



XI Reunión Anual CIBERER

Libro de resúmenes

Castelldefels, Barcelona
12 - 14 de marzo de 2018



ciberer

CONTENIDO

PRESENTACIÓN	5
PROGRAMA	7
PROGRAMA DETALLADO	9
POSTERS	13
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	21
Sesión Orales, lunes 12, 15:30 – 17:30, Planta Baja	23
Sesión Orales, lunes 12, 15:30 – 17:30, 1ª Planta	27
Sesión Orales, martes 13, 10:00 – 11:30, Planta Baja	30
Sesión Orales, martes 13, 10:00 – 11:30, 1ª Planta	33
Sesión Orales, martes 13, 12:00 – 13:30, Planta Baja	36
Sesión Orales, miércoles 14, 08:30 – 11:00, Planta Baja	39
Sesión Orales, miércoles 14, 08:30 – 11:00, 1ª Planta	44
Sesión Orales, miércoles 14, 11:30 – 14:00, Planta Baja	49
POSTERS	55
Medicina Mitocondrial y Neuromuscular	55
Medicina Metabólica Hereditaria	58
Medicina Pediátrica y del Desarrollo	62
Medicina Genética	65
Cáncer Hereditario, Enfermedades Hematológicas y Dermatológicas	70
Medicina Endocrina	73
Patología Neurosensorial	75
NOTAS	79

PRESENTACIÓN

Estimados investigadores y compañeros,

Empezamos este año con un nuevo plan estratégico 2018-2021, que como no puede ser de otra forma está alineado con las prioridades marcadas por el Consorcio Internacional de Investigación en Enfermedades Raras (IRDiRC). Dicho plan está enfocado principalmente a resolver 2 aspectos prioritarios para 2027: diagnóstico de todas las ER y desarrollo de 1.000 terapias.

Nuestra investigación tiene un enfoque claramente traslacional, de búsqueda de diagnóstico y terapias para el mayor número posible de ER. Gracias a la incorporación de las tecnologías de secuenciación masiva en el análisis genético, hemos identificado los genes responsables de un gran número de ER. De este modo se han podido desarrollar nuevas aplicaciones y pruebas biológicas, que están implementándose masivamente en el diagnóstico prenatal y postnatal de las enfermedades genéticas. Para acelerar estos avances en la investigación genética es esencial que se ponga en marcha el Plan Nacional de Medicina Genómica sobre el que actualmente se está debatiendo en el Senado, para que de forma transversal pueda dar respuesta a las necesidades de diagnóstico que plantean las ER.

En el ámbito terapéutico, somos promotor de 6 medicamentos huérfanos en Europa, 4 de los cuales también han sido designados como tal en Estados Unidos. Además, trabajamos ya en ensayos clínicos en fases avanzadas para conseguir tratamientos con técnicas de vanguardia como la terapia génica.

Por último, aprovecho para resaltar el trabajo codo con codo con los afectados. Nuestro compromiso con FEDER y con el resto de organizaciones de afectados no solo no cesa, sino que trabajamos día a día para afianzarlo e incrementarlo en los próximos años. En este sentido hemos incluido a las asociaciones de pacientes en diversos órganos del CIBERER, tales como el Comité Científico Asesor Externo y el Consejo Asesor de Pacientes que os presentaremos en nuestra reunión.

Juntos, estamos avanzando y avanzaremos para cumplir con estos objetivos, que en gran parte, se presentarán en esta reunión a través de vuestras presentaciones. Sin más, agradeceremos a todos el trabajo que realizáis cada día en beneficio de las personas afectadas por ER.

Bienvenidos a la "XIª Reunión Anual del CIBER de Enfermedades Raras"



Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER

XI REUNIÓN ANUAL CIBERER

PROGRAMA

Lunes 12

- 12:30 – 13:30 **Reunión de Jefes de Grupo**
Entre 12:30 y 13:30 Recepción y acreditación de resto de asistentes
- 13:30 – 14:30 **Presentación general CIBERER**
- 14:30 – 15:30 **Almuerzo de bienvenida**
- 15:30 – 17:30 **Presentaciones de resultados I, 2 salas en paralelo**
Dos sesiones en paralelo con presentaciones de los proyectos en marcha y resultados más destacados
- 17:30 – 18:00 **Pausa café**
- 18:00 – 19:30 **Sesiones de Formación y Reuniones Informales**
- Sala Panta Baja: Presentación de MAPER**, mapa interactivo CIBERER de recursos de investigación y asistenciales que hay en España sobre ER
- Sala 1ª Planta: Taller PAI:** Oportunidades de financiación en enfermedades raras en el ámbito internacional.
- 20:30 **Cena**

Martes 13

- 9:00 – 10:00 **Reuniones de Pdl (Asistencia de todos, JdG y otros)**
- 10:00 – 11:30 **Presentaciones de resultados II**
Dos sesiones en paralelo con presentaciones de los proyectos en marcha y resultados más destacados
- 11:30 – 12:00 **Pausa café**
- 12:00 – 13:30 **Presentaciones de resultados III**
Sesión única con presentaciones de 6 proyectos
- 13:30 – 14:30 **MESA REDONDA: TERAPIAS**
- 14:30 – 15:45 **Almuerzo**
- 15:45 – 17:00 **MESA REDONDA: CIENCIA Y SOCIEDAD, COMUNICACIÓN DE LA CIENCIA**
- 17:00 – 18:00 **Presentaciones de resultados IV (Pósters)/Cafés**
- 18:00 – 19:30 **Sesiones de Formación y Reuniones Informales**
- Sala 1ª Planta: Taller Terapias:** Desarrollo de terapias en ER. Más allá de la Investigación
- Sala CALMA 4: Presentación de PALAM**, una plataforma gratuita, abierta y descentralizada, como repositorio pre-print Open Access
- 20:30 **Cena**

Miércoles 14

- 8:30 – 11:00 **Presentaciones de resultados V**
Dos sesiones en paralelo con presentaciones de los proyectos en marcha y resultados más destacados
- 11:00 – 11:30 **Pausa café**
- 11:30 – 14:00 **Presentaciones de resultados VI**
Sesión única con presentaciones de 10 proyectos
- 14:00 – 15:15 **MESA REDONDA DIAGNÓSTICO:** Proyectos colaborativos en Genética de las Enfermedades Raras y como acelerar el proceso diagnóstico
- 15:15 – 16:00 **Almuerzo de despedida**

PROGRAMA DETALLADO

Lunes 12

- 12:30 – 13:30 **Reunión de Jefes de Grupo**
Recepción y acreditación de resto de asistentes
- 13:30 – 14:30 **Presentación general CIBERER**
- 14:30 – 15:30 **Almuerzo de bienvenida**
- 15:30 – 17:30 **Presentaciones de resultados I, 2 salas en paralelo**
Dos sesiones en paralelo con presentaciones de los proyectos en marcha y resultados más destacados

SESIÓN ORALES, LUNES 12, 15:30 – 17:30, PLANTA BAJA

- 15:30 **Longitudinal Characterization of the McArdle Mouse Model**
Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitochondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona
Otros grupos: U762
- 15:45 **Análisis Metabólico Dirigido en Modelos Celulares y Animales.**
Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona
Otros grupos: U713, U722, U727, U729, U730, U731, U732, U750, U759
- 16:00 **Papel de IF1 en Patología Humana: Desarrollo de Modelos Animales**
Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 16:15 **Detección Mediante Técnicas de NGS de la Multiplicidad Alélica Asociada a CRISPR-Cas9 durante la Generación de Modelos Animales**
Grupo CIBERER: U728 Unidad de Genética Molecular, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U756
- 16:30 **Generación y análisis de nuevos modelos animales de albinismo mediante CRISPR**
Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid
Otros grupos: U728
- 16:45 **Generación y caracterización de modelos murinos de SHUa y C3G**
Grupo CIBERER: U738 Patología Molecular y Genética del Complemento, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid
- 17:00 **Diabetes mellitus and muscle weakness are independently associated with mortality in patients with Cushing's syndrome – Data from the ERCUSYN**
Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona
- 17:15 **Factores Determinantes de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud en Pacientes Adultos con Angioedema Hereditario por Déficit de C1 inhibidor**
Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

