three blue circles at the top and two large, light gray, abstract wavy lines that sweep across the page. A solid green horizontal bar is positioned in the lower-middle section, containing the main title.

Actividades CIBERER 2020 Listado de resúmenes

PRESENTACIONES ORALES

Miércoles 12:30 - 14:00

01 The involvement of complement and coagulation cascades in early severe preeclampsia revealed by maternal proteomics

Crispi, F; Youssef, L; Miranda, J; Blasco, M; Paules, C; Crovetto, F; Palomo, M; Garcia, H; Tura, O; Dantas, AP; Canela, N; Campistol, JM; Garcia-Pagan, JC; Diaz-Ricart, M; Gratacos, E

Grupo CIBERER: U719 Grupo de Investigación en Medicina Fetal y Perinatal. Servicio de Medicina Materno Fetal, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona

Objective: To investigate the pathophysiological pathways involved in early severe preeclampsia by maternal blood proteomic analysis.

Study design: A prospective study including singleton pregnancies with early (before 34 weeks of gestation) severe preeclampsia (n=14) as well as uncomplicated pregnancies (n=6). Maternal blood was drawn at diagnosis for cases and at matched gestational age for controls. LC-MS/MS proteomics analysis was conducted, and data analyzed by multivariate and univariate statistical approach. Differential pathways were identified by exploring the interactions of pathway-enriched genes with the global human protein-protein interaction network.

Results: A total of 273 proteins were identified. After filtering the data for statistical analysis 160 proteins were included. The unsupervised multivariate analysis [including principal component analysis (PCA)] showed a clear difference between preeclamptic and uncomplicated pregnancies. Additionally, we performed a supervised multivariate analysis using orthogonal partial least square discriminant analysis (OPLS-DA) and we obtained a model with goodness of fit ($R^2X=0.99$, $p<0.001$) and a strong predictive ability ($Q^2Y=0.8$, $p<0.001$) applying 1000 permutations. By univariate analysis, we found 17 proteins statistically different after an 5% FDR correction ($p<0.05$), showing a good agreement with the multivariate results. Pathway enrichment analysis revealed 1 significantly enriched pathway ($p=1.22e-15$) which is the complement and coagulation cascades pathway including 5 proteins (SERPIND1, heparin cofactor 2; C3, complement C3; KNG1, kininogen-1; C2, complement C2; VWF, Von Willebrand factor).

Conclusion: Proteomic analysis identifies complement and coagulation cascades activation as a main differential pathway in early severe preeclampsia. Future studies are warranted to investigate potential therapeutic targets for preeclampsia within this pathway.

fcrispi@clinic.cat

02 Intramolecular FRET analysis to study LAT transporters mechanism: molecular defect of a mutated residue in Lysinuric Protein Intolerance (LPI)

Fort, J; Nicolàs, A; Zijlstra, N; Cordes, T; Palacín, M

Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB-Barcelona), Barcelona

L-Amino acid Transporters (LATs) play key roles in human physiology and are implicated in several human inherited pathologies as primary aminoacidurias (Torrents et al. 1999; L Feliubadaló et al. 1999), autism spectrum disorder (Tărlungeanu et al. 2016) or age-related hearing loss (Guarch et al. 2018). To study the structure and function of these transporters we characterized (Bartoccioni et al. 2019) and solved the 3D structure (Errasti-Murugarren et al. 2019) of a bacterial homologue, which can be used as a model for the human LATs. To dissect the molecular mechanism of LATs we are using intramolecular single-molecule Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) to reveal conformational changes of the transporter during the transport cycle. We label two different positions in the transporter with two different fluorophores and then detect their FRET signal, which is related with the distance between both fluorophores. We are able to see protein movements induced by substrate or transport blocking nanobodies. The substrate-induced movement is compatible with the occlusion of the substrate (Jungnickel et al., 2018; Errasti-Murugarren et al. 2019). Interestingly, mutant Lys154Ala, involving a mutated residue in Lysinuric Protein Intolerance (Sperandeo et al., 2008), blocks substrate-induced, but not nanobody-induced, movements. Our functional studies (transport and FRET analysis) support that this conserved Lys residue is necessary for the occlusion of the substrate within transport cycle. This study shows that the combination of structural and FRET analysis is a proper approach to dissect the molecular defects of diseases-causing mutations of LATs.

joana.fort@irbbarcelona.org

03 Loss of CLTRN function produces a neuropsychiatric disorder and a metabolic phenotype that mimics Hartnup disease

Oyarzabal, A; Pillai, N; Yubero, D; Shayota, B; Ghosh, R; Sun, Q; Azamian, M; Arjona, C; Brandi, N; Palau, F; Lalani, S; Artuch, R; García-Cazorla, A; Scott, D

Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Fundació para la Investigació y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona

Otros grupos: U732

Hartnup disease is an autosomal recessive condition characterized by neutral aminoaciduria and behavioral problems. It has been related to the loss of expression of BO AT1 - a neutral amino acid transporter, in kidney and intestine.

This transporter associates with collectrin (coded by CLTRN), that plays a role in its transportation and activation in the renal apical brush bordered epithelium. A deficiency of collectrin has never been reported in humans.

In this work we report two patients, an 11-year-old male hemizygous for a deletion on Xp22.2 that encompasses CLTRN and a 22-year-old male with a deletion spanning exons 1 to 3 of CLTRN. Both of them were referred to the Neurology service due to neuropsychiatric phenotypes that included autistic features, anxiety, depression, compulsions, and motor tics, accompanied by a neutral aminoaciduria that led to a clinical diagnosis of Hartnup disease and subsequent treatment with niacin supplementation.

Intrigued by the neurological component of the presentation, given that collectrin had only been studied in kidney and never in brain, we explored its expression in mice brain, and detected it in the hippocampus, brainstem, and cerebellum. This, together with the interaction with SNARE proteins reported in other tissues, outlines collectrin as implicated in synaptic vesicle trafficking, enhancing its interest in neuropathophysiology.

We propose that collectrin deficiency in humans can be associated with aminoaciduria and a novel clinical picture in the brain-kidney transport defects, similar in some aspects to that seen in Hartnup disease. Further studies are needed to explore the role of collectrin deficiency in the neurological phenotypes.

aldeoyarzabal@fsjd.org

04 Untangling epileptic mechanisms in Lafora disease

Perez-Jimenez, E; Viana, R; Muñoz-Ballester, C; Santana, N; Artigas, F; Sanz, P

Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia

Lafora disease (LD, OMIM 254780) is a fatal progressive myoclonus epilepsy characterized by the accumulation of polyglucosan inclusions in neurons and other cell types, including astrocytes. Seizures soon became refractory and are followed by neurodegeneration, leading to the death of the patient around ten years after the appearance of the initial symptoms. The disease is caused by mutations in either *EPM2A* or *EPM2B* genes, which encode laforin and malin, respectively. Patients with mutations in either of the two genes are phenotypically indistinguishable, as laforin and malin function in a complex in which laforin recruits the substrates that will be ubiquitinated by malin. Although in the recent years there has been an advance in the understanding of the molecular basis underlying the pathophysiology of LD, little is known about the mechanisms that trigger the epilepsy in these patients. We have recently shown that it could be explained, at least in part, to deficiencies in glutamate homeostasis. We now present new *in vivo* evidence of altered neuronal activation of the hippocampus of animal models of LD, a highly epileptogenic area, which correlates with higher levels of glutamate *in vivo*. These results can be explained by a deficit of the glutamate transporter GLT-1 to remove the glutamate at the synaptic cleft. We are now trying to decipher the molecular mechanisms by which the absence of laforin and malin is mediating this effect. Identification of the affected step will allow us to provide a new therapeutic target to this fatal disease.

eva.perez@ibv.csic.es

05 Analysis of the structural and metabolic consequences of McArdle disease using the murine model

Real-Martinez, A; Brull, A; Huerta, J; Villarreal-Salazar, M; Tarrasó, G; Lucia, A; Martin, MA; Arenas, J; Andreu, AL; Nogales-Gadea, G; Vissing, J; Krag, TO; de Luna, N; Pinós, T

Grupo CIBERER: U701 Grupo de investigación en patología neuromuscular y mitocondrial, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca (VHIR), Barcelona

Otros grupos: U723, U762

McArdle disease is an autosomal recessive disorder caused by the absence of the muscle glycogen phosphorylase, which leads to impairment of glycogen breakdown. The McArdle mouse, a model heavily affected by glycogen accumulation and exercise intolerance, was used to analyze the metabolic consequences of muscle glycogen phosphorylase depletion in the skeletal muscle, liver and adipose tissue. In the skeletal muscle we have observed that not all muscles and fiber types are equally affected by the disease progression as type IIa and IIx muscle fibers are more affected than I and IIb. In this regard, severely damaged IIa fibers present the highest levels of mitochondria and glycogen depots. The abnormal accumulation of glycogen causes a disruption of the sarcomere structure affecting muscle contraction capacity. Additionally, it also affects mitochondria subcellular localization and ultrastructure, causing a decrease in mitochondrial complex activities due to a reduction in mitochondrial biomass. In the liver there is an age associated decrease in glycogen levels accompanied by an increase G6Pc protein levels, suggesting that liver may liberate more glucose to the blood to be consumed by the skeletal muscle as an alternative to the blocked glycogenolysis. Similarly, there is a huge reduction of abdominal fat in McA mice suggesting that fat could also be used as an alternative fuel by skeletal muscle. The abdominal fat reduction is mediated by the overexpression of genes involved in the beta-oxidation pathway such as *Acs3* and *5*, *Acad12*, *Pccb* or *Ehhadh*.

tomas.pinos@vhir.org

06 Mouse models for Retinitis Pigmentosa and Enhanced S-cone syndrome generated by CRISPR/Cas9 gene editing

Aisa-Marín, I; B. Domènech, E; Mirra, S; Milla, S; de la Villa, P; Marfany, G

Grupo CIBERER: U718 Genètica Molecular Humana, Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona

Inherited retinal dystrophies are a group of rare diseases characterized by neurodegeneration of retinal cells that eventually lead to blindness. Mutations in more than 120 genes, among them *CERKL* and *NR2E3*, cause different types of retinal alterations, for instance, mutations in *CERKL* may cause either Retinitis pigmentosa (RP) or Cone-rod dystrophy, whereas mutations in *NR2E3* cause either RP or Enhanced S-cone syndrome (ESCS). The generation of animal models is an invaluable tool to dissect the physiological function of each causative gene, understand the molecular effect of each mutation and assay potential therapeutic approaches. In our group, we have generated several mouse models by using the CRISPR-Cas9 nickase to delete small and large deletions in *Nr2e3* and *Cerkl*, respectively. The effect of each gene-edited allele is different in the phenotype, and thus we are now characterizing the mutant animals. On the one hand, one of the gene-edited *Nr2e3* alleles alters photoreceptor fate from the retinal precursor and increases the number of S-cones, whereas another *Nr2e3* allele causes rod photoreceptor death. On the other hand, the *Cerkl* mouse model shows a very slow progressive retinal degeneration, similarly to what occurs in most patients carrying *CERKL* mutations. Overall, the mouse models that we have generated by gene-editing show distinct morphological and electrophysiological retinal alterations that mimic the progression of RP and ESCS disorders in humans.

gmarfany@ub.edu

07 Efectos del entrenamiento y mecanismos de la degeneración cerebelosa en un modelo de enfermedad mitocondrial: el ratón Harlequin

Fernández-de la Torre, M; Fiuza-Luces, C; Laine-Menéndez, S; Arenas, J; Martín, MA; Turnbull, DM; Lucia, A; Morán, M

Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares, Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Objetivos: Evaluar los efectos de una intervención con entrenamiento sobre la neurodegeneración del cerebelo en un modelo de enfermedad mitocondrial, el ratón Harlequin (Hq), y profundizar en los mecanismos de la neurodegeneración por medio de una aproximación proteómica y de biología de sistemas.

Métodos: ratones macho adultos wild type (WT) y Hq se asignaron a un grupo de ejercicio o sedentario (control) (n = 10-12 / grupo). La intervención, de 8 semanas, se inició al inicio de los síntomas de ataxia en los ratones Hq. Al final del programa de entrenamiento se evaluaron marcadores de función mitocondrial, muerte neuronal y estrés oxidativo, y se realizó el análisis del proteoma cerebeloso.

Resultados: a pesar de las fuertes mejoras en la capacidad aeróbica y la fuerza muscular observadas en los animales, la intervención no logró ejercer un efecto neuroprotector en el cerebelo. El análisis proteómico mostró que en los ratones Hq, independientemente de su estado de entrenamiento, además de desregulación de la fosforilación oxidativa, hay una marcada activación astrogliar y microglial, alteraciones proteínicas relacionadas con la homeostasis del Ca²⁺, la neurotransmisión por glutamato y GABA, y en proteínas implicadas en la “depresión a largo plazo”, mecanismo de plasticidad sináptica clave en el aprendizaje motor.

Conclusiones: Nuestro estudio desvela nuevos mecanismos asociados a la degeneración cerebelosa y la ataxia de origen mitocondrial, que incluyen la neuroinflamación y la excitotoxicidad, y destaca la glía como posible elemento clave de estas alteraciones.

Trabajo financiado por: FIS PI14/01085 y PI17/00093, Ministerio de Ciencia e Innovación y fondos FEDER.

mmoran@h12o.es

08 Deficiencia congénita de CAD (MIM #114010). Desarrollo de un modelo celular de la enfermedad para su uso en la identificación rápida de variantes patogénicas.

del Caño-Ochoa, F; Ng, BG; Freeze, HH; Ramón-Maiques, S

Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia

CAD, un polipéptido trienzimático (carbamil fosfato sintetasa II, aspartato transcarbamilasa y dihidroorotasa) de 8 dominios y 2.225 aminoácidos, forma homohexámeros y cataliza los tres primeros pasos de la biosíntesis de pirimidinas, precursoras de ácidos nucleicos y claves para la glicosilación proteica. Recientemente se describió [1,2] la deficiencia de CAD, con retraso en el desarrollo, convulsiones, encefalopatía epiléptica, anemia, trastornos de glicosilación y pronóstico sombrío si no se diagnostica y se trata administrando uridina. El diagnóstico de seguridad, genético, viene complicado por el gran tamaño de CAD, habiéndose descrito más de 900 variantes de secuencia (<https://gnomad.broadinstitute.org>), siendo esencial diferenciar las variantes patogénicas de las que no lo son. Como producto derivado de nuestra investigación básica sobre CAD, en la que intentamos desentrañar la arquitectura [3-6] y los papeles celulares de esta proteína, hemos generado usando CRISPR/Cas9, la primera línea celular humana knockout para CAD, a partir de la cual hemos desarrollado, como aplicación clínica, un ensayo de complementación para determinar rápidamente si una mutación de CAD es o no patogénica. Describimos aquí el ensayo y sus resultados al aplicarlo a las mutaciones de cambio de sentido encontradas en pacientes. Así, abrimos la puerta al diagnóstico de seguridad del déficit de CAD que permita la puesta en marcha del tratamiento correcto.

Financiado por el MICINN, proyecto RTI2018-098084-B-100

[1] Hum Mol Genet 2015;24:3050–3057.

[2] Brain 2017;140:279-286.

[3] Structure 2014;22:185-98.

[4] Structure 2016;24:1081-94

[5] Structure 2017;25:912-923.

[6] JBC 2018;293:18903-18913.

santiago.ramon@cbm.csic.es

Miércoles 15:30 - 17:00

09 Evaluación de las membranas asociadas a retículo endoplásmico y mitocondria (MAM) en la ataxia de Friedreich

Rodríguez, LR; Navarro, JA; Calap-Quintana, P; Lapeña, T; Pallardó, FV; González-Cabo, P

Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultat de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia, Valencia

La homeostasis del calcio (Ca^{2+}) es esencial para diferentes procesos metabólicos y rutas de señalización celular. Tanto la mitocondria como el retículo endoplasmático (ER) regulan estos procesos a través de la formación de puentes proteicos específicos denominados MAMs (Endoplasmic reticulum-mitochondria associated membranes). La interacción entre estos compartimentos es principalmente mediada por el canal aniónico dependiente de voltaje 1, de la membrana externa mitocondrial, el receptor de inositol-1,4,5-trifosfato del ER y la chaperona GRP75 (glucose-regulated protein 75), que actúa uniendo las dos anteriores. Los procesos celulares relacionados con las MAMs suelen estar alterados en enfermedades neurodegenerativas como la Ataxia de Friedreich (FRDA). Anteriormente, nuestro grupo describió que las células deficientes en frataxina mostraban alteraciones en la respuesta mitocondrial al Ca^{2+} . Por ello, utilizando nuestro modelo de silenciamiento de frataxina en células de neuroblastoma, hemos evaluado la interacción de las principales proteínas implicadas en las MAMs, así como su respuesta mitocondrial al Ca^{2+} y la posible relación de frataxina en este proceso. Nuestros resultados indican que la deficiencia de frataxina altera tanto la estructura como la función de las MAMs, lo cual puede revertirse mediante la adición de trolox, que recupera tanto la interacción entre el ER y la mitocondria como la capacidad mitocondrial de tamponamiento de Ca^{2+} . Asimismo, frataxina se encuentra localizada en las MAMs e interacciona de forma directa con dos de sus principales proteínas, lo cual sugiere un posible papel en las MAMs y abre nuevas posibilidades terapéuticas para evaluar las MAMs como potenciales dianas terapéuticas para la FRDA.

pilargc@uv.es

010 The Charcot-Marie-Tooth protein GDAP1 and inter-organelle membrane contact sites

Cantarero, L; Juárez-Escoto, E; Civera-Tregón, A; Rodríguez-Sanz, M; Roldán, M; Benítez, R; Hoenicka, J; Palau, F

Grupo CIBERER: U732 Neurogenética y Medicina Molecular, Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Fundación para la Investigación y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona

Ganglioside-Induced Differentiation-Associated Protein 1 (GDAP1) is a glutathione S-transferase located in both the outer mitochondrial membrane and the mitochondria-associated membranes (MAMs)[1]. MAMs are specialized subdomains of the endoplasmic reticulum (ER) that participates in the cross-talk between the ER and mitochondria.

Mutations in some MAMs genes are related to Mendelian neurological diseases. One of these genes is *GDAP1* that causes Charcot-Marie-Tooth neuropathy (CMT). CMT pathophysiology includes defects in mitochondrial network, Ca^{2+} homeostasis dysregulation and oxidative stress. GDAP1-CMT also shows a reduced juxtaposition of MAMs, possibly affecting their functionality, which includes the regulation of autophagy.

Previous findings of our group reported an increment of autophagic vesicles in *Gdap1*^{-/-} mouse embryonic motor neurons[2], thus suggesting the autophagy involvement in the pathophysiology of CMT caused by GDAP1 mutations.

Here we demonstrate that GDAP1 is involved in membrane biogenesis from MAMs to lysosomes by interacting with intracellular membrane trafficking proteins. During autophagosome formation, depletion of GDAP1 caused lower recruitment and processing of its interactor LC3 by the redox-sensitive protease ATG4, as well as abnormal phosphatidylinositol 3-phosphate-positive vesicles. GDAP1 also interacts with PYKfyve, a master lysosomal regulator and GDAP1 depletion causes giant lysosomes without changes in its hydrolytic capacity. We are also investigating the mitochondria-lysosome interaction at membrane contact sites (MCSs). Altogether our results assign a role for GDAP1 in both the autophagy pathway and the inter-organelle MCSs, highlighting new candidate therapeutic targets.

[1].Pla-Martín,D et al.,(2013) *Neurobiology of Disease* 55,140.

[2].Barneo-Muñoz,M et al.,(2015) *PLOS Genetics* 11(4),e1005115.

lcantarero@sjdhospitalbarcelona.org

011 Neuropatía periférica en el Síndrome Cornelia de Lange

Pablo, MJ; Ramos, FJ; Pamplona, P; Haddad, M; Benavente, I; Latorre-Pellicer, A; Arnedo, M; Trujillano, L; Bueno-Lozano, G; Puisac, B; Pie, J

Grupo CIBERER: GCV02 Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza

El Síndrome de Cornelia de Lange (CdLS) es un trastorno congénito raro del desarrollo incluido dentro del grupo de las cromatinopatías. Esta causado por mutaciones en genes que codifican proteínas del complejo de cohesinas (*NIP-BL, SMC1A, SMC3, HDAC8, RAD21, BRD4* y *ANKRD11*) y que afectan a la regulación de la expresión génica. Se caracteriza por retraso de crecimiento pre y postnatal, rasgos dismórficos característicos, deterioro cognitivo, defectos de las extremidades y alteraciones de múltiples órganos y sistemas, incluido el sistema nervioso (SN) central. Más del 80% de las personas con CdLS tienen alguna disfunción del SN autónomo, y el 26% de ellas tienen disfunción moderada a grave según el cuestionario "Compass-31". Aunque se ha descrito que los pacientes con SCdL, aparte de un reflujo gastroesofágico, padecen alteraciones de la sudoración, y reacciones térmicas anormales, hasta ahora el grado de disfunción del sistema nervioso periférico no ha sido evaluado. El objetivo de este trabajo fue estudiar la disfunción del SN autónomo en el SCdL. Mediante técnicas no neurofisiológicas estudiamos la fibra nerviosa periférica gruesa y fina en 50 pacientes y 50 controles. La aplicación del llamado "test sudomotor", que mide la densidad y función de glándulas sudoríparas en la piel, muestra un porcentaje elevado de individuos con alteración del SN simpático. Sorprendentemente, esta afectación parece guardar más relación con la edad del paciente que con la gravedad de su enfermedad. Todo ello, junto con otras disfunciones, parece apoyar la hipótesis de un envejecimiento o deterioro físico acelerado en pacientes con SCdL.

framos@unizar.es

012 Delineating the neurological phenotype in children with ECHS1 and HIBCH genetic defects

Marti-Sanchez, L; Baide-Mairena, H*; Marcé-Grau, A; Pons, R; López-Lazo, E; Sigatullina, M; Rizzo, C; Semeraro, M; Martinelli, D; Carozzo, R; Dionisi-Vici, C; González-Gutiérrez-Solana, L; Correa-Vela, M; Ortigoza-Escobar, JD; Sánchez-Montañez, A; Vazquez, E; Delgado, I; Aguilera-Albesa, S; Yoldi, ME; Ribes, A; Pollini, L; Galosi, S; Leuzzi, V; Pérez-Gay, L; Aldamiz-Echavarría, L; Del Toro, M; Arranz, A; Roelens, F; Urreizti, R; Artuch, R; Macaya, A; Pérez-Dueñas, B*

**Ambos autores han contribuido por igual.*

Grupo CIBERER: GCV09 Servicio de Neurología Infantil / Errores Congénitos del Metabolismo, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Institut de Recerca Vall d'Hebron (VHIR), Barcelona

Otros grupos: U703, U737, GCV06, GCV07

Introduction: The neurological phenotype of ECHS1 and HIBCH genetic defects is expanding and natural history studies and phenotype-genotype correlations are necessary to improve clinical management.

Methods: Forty-two patients with Leigh syndrome were studied by massive parallel sequencing and five patients were identified with HIBCH and ECHS1 mutations. Fourteen additional patients were recruited through collaborations from other centres. In total, we analyzed the neurological phenotype and genotype associations in 19 newly identified SCEH/HIBCH patients and in 70 previously reported cases.

Results: Seventeen patients developed Leigh Syndrome and two SCEH patients showed paroxysmal dystonia. Basal ganglia lesions, observed in 18/19 patients, associated small cysts in the putamen/pallidum in half of the cases, a characteristic hallmark for diagnosis. Eighteen pathogenic variants were identified, 11/18 were novel. In the whole cohort of 89 patients, we observed a longer survival in HIBCH compared to SCEH patients, and in HIBCH patients carrying homozygous mutations located on the protein surface compared to those with variants inside/near the catalytic region. The ECHS1 p.Ala173Val variant was associated with a milder form of paroxysmal dystonia triggered by increased energy demands. In a child harbouring p.Ala173Val and the novel ECHS1 p.Leu123Phe variant, an 83.6% reduction of SCEH protein was observed in fibroblasts, thus confirming a loss of function effect.

Conclusion: Leigh syndrome was the most prevalent phenotype in HIBCH and ECHS1 genetic defects, accounting for 21% of genetically confirmed LS cases. We identified genotype to phenotype correlations that may help predict outcome and improve management.

belen.perez@vhir.org

013 Haploinsuficiencia de la proteína FHR-5 del Complemento en 2 pacientes de Síndrome Hemolítico-Urémico y Glomerulonefritis Membranoproliferativa

Gómez Delgado, I; Gutiérrez-Tenorio, J; Fraga Rodríguez, G; Cavero, T; Arjona, E; Sánchez-Corral, P

Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Servicio de Alergia, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Otros grupos: U738

Las variantes genéticas del sistema del Complemento que alteran su regulación se asocian con diferentes enfermedades renales, entre las que se encuentran el Síndrome Hemolítico Urémico atípico (SHUa) y algunas Glomerulonefritis (GN).

Nuestro grupo ha contribuido a demostrar que la realización de estudios genéticos e inmunológicos del Complemento para identificar estas variantes patogénicas es muy útil para el pronóstico y el manejo clínico de los pacientes.

En este trabajo describimos un paciente pediátrico de SHUa y un paciente adulto de GN que tienen una variante del gen *CFHR5* (rs565457964) que genera una deficiencia parcial de la proteína *Factor H-Related Protein 5* (FHR-5) en plasma. El paciente de SHUa es un niño de 5 años que desarrolló la enfermedad cuando tenía 21 meses, durante el transcurso de una infección por *Streptococcus pneumoniae*, y que evolucionó favorablemente. El paciente de GN es un varón de 66 años con una larga historia de infección crónica por el virus de hepatitis C, y diagnóstico de glomerulonefritis membranoproliferativa a los 63 años; después de varios trasplantes hepáticos y un doble trasplante hepato-renal, el paciente permanece estable desde 2017, con terapia inmunosupresora estándar.

Estos hallazgos nos llevan a plantear que la haploinsuficiencia de la proteína FHR-5 puede aumentar la susceptibilidad a procesos infecciosos que resultan en diferentes fenotipos renales, y a recomendar el estudio del Complemento en los casos de SHUa asociados a infecciones por *S. pneumoniae*.

pilar.sanchez-corral@idipaz.es

014 Biallelic variants in SVBP cause centrosome instability leading to complex hereditary spastic paraplegia

Launay, N; Verdura, E; Espinosa-Alcantud, M; Fernandez Garcia de Enlate, G; Ondaro, J; Marsal, M; Schlüter, A; Ruiz, M; Fourcade, S; Vaquero, A; Lopez de Munain, A; Pujol, A

Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL -Hospital Duran i Reynals, Fundació IDIBELL, Barcelona

Reversible detyrosination of alpha-tubulin is crucial for organization of microtubules, and has been implicated in cancer and neuronal differentiation and physiology. Enzymes responsible for detyrosination have been identified as complexes of vasohibins (VASHs) with small VASH-binding protein (SVBP). Very recently, patients carrying biallelic loss of function mutations in SVBP were described, showing intellectual disability, microcephaly, ataxia and hypotonia. Here we report two families with multiple individuals harbouring a biallelic missense variant of SVBP (p.Leu49Pro). Affected individuals show spastic paraplegia, peripheral neuropathy, verbal apraxia and intellectual disability, broadening the previously reported phenotype. In vitro experiments in patient's fibroblasts demonstrate a significant loss of vasohibin detyrosination activity. Fibroblasts from patients and a Crispr/cas SVBP-KO model in HeLa cells exhibit microtubule dynamic instability, which results in centrosome defects, abnormal spindle structures, cytokinesis failure, chromosomal mis-segregation and genomic instability. We observe significant correlation between levels of no-diploid cells and senescence-associated features. Thus, we propose a model in which chromosomal instability (CIN) induced by deficiency of microtubules detyrosination, triggers senescence arrest, suggesting that neural cells deviating from diploidy undergo neurodegeneration via proteotoxic stress and secretion of Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP).

nlaunay@idibell.cat

015 Acquisition of sialic acid binding capacity by FHR-1 predispose to atypical Hemolytic Uremic Syndrome

Martin-Merintero, H; Pereda, A; Subías, M; Juana-Lopez, L; Fernandez, C; Gutierrez-Tenorio, J; Goicoechea de Jorge, E; Cañada, J; Rodríguez de Córdoba, S

Grupo CIBERER: U738 Patología Molecular y Genética del Complemento, Centro de Investigaciones Biológicas, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Factor H-related 1 (FHR-1) is thought to compete factor H (FH) promoting complement activation. This activity, referred to as FH de-regulation, is potentially harmful to host tissues. How this potential harm is prevented in normal conditions or it is exacerbated in FHR-1 pathogenic variants is not completely understood. Previously, we showed that exchanging the C-terminal regions between FHR-1 and FH predispose to atypical Hemolytic Uremic Syndrome (aHUS), suggesting the FH and FHR-1 regions interact differently with host cell-surfaces. Recently we identified a novel aHUS-associated FHR-1 (FHR-1290V). Data obtained from this mutant was compared with those obtained from FHR-1WT and the FHR-1290S, FHR-1296V and FHR-1290S,296V mutants. In hemolytic assays, we found that FHR-1290V, FHR-1290S and FHR-1290S,296V compete FH regulation, while FHR-1WT and FHR-1296V did not. All FHR-1 proteins bind equally to C3b, iC3b, C3dg and, interestingly, also to native C3. However, their different FH de-regulation capabilities cannot be explained considering only their affinity for the C3 molecules. Notably, binding of FHR-1290V, FHR-1290S and FHR-1290S,296V to C3-opsonized kidney glomeruli was sensitive to neuraminidase treatment and NMR experiments confirmed that FHR-1290V, FHR-1290S and FHR-1290S,296V, but not FHR-1WT or FHR-1296V, bind to sialic acids. Finally, we showed that FHR-1 mutants bound to C3-opsonized tissues promote complement activation. Our data advance understanding of the physiological role of FHR-1 and reveal why FHR-1 mutants predispose to aHUS. By acquiring sialic acid binding capacity, these FHR-1 mutants strongly bind to activated C3 fragments deposited in host cell-surfaces, where they attract native C3 to promote further complement activation.

hectormartin@cib.csic.es

016 CIBERER Biobank: plataforma al servicio de la investigación biomédica en Enfermedades Raras

Martí Pérez, S; Aguado Muñoz, C; Millán Salvador, JM; Pallardó Calatayud, FV

Grupo CIBERER: CIBERER Biobank, FISABIO-Salud Pública, Valencia

Otros grupos: U733, U755

El CIBERER Biobank tiene como misión potenciar la investigación traslacional en enfermedades raras (ER) constituyendo una plataforma de apoyo a la investigación que gestiona y ofrece muestras con un importante valor biológico para la investigación biomédica en ER, tanto por la alta calidad de estas muestras como por sus datos clínicos asociados.

Sin embargo, la labor del CIBERER Biobank no se limita al procesamiento, almacenamiento y cesión de muestras biológicas, de hecho, son numerosos los grupos CIBERER que solicitan servicios y colaboran activamente con el Biobanco. En este sentido, nos proponemos incrementar estas colaboraciones mediante la ampliación de servicios, la inclusión de colecciones CIBERER en nuestro catálogo para aumentar la visibilidad y potenciar la investigación en ER y también la colaboración con diferentes asociaciones de pacientes. Para ello, hemos iniciado una campaña de divulgación de nuestras actividades articulada en dos ámbitos los investigadores CIBERER y las asociaciones de pacientes con el fin de conocer sus inquietudes y necesidades y transmitir nuestras capacidades. Para contribuir a su sostenibilidad el CIBERER Biobank está consiguiendo financiación externa a través de los servicios y las cesiones de material biológico a grupos no CIBERER nacionales e internacionales y sobre todo por su participación en diferentes proyectos, como la captación de Fondos FEDER para la Incorporación de Innovación Tecnológica y Refuerzo de la Red Valenciana de Biobancos.

smarti@ciberer.es

Jueves 8:30 - 10:30

017 Estudio preclínico de la administración intracerebroventricular de TRIAC como potencial herramienta en el tratamiento del síndrome de Allan-Herndon-Dudley

Bárez-López, S*; Grijota-Martínez, C*; Liao, XH; Refetoff, S; Guadaño-Ferraz, A

**Ambos autores han contribuido por igual.*

Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

El síndrome de Allan-Herndon-Dudley (SAHD) es una enfermedad rara causada por mutaciones inactivantes en el transportador específico de hormonas tiroideas (HT) MCT8. Los pacientes sufren un hipertiroidismo periférico y graves alteraciones psicomotoras como resultado de un hipotiroidismo cerebral por un transporte deficiente de HT a través de las barreras cerebrales. Actualmente las terapias existentes están dirigidas al tratamiento del hipertiroidismo, sin embargo, no existe aún ninguna terapia efectiva dirigida a la mejora de los graves defectos neurológicos. El uso de análogos de HT que puedan acceder al cerebro mediante otros transportadores diferentes a MCT8 y realizar acciones tiromiméticas en las células diana podría ser una potencial herramienta terapéutica para este fin. En este trabajo hemos administrado directamente mediante infusión en el ventrículo cerebral ácido triyodotiroacético (TRIAC) en ratones deficientes de MCT8 con el objetivo de analizar si este análogo de HT es capaz de entrar en las células neurales y mediar acciones similares a la HT sin causar un hipermetabolismo en tejidos periféricos. A la dosis administrada, el tratamiento con TRIAC no empeoró el estado tiroideo de los animales tratados. Se detectó un incremento de TRIAC en la corteza cerebral, aunque dicho aumento no fue suficiente para inducir acciones mediadas por HT a nivel de expresión génica. Los resultados muestran que TRIAC es capaz de acceder al cerebro en ausencia de MCT8, pero serán necesarios más estudios para determinar las condiciones para que el TRIAC tenga acciones tiromiméticas en cerebro y abordar así su potencial uso terapéutico en el SAHD.

aguadano@iib.uam.es

018 β 2-adrenergic receptor as new therapeutic target for clear cell Renal Carcinoma Cells from von Hippel-Lindau disease

Cuesta, AM*; Albiñana, V*; Recio-Poveda, L; de Rojas-P, I; Botella, LM

**Ambos autores han contribuido por igual.*

Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Von Hippel-Lindau (VHL) is a rare cancer (1/36,000 births) where an autosomal dominantly inherited genetic disorder causes the lack of the VHL protein. Its absence allows the development of multisystemic tumors such as retinal and Central Nervous System hemangioblastomas (CNS-HB), clear cell renal cell carcinoma (ccRCC), and pheochromocytomas. The second case of death in VHL disease is ccRCC, comprises 75% of renal carcinomas (RCs) and bears the homozygous mutation of the VHL gene. VHL patients lack an effective treatment apart from surgery, meaning repeated retinal, surgeries and disability situations; therefore, new drugs are demanded.

Recently, the non-selective β 1-2-adrenergic receptor antagonist (ADRB1-2) Propranolol was designated as orphan drug for VHL. Additionally, we described that the specific ADRB2 antagonist ICI-118,551 improves Propranolol properties for CNS-HB. Since both ccRCCs and HBs are HIF-dependent, we wondered about the therapeutic applications of ADRB2 antagonists in VHL and RC.

Propranolol and ICI-118,551 caused cell viability impairment (apoptosis activation) and inhibition of HIF targets activation (nuclear internalization blockage) on VHL-related ccRCC primary cultures, and antitumoral properties in two different in vivo approaches. Furthermore, ccRCC patients showed a better outcome after Propranolol off-label systemic administration. These highly promising results suggest ADRB2 antagonist as useful therapeutic drugs to treat RCs.

cibluisa@cib.csic.es

O19 A drug repurposing strategy for the treatment of Charcot Marie Tooth disease

Nuevo-Tapióles, C; Robledo-Bérgamo, A; Sánchez-Garrido, B; Martínez-Valero, P; Cantarero, L; Hoenicka, J; Santacatterina, F; Pardo, B; Satrustegui, J; Palau, F; Cuezva, JM

Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Otros grupos: U732, U743

Drug repurposing is a strategy to overcome the costly and lengthy task of drug discovery. This alternative is especially relevant in the case of Rare Diseases (RD). Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is a RD and the most common inherited neuropathy lacking an effective therapy. Mutations in the *GDAP1* gene, encoding a mitochondrial outer membrane protein, cause CMT4A and CMT2K neuropathies. Reduction or absence of *GDAP1* is associated with abnormal mitochondrial dynamics, oxidative stress and changes in calcium homeostasis leading to OXPHOS dysfunction.

A screening of 1,018 FDA-approved compounds searching for activators of mitochondrial respiration rendered 137 drugs of which 87 had no effect on cellular viability of the SH-SY5Y neuroblastoma cell line. Seahorse technology revealed three compounds that significantly activated mitochondrial respiration of the SH-SY5Y-WT and *GDAP1*-KD (G4) cell lines. Florfenicol specifically activated mitochondrial respiration of dorsal root ganglion (DRG) neurons from WT and *Gdap1*^{-/-} mice. With the aim of testing the effect of florfenicol in vivo, 7 month-old *Gdap1*^{-/-} mice with motor deficiencies as assessed in the rotarod test, were treated with the drug during 1½ and 3 months. Unfortunately, no differences in rotarod performance were found in florfenicol-treated mice when compared to non-treated *Gdap1*^{-/-} mice, perhaps due to the advanced stage of the motor deficiencies originated in the CMT mouse model. Nowadays, *Gdap1*^{-/-} mice are being treated with florfenicol before development of CMT disease to test whether the improvement of mitochondrial respiration could delay the onset and progression of CMT disease.

Supported in part by grant CIBERER17-EERR-11

cnuevo@cbm.csic.es

O20 Metformin and salicylate synergistically activate AMPK and prevent polyglutamine toxicity in *Caenorhabditis elegans*

Gómez-Escribano, AP*; Bono-Yagüe, J*; Sequedo, MD; Hervás, D; Fornés-Ferrer, V; Torres-Sánchez, SC; Millán, JM; Vázquez-Manrique, RP

* Both authors contributed equally

Grupo CIBERER: U755 Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital la Fe, Valencia

Polyglutamine (polyQ)-related diseases, such as Huntington disease, triggers a toxic aggregation phenomenon that unbalances protein homeostasis. Hence, genes that modify polyQ aggregation are potential targets, that adequately manipulated, permit to lower polyQ toxicity. In this regard, AMP-activated protein kinase (AMPK), a master regulator of energy homeostasis in cells, is a good therapeutic target to treat polyQ toxicity. AMPK activity can be induced using a wide range of compounds. For example, metformin and salicylate activate AMPK through different mechanisms. However, these substances are pleiotropic and they can induce undesired effects. In this work, we show that using low doses of metformin/salicylate in *C. elegans* AMPK is synergistically activated, which in turn reduces polyQ aggregation in muscle cells, and reduces polyQ-induced neuronal impairment.

To investigate the mechanism of the metformin/salicylate-induced synergic activation of AMPK, we further study the role of its subunits in this response. AMPK is a heterotrimeric complex composed of catalytic ($\alpha 2$) and regulatory ($\beta 1$ / $\beta 2$ and γ) subunits. Using a combination of available alleles, and RNAi and CRISPR-engineered mutants we show that catalytic and regulatory subunits are required in muscle cells and neurons to respond to the pro-health span effect of these drugs. However, only $\alpha 2$ and $\beta 2$ subunits are involved to stimulate the profitable effect of the synergy produced by metformin/salicylate.