SESIÓN ORALES, LUNES 12, 15:30 – 17:30, 1ª PLANTA

- 15:30 **Laforin and malin, the proteins involved in Lafora disease, interact in the nucleus with the co-regulators of gene expression ILF2, ILF3, NONO and RBM14**
Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia
Otros grupos: U-742
- 15:45 **Characterization of a CLCN1 myotonia congenita mutation with a variable pattern of inheritance suggest a novel mechanism of dominant myotonia**
Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona
- 16:00 **Computational Simulation of the Dynamic Opening Process of Cohesin Ring. Structural Analysis of Pathogenic Variants Implicated in Cornelia de Lange Syndrome.**
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
- 16:15 **Regulated trafficking of the astrocytic glutamate transporter GLT-1 is altered in mouse models of Lafora disease**
Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia
- 16:30 **De la cianobacteria al paciente: Epilepsia B6-dependiente debida a mutaciones en la proteína COG0325 humanaPROSC**
Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia
- 16:45 **El déficit en la proteína similar a la mielina P0 tipo 2 causa hipoacusia prematura progresiva**
Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-UAM, Madrid
Otros grupos: U728
- 17:00 **Mechanism of Transport of a LAT Transporter. Model for Several Aminoacid Transport Defects**
Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona
- 17:15 **GlialCAM Structure-Function Studies: Molecular Basis of Dominance or Recessivity of GlialCAM Mutations and Insights into GlialCAM Configuration for Establishing Homophilic Interactions**
Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona

17:30 – 18:00 **Pausa café**

18:00 – 19:30 **Sesiones de Formación y Reuniones Informales**

Sala Panta Baja: Presentación de MAPER, mapa interactivo desarrollado por el CIBERER con información de los recursos de investigación y asistenciales que hay en España sobre ER. MAPER se compone de dos bases de datos relacionadas, la primera recoge la información de los proyectos de investigación y ensayos clínicos activos en España y la segunda los recursos más relevantes del Sistema Nacional de Salud tanto para la investigación como para la asistencia de las ER.

Sala 1ª Planta: Taller PAI: Oportunidades de financiación en enfermedades raras en el ámbito internacional.

Ponente: *Cristina Rodríguez*. Coordinadora Plataforma de Internacionalización CIBERER-CIBERES-CIBERBBN.

- Servicio de asesoramiento en redacción de propuestas.
- Últimas convocatorias H2020: 2019-2020,
- Nuevo programa FP9,
- Otras convocatorias internacionales

20:30 **Cena**

Martes 13

9:00 – 10:00 **Reuniones de Pdl (Asistencia de todos, JdG y otros)**

10:00 – 11:30 **Presentaciones de resultados II**

Dos sesiones en paralelo con presentaciones de los proyectos en marcha y resultados más destacados

SESIÓN ORALES, MARTES 13, 10:00 – 11:30, PLANTA BAJA

- 10:00 **Soluble Endoglin Regulates Expression of Angiogenesis-Related Proteins and Arteriovenous Malformations in a HHT Mouse Model**
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid
- 10:15 **Cirugía Fetoscópica para el Tratamiento Prenatal de la Espina Bífida**
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), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
- 10:30 **Patogenicidad del IFN-I y beneficio de Ruxolitinib en el tratamiento de la dermatomiositis**
Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona
- 10:45 **Disease severity modulators in Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa**
Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid
Otros grupos: U704
- 11:00 **Beneficios de un Programa Completo de Ejercicio en Enfermos Mitocondriales**
Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
- 11:15 **The effect of microRNAs in T-cell lymphoblastic lymphoma development through down-regulation of FBXW7 expression.**
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

SESIÓN ORALES, MARTES 13, 10:00 – 11:30, 1ª PLANTA

- 10:00 **Autophagic neuromyopathy caused by p.R140G Heat Shock Protein B1 (HSPB1) gene mutation**
Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital UiP La Fe, Valencia
- 10:15 **Decapping protein EDC4 regulates DNA repair and phenocopies BRCA1**
Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona
- 10:30 **Estudios de Nuevos Pathways Potencialmente Implicados en el Desarrollo de Cáncer Testicular Familiar**
Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid
- 10:45 **Mutaciones en Diferentes Genes que Regulan la Clorhidria Gástrica Explican desde Tumores Neuroendocrinos hasta Patologías Tirogástricas Autoinmunes.**
Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid
- 11:00 **Implicación de las histonas extracelulares en los mecanismos de disfunción y muerte endotelial. Uso de las histonas circulantes como biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de la sepsis**
Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultat de Medicina, Universitat de València, Valencia
Otros grupos: U721

- 11:15 **Why don't Corticotroph Tumours Always Produce Cushing Disease?**
Grupo CIBERER: GCV13 Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital General Universitario de Alicante, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica en la Comunitat Valenciana (FISABIO), Alicante
Otros grupos: GV15, GV14, U747

11:30 – 12:00 **Pausa café**

- 12:00 – 13:30 **Presentaciones de resultados III**
Sesión única con presentaciones de 6 proyectos

SESIÓN ORALES, MARTES 13, 12:00 – 13:30, PLANTA BAJA

- 12:00 **Determination of the Minimum Amount of Corrected Hematopoietic Stem Cells Needed to Compensate Pyruvate Kinase Deficiency Hematopoiesis**
Grupo CIBERER: U710 Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas CIEMAT, Madrid
- 12:15 **Pre-clinical trials in murine models for Williams-Beuren Syndrome**
Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona
- 12:30 **Potential New Treatment for Cystine Lithiasis**
Grupo CIBERER: U730 Centro de Genética Médica y Molecular CGMM, CGMM-IDIBELL Hospital Duran y Reynals, Fundación IDIBELL, Barcelona
- 12:45 **Terapia Génica para el Tratamiento de la Aciduria Glutárica Tipo I**
Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona
Otros grupos: U737
- 13:00 **Terapia de la Distrofia Muscular LGMD1fF mediante CRSPR/cas9**
Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital UiP La Fe, Valencia
Otros grupos: U701, U755
- 13:15 **Inhibición de la Vía del FGF (Fibroblast Growth Factor) como Terapia Antiangiogénica Tópica para Epistaxis en Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT)**
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

13:30 – 14:30 **Mesa Redonda: TERAPIAS**

Moderadores: Juan Bueren y Jordi Surrallés
Mabel Loza. USC-Fundación Kaertor. Acelerando la aplicación de la ciencia biomédica a nuevos medicamentos
Eduardo Tizzano. VHIR. Eficacia clínica de terapias avanzadas en la atrofia muscular espinal

14:30 – 15:45 **Almuerzo**

15:45 – 17:00 **Mesa Redonda:** Ciencia y Sociedad, comunicación de la ciencia

Coordina: Miquel Calvet, periodista científico
Participan: Lluís Montoliu (U756),
Javier Pérez Minguez (Director de la Fundación Ana Carolina Díez Mahou)
Michele Catanzaro (Periodista Científico)
Comunicar y divulgar es parte de nuestra misión como centro de investigación público. En esta mesa se debate el quién, cómo, dónde, cuándo y porqué de la divulgación de la investigación en enfermedades raras.

17:00 – 18:00 **Presentaciones de resultados IV (Pósters)/Cafés**

POSTERS

MEDICINA MITOCONDRIAL Y NEUROMUSCULAR

- 1. A Substantial Fraction of Mitochondrial dTTP and dGTP is Bound to Respiratory Chain Complex I**
Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona
- 2. Mutations in COQ8B Found in Patients with Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome Alter COQ8 Function**
Grupo CIBERER: U717 Departamento de Bioquímica, Laboratorio B19, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM, Facultad de Medicina UAM, Madrid
- 3. Consecuencias Inesperadas de las Mutaciones "Missense" en la Enfermedad de McArdle**
Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: GCV14/ER/8
- 4. Nueva Mutación en el tRNALys del DNA Mitocondrial en un Paciente con Lipomatosis**
Grupo CIBERER: U727 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza
- 5. El Precursor de la Síntesis de NAD+, NMN, Mejora la Bioenergética de Cíbridos Mutantes del mtDNA**
Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla
Otros grupos: U717, U727
- 6. Efecto de la Inhibición de MAPK en una Línea Celular de Rabdomyosarcoma: Modelo "in Vitro" de la Diferenciación Muscular**
Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona
- 7. Estudio de las Características de los Pacientes con Miositis por Cuerpos de Inclusión (Inclusion Body Myositis, IBM) en España. Registro de Miositis por Cuerpos de Inclusión (IBM)**
Grupo CIBERER: Proyecto transversal Registro Enfermedades Neuromusculares
- 8. Diseño y Puesta en Marcha de un Registro de Enfermedades Mitocondriales**
Grupo CIBERER: Acción transversal U703, U762, U723

MEDICINA METABÓLICA HEREDITARIA

- 9. Quantification of Urinary Derivatives of Phenylbutyric and Benzoic Acids by LC-MS/MS as Treatment Compliance Biomarkers in Urea Cycle Disorders**
Grupo CIBERER: GCV10 Unidad de Metabolismo, Hospital Universitario Cruces, BioCruces Health Research Institute, Bizkaia
- 10. Involvement of AGT1 in the Cystinuria Mouse Model Slc7a9**
Grupo CIBERER: U730 Centro de Genética Médica y Molecular CGMM, CGMM-IDIBELL Hospital Duran y Reynals, Fundación IDIBELL, Barcelona
- 11. Metabolic Dysfunction Drives Immune Complications in Lysinuric Protein Intolerance Mouse Model**
Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona
Otros grupos: U703
- 12. Bases de las Hiperamoniemias Primaria y Secundaria Asociadas a CPS1 y de su Tratamiento con Carbamilglutamato**
Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia
- 13. Búsqueda de Nuevos Síndromes en Pacientes no Diagnosticados con Trastornos Cromosómicos Raros**
Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga

- 14. Diagnosis of Mitochondrial Disorders: The Perspective of a Biochemical-Genetics Testing Laboratory**
Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 15. Salicylic Acid Derivatives Inhibit Oxalate Production in Mouse Hepatocytes with Primary Hyperoxaluria Type 1**
Grupo CIBERER U740. Fundación Canaria de Investigación Sanitaria (FUNCANIS)
- 16. Descripción de una Nueva Variante Asociada a Porfiria Cutánea Tarda**
Grupo CIBERER: U752 Grupo de estudio de enfermedad de Gaucher y neoplasias hematológicas. Servicio Hematología, Hospital Universitario "Miguel Servet", Instituto Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), Zaragoza
- 17. Efficacy of Network-Based Computational Strategies in the Diagnosis and Novel Gene Identification for Inherited White Matter Disorders**
Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL -Hospital Duran i Reynals, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Barcelona

MEDICINA PEDIÁTRICA Y DEL DESARROLLO

- 18. A Mouse Model for DYRK1A Haploinsufficiency Syndrome Presents Autistic-Like Behaviours, Epilepsy and Altered Brain Cytoarchitecture**
Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona
- 19. Congenital Hypoplasia of DAOM: Descriptive Epidemiology and Clinical Characteristics in the Spanish Series of Liveborn Infants Registered by ECEMC**
Grupo CIBERER: U724 Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas - CIAC, Centro mixto ISCIII - ASEREMAC, Madrid
- 20. Implementación y Aplicación de un Panel de Secuenciación Masiva para el Estudio Genético de las Anomalías de la Diferenciación Sexual**
Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U712
- 21. 2016 BBMRI-LPC WES Call: An Opportunity to Diagnose Six Unsolved Cases within Spain**
Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid
Otros grupos: U724
- 22. Epidemiology of Granulomatosis with Polyangiitis Mortality in Spain: Spatial and Temporal Dynamics**
Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid
- 23. Mutaciones en FAM46A en un Paciente con Osteogénesis Imperfecta**
Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid
Otros grupos: U753

MEDICINA GENÉTICA

- 24. LUCAT1 Alters Cell Proliferation and Invasion on Papillary Thyroid Cancer through Transcriptional Regulation**
Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud en Sevilla, Sevilla
- 25. Relevance Of CYP3A4*20, UGT1A1*37 and UGT1A1*28 Variants in Irinotecan-Induced Severe Toxicity**
Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona
- 26. ICI118,551, a β 2 Blocker with Antiangiogenic and Apoptotic Properties, as a Promising Tool for the Treatment of Von Hippel-Lindau (VHL) Syndrome**
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

- 27. Hailey-Hailey Disease and Papular Acantholytic Dyskeratosis of Genitoperineal Area: Unusual Manifestation of the Same Entity?**
Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña
- 28. Contribución del BIER al Reanálisis de las Cohortes EnoD**
Grupo CIBERER U715 Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla
- 29. New Insights on the Role of Laforin and Malin in the Cell Nucleus**
Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia
Otros grupos: U742
- 30. Preclinical Study of a Novel Indole-Derived AMPK Activator in a Mouse Model of Lafora Disease (Epm2b-/-)**
Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia
- 31. Estudios de MRI y FDG-PET en el Modelo Epm2b-/- de la Enfermedad de Lafora**
Grupo CIBERER: U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- 32. Complemento Intracelular: Estudios Moleculares y Celulares en Pacientes con Deficiencia Congénita y Adquirida de C3**
Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U738
- 33. Papel de la Glicosilación en la Función y Niveles Plasmáticos del FXII. Información de Pacientes con Trastorno de Glicosilación Congénita (CDG)**
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: U703; CB06/07/1033

CÁNCER HEREDITARIO, ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS Y DERMATOLÓGICAS

- 34. Regulated CD18 Expression in Hematopoietic Stem Cells for the Treatment of Leukocyte Adhesion Deficiency Type I (LAD-I)**
Grupo CIBERER: U710 Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas CIEMAT, Madrid.
- 35. Development and Characterization of *in Vitro* and *in Vivo* Models Resembling Netherton Syndrome. Looking for Possible Therapeutic Approaches**
Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid
- 36. From Whole Exome Analysis in Idiopathic Azoospermia to the Identification of a High Risk Subgroup for Occult Fanconi Anemia**
Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona
- 37. Detection of Fusion-Transcripts as New Biomarkers for T-Cell Lymphoblastic Lymphomas by Using RNA-Seq**
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 38. Potential Use of GSE4 Peptide to Restore Cell Viability, Increase Telomerase Activity and Telomere Length, Decrease Oxidative Telomere Lesions in Ataxia Telangiectasia Patient Cells**
Grupo CIBERER: U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid
Otros grupos: U706 y U710

MEDICINA ENDOCRINA

- 39. Hypermethylation of Tumour Suppressor Genes in Pituitary Tumours: Contribution to Oncogenesis and Tumour Behaviour**
Grupo CIBERER: GCV13 Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital General Universitario de Alicante, Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica en la Comunidad Valenciana (FISABIO), Alicante
- 40. Análogos de Hormonas Tiroideas con Acciones Tiromiméticas en el Sistema Nervioso Central en Condiciones de Deficiencia del Transportador de Monocarboxilatos Mct8**
Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid
- 41. Estudio Funcional de Alteraciones Noveles en el Gen NR5A1 en Pacientes con Anomalías de la Diferenciación Sexual**
Grupo CIBERER: U725A Asociación Instituto de Investigación Sanitaria de Biocruces, Bilbao
- 42. Crecimiento Puberal de Acuerdo con la Edad de Inicio del Brote de Crecimiento Puberal e Índice de Masa Corporal (IMC). Patrones de Referencia (Nacimiento-Talla Adulta) Procedentes de 743 Mujeres y 710 Varones. "Estudio Longitudinal de Crecimiento en Población Sana y no Obesa. Barcelona 1995-2017"**
Grupo CIBERER: U712 Servicio de Pediatría, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Institut Català de la Salut, Barcelona
- 43. Comparison of Psychopathology in Cushing's Disease and Acromegaly**
Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología., Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

PATOLOGÍA NEUROSENSORIAL

- 44. Genotype-Phenotype Correlation in Patients with PROM1 Mutations.**
Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- 45. The Effect of Stress in the Retinal Cells of a Cerkl Mouse Model Generated by CRISPR/Cas9**
Grupo CIBERER: U718 Genètica Molecular Humana, Departament de Genètica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona
- 46. Glioma Óptico en la Neurofibromatosis Tipo 1: Estudios Genéticos para la Identificación de Biomarcadores de Susceptibilidad y de Pronóstico**
Grupo CIBERER: U728 Unidad de Genética Molecular, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
- 47. sir-2.3/SIRT4 Modula la Agregación de Proteínas con Poliglutaminas en C. elegans**
Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia
- 48. Actualización de la Iniciativa de Diagnóstico Genético de Albinismo**
Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid
Otros grupos: U711 y U704
- 49. Generación de un Modelo Celular del Déficit Humano en IGF-1 Mediante Edición Génica con CRISPR/Cas9**
Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-UAM, Madrid
Otros grupos: U756

18:00 – 19:30 Sesiones de Formación y Reuniones Informales

DESARROLLO DE TERAPIAS

Sala 1ª Planta: Taller Terapias: Desarrollo de terapias en ER. Más allá de la Investigación
Ponentes: Juan Luque(CIBERER)

Luzma García (CIBER)
Oriol Penon (Asphalion)
Stuart Medina (Metasbio)

Aspectos transversales para el desarrollo de una terapia en humanos. Orientado a investigadores que están desarrollando investigación básica y/o preclínica con potencial aplicación terapéutica. En concreto se centrará en tres ejes fundamentales, i) transferencia de tecnología ii) aspectos regulatorios y iii) perspectiva del inversor y desarrollo de negocio

Sala Calma 4: Presentación de PALAM, una plataforma gratuita, abierta y descentralizada, que combinará las ventajas de un repositorio pre-print con las de un Open Access Journal. Pretende soslayar los fallos y vicios del sistema de publicación en revistas científicas. PALAM propone un cambio en la forma en la que el conocimiento científico es publicado, validado y difundido.