Finally, we show that inhibition of autophagy, by RNAi on *lgg-1/LC3* or chloroquine treatment, blocks completely the beneficial anti-polyQ toxicity effect of metformin/salicylate.

ana_pilar_gomez@iislafe.es

021 Crystal structure of human PMM2 enzyme as a model to evaluate missense variants amenable to be rescued using pharmacological chaperones

Briso-Montiano, A; Perez-Cerda, C; Gamez, A; Velázquez-Campoy, A; Rubio, V; Perez, B; Ramon-Maiques, S

Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Otros grupos: U739

Functional deficiencies of the enzyme phosphomannomutase 2 (PMM2) cause the most common congenital disorder of glycosylation (CDG), for which no treatment is available. Most of PMM2 loss-of-function missense variants affect the stability of the enzyme, and thus, PMM2-CDG is considered a conformational disease. Recently, we reported a proof-of-concept for the use of pharmacological chaperones (PC) to stabilize PMM2. Now, we are moving towards the chemical modification of the described PCs to improve their efficacy and efficiency. In this work, we aimed to determine the crystal structure of human PMM2 (hPMM2) to guide in the design of PCs, to understand the pathogenicity of missense variants and to get insight into the catalytic mechanism of this challenging enzyme. For this, we expressed, isolated and crystallized a recombinant construct of hPMM2 and determined the structure at 2.3 Å resolution both in presence and absence of the activator glucose-1,6-biphosphate (G16bP). The crystal structure reveals an asymmetric homodimer where only one of the subunits binds G16bP at the active site, a striking finding that was corroborated by isothermal titration calorimetry analysis. The structural data also confirm the importance of the chlorine and magnesium ions in maintaining the tertiary structure and in configuring the active site of PMM2. These models have been used to evaluate *in silico* pathogenic variants and the results have been correlated with data obtained from expression studies. In addition, the crystal structure has allowed to better understand the enzymatic mechanism of hPMM2 and to characterize more pathogenic variants described worldwide

a.briso-montiano@cbm.csic.es

022 Towards the lentiviral-mediated gene therapy for Glanzmann thrombasthenia

Palma-Barqueros, V; Mesa-Núñez, C; Damián, C; Bohdan, N; Modlích, U; Vicente, V; Bueren, JA; Lozano, ML; Almarza, E; Rivera, J

Grupo CIBERER: U765 Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia

Otros grupos: U710

Glanzmann thrombasthenia (GT) is an inherited autosomal recessive platelet disorder characterized by the lack of platelet aggregation due to absence or defective $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ integrin expression and/or function. GT is caused by molecular pathology in the genes encoding for αIIb or β3 glycoproteins (*ITGA2B* or *ITGB3* respectively). The disease is clinically heterogeneous but it can result in significant morbidity and life-threatening hemorrhages. Allogenic HSC transplantation represents the only curative treatment for patients with a severe GT-phenotype. However, transplant-related complications have limited its application in these patients. To investigate the feasibility of a gene therapy approach for GT based on the genetic correction of autologous HSCs, we have generated a self-inactivating lentiviral vector in which the *ITGB3* gene is driven by the human glycoprotein 6 promoter (hGP6.*ITGB3* LV), to induce a preferential expression of the therapeutic protein in the megakaryocytic lineage. To evaluate the efficacy of this LV to restore the function of GT cells, GT-like CD34⁺ cells were generated by disrupting the *ITGB3* gene, using two synthetic guide RNAs taking advantage of the CRISPR/Cas9 technology. Efficient mutations in *ITGB3* exon 3 were generated in nucleofected healthy donor CD34 cells which decreased the expression of both CD61 and CD41 up to 90% in CD34 cells differentiated towards the megakaryocytic lineage. The transduction of GT-like CD34 cells with the hGP6.*ITGB3* LV re-expressed CD61 and CD41 *in vitro* differentiated megakaryocytes, suggesting that the hGP6.*ITGB3* LV may enable the phenotypic correction of GT megakaryocytes, suggesting their applicability in the gene therapy of GT patients.

veronica_93@hotmail.es

O23 Lentiviral-mediated Phenotypic Correction of CD34+ Cells from RPS-19-deficient Diamond-Blackfan Anemia Patients

Gimenez, Y; Sanchez, R; Zorbas, C; Palacios, M; Ugalde, L; Alberquilla, O; Villanueva, M; Gálvez, E; Strullu, M; Segovia, JC; Río, P; CATALÁ, A; Beléndez, C; Lafontaine, DLJ; Leblanc, T; Sevilla, J; Bueren, J; Navarro, S

Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid

Otros grupos: GCV19, GCV17, GCV18

Allogenic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) currently represents the only curative treatment for the bone marrow failure (BMF) of DBA patients. Recent observations of DBA mosaic patients show the proliferative advantage of naturally reverted hematopoietic stem cells (HSCs), suggesting that gene therapy (GT) could constitute a relevant therapeutic strategy as recently shown in other BMF syndromes such as Fanconi anemia (FA). Aiming at developing a gene therapy approach for RPS19 deficient patients, we have investigated the HSC content in their BM. Compared to FA patients, significantly higher numbers of CD34+ cells were observed in the BM of age-matched DBA patients, suggesting that collection of HSCs should not constitute a limitation in DBA gene therapy. With the aim of correcting the phenotype of RPS19 deficient HSCs, clinically applicable lentiviral vectors (LV) carrying a codon-optimized version of RPS19 driven by the PGK or the EF1a promoters, were constructed. Studies in K562 cells interfered with anti-RPS19 LVs showed that complementation with either therapeutic LV restored the expression of RPS19 and reverted the ribosomal biogenesis. Transduction of primary CD34+ cells from RPS19 deficient patients with therapeutic LVs increased the number of hematopoietic colonies as compared to the control group that was transduced with a non-therapeutic EGFP-LV. Moreover, therapeutic LVs reverted the red blood cell differentiation defect characteristic of DBA cells, and preserved the repopulating potential of corrected HSC cells in immunodeficient NSG. Our preclinical studies support that gene therapy should constitute a suitable approach for the treatment of the BMF characteristic of DBA patients.

s.navarro@ciemat.es

O24 Cerebellar Astrocyte Transduction as Gene Therapy for Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts

Sánchez, A; García-Lareu, B; Puig, M; Prat, E; Ruberte, J; Chillón, M; Nunes, V; Bosch, A; Estévez, R

Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona

Otros grupos: U730

Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts (MLC) is a rare genetic disorder belonging to the group of vacuolating leukodystrophies. It is characterized by megalencephaly, loss of motor functions, epilepsy and mild mental decline. There is no therapy for MLC patients, only palliative treatment. We show here a preclinical gene therapy approach for MLC using the Mlc1 knock-out (KO) mouse. This animal model shows some of the characteristic features of MLC disease: megalencephaly and the presence of vacuoles in white matter of the cerebellum. AAVrh10 coding for MLC1 under the control of the GFAP promoter was injected in the cerebellar subarachnoid space of MLC KO and WT animals at 2 months of age, before the onset of the disease, as a preventive approach. We also tested a therapeutic strategy by injecting the animals at 5 months, once the histopathological symptoms are starting, or at 15 months, when they have progressed to a more severe pathology. MLC1 expression in the cerebellum restored GlialCAM and CIC-2 localization in the cell membrane of Bergmann's glia. More importantly, white matter myelin vacuolation, a hallmark of the disease, was extremely reduced in treated mice at all ages, and correlated with the amount of MLC1 in Bergmann's glia, confirming not only the preventive potential of this strategy but also its therapeutic capacity. In summary, here we provide the first therapeutic tool for patients affected with MLC. This work may have also implications to treat other diseases affecting motor function and ataxias.

restevez@ub.edu

O25 Reverse mosaicism is associated with improved outcomes in Fanconi anemia

Ramírez, MJ; Pujol, R; Minguillón, J; Bogliolo, M; Trujillo, JP; Casado, JA; Río, P; Navarro, S; Badell, I; Carrasco, E; Balmaña, J; Català, A; Sevilla, J; Beléndez, C; Argilés, B; López, M; Díaz de Heredia, C; Rao, G; Nicoletti, E; Schwartz, JD; Bueren, JA; Surrallés, J

Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona

Otros grupos: U710, GCV16, GCV17, GCV18, GCV19

Reverse genetic mosaicism has been described as natural gene therapy in FA patients. We aimed to investigate the long-term clinical evolution and survival of a cohort of mosaic FA patients. We selected as "T-cell mosaics" (mosaics in the lymphoid lineage) patients with less than 50% of aberrant T-cells in the DEB test in peripheral blood. We observed that the proportion of adult patients in the cohort of T-cell mosaic is higher than in the group of full FA patients. We also observed a later age of onset and a milder evolution of bone marrow failure in T-cell mosaics. Consequently, the mean age of T-cell mosaic patients at hematopoietic stem cell transplant (HSCT) was also older. On the other hand, mosaics FA patients were more affected with solid tumors, probably because they are older. In addition, data on MMC sensitivity of bone marrow progenitor cells allowed us to identify a sub-cohort of FA patients where the reversion was present in bone marrow progenitor cells ("pure mosaics"). Our data suggest that pure mosaic patients are older, have a lower percentage of aberrant cells, have a more stable hematology and less requirement of HSCT, and none of them developed leukemia or MDS. In conclusion, our data indicate that mosaicism, particularly in hematopoietic stem and progenitor cells, is a good prognostic factor in FA.

Translational/Clinical Applicability: FA mosaic patients are considered a model to predict the outcome of gene therapy, our data suggest that patients treated with gene therapy will have long-term clinical benefits.

mariajose.ramirez@uab.es

O26 Cambiando el paradigma de investigación en enfermedades raras con modelos mecanísticos de pathways e inteligencia artificial

Peña-Chilet, M; Esteban-Medina, M; Marti, M; Pérez-Gutiérrez, A; Loucera, C; Dopazo J

Grupo CIBERER: U715 Area de Bioinformática, Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla

Otros grupos: U702, U735, U745, U714, U755, U756, U760, U704, U718

Los pathways son mapas que representan gráficamente las posibles formas en las que los genes interaccionan dentro de la célula determinando su comportamiento. Su modelización produce una representación dinámica del estado funcional de la célula en las condiciones medidas que permite relacionar datos ómicos con el comportamiento celular, predecir efectos de perturbaciones, etc., y constituyen el aspecto más avanzado de la biología de sistemas. Sin embargo, el conocimiento de los mecanismos moleculares que gobiernan el comportamiento de la célula es aún incompleto. Afortunadamente, las metodologías de inteligencia artificial permiten aprender de los propios datos genómicos disponibles relaciones aún desconocidas que pueden ser usadas para extender dichos mapas a conveniencia. Por ello, desde nuestra unidad, estamos explorando aproximaciones generales de la modelización mecanística y la inteligencia artificial que puedan ser usadas para ampliar el conocimiento sobre las enfermedades raras (ERs) rompiendo el esquema convencional de estudiarlas individualmente. Se comentan tres aplicaciones de esta aproximación generalista: i) un proyecto ACCI en el que participan 10 grupos del CIBERER (ACCI2018/29), que es una prueba de concepto de una aproximación semi-automática a la propuesta de reutilización de fármacos en ERs (PMID:31266445), ii) un sistema para evaluar el impacto real de una mutación de pérdida de función dentro del contexto en el que esta se produce, definiendo con mayor precisión la significación real de una VUS (PMID:31831811), y iii) El reanálisis de 107 exomas de la cohorte EnoD que, a pesar de la heterogeneidad en genes afectados, ha revelado funciones celulares comunes afectadas como Neurogénesis.

joaquin.dopazo@juntadeandalucia.es

Mesa redonda, jueves 11:00 - 14:00

027 Hematopoietic Stem and Progenitor Cell (HSPC)-Based Gene Therapy (GT) for Mucopolysaccharidosis type I Hurler (MPS-IH): Preliminary Results from a Phase I/II Trial

Gentner, B; Bernardo, ME; Tuccia, F; Fumagalli, F; Parinic, R; la Marcad, G; Miglietta, S; Zonaria, E; Rovell, A; Silvanib, P; Pontesillib, S; Montinia, E; Naldinia, L; Aiutia, A

San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy, Milán (Italia)

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the current standard of care for patients with MPS-IH, a metabolic disorder caused by deficiency of alpha-L-iduronidase (IDUA), leading to impaired breakdown of glycosaminoglycans (GAG). While HSCT can slow disease progression in MPS-IH, substantial residual disease burden can remain, especially on the skeleton and central nervous system (CNS). We are conducting a phase I/II clinical study (NCT03488394) to test the feasibility, safety, and efficacy of gene therapy (GT) for the treatment of MPS-IH. GT consists of autologous CD34+ HSPCs transduced ex vivo with a lentiviral vector coding for the IDUA gene and infused after myeloablative conditioning. A total of 8 patients have been treated at the San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy in Milan. Patients showed rapid hematological recovery and engraftment of gene-corrected cells. The preliminary results from our phase I/II study in patients with MPS-IH treated with ex vivo gene therapy suggests supraphysiological IDUA activity and substrate reduction. Orchard Therapeutics acquired the license for MPS-IH GT (OTL-203) in May 2019.

gentner.bernhard@hsr.it

028 Translational Gene Therapy Approaches to treat Mucopolysaccharidosis

Bosch, F

CIBERDEM, Centro de Biotecnología Animal y Terapia Génica, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona

Mucopolysaccharidosis Type II (MPSII), Hunter Syndrome, and Type III (MPSIII-D), Sanfilippo Syndrome, comprises 5 autosomal recessive disorders caused by mutations in genes that encode for enzymes involved in the stepwise degradation of glycosaminoglycans (GAGs). Accumulation of GAGs in lysosomes leads to lysosomal pathology, and affected patients undergo severe neurodegeneration with mild somatic disease, and usually die during adolescence. There is no cure and MPS diseases constitute an unmet medical need. This presentation will discuss the potentiality of intracerebrospinal fluid adeno-associated viral (AAV) vector-mediated gene therapy to counteract neurologic and somatic MPS. Using this approach to treat for MPSII and MPSIII, expression of the different therapeutic genes was detected in widespread brain regions and in the liver, leading to increased enzyme activity in CNS and serum and simultaneous correction of both central and somatic disease. The results of these studies provide strong evidence supporting the clinical translation of the approach not only for MPS but also for other genetic diseases that course with neurodegeneration.

Fatima.Bosch@uab.cat

029 Update on Genetic Therapies for Inherited Retinal Diseases

Michaelides, Michel

Department of Genetics, University College London, Londres (Reino Unido)

Inherited Retinal Diseases are the second commonest cause of childhood blindness, and the commonest cause in working age adults (UK). They are clinically and genetically highly heterogeneous; arguably the most variable of any group of conditions in Medicine.

There have been major developments in terms of underlying molecular genetics, genetic testing, understanding of disease mechanisms, high-resolution retinal imaging, models of disease, avenues of intervention, and moreover an exponential increase in Phase I/II and III clinical trials. There is now the first FDA and EMA approved gene therapy - for LCA-RPE65, with other therapies likely to be approved in the near future.

This lecture will update on the broad range of clinical trials of genetic therapies that are on-going and anticipated.

michel.michaelides@ucl.ac.uk

O30 AAV-GCDH gene therapy in a preclinical model of glutaric aciduria type I

Mateu-Bosch, A; Gea-Sorlí, S; García-Villoria, J; Luna, J; Teixidó, L; Ribes, A; Fillat, C

Grupo CIBERER: U716 Genes y Enfermedad, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona

Otros grupos: U737

Glutaric aciduria type I (GA-I) is a rare metabolic inherited disorder in the catabolic pathways of lysine, hydroxylysine and tryptophan. It is caused by the deficiency of glutaryl-CoA dehydrogenase (GCDH). The enzymatic defect results in the accumulation of glutarate, hydroxyglutarate and glutarylcarnitine in tissues and body fluids. GA-I patients are treated by dietary lysine restriction and carnitine supplementation. Unfortunately, one-third of affected children do not respond to therapy and experience irreversible brain damage. We have approached a gene therapy strategy for GA-I, based on the in vivo gene transfer of an AAV-GCDH virus. Preclinical studies in the *Gcdh*^{-/-} mouse model of the disease have been conducted and the results of AAV-GCDH treatment in adult and newborn mice will be presented.

cfillat@clinic.cat

O31 AAV-based gene therapy for the treatment of the hemophilias

Anguela, X

Center for Cellular and Molecular Therapeutics. The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia (E.E.U.U)

Gene therapies are gaining momentum as promising early successes in clinical studies accumulate and examples of regulatory approval for licensing increase. Liver-targeted AAV-based gene therapy for the treatment of hemophilia B—and more recently for hemophilia A—has been at the forefront of the research efforts that have forged the field as it currently stands. From initial setbacks in the form of unanticipated immune reactions to becoming the epitome of a new biotechnological boom in industry, this talk will summarize the journey that started almost 20 years ago with the initiation of clinical investigation. This journey is bound to achieve a remarkable milestone in the upcoming months with the expected approval of the first AAV drug for the treatment of hemophilia.

xavierman@gamil.com

O32 Advances in the Gene Therapy of Patients with Fanconi Anemia

Bueren, J

Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid

In collaboration with the Spanish Network on Fanconi anemia, which includes Hospital del Niño Jesús and Vall d'Hebron, we have opened a Phase I/II gene therapy trial in FA-A patients using lentiviral vectors as vehicles for the delivery of FANCA into mobilized hematopoietic stem cells (HSCs). In this clinical trial mobilized CD34⁺ cells were transduced for a short period of time (20-24h) with the PGK-FANCA.Wpre* lentiviral vector developed by our laboratory. Transduced CD34⁺ cells were then infused into patients in the absence of any pre-conditioning treatment. We have recently shown the first evidence showing successful engraftment of gene corrected cells in the first four treated patients that were followed for at least 18 months post-infusion (Rio et al Nat Med 2019). Currently we have concluded the recruitment of this phase I/II trial with a total of nine patients. Procedure-related adverse events were mild and were resolved completely at the time of analysis. A progressive engraftment of corrected cells has confirmed in the first four treated patients after 24-36 months post-infusion. This observation was associated with progressive increases in the resistance of bone marrow progenitor cells to the genotoxic agent mitomycin-C, and also with progressive decreases in the proportion of peripheral blood T lymphocytes with diepoxybutane-induced chromosomal breaks. Additionally, stabilized peripheral blood cell counts have been observed in patients with higher levels of gene corrected cells. Our results suggest that the infusion of corrected HSCs in non-conditioned FA patients will facilitate stabilization or prevention of FA-related bone marrow failure. A Phase II clinical trial has been recently opened under the sponsorship of Rocket Pharmaceuticals.

juan.bueren@ciemat.es

Presentaciones nuevos grupos, jueves 15:15 - 16:45

033 Biomarcadores epigenómicos en tumores medulares de tiroides y adenomas hipofisarios

Urduñigo, RG; Rodríguez-Rodero, S; Morales, P; Fernández, AF; Menéndez-Torre, E; Delgado-Álvarez, E; Fraga, MF

Grupo CIBERER: U766 Centro de Investigación en Nanomateriales y Nanotecnología, CSIC, Asturias

Apenas existen en la actualidad perfiles epigenómicos completos en tumores de baja prevalencia. Entre estos tipos tumorales se encuentran algunos subtipos de tumores tiroideos. La aportación de nuestro laboratorio al conocimiento de este tipo de cáncer incluye la caracterización de los patrones de metilación de distintos subtipos de cáncer de tiroides así como un ambicioso proyecto, vigente en la actualidad, que busca la identificación de biomarcadores moleculares en PAAF de adenoma y carcinoma folicular de tiroides que eviten cirugías innecesarias en este tipo de pacientes.

Teniendo en cuenta la experiencia de los miembros del CIBERER en el estudio de alteraciones del sistema endocrino, hemos planteado una propuesta de investigación capaz de complementar el conocimiento generado por los integrantes del consorcio para avanzar en el entendimiento de los factores que desencadenan este tipo de anomalías, en particular aquellas relacionadas con el cáncer medular de tiroides y el adenoma hipofisario.

Con la irrupción de las nuevas tecnologías basadas en técnicas de secuenciación de segunda generación (NGS) y el lanzamiento de los arrays de metilación de alta capacidad (plataforma HumanMethylationEPIC de Illumina), las posibilidades de identificar regiones funcionales relacionadas con el proceso tumoral han aumentado de manera considerable. Nuestra propuesta tiene como finalidad la disección de cada una de las capas de regulación génica para caracterizar, a una escala sin precedentes, las alteraciones moleculares que suceden en este tipo de tumores del sistema endocrino, con el fin de desarrollar herramientas y establecer colaboraciones que puedan ser de utilidad para los integrantes del CIBERER.

mffraga@cinn.es

034 Líneas de investigación de la Unidad 767

López Granados, E

Grupo CIBERER: U767 Instituto de Investigación Hospital La Paz, Madrid

Nuestro grupo trata de definir las bases moleculares de las Inmunodeficiencias Primarias (IDPs) que afectan a diversas células del sistema inmunológico, incrementando el riesgo de sufrir infecciones, complicaciones autoinmunes e incluso cáncer.

Nuestro enfoque es multidisciplinar desde un punto de vista clínico, anatómico, genético, epigenético y funcional. Nuestro objetivo es entender mejor estas enfermedades de baja prevalencia, correlacionando datos clínicos y experimentales y sentar las bases para el uso de nuevos tratamientos más efectivos o mediante el reposicionamiento de fármacos.

Aprovechando el conocimiento y los recursos desarrollados para analizar el sistema inmunológico en IDPs, estamos desarrollando nuevos esquemas para la monitorización inmunológica en pacientes trasplantados, para estimar mejor la inmunosupresión y la tolerancia. Así como la detección temprana de complicaciones graves como infecciones y rechazo.

elgranados@salud.madrid.org

035 Modelos de pez cebra para el estudio funcional y desarrollo de terapias de enfermedades raras

García-Moreno, D; Pérez Oliva AB; Cayuela, ML; Mulero, V

Grupo CIBERER: U768 Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Biología UMU, Universidad de Murcia, Murcia

Nuestro grupo de investigación pretende aportar al CIBERER un modelo único, el pez cebra, que permite de forma rápida y barata la identificación de las mutaciones patogénicas causantes de enfermedades raras y la identificación in vivo de tratamientos eficaces y personalizados. El modelo preclínico del pez cebra constituye una plataforma ideal para conocer el significado biológico de nuevas variantes en los genes, así como en la búsqueda de medicamentos huérfanos mediante la reversión de un fenotipo concreto, tal como ha quedado demostrado en diferentes enfermedades raras. El proyecto que presentamos para incorporarnos al CIBERER consta de tres ejes fundamentales:

1. Desarrollo de modelos preclínicos de pez cebra para el estudio del papel del componente RNA de la telomerasa (TERC) en la disqueratosis congénita.
2. Desarrollo de modelos preclínicos en pez cebra para el estudio de una interferonopatía causada por variantes patogénicas no descritas hasta la fecha.
3. Desarrollo de modelos preclínicos para los grupos del CIBERER, especialmente relacionadas con inflamación, autoinmunidad, hematopoyesis, envejecimiento prematuro y cáncer.