20:30 Cena

Miércoles 14

8:30 – 11:00 Presentaciones de resultados V

Dos sesiones en paralelo con presentaciones de los proyectos en marcha y resultados más destacados

SESIÓN ORALES, MIÉRCOLES 14, 08:30 – 11:00, PLANTA BAJA

- 8:30 **Evaluación de Diferentes Estrategias para el Cribaje Retrospectivo de Déficit de Lipasa Ácida Lisosomal**
Grupo CIBERER: U752 Grupo de estudio de enfermedad de Gaucher y neoplasias hematológicas. Servicio Hematología, Hospital Universitario "Miguel Servet", Instituto Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), Zaragoza
- 8:45 **Fenotipos solapantes debidos a variantes deletéreas en KAT6B, ¿qué los define?**
Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña
- 9:00 **Estudio de variantes en genes lisosomales en pacientes afectos de enfermedad de Parkinson**
Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
- 9:15 **Diagnóstico Molecular de la Discinesia Celular Primaria. Estudio Familiar**
Grupo CIBERER: U712 Crecimiento y Desarrollo, Institut de Recerca Vall d'Hebron - Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut Català de la Salut, Barcelona
- 9:30 **Estudio Clínico y Molecular de una Serie de 35 Pacientes con Síndrome 5p -**
Grupo CIBERER: U724 Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas - CIAC, Centro mixto ISCIII - ASEREMAC, Madrid
- 9:45 **OTO-NGS-v2: Una Herramienta Basada en NGS para el Diagnóstico Integral de Sordera Genética**
Grupo CIBERER: U728 Unidad de Genética Molecular, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
- 10:00 **Identification and Functional Characterization of non-coding Variants that Activate Exonic Cryptic-Splicing Sites in PAX6 as Cause of Aniridia**
Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- 10:15 **Mutación p.Ala684Val en el Gen WFS1: ¿Síndrome de Wolfram?**
Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

- 10:30 **Generalized Lymphatic Anomaly Is Caused By Somatic Activating PIK3CA Mutations**
Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
- 10:45 **Implicación de Variantes en el DNA Mitocondrial en el Desarrollo de FXTAS**
Grupo CIBERER: U726 Grupo de Investigación en Genética de Enfermedades Raras (GICER), Hospital Clínic GICER (Servicio de Bioquímica y Genética Molecular), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
Otros grupos: U701 y GCV04

SESIÓN ORALES, MIÉRCOLES 14, 08:30 – 11:00, 1ª PLANTA

- 8:30 **De novo mutations in SLC25A24 cause Fontaine syndrome, a disorder characterized by early aging, bone dysplasia and characteristic face, and are associated with defective mitochondrial function**
Grupo CIBERER: U743: Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO) CSIC-UAM, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 8:45 **El Transcriptoma durante el Desarrollo Embrionario Predice la Patogénesis de la Deficiencia en Coenzima Q10.**
Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla
- 9:00 **La inactivación de GLI1 causa alteraciones del desarrollo solapantes con el Síndrome de Ellis-van Creveld**
Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid
Otros grupos: U753
- 9:15 **La Enfermedad anti-IgLON5, ¿Autoinmune o Neurodegenerativa?**
Grupo CIBERER: U764 Servicio de Neurología, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
- 9:30 **Redox-dependant mitochondrial dynamics imbalance in X-linked Adrenoleukodystrophy**
Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL -Hospital Duran i Reynals, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Barcelona
- 9:45 **Mitochondrial dysfunction, bioenergetic deficit and abnormal Ca²⁺ homeostasis in cultured neurons from Gdap1 KO model of Charcot-Marie-Tooth disease**
Grupo CIBERER: U732 Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona
Otros grupos: U743
- 10:00 **Análisis Transcriptómico y de Función Mitocondrial y Autofágica en Fibroblastos de Pacientes con Enfermedad de Parkinson por Mutación en Parkina**
Grupo CIBERER: U722 Grupo de Investigación Muscular y Función Mitocondrial, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
Otros grupos: U703 y Equipo Trastornos del Movimiento y Enfermedad de Parkinson HCB (CIBERNED)
- 10:15 **Disminución en la carga de mutación del mtDNA paralela a la recuperación visual de un paciente LHON**
Grupo CIBERER: U727 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza
Otros grupos: U703
- 10:30 **Desregulación de la dinámica de la actina en los conos de crecimiento de neuronas deficientes en frataxina del ratón YG8R.**
Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultat de Medicina, Universitat de València, Valencia
Otros grupos: U732

- 10:45 **Caracterización de las bases fisiopatológicas de la enfermedad mitocondrial causada por mutaciones en TIMM50**
Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
Otros grupos: U716, U722, U723

11:00 – 11:30 **Pausa café**

11:30 – 14:00 **Presentaciones de resultados VI**
Sesión única con presentaciones de 10 proyectos

SESIÓN ORALES, MIÉRCOLES 14, 11:30 – 14:00, PLANTA BAJA

- 11:30 **Avances y Propuestas para un Sistema Compartido de Gestión de Datos Genómicos para el Diagnóstico y el Descubrimiento de Genes de Enfermedad**
Grupo CIBERER: U715 Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla
- 11:45 **Contribution of the 14-3-3 Gene Family to Autism Spectrum Disorder**
Grupo CIBERER: U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona, Barcelona
- 12:00 **Autosomal dominant Kidd-null blood group with mood disorders is associated to a Zinc-Finger deletion at ZNF850**
Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona
- 12:15 **Progress in the genetic diagnosis of inherited retinal dystrophies**
Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia
- 12:30 **Identification of a new mechanism of antithrombin deficiency hardly detected by current methods: Duplication of SERPINC1 exon 6.**
Grupo CIBERER: U765, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia
- 12:45 **Aplicaciones de la medicina de sistemas al diagnóstico genético y en la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas en EERR**
Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga
- 13:00 **Next Generation Sequencing in Bone Marrow Failure Syndromes**
Grupo CIBERER: GCV19, Hospital Niño Jesús, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
- 13:15 **miRNA analysis provides new insights into propionic acidemia related cardiomyopathy**
Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 13:30 **Análisis de enfermedades raras con base genética mediante el uso de predictores**
Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga
- 13:45 **NeuroPaisaje, genómica clínica y funcional de enfermedades no-diagnosticadas neurológicas**
Grupo CIBERER: U732 Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona
Otros grupos: U703

14:00 – 15:15 **MESA REDONDA DIAGNÓSTICO:** Proyectos colaborativos en Genética de las Enfermedades Raras y como acelerar el proceso diagnóstico

Presentaciones preliminares de Proyectos Transversales de Diagnóstico

Programa CIBERER para Casos Clínicos de Enfermedades Raras sin Diagnóstico Molecular Cerrado (ENoD)

Grupo CIBERER: Proyecto transversal CIBERER

Caracterización y Contribución al Diagnóstico Genético de una Cohorte de Pacientes con Discapacidad Intelectual, Autismo y/o Epilepsia: Proyecto Cohortes

Grupo CIBERER: GCV01, GCV02, GCV03, GCV04, U715, U726, U35 y U753

Ponentes Mesa redonda: *Montserrat Milà (U726),*

Francesc Palau (U732),

Carmen Ayuso (U704)

Pablo Lapunzina (U753)

Encarna Guillén (GCV01)

15:15 – 16:00 **Almuerzo de despedida**

Actividades CIBERER
Presentación de resultados

SESIÓN ORALES, LUNES 12, 15:30 – 17:30, PLANTA BAJA

Longitudinal Characterization of the McArdle Mouse Model

Real A, Brull A, de Luna N, Huerta J, Tarraso G, Martí R, Krag TO, Vissing J and Pinós T
Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona
Otros grupos: U762

McArdle disease (glycogenosis type V) is an autosomic recessive disorder caused by pathogenic mutations in the PYGM gene. Patients typically experience exercise intolerance in the form of acute crisis of early fatigue, muscle stiffness and contractures, sometimes accompanied by rhabdomyolysis and myoglobinuria. In 2012 our group developed a McArdle mouse model which faithfully reproduced the disease phenotype found in patients. Since the first report describing the mouse model, several studies have biochemically, molecularly and physiologically characterized it, although most of them focused just in one muscle or one specific age. Here we present the first longitudinal study performed in the McArdle mouse model analyzing how aging affects the progression of the disease in different skeletal muscles as well as the liver. In order to do so, we have histologically and molecularly characterized 4 glycolytic muscles (gastrocnemius, extensor digitorum longus, tibialis anterior and quadriceps), 1 oxidative muscle (soleus) as well as the liver in mice of 8 (young), 35 (adult) and 70 (old) weeks of age. During the aging process we have observed the following:

1. McA mice presents higher mortality during the entire life span
2. -McA mice significantly decreases its body weight
3. This decrease correlates with a clear reduction in abdominal fat
4. Soleus is more severely affected by aging than the other muscles analyzed
5. All muscles analyzed present a higher fibrosis and inflammatory response.
6. In TA and quadriceps, but not in gastrocnemius, there is a reduction in glycogen levels of 70 week mice versus the 8 week mice.

tomas.pinos@vhir.org

Análisis Metabólico Dirigido en Modelos Celulares y Animales

Mercedes Casado, Aida Ormazabal, Cristina Sierra, Francesc Palau, Raquel Montero, Rafael Artuch.
Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona
Otros grupos: U713, U722, U727, U729, U730, U731, U732, U750, U759

Introducción y objetivos: presentamos la plataforma de análisis metabólico dirigido disponible en nuestro laboratorio para su aplicación en la fenotipación de modelos celulares y animales. La idea ha sido aplicar los mismos procedimientos analíticos que se emplean para los análisis en pacientes para el fenotipado de los modelos celulares y animales.

Material y métodos: la plataforma consiste en sistemas de HPLC con diferentes tipos de detección (fluorescencia, electroquímica, de masas-masas), de cromatografía de gases con espectrometría de masas y de espectrometría de masas acoplada a fuente de plasma para la cuantificación de metabolitos (metabolismo intermediario y energético mitocondrial), vitaminas y elementos traza. Además, los sistemas automatizados de análisis de los laboratorios clínicos pueden ser de utilidad para este tipo de actividades. Todos estos procedimientos están acreditados por ENAC (norma ISO 15189), lo que supone el grado máximo de competencia técnica que se exige a los laboratorios clínicos de nuestro país.

Resultados: Presentaremos la plataforma de HPLC-MS/MS y de CG.MS con dos ejemplos de su aplicación de modelos animales (fenotipación de modelos murinos con defectos del transporte de aminoácidos, y de un modelo celular). Se comentarán además las colaboraciones en curso.

Conclusiones: La aplicación de procedimientos analíticos acreditados confiere a los estudios de fenotipación de modelos celulares y animales una fiabilidad y precisión similares a los que se aplican en los procedimientos diagnósticos del laboratorio clínico.

rantuch@hsjdbcn.org

Papel de IF1 en Patología Humana: Desarrollo de Modelos Animales

Santacatterina, F. - Formentini, L. - Esparza-Moltó, P.B. - Núñez de Arenas Flores, C. - Nuevo-Tapióles, C. - González-Llorente, L. - García-Aguilar, A. - Torresano, L. - Domínguez Zorita, S. - Sánchez González, C. - Cuezva, J.M.
Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

La mitocondria juega un papel fundamental en la fisiología celular, ya que produce la mayor parte del ATP celular por fosforilación oxidativa, es responsable de la ejecución de la muerte programada, de la señalización por calcio y por especies reactivas de oxígeno (ROS). Por tanto, las disfunciones mitocondriales son protagonistas de un número creciente de enfermedades etiológica y fenotípicamente muy diversas.

La ATP sintasa es el motor molecular responsable de la fosforilación oxidativa y su actividad está finamente regulada, entre otros mecanismos, por los niveles de expresión de su inhibidor fisiológico, el Factor Inhibidor 1 de la ATPasa (IF1).

En este trabajo se describe el desarrollo y caracterización de modelos animales que sobreexpresan IF1 humano o su forma mutante H49K de forma tejida específica. Estos modelos de interferencia con la actividad mitocondrial han permitido poner de manifiesto *in vivo* el papel clave de la OXPHOS como reguladora de la reprogramación metabólica del cáncer en hígado, de protección frente a muerte programada causada por un daño tóxico en neurona y en hígado, y frente a la inflamación en colon, trazando un hilo conductor entre el papel de la ATP sintasa y la respuesta inmune.

Así mismo, hemos generado ratones *Knock-out* de IF1 en neuronas hipocámpales y en colon. Estos ratones proporcionarán una herramienta experimental muy útil para investigar la potencial relevancia de la actividad OXPHOS en enfermedades neurológicas e intestinales, y profundizar en el conocimiento sobre el estrecho vínculo entre metabolismo energético y sistema inmune en las enfermedades inflamatorias intestinales.

fsantacatterina@cbm.csic.es

Detección Mediante Técnicas de NGS de la Multiplicidad Alélica Asociada a CRISPR-Cas9 durante la Generación de Modelos Animales

Morín, M; Fernández, A; Barca, V; Josa, S; del Castillo, I; Cantero, M; Montoliu, L; Moreno-Pelayo, MA
Grupo CIBERER: U728 Unidad de Genética Molecular, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U756

La detección de variantes alélicas presentes en bajas frecuencias es de enorme importancia en el pronóstico, diagnóstico y evolución de pacientes con algunas enfermedades raras y también a la hora de seleccionar los ratones fundadores editados genéticamente mediante CRISPR-Cas9. Hasta el día de hoy las técnicas empleadas para ello se basaban en PCR, clonación de productos de PCR y secuenciación Sanger y presentaban enormes limitaciones, de modo que en la mayoría de las ocasiones no se era capaz de detectar alelos que no tuviesen una fracción alélica mayor del 15-20%. En nuestro laboratorio hemos desarrollado un método basado en secuenciación masiva (NGS) que permite analizar con precisión la multiplicidad alélica generada tras cualquier experimento de edición genética utilizando CRISPR. Esta metodología ha sido aplicada con éxito para la selección de ratones knock-in fundadores generados por CRISPR-Cas9 que son portadores de la mutación c.200_202del (p.His67_Cys68delinsArg) en KITL responsable de hipoacusia unilateral autosómica dominante en humanos. Aquí demostramos como las técnicas clásicas de screening (PCR-digestión enzimática) son altamente ineficientes a la hora de seleccionar los ratones fundadores en los que la mutación está presente en línea germinal. Sin embargo nuestro método basado en NGS permite detectar alelos con una frecuencia alélica incluso menor al 1%, lo que ha posibilitado rescatar ratones fundadores que transmiten la mutación c.200_202del en KITL y que habían sido descartados en base al screening clásico. Esta metodología también se ha aplicado con éxito para el screening de modelos animales de albinismo con mutaciones en OCA2.

mopelayo@hotmail.com

Generación y análisis de nuevos modelos animales de albinismo mediante CRISPR

Muñoz D, Fernandez A, Josa S, Montero A, Rubio M, Cantero M, Fernandez J, Morin M, Moreno-Pelayo MA, Montoliu L
Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid
Otros grupos: U728