Por tanto, el valor añadido es claro, ya que este modelo no se encuentra en CIBERER y sus ventajas lo hacen único para la identificación de las variantes patogénicas responsables de ER y la búsqueda de nuevos fármacos mediante escrutinio a gran escala.

vmulero@um.es

036 The EMT beyond cell migration: Snail in the control of bone length

Vega, S; Lopez-Blau, C; Nieto, MA

Grupo CIBERER: U769, Instituto de Neurociencias UMH-CSIC, Alicante

The epithelial to mesenchymal transition (EMT) was implemented and fixed in evolution for the formation of tissues which cells originate far from their final destination, endowing cells with migratory properties. Interestingly, the EMT is reactivated in several pathologies including the delamination of cancer cells from the primary tumor in their way to form metastasis. Although the triggering of EMT involves a handful of transcription factors (EMT-TFs), the complexity of the program is extremely high due to the activation of different combinations of them in different cell contexts leading to a new concept of EMT-TF code.

The EMT program in embryonic and cancer cells usually involves not only the transition from epithelial towards a mesenchymal migratory phenotype but also the activation of associated programs that contribute to the fitness of these migratory cells. These programs include invasion, control of cell proliferation, resistance to cell death and stem cell-like properties. However, cell context also impinges on the behavior of the responding cells and for instance, the reactivation of EMT during organ degeneration and fibrosis fails to activate the invasion subprogram. Thus, the question is how all the different subprograms are regulated and implemented in different cell contexts. We will present the role of the EMT-TF Snail in developing bones, a context in which the main subprogram implemented is the control of cell proliferation and differentiation, with putative key implications in treating achondroplasia, the most common form of human dwarfism.

anieto@umh.es

Viernes 8:30 - 10:00

037 Implementación de un panel de genes para el diagnóstico genético de la discinesia ciliar primaria

Fernández-Cancio, M; Baz-Redón, N; Rovira-Amigo, S; Paramonov, I; Castillo, S; Cols, M; Antolín, M; García Arumí, E; Torrent-Vernetta, A; de Mir Messa, I; Gartner, S; Iglesias, I; Caballero, A; Asensio, O; Vizmanos, G; Martín de Vicente, C; Martínez Colls, MM; Reula, A; Escribano, A; Dasí, F; Armengot-Carceller, M; Polverino, E; Amengual Pieras, E; Amaro, R; Garrido-Pontnou, M; Tizzano, E; Camats-Tarruella, N; Moreno-Galdó, A

Grupo CIBERER: U712 Crecimiento y Desarrollo, Institut de Recerca Vall d'Hebron - Hospital Universitari Vall d'Hebron, Fundació Hospital Universitario Vall d'Hebron - Institut de Recerca (VHIR), Barcelona

Otros grupos: U701

Introducción. La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad autosómica recesiva rara (1/15.000) caracterizada por una alteración en la estructura y función ciliar que impide el correcto aclaramiento de las secreciones respiratorias. El diagnóstico es complejo y se basa en una combinación de técnicas. El objetivo de este estudio fue diseñar un panel de genes incluyendo todos los genes causantes de DCP conocidos hasta el momento, y comprobar su utilidad diagnóstica en una cohorte de pacientes españoles.

Métodos. Estudio transversal multicéntrico de pacientes afectados de DCP según los criterios de la European Respiratory Society. Diseño de un panel de genes para secuenciación masiva a partir de la tecnología de captura SeqCap EZ technology, incluyendo 44 genes relacionados con la DCP.

Resultados. Se incluyeron 79 pacientes de los que 53 presentaban un diagnóstico de DCP confirmado o muy probable. En 81,1% (43/53) de los pacientes con DCP se encontraron variantes candidatas en alguno de los genes del panel, con 51,2% (22/43) de homocigotos y 48,8% (21/43) de heterocigotos compuestos. Los genes causales más frecuentes fueron DNAH5 y CCDC39, en pacientes de origen caucásico, mientras que en los pacientes de origen no caucásico los genes causales más frecuentes fueron CCDC40, DNAI2 y RSPH4A.

Conclusiones. Los resultados de este estudio muestran que el diseño e implementación de un panel de genes a medida tiene un alto rendimiento diagnóstico genético de la DCP, lo que permite conocer mejor la afectación causal de estos pacientes y sentar las bases para futuros abordajes terapéuticos.

mfcancio75@gmail.com

038 Five new cases of syndromic intellectual disability due to KAT6A mutations: widening the molecular and clinical spectrum

Urreizti, R; López-Martín, E; Martínez-Monseny, A; Pujadas, M; Castilla-Vallmanya, L; Pérez-Jurado, LA; Serrano, M; Natera de Benito, D; Martínez-Delgado, B; Posada-de-la-Paz, M; Alonso, J; Marín-Reina, P; O'Callaghan, M; Grinberg, D; Bermejo-Sánchez, E; Balcells, S

Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid

Otros grupos: U720, U735, U703

Background: Pathogenic variants of the lysine acetyltransferase 6A or KAT6A gene are associated with a newly identified neurodevelopmental disorder characterized mainly by intellectual disability of variable severity and speech delay, hypotonia, and heart and eye malformations. Although loss of function (LoF) were initially reported as the only type of mutations causing this disorder, missense mutations involving serine residues have recently been associated with a form of the disorder without cardiac involvement.

Material and Methods: After deep phenotyping of the patients, genomic DNA from peripheral blood of probands and their parents was obtained at the respective institutions. Trio-based whole exome sequencing was performed to establish diagnoses. Also, the KAT6A splicing pattern of one patient was analyzed using mRNA from peripheral blood cells.

Results: In this study we present five new patients, four harbouring truncating mutations and one presenting a missense change (the only one not presenting cardiac anomalies). For this missense change [p.(Gly359Ser)], in silico tools predicted it to affect splicing. This was functionally tested in the patient's lymphocyte RNA, revealing a partial splicing effect for this allele that would lead to a frameshift and premature truncation.

Conclusions: An extensive revision of the phenotype of these five patients revealed high concordance with the 80 cases previously reported, including developmental and speech delay, feeding difficulties, hypotonia, a high bulbous nose, and recurrent infections. Other features present in some of these patients, such as cryptorchidism in males, syndactyly, and trigonocephaly, expand the clinical spectrum of this syndrome.

elopez@externos.isciii.es

039 A DM1 family with interruptions associated with atypical symptoms and late onset but not with a milder phenotype

Ballester-Lopez, A; Koehorst, E; Almendrote, M; Martínez-Piñero, A; Lucente, G; Linares-Pardo, I; Núñez-Manchón, J; Guanyabens, N; Cano, A; Lucia, A; Overend, G; Cumming, S; Monckton, DG; Casadevall, T; Isern, I; Sánchez-Ojanguren, J; Planas, A; Rodríguez-Palmero, A; Monlleó-Neila, L; Pintos-Morell, G; Ramos-Fransi, A; Coll-Cantí, J; Nogales-Gadea, G

Grupo CIBERER: GCV08 Servicio de Pediatría / Sección de Nefrología Pediátrica, Genética y Metabolismo, y Nutrición. Unidad de Enfermedades Raras, Hospital Universitario 'Germans Trias i Pujol', Instituto de Investigación "Germans Trias i Pujol" (IGTP), Barcelona

Carriage of interruptions in CTG repeats of the myotonic dystrophy protein kinase gene has been associated with a broad spectrum of myotonic dystrophy type 1 (DM1) phenotypes, mostly mild. However, the data available on interrupted DM1 patients and their phenotype are scarce. We studied 49 Spanish DM1 patients, whose clinical phenotype was evaluated in depth. Blood DNA was obtained and analyzed through triplet-primed polymerase chain reaction (PCR), long PCR-Southern blot, small pool PCR, Acil digestion, and sequencing. Five patients of our registry (10%), belonging to the same family, carried CCG interruptions at the 3'-end of the CTG expansion. Some of them presented atypical traits such as very late onset of symptoms (> 50 years) and a severe axial and proximal weakness requiring walking assistance. They also showed classic DM1 symptoms

including cardiac and respiratory dysfunction, which were severe in some of them. Sizes and interrupted allele patterns were determined, and we found a contraction and an expansion in two intergenerational transmissions. Our study contributes to the observation that DM1 patients carrying interruptions present with atypical clinical features that can make DM1 diagnosis difficult, with a later than expected age of onset and a previously unreported aging-related severe disease manifestation.

gnogales@igtp.cat

O40 Grupo de trabajo de Bioinformática: elaboración de recursos compartidos, metodologías de benchmarking y guías de buenas prácticas para el análisis de datos de NGS en diagnóstico clínico

Pérez-Flrido, J; Almoguera, B; Alvarez-Mora, M.I; Amigo, J; Antiñolo, G; Aquino, V; Ayuso, C. , Barros, F; Bravo, N; Carmona, R, Carracedo, A; Castejon-Fernandez, N; Castellano, G; Cortón, M; Docampo, J; Dopazo, J; Fernandez, G; González, L; Jabato, F; Iancu, IF; Lapunzina, P; López, D; López, M; Martín, MA; Maynou, J; Méndez, C; Milà, M; Mínguez, P; Moreno, MA; Morín, M; Palau, F; Peña-Chilet, M; Pérez, B; Pérez Jurado, L; Perkins, J; Pozo, A; Pujol, A; Ranea, J.A; Rodríguez-Santiago, B. , Rojano, E; Schlüter, A; Seoanes, P; Surrallés, J; Tajés, J.F; Morte, B

Grupo de trabajo de Bioinformática: U702,U704,U711,U715,U723,U726,U728,U732,U734,U735,U741,U745,U753,U759

El correcto procesamiento de los datos de NGS para la identificación, anotación y priorización de variantes tiene un impacto significativo en el diagnóstico. En ocasiones el análisis así como su interpretación no son completos, exhaustivos y/o precisos dada su complejidad.

Por este motivo, se creó el grupo de trabajo de Bioinformática/CIBERER (GdT) con el objetivo de compartir experiencias, metodologías y recursos en el contexto del análisis de datos de NGS para el diagnóstico junto con la visión de los clínicos. Actualmente, participan 14 unidades y el programa ENoD, definiendo varios subgrupos de trabajo: (i) Análisis primario. Identificación y anotación de variantes germinales (SNVs e indels); (ii) variantes estructurales (CNVs), (iii) Variantes en mosaico (puntual, estructural); (iv) variantes en sitios de splicing; (v) priorización de variantes en exoma; (vi) priorización en genoma y (vii) priorización en base a redes de asociación funcional.

Como primera aproximación, se han compartido pipelines de análisis, se han consensado y empleado metodologías de benchmarking para la comparación y evaluación de aquellos y se han elaborado guías de buenas prácticas. Adicionalmente, se han generado recursos compartidos para herramientas, datos, bibliografía, etc. Recientemente se ha iniciado una colaboración con la red TransBioNet (Translational Bioinformatics Network) en temas de estandarización y benchmarking con el empleo de la plataforma OpenEBench, proporcionando mayor visibilidad al GdT/CIBERER.

Conclusiones: Las guías generadas se compartirán y el GdT debe ser un foro permanente de actualización de metodologías y discusión al que están invitados a participar otras unidades interesadas.

bmorte@ciberer.es; javier.perez.florido.sspa@juntadeandalucia.es

O41 La relevancia funcional de los elementos reguladores de la expresión génica en las enfermedades raras

Fernández,A; Josa, S; Sánchez M; Montero, A; Guardia, A; Muñoz, D; Fernández,J; Cantero, M; Seruggia, D; Montoliu, L

Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Quienes nos dedicamos a diagnosticar las causas genéticas asociadas a la aparición de cualquier enfermedad rara, sabemos que no todos los pacientes que presentan manifestaciones clínicas compatibles con una determinada patología pueden ser diagnosticados, con certeza, como portadores de mutaciones en un determinado gen. Aproximadamente de un 20 a un 40% de pacientes de cualquier condición genética poco frecuente no logra ser diagnosticado al no poder identificarse uno o los dos alelos mutantes causantes de la enfermedad. Una posible explicación de esta incapacidad de diagnóstico puede estar relacionada con el hecho de no estar mirando en los genes correctos, que existan otros genes, no conocidos, causantes de esa enfermedad. Pero otra explicación, posiblemente más probable, es pensar que existen otras secuencias genómicas, más allá de las codificantes, que son igualmente importantes y que son esenciales para que un gen se exprese en un determinado tipo celular, a un determinado nivel y en un momento determinado del desarrollo o vida del organismo. Esto es lo que hemos intentado investigar en el locus de la tirosinasa (Tyr) del genoma de ratón, homólogo al gen TYR que, en humanos, sus mutaciones, son las causantes del albinismo oculo-cutáneo de tipo 1 (OCA1). En esta presentación revisaremos los experimentos realizados con ayuda de las herramientas CRISPR en ratones para dilucidar el papel de diversos elementos reguladores de Tyr y su implicación funcional. Gracias a la edición genética es ahora posible investigar el posible papel de los elementos reguladores en las patologías de origen genético.

afernandez@cnb.csic.es

042 Mutations in NDUFA8 as a novel cause of complex I deficiency

Tort, F; Ferrer-Cortès, X; Barredo, E; Parthasarathy, R; Ugarteburu, O; García-Villoria, J; Gort, L; Martín, MA; Fernández-Vizarra, E; Zeviani, M; Ribes A

Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona

Otros grupos: U723

BACKGROUND

Complex I (CI) deficiencies are among the most prevalent mitochondrial disorders. Here, we report a novel cause of CI deficiency due to mutations in NDUFA8, which encodes for a structural subunit of CI.

METHODS: Genetic analysis was performed by WES. Protein expression was determined by western-blot. OXPHOS assembly and in-gel-activity were analyzed by BN-PAGE. CI enzymatic activity (rotenone sensitive) was measured using a kinetic spectrophotometric assay. For the functional recovery studies fibroblasts were immortalized and a wild-type NDUFA8 cDNA was expressed by lentiviral transduction.

RESULTS: We report on two siblings from a consanguineous family presenting in the neonatal period with hypotonia, respiratory distress, failure to thrive, psychomotor retardation and lactic acidosis. Bi-allelic mutations in NDUFA8 (c.[293G>T];[293G>T],p.[Arg98Leu];[Arg98Leu]) were identified in both individuals. NDUFA8 protein expression was almost absent in the patients fibroblasts. In addition, there was a marked and specific decrease in the steady-state levels of CI subunits. BN-PAGE demonstrated and isolated defect in the assembly and the activity of CI with defective supercomplex formation and abnormal accumulation of CI subassemblies. Expression of wild-type NDUFA8 in immortalized fibroblasts from both siblings resulted in functional complementation, recovering CI protein levels and functionality.

DISCUSSION: We report for the first time pathogenic mutations in NDUFA8. Our results demonstrated that NDUFA8 is necessary for CI assembly and supercomplex formation. In addition, the identification of CI subassemblies in these patients supports the proposed role for NDUFA8 in the formation of the Q/Pp module during CI assembly.

FUNDING: ISCIII (PI16/01048; PI19/01310), CIBERER. Co-funded by ERDF.

ftort@ciberer.es

043 Variante patogénica en KLHL11 en seis individuos de una familia con liquen plano, alteraciones ungueales y cáncer. ¿Una nueva entidad con un nuevo gen?

Tenorio, J; Nevado, J; Fort, J; Feito, M; Martínez-Glez, V; de Lucas, R; Fernández, A; L. Ruiz Pérez,V; Montoliu, L; Palacín, M; Lapunzina, P

Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Otros grupos: 753, 731, 756, 760

El liquen plano (LP) es un trastorno inflamatorio crónico con afectación de la piel, mucosa oral y genital y cuero cabelludo. El LP se ha asociado con numerosas entidades sistémicas como el síndrome metabólico, diabetes mellitus, hipertensión, enfermedades tiroideas, psicósomáticas, hepática crónica y gastrointestinales.

Presentamos una familia de dos generaciones con 6 personas afectadas de LP en las que además se asocian alteraciones distróficas en las uñas y en 2 de ellos, cáncer de lengua y de otras localizaciones, con varios miembros fallecidos con cáncer. Los hallazgos clínicos segregan de padres a hijos afectados sugiriendo una herencia autosómica dominante. Se ha realizado estudio de exoma completo a personas afectadas y sanas de la familia, identificándose una variante en el gen KLHL11 que segrega perfectamente con los hallazgos clínicos. La variante no aparece en las bases de datos de población control consultadas gnomADexomas, gnomADgenomas, Kaviar, 1000G, ESP). No hay patologías o genotipos asociados a este gen al día de hoy.

El gen KLHL11 pertenece a la familia de genes tipo Kelch (KLHL) y codifica un grupo de proteínas que poseen un dominio BTB/POZ, un dominio BACK y cinco a seis motivos KELCH. La función completa de KLHL11 no se conoce, pero varias proteínas KLHL se unen a la E3 ligasa cullina3 que están involucradas en ubiquitinación. Los genes KLHL son responsables de enfermedades mendelianas y se han asociado con cáncer. Las proteínas de tipo KELCH suelen formar homodímeros, la variante detectada podría afectar a esta interacción entre los monómeros de KELCH.

plapunzina@ciberer.es

044 La infiltración grasa en los muslos se asocia con bajo rendimiento muscular en pacientes con síndrome de Cushing en remisión. Resultados preliminares del grupo de trabajo: "Diagnóstico de alteraciones musculares en pacientes con ER endocrino-metabólicas"

Martel, L; Alonso, A; Bascuñana, H; Díaz-Manera, J; Llauger, J; Nuñez-Peralta, C; Biagetti, B; Montesinos, P; M. Webb, SM; Valassi, E

Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología., Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, Barcelona

Otros grupos: U762

Introducción: La debilidad muscular persiste en pacientes con síndrome de Cushing (SC) tras la resolución del hiper-cortisolismo. No se conocen los mecanismos que determinan este deterioro sostenido. Hipotetizamos que la estructura del músculo está deteriorada por infiltración grasa y que esta se asocia con disfunción muscular en SC. **Materiales y métodos:** 36 mujeres y 36 controles emparejados por edad e IMC. Medimos el grado de infiltración grasa en los compartimentos musculares anterior, posterior y anterior posterior del muslo utilizando resonancia magnética con 2- punto Dixon. Realizamos estas pruebas de función y fuerza muscular: velocidad de la marcha (VM), "Timed up and go" (TUG), "30-second chair stand" y fuerza de agarre. **Resultados:** El porcentaje medio de grasa muscular en los compartimentos analizados estaba aumentado en los pacientes en comparación con los controles ($p < 0.05$). La VM y el desempeño en TUG como en "30-second chair stand" fue peor en los pacientes en comparación con los controles. La fracción media de grasa en todos los compartimentos se asoció con una VM más lenta y un rendimiento más bajo en TUG como en "30-second chair stand" sólo en pacientes ($p < 0.05$). La fracción media de grasa muscular en el compartimento posterior predijo la VM y el desempeño en el TUG en los pacientes, independientemente del estado menopáusico y de la masa muscular ($\beta -0.461$ y $\beta 0.626$, respectivamente; $p < 0.001$). **Conclusión:** La arquitectura muscular en los pacientes con SC en remisión está dañada debido a la infiltración grasa que podría afectar al rendimiento muscular.