Las herramientas CRISPR de edición génica nos permiten generar modelos celulares y animales más precisos e ilustrativos de las correspondientes mutaciones genéticamente diagnosticadas en los pacientes. En nuestro laboratorio hemos utilizado la tecnología CRISPR para desarrollar múltiples modelos avatares en ratón de albinismo. Modelos animales en los cuales las mutaciones utilizadas son las que previamente hemos diagnosticado o han sido descritas para pacientes determinados. A los ratones portadores de esas mutaciones específicas les denominamos ratones avatar. Hoy en día conocemos 20 genes cuyas mutaciones están asociadas a algún tipo de albinismo, una condición genética poco frecuente caracterizada por anomalías visuales muy discapacitantes, que pueden aparecer, o no, simultáneamente con deficiencias en la pigmentación en la piel, ojos y pelo, con gran variabilidad en el fenotipo pero con un denominador común de agudeza visual muy limitada (habitualmente inferior al 10%). Utilizando las herramientas CRISPR y la tecnología desarrollada en el laboratorio (programa de diseño de guías Breaking-Cas, validación *in vitro* y utilización de ribonucleoproteínas-RNPs) hemos generado mutaciones en diversos genes asociados a varios tipos de albinismo, en particular los tipos oculo-cutáneos OCA1, OCA2, OCA4, OCA5, OCA6 y OCA7, además de inactivar otros genes relacionados que han sido recientemente vinculados al albinismo. En colaboración con la U728 hemos desarrollado un sistema muy eficiente para analizar el grado de mosaicismos genéticos y la diversidad alélica de los ratones editados fundadores. En esta presentación actualizaremos el proyecto de generación y análisis de los diversos nuevos modelos animales de albinismo generados mediante tecnología CRISPR.

dmunoz@cnb.csic.es

Generación y caracterización de modelos murinos de SHUa y C3G

Subías, M., de Juana López, L., Tissières, V., López-Ríos, J. Rodríguez de Córdoba, S.
Grupo CIBERER: U738 Patología Molecular y Genética del Complemento, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

Recientemente hemos descrito la existencia de una correlación genotipo-fenotipo en la que se muestra que determinadas mutaciones en el gen de C3 se asocian específicamente con Síndrome Hemolítico Urémico atípico (SHUa) o con Glomerulopatía C3 (C3G). La caracterización funcional de estas mutaciones nos está permitiendo avanzar en el conocimiento de sus mecanismos patogénicos. Para profundizar en este conocimiento y facilitar el desarrollo de terapias, hemos generado modelos murinos que tratan de replicar estas correlaciones genotipo-fenotipo que caracterizan a estas enfermedades. Para ello, hemos seleccionado dos mutaciones en C3 asociadas a patología. La mutación I1157T, que se asocia exclusivamente con SHUa, y la mutación D923_G924del, que es una de las dos únicas mutaciones descritas hasta el momento asociadas exclusivamente con C3G. Para la generación de ambos modelos hemos seguido dos estrategias diferentes empleando la técnica de CRISPR/Cas9. La primera de ellas consistió en editar el gen de C3 en líneas ES murinas que fueron posteriormente inyectadas en blastocistos para generar ratones quimeras, y la segunda en la electroporación de embriones de ratón que se trasplantaron a hembras pseudopreñadas. Los ratones fundadores fueron retrocruzados con ratones C57BL/6 para establecer las líneas modificadas genéticamente. Presentaremos la caracterización fenotípica inicial de ambos modelos.

m.subias@cib.csic.es

Diabetes mellitus and muscle weakness are independently associated with mortality in patients with Cushing's syndrome – Data from the ERCUSYN

Valassi E, Ragnarsson O, Santos A, Hanzu F, Halperin I, Webb S
Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología., Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

We analysed 1514 patients included in the European Registry on Cushing's syndrome (CS) (ERCUSYN) to establish causes of death and factors associated with increased mortality.

Fifty-one patients died (3.3%), most of whom had ectopic CS (ECT-CS) (20%). Infections were the commonest causes of death (22%). The median (range) time from diagnosis to death was 9 (3.6-48) weeks in ECT-CS vs. 67 (11-203) weeks in non ECT-CS patients (P=0.007). Patients who died had a higher prevalence of diabetes mellitus (59 versus 35%; P=0.001) and muscle weakness (86 versus 69%; P=0.012) at diagnosis. By regression analysis, age [Odds ratio (OR) 1.05 (95% CI 1.02-1.07); P<0.001], diabetes mellitus [OR 2.14 (95% CI 1.07-4.27); P=0.030], and muscle weakness [OR 2.5 (95% CI 1.01-6.15); P=0.045] were significantly associated with mortality.

Of 51 deceased patients, 23 (45%) died within 90 days from start of treatment and 3 (6%) before any treatment initiation. Two-thirds of patients who died within 90 days from start of treatment had diabetes mellitus vs. 35% in the whole ERCUSYN cohort (P=0.001). By regression analysis, age [OR 1.06 (95% CI 1.03-1.10); P<0.001] and diabetes mellitus [OR 2.9 (95% CI 1.1-7.2); P=0.025] were independently associated with early death.

In conclusion, older age, muscle weakness and diabetes mellitus were independently associated with increased mortality, regardless of etiology. Infectious diseases were the commonest cause of death soon after diagnosis and initiation of treatment, and patients with diabetes mellitus seem to be especially vulnerable, emphasizing the need for careful clinical vigilance at that time.

EValassi@santpau.cat

Factores Determinantes de la Calidad de Vida Relacionada con la Salud en Pacientes Adultos con Angioedema Hereditario por Déficit de C1 inhibidor

Caballero T, Lluncor M, Lamacchia D, Hernanz A, Pedrosa M, Alvez A, Cabañas R, Prior N.
Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Introducción: La calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) está afectada en pacientes con angioedema hereditario por déficit de C1-inhibidor (AEH-C1-INH). El propósito de este trabajo es estudiar los factores determinantes de la CVRS en pacientes adultos con AEH-C1-INH.

Métodos: Se incluyeron pacientes españoles mayores de 18 años con AEH-C1-INH. Se recogieron datos demográficos y clínicos. La CVRS fue medida mediante HAE-QoL, AE-QoL y EQ5D. Este estudio fue aprobado por el CEIC (PI-2297). Se realizó un análisis estadístico univariante.

Resultados: Se incluyeron 56 pacientes (tasa de no respuesta 8,2%; edad promedio 46,7±14,0 años; mujeres 58,9%). La puntuación promedio del HAE-QoL fue 102,9±24,4, del AE-QoL 33,0±22,7 y del EQ5D 0,86±0,17.

La CVRS estuvo más afectada en mujeres que en hombres [HAE-QoL (99,3±26,8 vs 107,8±20,3, n.s.), AE-QoL (37,7±23,5 vs 27,5±20,6, n.s.), EQ5D (0,82±0,20 vs 0,91±0,10, p=0,046)], en pacientes que tuvieron episodios de angioedema en los últimos 6 meses [HAE-QoL (98,40±23,58 vs 118,64±21,56, p<0,01), AE-QoL (16,52±18,27 vs 37,41±21,20, p<0,01); EQ5D (0,84±0,17 vs 0,93±0,08, n.s.)] y en pacientes en tratamiento con profilaxis a largo plazo [HAE-QoL (91,3±25,4 vs 110,4±21,4, p<0,01), AE-QoL (40,9±23,6 vs 27,3±20,8, p=0,0298), EQ5D (0,76±0,22 vs 0,92±0,09, p<0,001)].

No se encontraron diferencias significativas en la CVRS respecto a edad, índice de masa corporal, antecedentes familiares de AEH-C1-INH o en aquellos con antecedentes familiares de muerte por asfixia.

Conclusiones: La CVRS en pacientes adultos españoles con AEH-C1-INH es menor en mujeres, en pacientes que hayan presentado episodios de angioedema en los últimos 6 meses y en aquellos en tratamiento con profilaxis a largo plazo.

mteresa.caballero@idipaz.es

SESIÓN ORALES, LUNES 12, 15:30 – 17:30, 1ª PLANTA**Laforin and Malin, the Proteins Involved in Lafora Disease, Interact in the Nucleus with the Co-Regulators of Gene Expression ILF2, ILF3, NONO and RBM14**

Fathinajafabadi A., Lahuerta M., Rubio M.P., Knecht E., Sanz P., Aguado C.
Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia
Otros grupos: U-742

Lafora progressive myoclonus epilepsy is a genetic neurodegenerative disease caused by mutations in EPM2A and EPM2B genes. The two encoded proteins (laforin, a glucan phosphatase, and malin, an E3 ubiquitin-protein ligase) form a functional complex. Despite many studies the function of this complex in Lafora disease is still unknown.

We show that laforin-malin interaction mainly occurs in the cell nucleus. Proteomic analysis of laforin interacting proteins revealed several nuclear co-regulators and splicing factors involved in transcriptional/post-transcriptional regulation. By pull down, we have demonstrated that the laforin-malin complex interacts with ILF2, ILF3, NONO and RBM14 and that laforin enhances the interaction of malin with them. Using a phosphatase mutant of laforin (C266S-laforin) we have found that the laforin phosphatase activity is important for its nuclear localization and for the interaction with those factors. A mutant of laforin that prevents AMPK dependent phosphorylation (S25A-laforin) accumulates in the nucleus and interacts with ILF2, ILF3, NONO and RBM14 more than WT laforin. Moreover, a phosphomimetic mutant of laforin (S25D-laforin) is absent from the nucleus. These data suggest that laforin phosphorylation by AMPK regulates its nuclear localization. The co-localization in the nucleus of ILF2 and RBM14 with the laforin-malin complex occurs in structures that are enriched in poly-ubiquitinated proteins and without p62 protein or proteasome subunits.

This suggests that ILF2 and RBM14 are poly-ubiquitinated by the laforin-malin complex in the nucleus and that this polyubiquitination process has no degradative purposes, probably having a role in the control of gene expression.

caguado@cipf.es

Characterization of a CLCN1 myotonia congenita mutation with a variable pattern of inheritance suggest a novel mechanism of dominant myotonia

Héctor Gaitán-Peñas^{1,2}, Mercedes Armand-Ugón¹, Alfons Macaya³, Raúl Estévez^{1,2,*}
Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona

Mutations in CLCN1 cause recessive or dominant forms of myotonia congenita (MC). Some mutations have been found to exhibit both patterns of inheritance. Here, we have identified and characterized a missense mutation, A493E, in a family with dominant MC. However, this mutation was already reported to be recessive in another MC patients. Expressed in *Xenopus* oocytes, p.A493E showed no significant activity due to reduced total and plasma membrane (PM) protein levels, although the mutant variant retained the capacity to interact with the wild-type protein. By differently tagging CLC-1, we engineered high (H) and low (L) expression variants. Co-expression with p.A493E reduced the activity and PM levels of the L variant, whereas no effect was observed in the H variant. Our results suggest that the dominant effect of some CLCN1 mutations showing recessive or dominant behaviour may be due to a dose-dependent defect in PM delivery of the wild-type channel.

hektorgp@hotmail.com

Computational Simulation of the Dynamic Opening Process of Cohesin Ring. Structural Analysis of Pathogenic Variants Implicated in Cornelia de Lange Syndrome

Marcos-Alcalde I; Puisac B, Gil-Rodríguez MC, Antoñanzas R, Woods-Alonso D, Ramos FJ, Pié J, Gómez-Puertas P*
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

The cohesin ring is a protein complex composed of four core subunits: Smc1A, Smc3, Rad21 and Stag1/2. It is involved in chromosome segregation, DNA repair, chromatin organization and transcription regulation. Opening of the ring occurs at the "head" structure, formed of the ATPase domains of Smc1A and Smc3 and Rad21. We investigate the mechanisms of the cohesin ring opening using techniques of free molecular dynamics (MD), steered MD and quantum mechanics/molecular mechanics MD (QM/MM MD). The study allows the thorough analysis of the opening events at the atomic scale: i) ATP hydrolysis at the Smc1A site, evaluating the role of the carboxy-terminal domain of Rad21 in the process; ii) the activation of the Smc3 site potentially mediated by the movement of specific amino acids; and iii) opening of the head domains after the two ATP hydrolysis events. Our study suggests that the cohesin ring opening is triggered by a sequential activation of the ATP sites in which ATP hydrolysis at the Smc1A site induces ATPase activity at the Smc3 site. Our analysis also provides an explanation for the effect of pathogenic variants related to Cornelia de Lange Syndrome. In particular, the effect of the variant Smc3-Q1147E has been analysed in detail. To the best of our knowledge, this is the first time that a mutated residue from a CdLS patient has been assigned a specific functional role in a dynamic context involving the cohesin complex.

framos@unizar.es

Regulated Trafficking of the Astrocytic Glutamate Transporter GLT-1 is Altered in Mouse Models of Lafora Disease

Pérez-Jiménez E., Muñoz-Ballester C., Viana R., Sanz P.
Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia

Lafora disease (LD, OMIM 254780) is a fatal rare disorder characterized by epilepsy, neurodegeneration and the accumulation of polyglucosan inclusions (Lafora bodies) in neurons and other cell types from peripheral tissues. Seizures soon become intractable and dementia progresses rapidly, causing the patients to become severely incapacitated. Although it is known that the disease is caused by mutations in *EPM2A*, which encodes laforin (dual phosphatase), or in *EPM2B*, encoding malin (E3-ubiquitin-ligase), the cause of the seizures is not known. An impairment in GLT-1 (EAAT2 in humans), which is responsible of up to 90% of glutamate uptake in the central nervous system, has been associated to seizures, hyperexcitability and neural death. Recently, we suggested that the epilepsy that accompanies LD could be due, at least in part, to deficiencies in the function of the GLT-1 transporter.

In this context, we described that astrocytes from LD mouse models present a decrease in the levels of GLT-1 at the plasma membrane that is accompanied with a reduced capacity of glutamate uptake. In addition, animal models of the disease show increased glutamate levels in brains. However, total levels of the protein do not change. Because intracellular trafficking of GLT-1 is a highly regulated process, we are now studying alterations in these mechanisms that could lead to a reduced amount of protein at the plasma membrane. Identification of the alterations occurring, will allow us to provide a new therapeutic target to fight this devastating disease.

eva.perez@ibv.csic.es

De la cianobacteria al paciente: Epilepsia B6-dependiente debida a mutaciones en la proteína COG0325 humanaPROSC

Tremiño, L; Forcada-Nadal, A; Contreras, A; Rubio, V
Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia

El gen ancestral COG0325 tiene una amplia distribución, desde bacterias al ser humano, pero su función era desconocida. En estudios de regulación del metabolismo de nitrógeno en una cianobacteria descubrimos que este gen forma parte de la red de regulación de la proteína PII, una proteína señalizadora antigua y muy difundida, que regula vía interacciones con otras proteínas como PipX, un regulador global que controla factores de transcripción. Se probó que PipX incluye en su espectro regulador al gen adyacente del mismo operon, COG0325. Buscando aclarar la función de COG0325, generamos, cristalizamos y determinamos la estructura de la proteína cianobacteriana

codificada por este gen, llamada PipY, que resultó ser un monómero monodominio con plegamiento de barril TIM y portando piridoxal fosfato (PLP). Su estructura y ensayos enzimáticos excluyen que esta proteína tenga actividad catalítica dependiente de PLP. La estructura apoya una función donadora y aceptora de PLP (función homeostática). Su delección aumenta la susceptibilidad a toxicidad por piridoxina y por el antibiótico anti-PLP D-cicloserina. Mientras desarrollábamos estos estudios se publicó que truncaciones de la COG0325 humana (llamada PROSC) produce epilepsia dependiente de vitamina B6. Usamos la proteína de cianobacteria para investigar la patogénesis molecular de esta enfermedad para dos mutantes clínicos de cambio de sentido y, más recientemente, hemos explotado nuestra estructura así como PROSC humana expresada por nosotros para detallar dicho mecanismo patogénico para todas las mutaciones de cambio de sentido de esta proteína encontradas en esta epilepsia.

Subvencionado por los gobiernos valenciano (PrometeoII/2014/029) y español (BFU2014-58229-P y BFU2017-84264-P).

rubio@ibv.csic.es

El déficit en la proteína similar a la mielina P0 tipo 2 causa hipoacusia prematura progresiva

Murillo-Cuesta S, Celaya AM, del Castillo I, Serra P, Kremer H, Varela-Nieto I
Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-UAM, Madrid
Otros grupos: U728

La proteína similar a la mielina P0 tipo 2 (MPZL2) media interacciones célula-célula en diversos tejidos como riñón o pulmón. En familias consanguíneas se han identificado variantes de MPLZ2 asociadas a hipoacusia temprana, moderada, simétrica y progresiva, con mayor afectación de frecuencias altas. Para profundizar en las funciones MPLZ2 en la cóclea y comprender las bases moleculares de la hipoacusia causada por su déficit, hemos realizado el estudio comparado de ratones *Mplz2*^{-/-} y de sus controles silvestres.