EValassi@santpau.cat

Viernes 11:00 - 13:15

045 De la terapia a la prevención de enfermedades raras: nuevos escenarios

Tizzano, E

Área Genética Clínica y Molecular, Hospital Vall d'Hebron – Vall d'hebrón Institut de Recerca, Barcelona

El entorno de las enfermedades consideradas raras, de las cuales una amplia mayoría son de origen genético, implican actuaciones específicas que van más allá de la investigación básica como pueden ser el diagnóstico clínico y molecular preciso, su atención integral y multidisciplinar y la oportunidad de tratamiento y desarrollo de terapias específicas. Las enfermedades raras se ven supeditadas a que se pueda descubrir un medicamento huérfano que pueda ser eficaz ya sea para cambiar la trayectoria de la enfermedad una vez establecida o prevenirla de sus manifestaciones más graves. En el campo terapéutico, los conocimientos generados de las bases moleculares de muchas enfermedades genéticas están dando lugar a la investigación clínica de terapias avanzadas, ya sea en la modificación o reemplazo de los genes afectados, en la modulación del ARN o en el metabolismo y función de las proteínas correspondientes. Es así que estamos siendo testigos de cambios fundamentales cuando es posible tratar estas enfermedades. Entre ellos destaca la aparición de nuevos fenotipos, el establecimiento de nuevos parámetros de seguimiento, el diagnóstico precoz con la confirmación genética precisa y la intervención temprana de tratamiento de ser posible en período pre-sintomático. Es así que se está pasando de la prevención terciaria, tratar a los pacientes que manifiestan la enfermedad, a la prevención secundaria, es decir definir los pacientes en período presintomático para evitar el desarrollo de la misma administrando el tratamiento específico. Además de los beneficios para los pacientes y sus familias, el alto coste de este tipo de terapias implica un compromiso de la industria farmacéutica y de las autoridades sanitarias para que exista equidad y acceso a dichos tratamientos. En este escenario, la prevención primaria para detectar portadores de la población general está cobrando consideración por parte de los colectivos de salud, favorecida por los avances en secuenciación masiva, que permitirían detectar virtualmente a casi todos los portadores a riesgo de transmitir una enfermedad grave hereditaria. Este es un paso más, en el avance inminente de la aplicación del genoma en Salud Pública (Fondo de Investigaciones Sanitarias co-financiado con ERDF(Proyecto FIS PI18/000687).

etizzano@vhebron.net

O46 Systems biology and bioinformatics-based workflows applied to rare disease data

Perkins, JR; Seoane, P; Jabato, FM; Rojano, E; Díaz, E; Córdoba, J; García Moreno, A; Chagoyen, M; Gallego, D; Gámez, A Planas, L; Fourcade, S; Schluter, A; Puyol, A; Pérez, B; Pazos, F; Medina, MA; Ranea, JAG

*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga
Otros grupos: U759; U746*

The study of rare disease is made difficult by the complex phenotypic profiles of patients, which can result from a wide range of underlying genomic mutations. Moreover, the low frequency of each disease in the population makes it hard to obtain enough patients for sufficient statistical power in typical association studies.

To overcome this heterogeneity, one can combine data from distinct patients. To this end, the DECIPHER project contains phenotypic data, (Human Phenotype Ontology terms) and genomic data (copy number variation) for thousands of patients. Here we present multiple computational workflows for the analysis of genotype-phenotype data, based on multi-partite networks, for finding associations between phenotypes and building clusters based on their co-occurrence, and associating phenotypes with genomic regions, genes, and functional systems based on overlapping mutations between patients with similar phenotypes. We will explain these approaches and their potential use for patient diagnosis and understanding the mechanisms underlying their phenotypes. These were applied to DECIPHER data, but can be used with any patient cohort with appropriate data.

We also present workflows for the analysis of functional genomics data that could be applied to the analysis of gene expression data. These have been developed in collaboration with other CIBERER groups. They typically start with raw data from a sequencing machine, such as fastq files, and try to convert this into biologically relevant output, such as lists of genes that change in expression and biological functions related to the disease under study.

jimrperkins@gmail.com

O47 Presente y futuro del programa CIBERER de enfermedades raras sin diagnóstico genético (ENoD)

Morte, B; Moreno, E; Pérez-Florido, J; Dopazo, J, Pérez-Jurado LA

*Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona
Otros grupos: U715*

El programa ENoD constituye una acción transversal del CIBERER orientada a la consecución del diagnóstico genético preciso para casos clínicos no resueltos tras aplicar los protocolos disponibles en la clínica asistencial y descartadas las posibles causas conocidas. Aborda el descubrimiento de nuevas asociaciones genotipo-fenotipo. Está abierto a todas las enfermedades raras y a todos los grupos y hospitales nacionales. Dispone de una herramienta informática para recoger y compartir la información clínica/fenotípica mediante términos HPO y para cada caso ofrece consejo clínico genético de expertos en el área, reanálisis de datos genómicos previos y finalmente secuenciación de Exoma o Genoma completo (WES, WGS).

Actualmente recoge información de cerca de 360 casos, de los cuales 95 no cumplieron criterios de inclusión. El 75% son pacientes pediátricos con errores congénitos o de inicio temprano. Estos casos vienen remitidos de 23 centros por 40 clínicos/investigadores CIBERER. En la evaluación han colaborado 71 investigadores CIBERER. Se han realizado 135 reanálisis de exomas previos, y nuevos estudios (probando) 71 WES, 59 WGS y 4 transcriptoma. La tasa diagnóstica ronda el 24% (similar a otros programas de éste perfil) aunque posiblemente aumente pues muchos casos están todavía en estudio, validación de variantes o en Gene-Matcher.

Estamos colaborando con otros programas/proyectos diagnósticos y asociaciones de pacientes "No Diagnosticados".

Futuro: Para mejorar la tasa diagnóstica pretendemos maximizar el rendimiento de los datos genómicos generados, optimizando algoritmos de análisis, combinando con estudios de epigenómica, estableciendo reanálisis periódicos y automáticos, fomentando la accesibilidad cruzada e intercambio de información de variantes con otros programas diagnósticos.

bmorte@ciberer.es; enod@ciberer.es

O48 Mosaic Finder: una herramienta para la detección y cuantificación de alelos muy poco frecuentes

Morín Rodríguez, M; Fernández, V; Fernández Peñalver, S; Fernández, A; Quintana-Bustamante, O; Fañanas Baquero, S; Bogliolo, M; Rodríguez-de la Rosa, L; Surrallés, J; Varela-Nieto, I; Segovia, JC; Montoliu, L; Moreno-Pelayo, MA

Grupo CIBERER: U728 Servicio de Genética, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Otros grupos: U756, U710, U745, U761

La detección de variantes genéticas alélicas presentes en bajas frecuencias es de enorme importancia en el pronóstico, diagnóstico y evolución de pacientes con algunas enfermedades raras y en muchos estudios de investigación. En el momento actual, la detección de dichas variantes es altamente ineficiente debido a que las técnicas clásicas empleadas (clonación-secuenciación Sanger) muestran baja sensibilidad, de modo que no permiten la detección de alelos minoritarios que no presenten una fracción alélica mayor del 5-10%. Como resultado de esta acción intramural hemos diseñado un método basado en NGS que asociado a una herramienta bioinformática diseñada in house (Mosaic Finder) permite la clasificación/cuantificación alélica para la detección de todos los alelos minoritarios (particularmente la fracción alélica menor del 2%). En el presente trabajo mostramos los resultados de validación de esta herramienta, en base al análisis realizado en diferentes experimentos de secuenciación de: a) ratones fundadores avatar modelos de hipoacusia hereditaria (KITLG) y de albinismo (OCA); b) muestras de pacientes corregidos mediante edición génica de Deficiencia en Piruvato Quinasa (PKD); c) modelos celulares de mutaciones humanas en el gen IGF1 (factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1) editados mediante CRISPR; y d) modelos celulares de albinismo editados genéticamente mediante CRISPR usando como vehículo nanopartículas. Todo ello nos ha permitido corroborar que Mosaic Finder es una herramienta eficaz en la detección y cuantificación precisa de alelos muy minoritarios, tanto de cambios puntuales (SNPs) como pequeñas inserciones/deleciones (in/dels).

mmorenop@salud.madrid.org

O49 Búsqueda de nuevos genes candidatos en enfermedades genéticas por medio de un algoritmo basado en biología de redes

de la Fuente Lorente, L; del Pozo, M; Ayuso, C; Mínguez, P

Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

La tasa de diagnósticos genéticos concluyentes en enfermedades raras se encuentra de forma global en torno al 50%. Algunas posibilidades de mejora implican afinar las técnicas implicadas y descubrir nuevas variantes causantes en lugares no asociados a una patología: genoma no codificante y nuevos genes. Dada la variabilidad del genoma humano, la búsqueda de nuevos genes ha de estar dirigida. El principio "guilty by association" asume que alteraciones en genes funcionalmente asociados pueden producir fenotipos similares. Si añadimos que genes con funciones similares están cercanos dentro del interactoma, los métodos de análisis de redes son aproximaciones comunmente exploradas para predecir nuevos genes candidatos. La limitación aquí son las funciones aún desconocidas de los genes. Nuestra propuesta trata de aumentar la capacidad predictiva de este tipo de algoritmos usando una gran diversidad de asociaciones funcionales entre genes que abarquen diferentes tipos de relaciones y una confianza variable. Usando 45 interactomas diferentes hemos entrenado un modelo de propagación de señal en redes utilizando caminos aleatorios para evaluar la capacidad predictiva de 14 áreas del conocimiento (interacción física, expresión, asociación en literatura y más) en más de 80 enfermedades genéticas. Aunque globalmente unos tipos de conocimiento son capaces de predecir mejor, los resultados por patologías muestran diferencias. Además observamos gran especificidad en los genes captados por algunas áreas de conocimiento. De la evaluación de las predicciones y su integración desarrollaremos un nuevo recurso de predicción de genes candidatos que podrá ser consultado por la comunidad científica e integrado en plataformas de diagnóstico.

pablo.minguez@quironsalud.es

O50 scoreInvHap: Inversion genotyping to understand germline and common diseases

Ruiz-Arenas, C; Cáceres, A; López-Sánchez, M; Tolosana, I; Pérez-Jurado, L; González, JR

Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona

Chromosomal inversions are structural variants consisting on an orientation change of a chromosome segment. Some human inversions have been identified as risk factors for common diseases as well as for having children with recurrent de novo rearrangements. For example, common inversions in 17q21.31 and 8p23.1 have been associated with prevalent mental disorders (neuroticism and schizophrenia) and heterozygous carriers have increased risk for offspring with 17q21.31 or 8p23.1 microdeletions. However, the overall contribution of inversions to germline and complex diseases is largely underdetermined as there are no high-throughput methods to call inversion-genotypes in large cohort studies.

We present scoreInvHap, a method to genotype inversions from SNP data, overcoming important limitations of current methods and outperforming them in accuracy and applicability. scoreInvHap calls individual inversion-genotypes from a similarity score to the SNPs of experimentally validated references. It can be used on different sources of SNP data and is easily adaptable to genotype new inversions. We present 20 human inversions that can be reliably genotyped with scoreInvHap to discover their role in complex human traits, and illustrate a first genome-wide association study of experimentally-validated human inversions. We also show how scoreInvHap can be applied to exome sequencing data, by replicating a previously found association between inversions at 8p23.1 and 17q21.31 and schizophrenia.

All in all, scoreInvHap can substantially contribute to increasing our knowledge of the role of chromosomal inversions in germline and complex diseases by re-analyzing genomic data from existing and prospective studies.

carlos.ruiz@isglobal.org

TALLERES

T1 Búsqueda de variantes patogénicas en enfermedades raras usando MMP

Área de Bioinformática Clínica (CBA), plataforma BiER

El auge de las tecnologías de secuenciación (NGS) ha permitido generar una gran cantidad de conocimiento en enfermedades raras, sin embargo, la cantidad de datos e información a analizar, y la especificidad de conocimientos requeridos, tanto técnicos como clínicos y genéticos, dificultan el diagnóstico, haciendo necesaria la automatización del proceso en la medida de lo posible y del uso de herramientas de asistencia al diagnóstico.

El Módulo de Medicina Personalizada (MMP) es una herramienta web de código abierto, de asistencia a la priorización de variantes asociadas a una enfermedad, de manera que se garantiza el control, privacidad y almacenaje de la información genómica y sus metadatos de una manera segura y escalable. MMP permite cargar un archivo VCF que contenga las variantes de un individuo o una cohorte de individuos y las anota empleando CellBase, una base de datos NoSQL que integra información sobre localización cromosómica, genes afectados, consecuencia del cambio, patogenicidad, conservación evolutiva de la posición, frecuencia poblacional de la variante y relevancia clínica. Una vez dispone de esa información, la herramienta permite filtrar por la información anotada, ayudando al usuario a determinar si un individuo afectado es portador de variantes patogénicas, facilitando el diagnóstico en enfermedades raras.

En este taller se enseñará el funcionamiento de esta herramienta, y se mostrarán dos ejemplos prácticos de priorización de variantes en enfermedades raras en las que se sigue todo el proceso hasta llegar a una variante diagnóstica candidata.

mariapch84@gmail.com

T2 Taller Human Phenotype Ontology (HPO)

Martínez González, V; Tenorio, J

Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

En el momento actual de la era genómica el fenotipado cuidadoso y exhaustivo de los pacientes con enfermedades raras de base genética es más importante que nunca tanto para hablar el mismo idioma y compartir datos explotables entre la comunidad biosanitaria, como para interpretar los resultados de los datos genómicos (VOUS, patogenicidad, etc.). Para ello, los términos HPO estandarizan los datos fenotípicos convirtiéndolos en una herramienta imprescindible para su posterior uso normalizado e informatizado. En este taller explicaremos los términos HPO, sus ventajas y desventajas, y realizaremos ejemplos prácticos de su uso con diferentes herramientas disponibles para discriminar variantes en NGS y llegar a un diagnóstico.

v.martz.glez@gmail.com; jairantonio.tenorio@salud.madrid.org

PÓSTERES

P1 Servicio de Cromatografía Líquida

Rodríguez Aguilera, JC; Cortés Rodríguez, A

Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla

Las actuales limitaciones de recursos económicos y de personal asociado a proyectos, sumado a la extraordinaria diversidad tecnológica altamente especializada, hace necesario recurrir a colaboraciones dentro y fuera de nuestra institución.

El grupo U729, a través del Servicio Central de Apoyo a la Investigación de la Universidad Pablo de Olavide, ofrece desde 2008 un Servicio de Cromatografía Líquida para prestar soporte de conocimiento y apoyo técnico. El servicio está abierto a grupos de investigación, sin restricción alguna, ni requisitos de existencia previa de proyectos investigación coordinados, convenios, programas intramurales...

El servicio cuenta con 5 sistemas completos de HPLC con detectores UV-Vis, electroquímicos, fluorescencia, radioactividad, light-scattering y MS, inyectoros automáticos para alto número de muestras, y personal laboral dedicado en exclusiva al mismo.

La cartera de servicios incluye el análisis de metabolitos comunes en muestras biológicas, con la interesante posibilidad de desarrollar métodos analíticos a demanda de los grupos solicitantes. De este modo, os evitamos la necesidad de conocer la tecnología, o buscar personal especializado para los proyectos.

El servicio se adapta a proyectos plurianuales, reservando con hasta 6 meses antelación los encargos de trabajo.

Más información en Servicio de Fisiopatología Celular y Bioenergética:

<https://www.upo.es/upotec/catalogo/salud/laboratorio-de-fisiologia-celular-y-bioenergetica/>

jcrodagu@upo.es

P2 CSVS la base de datos de variabilidad de la población española y el primer panel de imputación del genoma español

Peña-Chilet, M; Roldán, G; Perez-Florido, J; Ortuño, FM; Carmona, R; Aquino, V; Lopez, D; Gallego, A; García-García, F; Santoyo-Lopez, J; Ayuso, C; Minguez, P; Moreno, MA; Antiñolo, G; Amigo, J; Carracedo, A; Alonso, A; Dopazo, J

Grupo CIBERER: U715 Area de Bioinformática, Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla

Otros grupos: U702, U704, U711, U728, U732, U745, U746, U755

El conocimiento de la variabilidad genética de la población local es de enorme importancia en medicina personalizada y además es un factor crítico para el descubrimiento de nuevos genes y variantes de enfermedades raras. Presentamos la nueva versión de CSVS que ya contiene información genómica de unos 2000 individuos de background genético español y sin relaciones de parentesco, procedente tanto de exomas como de genomas, generados en proyectos genómicos locales (Medical Genome Project, NaGen), en proyectos del CIBERER (EnoD), además de aportaciones de distintos grupos en un innovador modelo de crowdsourcing. Las secuencias incluidas pasan un test de concordancia con el background genético de la población española y otro que garantiza que no tienen relación de parentesco con otra secuencia ya incluida en CSVS. Las secuencias se agrupan por categorías superiores de CIE10. Esto permite, para una enfermedad dada, interrogar a CSVS quitando el grupo CIE10 correspondiente a esta y obtener frecuencias alélicas de pseudo-controles sanos. Los datos genómicos de CSVS se han utilizado para construir el primer panel de imputación del genoma español (SGRP1.0), que hemos demostrado que imputa significativamente mejor que 1000 genomas. Además, CSVS es una parte clave del sistema de priorización MMP (módulo de medicina personalizada) usado en el SSPA para el diagnóstico de enfermedades raras, y del que se dispone de una versión piloto que funciona como un sistema federado que permite hacer consultas entre distintas instalaciones sin tener acceso directo a los datos genómicos, preservando así la privacidad de los pacientes en cada instalación.

joaquin.dopazo@juntadeandalucia.es

P3 Exploring miRNA-mRNA networks involved in rare disease

Seoane, P; Córdoba, J; Perkins, JR; Jabato, FM; Planas, L; Fourcade, S; Schluter, A; Gallego, D; Gámez, L; Romá-Mateo, R; García-Gimenez, JL; Medina, MA; Sanz, P; Pérez, B; Puyol, A; Ranea, JAG

Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga
Otros grupos: U746, U759, U742

The ever-decreasing cost of sequencing has made it easy for researchers to obtain the transcriptome and genome of a given sample. This is particularly useful for the study of genetic diseases, as it allows us to obtain data from patients and other disease-model organisms (*Mus musculus*, *Danio rerio*, etc).

By sequencing the genome, one can identify variants held by an individual and hypothesize their role in disease. However, by sequencing the transcriptome we can better understand the dynamics of gene expression in a given tissue and measure how it changes as a result of disease. This can involve multiple types of RNA, including messenger (mRNA) and non-coding (ncRNA). Most studies has focused on mRNAs, looking at many different types of tissues, however less attention has been given to microRNAs (miRNAs), which have shown to play an important role in regulating gene expression. There is growing interest in the expression of miRNAs alongside mRNAs, with the aim of uncovering the complex networks of interaction between them. Moreover, recent studies have shown miRNAs to be involved in a variety of diseases.

As such, we have developed a system for the analysis of miRNA expression, in collaboration with other clinical groups within CIBERER. The system involves the characterization of gene expression in patient samples and the role of miRNAs in their regulation, allowing us to identify potential regulatory miRNAs underlying disease.

seoanezonjic@uma.es

P4 La disminución de miR-335.5P en suero de pacientes con esclerosis lateral amiotrófica puede contribuir a la disfunción mitocondrial y apoptosis

de Luna, N; Turon-Sans, J; Cortes-Vicente, E; Carrasco-Rozas, A; Illán-Gala, I; Dols-Icardo, O; Clarimón, J, Lleó, A; Gallardo, E; Illa, I; Rojas-García, R

Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, Barcelona

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa en la que los mecanismos patofisiológicos de la pérdida de neurona motora no están bien definidos. Mecanismos ambientales y epigenéticos como los microRNAs (miRNAs) podrían tener un papel importante en la progresión de la enfermedad. Se estudió el patrón de expresión de miRNAs en suero de 60 pacientes con ELA y de 29 controles. En la línea celular SH-SY5Y se analizaron cómo los miRNAs anormalmente regulados afectan a procesos celulares como la apoptosis, la autofagia y la fisiología mitocondrial. Los niveles de miR-335-5p en pacientes con ELA se encontraron disminuidos comparado con los controles. La línea SH-SY5Y se transfectó con un inhibidor específico del miR-335-5p. Las células transfectadas presentaron morfología mitocondrial anómala, con un incremento de especies reactivas de oxígeno y de actividad superóxido dismutasa. Las caspasas pro-apoptóticas 3 y 7 presentaban un incremento de actividad en las células transfectadas. La disminución de la expresión de miR-335-5p, produce un efecto en la mitofagia y apoptosis en la línea neuronal SH-SY5Y y podría estar implicado en la pérdida de neurona motora observada en pacientes con ELA.

nluna@santpau.cat

P5 Identificación de miRNAs reguladores de rutas moleculares en modelos celulares de Ataxia de Friedreich

Ibañez-Cabellos, JS; Seco-Cervera, M; González-Rodríguez, D; González-Cabo, R; Pallardó Calatayud, FV; García-Giménez, JL

Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia, Valencia

La ataxia de Friedreich (FRDA; OMIM 229300) es una enfermedad rara, aunque dentro de las ataxias hereditarias es la más prevalente. Tiene debut en la infancia y presenta una degeneración espinocelebral, una neuropatía sensorial periférica, una patología cerebelar y vestibular y, finalmente, una disfunción piramidal. Otras enfermedades concomitantes descritas en pacientes de FRDA son la escoliosis, diabetes tipo II y cardiomiopatía hipertrófica. Esta última es la principal causa de muerte en pacientes de FRDA. La mayoría de pacientes de FRDA presentan una expansión inestable del tripéptido GAA en el primer intrón del gen, que codifica para la proteína frataxina y cuya expresión se

ve disminuida. La función de esta proteína no está clara, pero se ha visto implicada en metabolismo del hierro y en la biogénesis mitocondrial de los centros hierro-azufre.

Ferroptosis es una ruta de muerte celular regulada (MCR) que es distinta a niveles morfológicos, bioquímicos y genéticos de otros mecanismos de MCR. Se caracteriza por la acumulación, dependiente de hierro, de especies reactivas de oxígeno lipídicas que resultan letales.

En este estudio, hemos realizado una secuenciación de pequeños ARN para la identificación de microARNs en común en tres modelos celulares (Fibroblastos, SH-SY5Y deficientes en frataxina y células madre de mucosa olfativa). Tras esto validamos los microARNs comunes en estas tres líneas por RT-qPCR. Finalmente, evaluamos los niveles de ARN mensajeros dianas de estos microARNs, así como los niveles proteicos. Nuestro estudio destaca la importancia de la regulación de los microARNs en la fisiopatología de FRDA.

j.luis.garcia@uv.es

P6 Puesta a punto de un algoritmo molecular diagnóstico en pacientes con ELA y/o DFT

Borrego-Hernández, D; Martín-Hordaza Ríos, A; Herrero-Manso, M.C; Lucas-Gómez, B; Cordero-Vázquez, P; Villarejo-Galende, A; Llamas-Velasco, S; González-Sánchez, M; Herrero-Sanmartín, A; Juárez-Rufián, A; García-Salamero, G; Martín-Casanueva, MA; Esteban-Pérez, J; García-Redondo, A

Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

El diagnóstico genético de la esclerosis lateral amiotrófica y la demencia frontotemporal han quedado ligados a partir de dos eventos. En 2006, se identificó TDP-43 como el componente principal de las inclusiones citoplasmáticas ubiquitinadas en ambas patologías (Neumann et al., 2006); y en 2011, el descubrimiento de la expansión de la repetición GGGGCC en el intrón 1 de C9orf72 como principal causa en ambas enfermedades (Dejesus-Hernandez et al., 2011; Renton et al., 2011).

Desde entonces, la unión clínica, neuropatológica y genética se ha ido estrechando hasta el punto de considerarse un espectro patológico continuo (Robberecht and Philips, 2013). El cambio en el escenario del diagnóstico molecular gracias a la inclusión de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva ha provocado un enorme aumento de conocimiento en la genética de ambas (Marangi and Traynor, 2015; Lamp et al., 2018) provocando a su vez una mayor dificultad en el procesamiento de los datos y especialmente en su interpretación, siendo más necesario el asesoramiento al paciente a través de la formación de equipos de consejo genético.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de un algoritmo molecular diagnóstico que incluya las prioridades en el análisis genético ante la llegada de nuevos pacientes y las técnicas necesarias para llevar a cabo un diagnóstico costo-eficiente.

mito@h12o.es

P7 Inactivación del cromosoma X específica de alelo en pacientes con síndrome de Rett

Xiol, C; Vidal, S; Pascual-Alonso, A; Brandi, N; Pacheco, P; Pineda, M; Armstrong, J

Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Fundació para la Investigació y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona

El síndrome de Rett (RTT) es un trastorno neurológico que afecta principalmente a niñas y es la segunda causa más común de discapacidad intelectual severa en mujeres. Generalmente está causado por mutaciones en el gen MECP2, situado en el cromosoma X. Se especula si la inactivación del cromosoma X (ICX) tiene un papel en la gran variabilidad fenotípica de estas pacientes. Sin embargo, los métodos clásicos para evaluar la ICX solamente podían determinar si el patrón era sesgado o aleatorio, pero no si el cromosoma preferentemente inactivado era el que contenía el alelo salvaje o el mutado. Hemos desarrollado un ensayo específico de alelo para evaluar el estado de metilación de los loci de mutaciones recurrentes en MECP2 en muestras de sangre y córtex cerebral de pacientes RTT.

No se ha encontrado una correlación clara entre el patrón de ICX en sangre y la presentación clínica del RTT. Los resultados parecen indicar que hay diferencias en los patrones de ICX de sangre y córtex cerebral, lo cual podría explicar la falta de correlación dado que esta es una enfermedad neurológica. Aun así, los valores de expresión de MECP2 en tejido cerebral no coinciden con los esperados según el patrón de ICX. Esto nos hace pensar que, además de la ICX, muchos otros factores podrían influir en el fenotipo RTT, y podrían tener mucho más peso que las variaciones pequeñas en el patrón de ICX.

jarmstrong@sjdhospitalbarcelona.org

P8 Efficient application of next-generation sequencing for the diagnosis of neurodevelopmental diseases

Madrigal, I; Alvarez-Mora, MI; Tell-Martí, G; Puig, S; Rodríguez-Revenga, L

Grupo CIBERER: U726 Grupo de Investigación en Genética de Enfermedades Raras, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular del Hospital Clínico Barcelona, Barcelona

Neurodevelopmental diseases, which affect 1-3% of the general population, have highly heterogeneous causes and involve both genetic and environmental factors. Approximately in 50% of patients the genetic defect remains unknown. The application of next-generation sequencing is changing the nature of biomedical diagnosis. This technology has quickly become the method of choice for searching for pathogenic mutations in rare uncharacterized genetic diseases. In order to identify variants underlying disease phenotypes, we applied whole-exome or genome sequencing to 59 families with one or several members affected with intellectual disability. Identification of disease-causing mutations was achieved in 42% of studied families (25/59) who could receive a genetic diagnosis and genetic counselling. All identified genes had been previously related to ID although the 80% of the variants had not been previously described. Regarding the inheritance, 40% were autosomic dominant, 36% were X-linked, 20% were autosomic recessive and 4% were imprinting mutations. The accessibility to next-generation sequencing allows clinicians to save much time and cost in identifying the aetiology of rare diseases. The presented cases are excellent examples that demonstrate the efficacy of next-generation sequencing in rare disease diagnosis.

imadbajo@clinic.cat

P9 Explorando la contribución al TDAH de genes implicados en trastornos mendelianos (OMIM) con síntomas de hiperactividad y/o inatención

Fernández-Castillo, N; Cabana-Domínguez, J; Torrico, B; Cormand, B

Grupo CIBERER: U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona, Barcelona

El Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad (TDAH) tiene una heredabilidad del 76% y a menudo es comórbido con otras patologías psiquiátricas. A pesar de que la etiología del TDAH es poligénica, distintas enfermedades mendelianas raras presentan sintomatología típica del TDAH, como hiperactividad y/o inatención. Nuestra hipótesis postula que genes implicados en patologías mendelianas que incluyen síntomas de TDAH como parte de su espectro, podrían contribuir al TDAH multifactorial.

Hemos explorado en la base de datos OMIM buscando patologías mendelianas monogénicas que presentan sintomatología de hiperactividad y/o inatención y hemos identificado 139 genes implicados en 137 trastornos mendelianos. De estos, 91 también presentaban otra sintomatología psiquiátrica además de la hiperactividad y/o inatención, siendo el trastorno del espectro autista (TEA) y el comportamiento agresivo los más frecuentes (en 56 y 46 trastornos, respectivamente). Seis de los 139 genes mostraron asociación con TDAH en datos GWAS (10% FDR) y codifican proteínas implicadas en transcripción, acetilación de histonas o con función mitocondrial o lisosomal. Cabe destacar que algunas de estas variantes genéticas asociadas presentan correlación con alteraciones morfológicas en distintas regiones subcorticales previamente relacionadas con el TDAH.

Además, tres de los genes están asociados también a TEA (HIVEP2, FOXP1 y KANSL1), y a comportamiento agresivo (FOXP1) y ansiedad (HIVEP2). Este hallazgo es consistente con la sintomatología presente en los trastornos mendelianos relacionados con estos genes.

En conclusión, distintos genes identificados a partir de trastornos mendelianos parecen contribuir al TDAH y a distintas comorbilidades psiquiátricas. Esta aproximación podría usarse para otras patologías.

noefernandez@ub.edu

P10 Variantes heterocigotas en GLI1 son un hallazgo frecuente en Polidactilia Postaxial aislada tipo A o B

Palencia-Campos, A; Martínez-Fernández, ML; Altunoglu, U; Soto-Bielicka, P; Torres, A; Marín, P; Aller, E; Şentürk, L; Berköz, Ö; Yıldiran, M; Kayserili, H; Gil-Camarero, E; Colli-Lista, G; Sanchís-Calvo, A; Carretero, A; ECEMC Working Group on Polydactyly; Guillén-Navarro, E; López-González, V; Ballesta-Martínez, M; Rosell, J; Aglan, MS; Temtamy, S; Otaify, GA; Cuevas-Catalina, L; Torres-Saavedra, MN; Nevado, J; Tenorio, J; Lapunzina, P; Bermejo-Sánchez, E; Ruiz-Pérez, VL

Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Otros grupos: U753, U755, GCV01, GCV03

La Polidactilia Postaxial (PP) aislada es una malformación de las extremidades consistente únicamente en la duplicación del quinto dígito de manos y/o pies. Desde el punto de vista morfológico, la PP se clasifica en tipo A o B según el grado de desarrollo del dígito duplicado. En 2007, nuestro grupo, en colaboración con otros, identificó mutaciones bialélicas de pérdida de función en el factor de transcripción GLI1 en pacientes con PP-tipo A algunos de los cuales presentaban características sindrómicas adicionales. En ese mismo trabajo también reportamos dos individuos con PP aislada portadores de mutaciones heterocigotas en GLI1.

Aquí hemos investigado el grado de implicación de GLI1 en PP aislada, una enfermedad cuyo modo de herencia se considera autosómico dominante con penetrancia incompleta. Para ello, hemos analizado la región codificante de GLI1 en 95 pacientes independientes con diagnóstico clínico de PP aislada tipo A o B. Este estudio ha identificado variantes patogénicas en heterocigosis en GLI1 en el 11.57% de los individuos analizados. Las variantes detectadas originan codones de fin de mensaje prematuros, o resultan en cambios de aminoácidos situados en el dominio de unión al ADN de GLI1 que disminuyen la actividad transcripcional de esta proteína. Asimismo, la segregación familiar de las variantes identificadas resultó ser consistente con una herencia dominante con penetrancia incompleta. Este estudio indica que variantes heterocigotas en GLI1 están implicadas en una proporción significativa de casos de PP (A o B) aislada esporádicos o familiares.

vlruiz@iib.uam.es

P11 Identification of a GPCR network regulating GlialCAM/MLC1: implications in MLC

Alonso, M; Elorza-Vidal, X; Armand-Ugón, M; Castellanos, A; Pla, A; Ciruela, F; Nunes, V; Cohen-Salmon, M; Marazziti, D; Estévez, R

Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona

Otros grupos: U730

Estudios preliminares de nuestro grupo y otros han mostrado que GlialCAM/MLC1 regulan señalización intracelular que modifica la función entre otros de distintos canales iónicos como CIC-2 o VRAC. Hemos realizado un extenso trabajo de proteómica y screenings de Y2H (split-ubiquitin) lo que nos ha permitido encontrar un grupo de 4 GPCRS que interaccionan con GlialCAM y MLC1. Estudios in vitro han demostrado que la interacción se produce de forma directa. Centrándonos en 2 de estos GPCRS hemos podido determinar que pueden influir negativamente o positivamente sobre los niveles de GlialCAM y MLC1 en la membrana. Así, hipotetizamos que la señalización regulada por GlialCAM/MLC1 a través de estos GPCRS puede modular la respuesta glial ante incrementos de la actividad neuronal y otros procesos que tienen que ver en la relación neurona-glia.

malonsga@gmail.com

P12 Early sensory processing in anti-NMDAR encephalitis

Linares, D; Compte, A; Dalmau, J

Grupo CIBERER: U764 Servicio de Neurología, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona

Schizophrenia is a serious and prevalent disease clinically characterized by positive, negative and cognitive symptoms. The disease causes also very specific alterations in early sensory processing. The pathophysiology of the disease is unclear. One current hypothesis is that the disease is associated to a hypofunction of the glutamatergic NMDA receptors (NMDAR). Consistent with this hypothesis, NMDAR antagonists, such as ketamine, cause positive, negative and cognitive symptoms similar to those of schizophrenia in healthy people. Also consistent with this hypothesis, people with encephalitis against NMDAR (anti-NMDAR encephalitis), an autoimmune disease that is associated to a hypofunction of NMDARs, present symptoms similar to the positive, negative, and cognitive symptoms of schizophrenia. If this type of encephalitis also produces alterations in early sensory processing such as those occurring in schizophrenia

has never been tested. In this project, we tested for the first time early sensory processing in patients with anti-NMDAR encephalitis. Our results so far indicated that the auditory event-related potential mismatch negativity is increased in anti-NMDAR encephalitis. In schizophrenia, several studies have found the opposite, a decreased mismatch negativity. Mismatch negativity, thus, might help the differential diagnosis of schizophrenia and encephalitis anti-NMDAR.

danielinares@gmail.com

P13 Reactive Glia-Derived Neuroinflammation: a Novel Hallmark in Lafora Progressive Myoclonus Epilepsy That Progresses with Age

Moreno-Estellés, M; Lahuerta, M; Gonzalez, D; Aguado, C; Fathinajafabadi, A; García-Giménez JL; Romá-Mateo, C; Knecht, E; Pallardó, F; Sanz, P

Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia

Otros grupos: Dr. Federico Pallardó (U733)

Lafora disease (LD) is a rare, fatal form of progressive myoclonus epilepsy. The molecular basis of this devastating disease is still poorly understood and no treatment is available yet, which leads to the death of the patients around 10 years from the onset of the first symptoms. The hallmark of LD is the accumulation of insoluble glycogen-like inclusions in the brain and peripheral tissues, as a consequence of altered glycogen homeostasis. In addition, other determinants in the pathophysiology of LD have been suggested, such as proteostasis impairment, with reduction in autophagy, and oxidative stress, among others. In order to gain a general view of the genes involved in the pathophysiology of LD, in this work we have performed RNA-Seq transcriptome analyses of whole brain tissue from two independent mouse models of the disease, namely *Epm2a*^{-/-} and *Epm2b*^{-/-} mice, at different times of age. Our results provide strong evidence for three major facts: first, in both models of LD, we found a common set of upregulated genes, most of them encoding mediators of inflammatory response; second, there was a progression with the age in the appearance of these inflammatory markers, starting at three month of age; and third, reactive glia was responsible for the expression of these inflammatory genes. These results clearly indicate that neuroinflammation is one of the most important traits to be considered in order to fully understand the pathophysiology of LD, and define reactive glia as novel therapeutic targets in the disease.

mmoreno@ibv.csic.es

P14 Unmasking Retinitis Pigmentosa complex cases by a whole genome sequencing pipeline based on open-access tools: Hidden recessive inheritance and potential oligogenic variants

González-del Pozo, M; Fernández-Suárez, E; Martín-Sánchez, M; Bravo-Gil, N; Méndez-Vidal, C; Rodríguez-de la Rúa, E; Borego, S; Antiñolo, G

Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Medicina Materno Fetal, Genética y Reproducción, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud de Sevilla, Sevilla

Retinitis Pigmentosa (RP) is a clinically and genetically heterogeneous disorder that results in inherited blindness. Despite the large number of genes identified, only ~60% of cases receive a genetic diagnosis using targeted-sequencing. The aim of this study was to design a whole genome sequencing (WGS) based approach to increase the diagnostic yield of complex RP cases. WGS was conducted in three family members, belonging to one large apparent autosomal dominant RP family that remained unsolved by previous studies, using Illumina TruSeq library preparation kit and HiSeq X platform. Variant annotation, filtering and prioritization were performed using open-access tools and public databases. We have optimized an algorithm for variant prioritization of WGS data which allowed us to reduce significantly the number of likely causative variants pending to be manually assessed and segregated by Sanger sequencing. Following this algorithm, four heterozygous variants in one autosomal recessive gene (*USH2A*) were identified, segregating in pairs in the affected members. Additionally, two pathogenic alleles in *ADGRV1* and *PDZD7* could be contributing to the phenotype in one patient. The optimization of a diagnostic algorithm for WGS data analysis, accompanied by a hypothesis-free approach, has allowed us to identify causal variants in one large RP family, as well as to reassign its inheritance pattern. These results contribute to increasing the number of cases with apparently dominant inheritance that carry causal mutations in recessive genes. Moreover, our WGS-analysis approach can easily be implemented by other researchers in the field of genetic diagnosis of other rare diseases.

maria.gonzalez@ciberer.es

P15 Distrofias hereditarias de retina: Concurrencia de varios genes responsables

García-García, G; Rodríguez-Muñoz, A; García-Bohórquez, B; González-García, E; Cabrera-Peset, A; Gallego-Pinazo, R; Udaondo, P; Salom, D; Jaijo, T; Aller, E; Millán, JM

Grupo CIBERER: U755 Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital la Fe, Valencia

Las distrofias hereditarias de retina (DHR) engloban un grupo de enfermedades caracterizado por la muerte, en la mayoría de los casos, progresiva de fotorreceptores. Las características que mejor definen las DHR son su elevada variabilidad clínica y elevada heterogeneidad genética y alélica. Actualmente, se conocen más de 220 genes responsables de algún tipo de DHR lo que dificulta el abordaje del diagnóstico genético por los métodos tradicionales.

Hemos estudiado a 208 individuos procedentes de 124 familias no relacionadas, diagnosticados clínicamente de DHR mediante el análisis de un panel de 117 genes. Se han encontrado variantes patogénicas o probablemente patogénicas en el 73% (n=90) de los 124 probandos secuenciados. Sin embargo, se obtuvo un diagnóstico genético completo en el 60% (n=75) del total de casos, ya que el 12% (n=15) presentaban una sola mutación en genes de herencia autosómica recesiva. El 13% (n=16) de los pacientes tenían variantes patogénicas o probablemente patogénicas en más de un gen.

Además, destacamos que el 5% (n=6) de las familias incluidas en el estudio presentaron mutaciones probablemente patogénicas o patogénicas en dos genes diferentes que podrían ser ambos la causa de la DHR. En el caso de la familia fRPN-51, se trata de una combinación de tres mutaciones diferentes en un mismo gen dentro de la misma familia. La mala interpretación de tales hallazgos podría complicar el diagnóstico molecular o dar lugar a falsas especulaciones sobre la herencia oligogénica o efectos dominantes de alelos recesivos.

gegarcia@ciberer.es

P16 Implication of non-coding variants and mosaicism to the phenotypic variability of aniridia and related PAX6-associated disorders

Tarilonte, M; Moya, J; Tamayo, A; Plaisancié, J; Morín, M; Villaverde, C; Ramos, P; Swafiri, ST; Sanz, G; Romero, R; Gener, B; Moreno-Pelayo, MA; Villamar, M; Calvas, P; Trujillo-Tiebas, MJ; Blanco-Kelly, F; Ayuso, C; Corton, M

Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Otros grupos: U728

The eye morphogenic transcription factor PAX6 causes a wide spectrum of developmental anomalies, being classical aniridia the main phenotype associated with PAX6 haploinsuficiencia. The presence of atypical forms of aniridia and the overlapping with other anterior segment dysgenesis, impairs the genetic characterization of these disorders. Comprehensive screening of non-coding regions and cis-regulatory elements of PAX6 using customized NGS approaches allowed to deep on the missing heritability in a cohort of 98 patients with iris anomalies. Our study identified an exceptional number of novel non-coding, synonymous and regulatory variants in 10% of our cohort, mainly associated with atypical phenotypes. Further functional assessment of these variants of unknown significance using different in vitro midigene strategies and patient-derived cell models showed that they lead to a transcriptional imbalance mediated by several spliceogenic mechanisms. These include disruption of canonical splicing sites of the non-coding exons at 5'UTR, as well as creating or strengthening of different exonic and intronic cryptic sites and/or splicing regulatory elements. Thus, the activation of cryptic PAX6 splicing sites by exonic or non-coding variants could be a recurrent and underestimated cause of aniridia. Finally, we first reported somatic and germinal mosaic variants in several families which explain phenotypic variability and/or atypical inheritance patterns. In conclusion, our work highlights the importance of screening of non-coding PAX6 regions and mosaicism to improve the diagnostic rate and genetic counselling of PAX6-associated phenotypes.

GRANTS: ISCIII (PI17_01164, CPII17_00006), CAM, FEDER and Conchita Rábago Foundation.

mcorton@fjd.es

P17 Mutaciones identificadas en una cohorte española de personas con albinismo

Garrido, G; Torres, M; Fernández, A; Cortón, M; Trujillo, MJ; Sobrino, B; Ayuso, C; Carracedo, A; Montoliu, L

Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Otros grupos: U704, U711

Desde hace ya algunos años, y gracias al impulso y apoyo del CIBERER, hemos desarrollado una iniciativa colaborativa en España que pretende diagnosticar genéticamente el mayor número posible de personas con albinismo. Esta es una condición genética poco frecuente, que cursa con un déficit visual importante, asociado a alteraciones en el desarrollo del sistema visual, y que puede presentarse con alteraciones en la pigmentación. Conocemos hoy 20 genes cuyas mutaciones son causantes de otros tantos tipos de albinismo, globalmente clasificados en no sindrómicos y sindrómicos, que afectan a múltiples tipos celulares. La mayor parte de las personas con albinismo no está diagnosticada genéticamente, y este es uno de los objetivos fundamentales del CIBERER, y de instituciones internacionales similares, el poder diagnosticar a todas las personas con alguna enfermedad rara. En colaboración con las unidades 704 y 711, dirigidas respectivamente por Carmen Ayuso y Ángel Carracedo, hemos desarrollado una aproximación metodológica para intentar diagnosticar el máximo de personas con esta enfermedad rara. En esta actualización revisaremos las diferentes mutaciones que hemos sido capaces de identificar en la población, tanto las ya conocidas como las detectadas por primera vez, tanto en zonas codificantes como en zonas colindantes genómicas.

ggarrido@cnb.csic.es

P18 IGF-1 and DUSP1: revealing the genetic factors that modulate the progression of age-related hearing loss

Rodríguez-de la Rosa, L; Bermúdez-Muñoz, JM; Lara, E; Celaya, AM; Sánchez-Pérez, I; Perona, R; Pallardó, FV; Contreras, J; Varela-Nieto, I; Murillo-Cuesta, S

Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Otros grupos: U757, U733

Age-related hearing loss (ARHL) is a multifactorial disease, whose complex genetic bases are largely unknown. IGF-1 signaling is fundamental for the final differentiation of the mouse hearing receptor and spiral ganglion. IGF-1 actions in the cochlea are mediated by RAF, AKT and p38 protein kinases that modulate the expression and activity of transcription factors, which in turn regulate cell cycle and metabolism. IGF-1 mutations are associated with rare human hearing loss, but its potential role in ARHL predisposition has not yet been studied. On the other hand, the stress kinases JNK and p38 form part of the adult cochlear response to noise insult and ageing and their inhibition promotes the survival of cochlear cells after damage.

We have studied the hearing phenotype of *Igf1* and *Dusp1* null mice along life. DUSP1 is an inducible nuclear phosphatase downstream IGF-1 that modulates the activity of stress kinases. *Igf1* heterozygous mice show premature signs of ARHL that parallels the age-associated step decrease in the circulating levels of IGF-1 and sensory cells loss. On the other hand, *Dusp1* null mice showed premature severe progressive hearing loss and increased noise injury. *Dusp1*^{-/-} cochleae showed imbalanced redox status, inflammation and apoptosis of spiral neurons and hair cells

These data suggest that IGF-1 signalling is essential for cochlear homeostasis and in the response to stress during ageing. Therefore, IGF-1 haploinsufficiency or downstream signalling alterations predisposes to ARHL.

smurillo@iib.uam.es

P19 Glioma óptico en la neurofibromatosis tipo 1: Búsqueda de biomarcadores de susceptibilidad

Martin, Y; Navarro Abia, V; Rearte Garcia, S; Valero, A; Ceballos Droguett, F; Duat Rodriguez, A; Moreno-Pelayo, MA; Lorenzo Sanz, G; Hernández Chico, C

Grupo CIBERER: U728 Servicio de Genética, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Introducción: El glioma óptico (GO) es el tumor más prevalente en pacientes pediátricos con neurofibromatosis tipo 1 (NF1). **Objetivo:** Búsqueda y validación de genes y polimorfismos asociados al desarrollo de gliomas en pacientes NF1. **Materiales y métodos:** Nuestra muestra incluye 532 pacientes NF1 con confirmación genética, 85 de los cuales (16%) desarrollaron GO. Seleccionamos 34 pacientes NF1 pediátricos con GO y realizamos un seguimiento neurológico, oftalmológico y radiológico. Secuenciamos el exoma de una cohorte de 20 pacientes NF1 con glioma y 10 pacientes sin glioma (grupo control). Después del análisis inicial seleccionamos las mutaciones de interés para su confirmación mediante secuenciación Sanger. **Resultados:** Los datos de secuenciación masiva mostraron 104 cambios, que ocurren en secuencias codificantes (32) y en posiciones que pueden afectar al procesamiento de los pre-mRNA (72). Seleccionamos 54 mutaciones de interés, que ocurren en 21 genes. Estos cambios se confirmaron mediante secuenciación Sanger en la cohorte de pacientes con y sin glioma. **Conclusiones:** Mediante el análisis de los exomas hemos identificado 54 cambios de interés, en 21 genes, que son candidatos de susceptibilidad de gliomagénesis. Utilizando modelos funcionales "in silico" de rutas celulares conformaremos el primer modelo de interactoma de gliomagénesis asociada a la NF1.

chchico@salud.madrid.org

P20 Identificación y caracterización de variantes estructurales causantes de deficiencia de antitrombina mediante secuenciación por nanoporos: aplicación de esta nueva tecnología en enfermedades raras

de la Morena-Barrio, ME; de la Morena-Barrio, B; Padilla, J; Sanchís-Juan, A; García-Hernández, JL; Ouwenhand, WH; Vidal, F; Hernández-Rivas, JM; Esteban-Gil, A; Fernández-Breis, JT; Vicente, V; Corral, J

Grupo CIBERER: U765 Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia

La secuenciación masiva ha revolucionado el diagnóstico molecular de enfermedades raras, aunque el porcentaje de casos sin base molecular conocida es todavía alto. En deficiencia de antitrombina (DAT) el 25% no presentan variantes en SERPINC1. Una razón es la dificultad para detectar variantes estructurales (VS), menos abundantes pero más patogénicas. MLPA o aCGH pueden detectar y definir la extensión de VS, pero no muestran ni la secuencia del punto de ruptura ni la arquitectura molecular resultante.

Empleamos secuenciación por nanoporos (MinION/PromethION) para caracterizar VS en 10 pacientes con DAT.

Las 7 VS identificadas por MLPA se detectaron con nanoporos, independientemente del tipo (duplicación o delección) o tamaño (desde 193 pb, hasta 2 MB). En todos, el punto de ruptura implica elementos repetitivos (Alu/LINE). Destacamos la primera caracterización de una VS compleja (CxSV): no detectable por aCGH, con delección del exón 1 por MLPA y delección de exones 1-2 por secuenciación del amplicón que cubre la delección. Nanoporos mostró una estructura resultado de la duplicación de los exones 2-3 y posterior delección de los exones 1-2.

Nanoporos identificó la base molecular de los casos en los que la secuenciación Sanger, NGS, aCGH y MLPA dieron resultados negativos. 1) Delección de 2 Kb del intrón 1; 2) Inserción de un retrotransposon (2.5 Kb) en intrón 6; 3) CxSV con inversión del exón 7.

Estos resultados muestran la fortaleza de la secuenciación por nanoporos para la caracterización de VS, incluso complejas, implicadas en enfermedades raras que pueden no ser detectadas por otros métodos de diagnóstico molecular.

javiercorraldelacalle@gmail.com

P21 Myelination processes as a biomarker in MCT8-deficiency

Valcárcel-Hernández, V; García-Aldea, A; Grijota-Martínez, C; Báñez-López, S; Guadaño-Ferraz, A

Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Thyroid hormones (TH) are essential in brain development, regulating processes such as the differentiation of neural cells and myelination. TH are secreted to the blood from the thyroid gland, mainly as T₄, which is converted in the astrocytes into T₃, the nuclear active form, by the enzyme deiodinase type 2 (DIO2). Allan-Herndon-Dudley Syndrome (AHDS or MCT8 deficiency) is an X-linked rare disease caused by mutations in the monocarboxylate transporter 8 (MCT8), a transmembrane transporter specific for TH.

AHDS is characterized by altered serum TH levels and severe neurological damage including profound psychomotor impairment. The neurological syndrome in MCT8 deficiency is mainly due to cerebral hypothyroidism, since TH access across brain barriers is impaired. MCT8-deficient mice replicate the alterations in circulating TH levels but not the neurological syndrome observed in patients, due to compensatory mechanisms involving the DIO2 enzyme. This led us to characterize the neurological phenotype of the double Mct8/Dio2 knockout mouse (KO) to validate it as a possible model of the disease.

Previous results from brain samples of an 11-year-old MCT8-deficient subject showed alterations in myelination, which led us to study oligodendroglial populations and myelination in the absence of MCT8 in mice. To this aim, we used postnatal day 21 (P21) and P90 Mct8/Dio2KO mice as an animal model for MCT8 deficiency.

Mct8/Dio2KO mice brain exhibits an altered phenotype both in the population dynamics of oligodendroglial cells, and in myelin formation, consistently with human data, showing low and aberrant myelination at P21 that is not fully reversed at P90.

vvalcarcel@iib.uam.es

P22 Análisis clínico y molecular de pacientes pediátricos y adultos jóvenes con diagnóstico de adenoma hipofisario

Martínez de LaPiscina, I; Portillo, N; Rica, I; Martínez, R; Urrutia, I; Aguayo, A; Gaztambide, S; Castaño, L y grupo colaborativo Español de los Adenomas Hipofisarios

Grupo CIBERER: U725 Grupo de investigación en Endocrinología y Diabetes, Hospital Universitario Cruces, Asociación Instituto de Investigación Sanitaria de Biocruces, Vizcaya

Introducción: Los adenomas hipofisarios, aunque raros en la infancia y adolescencia, presentan unas características clínicas y moleculares singulares. La identificación de alteraciones causantes en genes como AIP y MEN1 ha contribuido a la comprensión de los mecanismos de la tumorigénesis. Sin embargo, no existe una clara relación entre el genotipo y el fenotipo de los pacientes. El objetivo de este trabajo es el estudio clínico y molecular de niños y adultos jóvenes con diagnóstico de adenoma hipofisario familiar o esporádico mediante NGS.

Pacientes y métodos: Se han recogido los datos clínicos al diagnóstico de 200 pacientes menores de 35 años con adenoma hipofisario (Edad media: 18.5 años; Mujeres: 66%) y se ha realizado el estudio molecular en línea germinal utilizando la NGS en un panel de genes y un aCGH. Las alteraciones genéticas encontradas fueron validadas por secuenciación Sanger y se analizaron los familiares afectos y no afectos de los casos.

Resultados: El 42% de los pacientes presentaron un prolactinoma, seguido de aquellos con enfermedad de Cushing (21%). Se han identificado variantes genéticas en heterocigosis en 35 (17.5%) pacientes con adenoma hipofisario y en sus familiares. El tamaño del tumor y la edad de diagnóstico no se relacionan con la presencia de una alteración genética.

Conclusiones: Los adenomas hipofisarios en pacientes pediátricos y adultos jóvenes presentan a menudo alteraciones genéticas en línea germinal. El cribado molecular de los familiares es importante para detectar sujetos afectos y hacer un seguimiento clínico de los sanos.

idoia.martinezdelapiscinamartin@osakidetza.eus

P23 Physiopathological bases of the disease caused by HACE1 mutations: alterations in autophagy, mitophagy and oxidative stress response.

Ugarteburu, O; Sánchez, M; Ramos, J; Barcos, T; Garrabou, G; García-Villoria, J; Ribes, A; Tort, F

Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona

Otros grupos: U722

HACE1 encodes for an E3-ubiquitin-ligase involved in different cellular processes such as autophagy and oxidative stress response. Mutations in HACE1 have been reported in few patients (MIM#610876) but the molecular bases of the disease have not been well determined. Here we present a detailed characterization on the physiopathological bases underlying HACE1 deficiency in a patient initially suspected of mitochondrial disease.

We report on a 10 years old patient with brain atrophy, psychomotor retardation and persistently increased levels of 3-methylglutaconic-acid in urine. WES analysis identified an homozygous mutation in HACE1 (c.240C>A;p.Cys80Ter). HACE1 localizes in the cytosol and is mainly expressed in brain tissues. Western Blot demonstrated the deleterious effect of the mutation, as complete absence of HACE1 protein was observed in patient fibroblasts. Immunofluorescence showed an increased number of LC3-II punctae (autophagosome marker). Since the initiation of the autophagic cascade was apparently normal the results were consistent with a decrease of the autophagic flux. Slight alterations in mitochondrial morphology and reduced mitophagic flux were also demonstrated. In addition, the Nrf2-oxidative stress response pathway was impaired, as shown by the reduced mRNA expression of NQO1 and Hmox1 detected in H₂O₂-treated cells. Accordingly, high lipid peroxidation was observed in patient's cells, indicating accumulated oxidative damage. Increased levels of mitochondrial ROS and SOD2 expression were also detected. In summary, we demonstrated for the first time that HACE1 mutations lead to a disorder by targeting key cellular processes such as autophagy, mitophagy and the ability to respond to oxidative damage.

Funding: ISCIII (PI16/01048;PI19/01310),CIBERER. Co-funded by ERDF.

ugarteburu@clinic.cat

P24 MOSMO (MOdulator of SMOothened) genes as candidate genes for the rare 16p12.2 deletion syndrome

Sintes, M; Camacho de la Macorra, C; Tabanera Anguita, N; Bovolenta, P; Cardozo Ruiz, M

Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Communication among cells is mediated by different molecular signaling pathways. The Hedgehog (Hh) pathway is conserved among species and is involved in a wide variety of developmental processes including organogenesis, limb growth, central nervous system patterning and homeostasis as well as adult tissues' regeneration. Defects in the Hh pathway are associated with various human diseases, including holoprosencephaly, ciliopathies and cancer. Genome-wide CRISPR/Cas9 screening performed in human cells have recently identified new negative regulators of the Hh pathway, including MOSMO (MOdulator of SMOothened). Mosmo is a transmembrane protein of the tetraspanin family, which promotes the endocytosis of the Hh transducer Smoothened, thereby lowering its levels at the plasma membrane. In humans, a deletion in chromosome 16, encompassing the MOSMO gene, causes a rare disease known as 16p12.2 deletion syndrome characterized by slow growth, microcephaly and cleft palate. We sought to address whether MOSMO is indeed responsible for this syndrome by asking if *mosmo* function is important for vertebrates' development. To test this hypothesis, we characterized the expression pattern of *mosmo* genes in zebrafish during embryonic development, showing its overlap with those of several Hh signaling components. Using a tagged version of *mosmo*, we determined that mosmo protein localizes at the cell membrane, vesicles and cilia in chicken and zebrafish embryos. We further generated *mosmo*^{-/-} lines in zebrafish using CRISPR/Cas9 technology. The adult *mosmo* mutants display different craniofacial defects that may resemble those observed in humans, supporting the implication of this gene in rare congenital malformations.

mcardozo@cbm.csic.es

P25 Yap/Taz-Tead activity controls RPE integrity: possible implications in RPE pathologies

Camacho de la Macorra, C; Moreno-Marmol, T; Perosanz, X; Bovolenta, P; Cardozo Ruiz, M

Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

The transcriptional regulators Yap and Taz respond to mechanical stimuli by translocating to the nucleus, where they form a transcriptional complex with TEAD factors to promote gene expression. Mutations in *yap/taz* lead to eye developmental defects, including a proposed lack of RPE specification in zebrafish. In this species, RPE cells change from an elongated neuroepithelial to a squamous flattened shape. This conversion is likely a response to external forces and/or a cell autonomous mechanism that may involve Yap/Taz activity. To test this possibility, we analyzed how Yap/Taz contribute to RPE morphogenesis. In contrast to what previously proposed, we observed nuclear Yap/Taz-TEAD activity in RPE cells only after their specification, concomitantly with their stretching. Consistent with this late nuclear localization, RPE cells are specified in *yap/taz* mutants but thereafter fail to maintain the integrity of the optic cup. Indeed, patches of the RPE are missing, allowing for neural retina extrusion out of the eye-cup and suggesting that Yap/Taz act as mechano-transducers during RPE development. To further validate this idea, we prevented RPE cell stretching by treating embryos with myosin inhibitors, which was associated with the down regulation of two Yap target genes, *CCN1* and *CCN2*. Altogether these data indicate that Yap/Taz control RPE tension, thereby regulating tissue integrity and raising the possibility of their involved in RPE ocular pathologies.

mcardozo@cbm.csic.es

P26 Slc7a7-Mediated Arginine transport compromises erythrocyte function in Slc7a7-deficient mice

Bodoy, S; Sotillo, F; Giroud-Gerbetant, J; Couso, J; Sanchez, M; Ormazabal, A; Artuch, R; Palacín, M

Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB-Barcelona), Barcelona

Otros grupos: U703

Lysinuric Protein Intolerance (LPI) is a rare autosomic disease caused by mutations in *SLC7A7* gene, which codifies for y^+ LAT1, a cationic amino acid (CAA) transporter. It is reported that changes in plasma arginine concentrations may lead to inflammation and erythrocyte dysfunction. We have investigated the effect of *Slc7a7* deletion on the erythrocyte function in the mice defective for y^+ LAT1, a reported model to study LPI disease. Human LPI is not only characterized by the defective intestinal and renal (re)absorption of CAA but also for its immune and hematological complications. These alterations ranges from anemia, pulmonary alveolar proteinosis to hemophagocytic lymphohistocytosis. Thus, causing some of the most life-threatening complications in the LPI patients. y^+ LAT1 is mainly expressed in epithelial cells and also macrophages. Macrophage function is well known to play a key role in erythrophagocytosis as well as in erythropoiesis, yet little is known about the role of arginine in the red blood cells function and development. Here, genetic and immunological analysis revealed that arginine transport dysfunction led to an aberrant iron accumulation in *Slc7a7*^{-/-} macrophages. Then again, hypoargininemia, one of the main features of the LPI patient, caused defects in erythropoiesis by diminishing the number of erythrocytes progenitors, and increasing erythrophagocytosis in *Slc7a7*^{-/-}. Altogether suggest that, reduction in plasma arginine levels by ablation of the arginine transporter *Slc7a7* altered erythrocyte function and development in vivo. These results uncover and shed new lights into the mechanisms behind the immune complications of the LPI disease.

susanna.bodoy@irbbarcelona.org

P27 The structure of human PLP homeostasis protein (PLPHP) sheds light on a novel type of hereditary vitamin B6-dependent epilepsy

Forcada-Nadal, A; Martín Martín, Y; Blázquez, D; Marco-Marin, C; Rubio, V

Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia

In 2016-2017 a novel form of vitamin B6-genetic epilepsy of recessive inheritance was reported (1,2;MIM#617290) associated to mutations in the PLPBP gene, which encodes the 275-residue pyridoxal phosphate (PLP)-containing protein (PLPHP). PLPHP has been proposed to be crucial in PLP homeostasis. It might be involved in PLP delivery to apo forms of PLP-dependent enzymes (>140 in humans, including some involved in the metabolism of epilepsy-related neurotransmitters). Lacking a direct assay for assessing PLPHP function, missense mutations in the PLPBP gene might be attributed a disease-causing potential without clear-cut evidence for it. To try to provide this evidence, missense PLPHP mutations identified in B6-dependent epilepsy patients (1-7) we have expressed recombinantly, purified, crystallized and determined crystal structures of wild-type and mutant forms of human PLPHP. We have profiled the effects of the clinical and of some experimental non-clinical mutations on the folding, stability and ability of the protein to contain PLP and to react with the PLP-targeting antibiotic D-cycloserine, while also assessing the oligomeric nature of the purified wild type and mutant proteins. Our results confirm and extend our prior findings with a cyanobacterial orthologue of PLPHP (PipY) and with earlier mutagenesis studies with human PLPHP (8,9), detailing the modified TIM-barrel fold presented specifically by the human protein, and providing insight on the mutations' effects.

Supported by BFU2017-84264-P and ALBA synchrotron.

[1] AmJHumGenet 2016;99:1325-1337.

[2] JMedGenet 2017;54: 809-814.

[3] EpilepsiaOpen 2018;3:495-502.

[4] Brain2019;142:542-559.

[5] J Pediatr Genet.2019;8:222-225.

[6] JIMD Rep.2019;50:1-8.

[7] Dev Med Child Neurol. 2019, in press.

[8] FEBS Lett.2017;591:3431-3442.

[9] HumMutat2018;39:1002-1013.

rubio@ibv.csic.es

P28 Cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells as a disease model for propionic acidemia

Alonso-Barroso, E; López-Márquez, A; Pérez-Cerdá, C; Pérez, B; Desviat, LR; Richard, E

Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Propionic acidemia (PA), one of the most frequent life-threatening organic acidemias, is caused by mutations in either the *PCCA* or *PCCB* genes, encoding both subunits of the mitochondrial propionyl-CoA carboxylase (PCC) enzyme. Cardiac alterations (hypertrophy, dilated cardiomyopathy, long QT) are one of the major causes of mortality in patients surviving the neonatal period. To overcome limitations of current cellular models of PA, we generated induced pluripotent stem cells (iPSCs) from two PA patients with defects in *PCCA* and *PCCB* genes, and successfully differentiated them into cardiomyocytes. *PCCA* iPSC-derived cardiomyocytes exhibited an alteration of autophagy process with an accumulation of residual bodies and mitochondrial dysfunction characterized by reduced oxygen consumption and alteration of mitochondrial biogenesis due to a deregulation of *PPARGC1A*. We also evaluated the expression of heart-enriched miRNAs previously associated with cardiac dysfunction and several miRNAs were found deregulated. Furthermore, we found increased protein levels of Herp, Grp78, Grp75, sigma-1R and Mfn2 suggesting ER stress and calcium perturbations in these cells. Our novel results show that PA iPSC-cardiomyocytes represent a promising model for investigating the pathological mechanisms underlying PA serving also as an ex vivo platform for therapeutic applications.

erichard@cbm.csic.es

P29 A role of the long intergenic non-coding RNA p21 in the development of T-cell lymphoblastic lymphomas

López-Nieva, P; González-Vasconcellos, I; Cobos Fernández, MA; Fernández-Piqueras, J; Santos, J

Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Long non-coding RNAs (lncRNAs) have emerged as relevant regulators for cancer progression, and there are oncogenic or tumor suppressor functions assigned to them. Due to the importance of the TP53 gene in carcinogenesis, the role played by some p53-regulated lncRNAs have been investigated in several human tumor types. The long intergenic non-coding RNA p21 (LincRNA-p21) is one of the well characterized p53-regulated lncRNAs, originally discovered in mice and so named because it is located 15 kilobases upstream of the Cdkn1a gene (coding for the p21CDKN1A cell cycle inhibitor). In T-cell lymphoblastic neoplasia, the tumor suppressor gene TP53 may be altered through distinct mechanisms including sequence mutations and deletions, promoter hypermethylation, aberrant expression of several TP53 isoforms and/or defects in the expression of microRNAs targeting TP53. However, so far there is no evidence for dysregulation of LincRNA-p21 in T-cell lymphoblastic lymphomas (T-LBLs). In the present work, we aimed to determine the contribution of LincRNA-p21 to the development of T-LBLs and to evaluate its impact on target gene expression. We analyzed the transcriptional expression of LincRNA-p21 in a cohort of 17 T-LBLs. The majority of T-LBLs studied had decreased levels of the LincRNA-p21 transcript (14 out of 17, 82,35%), whereas the remaining three cases showed overexpression as compared to normal thymocytes. To identify those target genes affected by LincRNA-p21 downregulation, we are performing functional analysis based on the transfection of the two distinct transcript variants of this non-coding gene in SUPT1 cells, a tumor cell line derived from a T-cell lymphoblastic lymphoma.

jsantos@cbm.csic.es

P30 Characterization of the coagulation FXII T309K mutation in patients with Hereditary Angioedema

López-Lera, A; López-Gálvez, R; Emsley, J; Caballero, T; López-Trascasa, M; Corral, J; de la Morena-Barrio, ME

Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Servicio de Alergia, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Otros grupos: U755

Background. Factor XII (FXII) is an emerging molecule in hemostasis and inflammation that initiates contact activation of plasma. The dominant FXII mutation T309K has been linked to defective O-glycosylation, increased activability and development of a hereditary angioedema variant (HAE-FXII) affecting mainly women during estrogenic situations (pregnancy, menstruation, oral contraception). The common promoter polymorphism rs1801020 (c.-4T>C) lowers *F12* expression by disrupting its ribosome-recruiting Kozak sequence and is considered a disease-modifier largely determining FXII plasma levels in haemostatic pathology and coronary artery disease.

Methods. The impact of the T309K mutation was studied by western blot, *in-vitro* deglycosylation and contact system activation assays in 33 symptomatic women with HAE-FXII due to the T309K mutation and 25 healthy relatives. Plasmas from patients with congenital N-glycosylation defects (CGD) were used to characterize the glycosylation status of FXII. Additionally, the effect of the rs1801020 polymorphism on contact system activation and HAE severity score was analyzed in the cohort.

Results. HAE-FXII patients presented an additional FXII plasma species which was smaller than unglycosylated FXII from CGD patients. It was absent in insect-cell recombinant rFXIIT309K but was induced by overnight incubation thus suggesting a proteolytic origin. Plasma FXIIT309K underwent spontaneous fluid-phase activation upon low dose-triggers of artificial activators. Moreover, it exhibited a unique susceptibility to cleavage by thrombin which primed FXIIT309K for subsequent activation by kallikrein.

We detected a significant enrichment of the rs1801020 C-allele in symptomatic HAE patients. Moreover, the CC genotype was associated with increased contact activation and worse HAE clinical courses as compared to the TC genotype.

alberle@gmail.com

P31 Revisión de estrategias terapéuticas para la Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria

Albiñana, V; Cuesta, AM; Recio-Poveda, L; de Rojas, I; Bernabeu, C; Botella, LM

Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

La HHT es una enfermedad vascular autosómica dominante, con una prevalencia de 1/5000:8000. El 90% de los pacientes tienen mutados dos componentes del complejo receptor de la vía de señalización de TGF- β ; Endoglin o ALK1. La señalización de TGF- β en el endotelio se desregula y la pared vascular se vuelve frágil favoreciendo su rotura. Los criterios de Curaçao para el diagnóstico de HHT son telangiectasias, epistaxis, malformaciones arteriovenosas en órganos internos e historia familiar.

Los pacientes HHT no tienen tratamientos que curen su enfermedad, aunque sí una serie de medidas paliativas. Por una parte intervenciones quirúrgicas, como son la embolización de las fístulas, septodermoplastia, cauterización, o administración de hierro o transfusiones debido a la anemia. Por otra parte, tratamientos farmacológicos, donde la investigación en HHT se centra en la búsqueda de fármacos que mediante distintos mecanismos, involucrados directa o indirectamente en el proceso de angiogénesis, puedan aliviar los síntomas de los pacientes. Hemos seguido estas tres estrategias de actuación en células endoteliales; 1) Estimular la expresión de ENG o ALK1 compensando la haploinsuficiencia existente en HHT, favoreciendo una angiogénesis más adecuada: Raloxifeno, Bazedoxifeno, Tacrolimus, N-acetilcisteína o Resveratrol. 2) Antifibrinolíticos que favorecen la coagulación, estabilizan el coágulo de fibrina y disminuyen las hemorragias: Ácido Tranexámico o Ácido Aminocaproico. 3) Antiangiogénicos que aplicados localmente en la mucosa nasal puedan disminuir la angiogénesis defectuosa: Propranolol, Timolol o Dobesilato.

Con estas estrategias se puede disminuir la formación y/o progresión de las telangiectasias internas y externas, y de ese modo disminuir los sangrados.

cibluisa@cib.csic.es

P32 GCDH targeted gene edition rescues Glutaric Aciduria type-I phenotype in a SH-SY5Y cellular model

Gea-Sorlí, S; Ribes, A; Fillat, C

Grupo CIBERER: U716 Genes y Enfermedad, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona

Otros grupos: U737

Glutaric Aciduria type I (GA-I) is a rare autosomal recessive disorder caused by the deficiency of the enzyme glutaryl-CoA dehydrogenase (GCDH). Current therapeutic strategies include dietary lysine restriction, carnitine supplementation and anti-catabolic emergency treatment during acute episodes. Unfortunately, despite the adherence to the diet about one third of the patients develop acute encephalopathic seizures with severe neurological consequences.

In this work we develop a gene-targeting strategy to rescue the GCDH activity in the neuroblastoma SH-SY5Y, through targeted insertion of the GCDH gene in the AAVS1 "safe harbor" genomic locus. First we generated a GCDH-deficient SH-SY5Y cell line using CRISPR/Cas9, via NHEJ (SH-SY5Y-GCDH-KO). Then, a GCDH expressing cassette was inserted in the AAVS1 locus by CRISPR/Cas9 homologous recombination. Molecular analysis of gene-edited SH-SY5Y-GCDH cells confirmed the specific deletion in the GCDH locus and integration of the GCDH cassette in the AAVS1 locus. Expression analysis of GCDH demonstrated loss of expression in the KO cells and restoration of GCDH in the edited cells. Exposure of KO cells to glutaric acid, a toxic metabolite from lysine catabolism, or to lysine, resulted in decrease viability of the culture that was rescued in the GCDH edited cells. Thus, our results provide a relevant human neuronal cellular model of GA-I to study the molecular pathogenesis of the disease and evaluate the potential benefit of gene-targeting correction.

sgea@clinic.cat

P33 Beneficios del tratamiento temprano con metformina frente a su administración en edades avanzadas en modelos animales de la enfermedad de Lafora

Fernández-Burgos, D; Sánchez-Martín G; Serratosa, JM; Sánchez, MP

Grupo CIBERER: U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

La enfermedad de Lafora es una epilepsia mioclónica progresiva rara que se manifiesta en la adolescencia y conlleva procesos neurodegenerativos que conducen a la muerte en la siguiente década. Se caracteriza por la presencia de cuerpos de Lafora, agregados intracelulares de polímeros de glucógeno pobremente ramificado e hiperfosforilado, en cerebro y otros tejidos. Está ocasionada por mutaciones en los genes EPM2A y EPM2B, que codifican las proteínas laforina y malina, respectivamente. Los modelos de ratón Epm2a^{-/-} y Epm2b^{-/-} presentan alteraciones cognitivas y motoras, al igual que los pacientes. También muestran hiperexcitabilidad neuronal, con mayor sensibilidad al agente epileptógeno PTZ. La metformina es un activador de AMPK que actúa como neuroprotector. El tratamiento con metformina en el modelo Epm2b^{-/-} a los 3 meses de edad mejora las alteraciones neurológicas y disminuye la hiperexcitabilidad. En este trabajo hemos evaluado los efectos a largo plazo de la metformina administrada desde el desarrollo prenatal, en el tratamiento y prevención de los problemas cognitivos, motores y epilépticos en los modelos Epm2a^{-/-} y Epm2b^{-/-}. Así, observamos que el tratamiento con metformina desde estadios prenatales previene la aparición de alteraciones cognitivas y de posturas anómalas, mejora drásticamente el deterioro neurológico, y prácticamente elimina la hipersensibilidad a PTZ en los ratones Epm2a^{-/-} y Epm2b^{-/-} a los 12 meses de edad. En conclusión, la administración prolongada de metformina desde estadios prenatales actúa de forma más eficaz que el tratamiento en edades avanzadas previniendo la aparición y severidad de los problemas cognitivos, motores y epilépticos a largo plazo en estos modelos.

msanchezg@fjd.es

P34 The use of PanDrugs to prioritize anticancer drug treatments in a case of T-ALL based on individual genomic data

López-Nieva, P; Fernández-Navarro, P; Piñeiro-Yañez, E; Carreño-Tarragona, G; Martínez-López, J; Sánchez Pérez, R; Aroca, A; Al-Shahrour, F; Cobos-Fernández, MA; Fernández-Piqueras, J; Santos, J

Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Background

Acute T-cell lymphoblastic leukaemia (T-ALL) is an aggressive disorder derived from immature thymocytes. The variability observed in clinical responses on this type of tumours to treatments, the high toxicity of current protocols and the poor prognosis of patients with relapse or refractory make it urgent to find less toxic and more effective therapies in the context of a personalized medicine of precision.

Methods: Whole exome sequencing and RNAseq were performed on DNA and RNA respectively, extracted of a bone marrow sample from a patient diagnosed with tumour primary T-ALL and double negative thymocytes from thymus control samples. We used PanDrugs, a computational resource to propose pharmacological therapies based on our experimental results, including lists of variants and genes. We extend the possible therapeutic options for the patient by taking into account multiple genomic events potentially sensitive to a treatment, the context of the pathway and the pharmacological evidence already known by large-scale experiments.

Results: As a proof-of-principle we used next-generation-sequencing technologies (Whole Exome Sequencing and RNA-Sequencing) in a case of diagnosed Pro-T acute lymphoblastic leukaemia. We identified 689 disease-causing mutations involving 308 genes, as well as multiple fusion transcript variants, alternative splicing, and 6652 genes with at least one principal isoform significantly deregulated. Only 12 genes, with 27 pathogenic gene variants, were among the most frequently mutated ones in this type of lymphoproliferative disorder. Among them, 5 variants detected in CTCF, FBXW7, JAK1, NOTCH1 and WT1 genes have not yet been reported in T-ALL pathogenesis.

pilar.lopez@cbm.csic.es

P35 Nuevas terapias para la deficiencia de coenzima Q10

Santos Ocaña, C; Navas Lloret, P; Artuch Iriberry, R; Berenguel Hernández, A; Alcázar Fabra, M; Brea Calvo, G; Moreno Fernández de Ayala, DJ; Hernández Camacho, JD; Cascajo Almenara, MV; Rodríguez Aguilera, JC; Cordón Rodríguez, AB

Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla

Otros grupos: U703

En nuestro grupo se aborda la identificación de nuevas terapias como una actividad traslacional básica en la investigación sobre la deficiencia de coenzima Q₁₀. Esta actividad se ha manifestado en las siguientes acciones:

a) Suplementación con ubiquinol. Hemos participado en la aprobación por la EMA del ubiquinol como medicamento huérfano para el tratamiento de la deficiencia de CoQ₁₀. En un modelo murino de deficiencia secundaria de CoQ humana producido por una mutación del gen ADCK2, el cruce de dos individuos heterocigotos no produce el nacimiento de ratones homocigotos para la mutación al morir durante el desarrollo embrionario. El tratamiento con ubiquinol durante dos generaciones ha permitido la obtención de ratones homocigotos fenotípicamente similares a los silvestres.

b) Moléculas derivadas al anillo aromático del coenzima Q₁₀. Recientes estudios han mostrado el uso de moléculas con estructuras similares al anillo aromático del COQ₁₀ para restaurar la síntesis de CoQ₁₀ (ácido vainillínico, 2,4 DHB). Hemos demostrado que el tratamiento de fibroblastos de pacientes con mutaciones en COQ7 con 2,4 DHB recupera los niveles de CoQ₁₀ y la función mitocondrial.

c) Identificación de moléculas en extractos naturales. Hemos diseñado un método de cribado de extractos naturales en colaboración con la fundación MEDINA de Granada. Este método permite identificar compuestos naturales que restauren la síntesis de CoQ en células que porten mutaciones en diversos genes implicados en la síntesis de CoQ. Este trabajo ha sido realizado en el modelo de levadura y los resultados se extrapolarán a modelos celulares de pacientes con deficiencia de CoQ₁₀.

csanoca@upo.es

P36 Producción de un Medicamento de Terapias Avanzadas para el tratamiento de Enfermedades Raras epiteliales a un coste asumible para el Sistema Nacional de Salud

Llames, S; Pevida, M; Martínez-Santamaría, L; Guerrero, S; Del Río, M; Meana, A

Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, Madrid

La producción de Medicamentos de Terapias Avanzadas (MTA) requiere la adopción de Normas de Correcta Fabricación (NCF) y unas instalaciones (sala blanca) de alto coste y mantenimiento. El laboratorio de Ingeniería Tisular del CCST (U714) lleva produciendo desde 1998 piel autóloga bioingenierizada para cobertura de grandes quemados y enfermedades raras de la piel. Junto con el CIEMAT en Madrid, ha desarrollado y patentado un modelo de piel artificial autóloga basada en plasma humano. Este modelo de piel ha sido empleado a lo largo de todos estos años en el tratamiento de quemaduras de segundo y tercer grado, úlceras cutáneas crónicas de distinta etiología, reconstrucciones de mucosa oral debidas a carcinomas epiteliales y a adenomas pleomórficos, tratamiento de anquiloglosia en casos de Microsomía Hemifacial, Epidermolisis Bullosa y Nevus Gigantes Congénitos. La regulación existente en estos momentos, no permite continuar con la producción de este medicamento, siendo económicamente muy difícil la financiación de una nueva unidad de producción convencional.

Objetivo: Este proyecto tiene como fin la puesta a punto de la producción de piel y otros MTA para el tratamiento de pacientes con distintas enfermedades raras epiteliales siguiendo las NCF, en una instalación no convencional de bajo coste (mini-sala blanca).

Metodología: Rediseñar el proceso de cultivo (obtención de células a partir de piel del paciente, cultivo y expansión de las mismas y generación de piel autóloga) para adaptarlo al interior de un aislador cumpliendo las NCF de la producción de medicamentos y a un coste asumible para el Sistema Nacional de Salud.

llamesccst@yahoo.es

P37 In vitro cell model to assay the activity of telomerase gene mutations in TERT and TERC found in spanish patients and the effect of GSE4 expression

Fernandez-Varas, B; Rodriguez-Centeno, J; Manguán-García, C; Guerrero, R; Arias-Salgado, E; Guenechea, G; Carrascoso, C; Bueren, J; Perona, R; Sastre, L

Grupo CIBERER: U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Otros grupos: CB06/07/0014

We have determined the mutations found in genes of telomerase complex in familiar pulmonary fibrosis patients that present telomere length between the 1st or 10th percentile of the control population. The functionality of some of these mutations was studied, including TERT: c.164T>A, c.193C>A, c.2092C>T, c.2240delT, c.2593C>T, c.3302C>T and TERC mutations: r.98G>A, r.325G>U, r.269G>A and r.96_97delCU. These mutations were generated by site directed mutagenesis in the pBABE-TERT/TERC vector. We evaluated the effect of these mutations on telomerase activity using the telomerase-negative cell line VA13. We found decreased telomerase activity by 80% in TERC mutants r.98G>A, r.325G>U and r.269G>A, 50% decrease for TERT mutation c.164T>A, and around 30% for c.2092C>T and c.2240delTmutants. Next, we studied the effect scramble or GSE4 peptides expression on the activity of some of the telomerase defective mutants. In general, we found that expression of GSE4 was able to induce a small increase in telomerase activity in VA13 cell expressing wild type TERT/TERC and in the c.3302C>T TERT mutant. No increase was detected for the other TERT or TERC mutants. 293T cells expressing scramble or GSE4 peptides were transfected with some of the telomerase defective mutants and found recovery of telomerase activity for the c.164T>A, c.2240delT and r.96_97delCU mutants. Type II alveolar cells RLE-6TN GSE4 were treated with increasing doses of the profibrotic agent bleomycin. We found that expression of GSE4 was able to decrease the DNA damage at all doses of bleomycin for most of the mutants and also decrease expression of the proinflammatory cytokine IL6.

rperona@iib.uam.es

P38 Ensayo clínico abierto, fase I para evaluar la seguridad y respuesta clínica preliminar del uso de células madre mesenquimales alogénicas de médula ósea en niños y adolescentes con adrenoleucodistrofia ligada a X

Cantarín Extremera, V; González Murillo, A; Melen, GJ; Fournier del Castillo, MC; Ruiz-Falcó, ML; Solís, I; Jimenez Legido, M; Ramírez, M; González Gutiérrez-Solana, L

Grupo CIBERER: GCV06 Servicio de Neurología Pediátrica, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Fundación para la Investigación Biomédica Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid

La adrenoleucodistrofia cerebral infantil (ALD-X) es una enfermedad genética ligada al cromosoma X con acúmulo de ácidos grasos de cadena muy larga. Conlleva desmielinización progresiva e inflamación cerebral. Sin tratamiento causa pérdida severa de la función neurológica y muerte en la primera década del diagnóstico. El trasplante alogénico idéntico compatible de células madre o la terapia génica, son las únicas opciones pero con estrictos criterios. La limitación de tratamientos curativos pediátricos lleva a investigar alternativas como las células madre mesenquimales (MSC), con propiedades inmunorreguladoras que pueden tener un papel en la patogenia de esta entidad.

Como experiencia propia contamos con un varón (13 años) con ADLX, sin otra opción de tratamiento, que ha recibido 3 infusiones intratecales, una cada 4 semanas a dosis de 50x10⁶ MSC, repitiéndose misma pauta al año siguiente. No ha presentado efectos secundarios, la resonancia magnética de control demostró ausencia de captación de gadolinio y a nivel neuropsicológico no ha habido deterioro.

Dado que esta terapia abre una esperanza a niños y familiares ante la posibilidad de ralentizar el deterioro natural de la enfermedad, se ha diseñado un estudio de factibilidad en fase abierta, rama única, no ciego para evaluar la seguridad y respuesta clínica de la administración de MSC vía intratecal en pacientes pediátricos con ADLX. Pendiente de los trámites de aprobación definitiva por la Agencia Española del Medicamento se ha iniciado el tratamiento, en forma de uso compasivo, de un nuevo paciente así como la continuación del previo.

veronica.cantarin@salud.madrid.org