Nuestros resultados indican que MPZL2 se localiza en las células de Deiters, células ciliadas y células basales de la estria vascular. Los potenciales evocados auditivos realizados a las 4, 8 y 12 semanas de edad, indican que los ratones nulos, pero no los controles, presentan hipoacusia desde las 4 semanas de edad, siendo ésta bilateral y progresiva, y afectando principalmente a las frecuencias altas. La deficiencia en MPLZ2 causa desorganización de la citoarquitectura y degeneración del órgano de Corti, y pérdida de neuronas del ganglio espiral, siendo más pronunciadas en la base de la cóclea.

En conclusión, las mutaciones deletéreas en *Mplz2*/MPLZ2 producen pérdida auditiva temprana en el hombre y en el ratón. El déficit en esta proteína afecta potencialmente a la adhesión celular en el epitelio ótico causando pérdida de integridad estructural y degeneración progresiva del órgano de Corti y, secundariamente, del ganglio espiral.

Wesdorp M et al. MPZL2, encoding the epithelial junctional protein Myelin Protein Zero-like 2, is essential for hearing in man and mouse. *AJHG* 2018, en revisión.

smurillo@iib.uam.es

Mechanism of Transport of a LAT Transporter. Model for Several Amino acid Transport Defects

Fort, J.; Bartoccioni, P.; Errasti-Murugarren, E.; Carpena, X.; Díaz, L.; Fernández-Recio, J.; Fita, I. and Palacín, M.
Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona

L-type Amino Acid Transporters (LATs) form a subfamily in the Amino Acid-Polyamine-Organocation (APC) family that exchange amino acids through the plasma membrane. Human LAT members are the light subunits of the Heteromeric Amino acid Transporters (HATs). The light subunit is the actual transporter, which homologues could be traced to prokaryotes. The relevance of HATs is highlighted by their role in several pathologies as inherited aminoacidurias cystinuria and lysinuric protein intolerance, autism spectrum disorder, age-related hearing loss and cancer.

Here we present the first 3D structures of a LAT transporter, the bacterial Alanine Serine Cysteine exchanger (BasC). The first structure was solved at 2.9 Å resolution by X-ray crystallography in apo inward-facing conformation in complex with a VHH nanobody (NB74). A second crystal structure of BasC-NB74 with the substrate 2-amino-isobutyrate (2-AIB) in the same conformation has been solved at 3.4 Å. These structures identify relevant residues that are guiding our functional studies to reveal the mechanism of transport and the molecular defect of mutations in LAT-associated inherited diseases.

joana.fort@irbbarcelona.org

GlialCAM Structure-Function Studies: Molecular Basis of Dominance or Recessivity of GlialCAM Mutations and Insights into GlialCAM Configuration for Establishing Homophilic Interactions.

Xabier Elorza-Vidal, Tanit Arnedo, Efrén Xicoy-Espauella, Hector Gaitan-Peñas, Carolyn Engel, Juan Fernández-Recio, Raúl Estévez
Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona

Mutations in GLIALCAM gene are the cause of about 25% of the cases of MLC disease. Most GLIALCAM missense mutations do not affect protein expression, but instead affect the localization of GlialCAM at targeting to cell-cell junctions, subsequently affecting junctional trafficking of MLC1 and CIC-2. Specifically, this defect can be found in all the mutants found in the first IgV extracellular domain of the protein. Some mutants with affected trafficking show defective homo-oligomerization while others display normal homo-oligomerization. It has been hypothesized that only those with normal homo-oligomerization have defective trans-interaction, although there is a lack of evidence for this. Mutations found in MLC2B patients also act as dominant mutations in trafficking assays observed when over-expressing both proteins in quiescent rat astrocytes. However, it remains unclear why GLIALCAM mutations are dominant or recessive. In this project, we aim to get new insights on the structural configuration of the GlialCAM IgV domain, using bioinformatical tools. We focused in determining the dimerization between these domains in molecules of the same cell (in cis) as well as get new structural determinants for GlialCAM trans interaction (between GlialCAM molecules of adjacent cells). We further studied how GLIALCAM mutations found in the IgV domain could be affecting GlialCAM homo-oligomerization at the structural level, with the ultimate purpose to determine the molecular basis for dominance or recessivity of the GLIALCAM mutants.

xabier.ev@gmail.com

SESIÓN ORALES, MARTES 13, 10:00 – 11:30, PLANTA BAJA

Soluble Endoglin Regulates Expression of Angiogenesis-Related Proteins and Arteriovenous Malformations in a HHT Mouse Model

Gallardo-Vara E., Tual-Chalot S., Botella LM., Arthur HM., Bernabeu C.
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

Endoglin is a transmembrane glycoprotein expressed in vascular endothelium that plays a key role in angiogenesis. Mutations in the endoglin gene (ENG) cause Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia type 1 (HHT1), characterized by arteriovenous malformations (AVMs) in different organs. These vascular lesions derive from abnormal processes of angiogenesis where aberrant vascular remodeling leads to focal loss of capillaries. Current treatments for HHT1 include anti-angiogenic therapies. Interestingly, a soluble form of endoglin (sEng), proteolytically released from the membrane-bound protein and displaying anti-angiogenic activity, has been described in several endothelial-related pathological conditions.

Using human and mouse endothelial cells with or without membrane endoglin expression, we find that sEng anti-angiogenic effect is dependent on the presence of endogenous transmembrane endoglin protein. Using an established neonatal retinal model of HHT1 with depleted endoglin in the vascular endothelium, sEng has a normalizing effect on the vascular phenotype.

In summary, these data show that circulating sEng can influence vascular development and AVMs by modulating angiogenesis and its effect on endothelial cells depends on expression of endogenous endoglin.

eunategv@cib.csic.es

Cirugía Fetoscópica para el Tratamiento Prenatal de la Espina Bífida

Crovetto F, Eixarch E, Parra J, Crispi F, 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), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

Introducción: La espina bífida es una malformación del sistema nervioso central que afecta 1/1000 embarazos y se asocia con defectos motores y sensitivos secundarios al cierre incompleto de los arcos vertebrales posteriores. La reparación de la espina bífida mediante cirugía fetal abierta demostró una reducción del 50% en la tasa de hidrocefalia y una mejora de la función motora, pero se asocia a muchas complicaciones. La cirugía fetal por fetoscopia sería la mejor alternativa, aunque necesita estudios experimentales para definir su seguridad y eficacia antes de operar fetos humanos.

Objetivo: Realización de un proyecto pionero basado en un modelo experimental de oveja que reproduce las principales características de la espina bífida (hidrocefalia y disfunción motora/sensitiva) para poder evaluar las diferentes técnicas quirúrgicas.

Métodos: Incluiremos tres grupos experimentales diferentes: espina bífida reparado por cirugía abierta (control), reparación fetoscópica con tres puertos y reparación fetoscópica con dos puertos. La espina bífida se creará quirúrgicamente a los 75 días de embarazo y a los 100 días se reparará aplicando las diferentes técnicas. A los 125 días se realizará una cesárea y se realizará evaluación de la función motora y sensitiva, mediante potenciales evocados motores y resonancia magnética. Además, se obtendrán muestras de tejido cerebral y medular para evaluar los cambios en la estructura cortical y la sustancia blanca.

Resultados esperados: Demostrar que la reparación fetoscópica obtiene los mismos resultados que la cirugía abierta, en relación a la función neurológica e hidrocefalia del feto, pero con una reducción de las complicaciones asociadas.

franci.crovetto@gmail.com

Patogenicidad del IFN-I y Beneficio de Ruxolitinib en el Tratamiento de la Dermatomiositis

Suárez-Calvet X., Ladislau L., Toquet S., Landon-Cardinal O., Amelin D., Depp M, Rodero MP., Benjamim C.F., Mouly V., Stenzel W., Butler-Browne G., Gallardo E., Illa I., Benveniste O., Allenbach Y.
Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

La dermatomiositis (DM) es una enfermedad autoinmune adquirida que se caracteriza por lesiones cutáneas y debilidad muscular. La biopsia muscular muestra características patológicas específicas como atrofia perifascicular y vasculopatía. Los pacientes con DM muestran una sobrerregulación de los genes inducibles por interferón tipo I (ISG) en fibras musculares, células endoteliales, piel y sangre periférica. Sin embargo, la patogenicidad del interferón tipo I (IFN-I) en el músculo y en los vasos aún no se ha determinado.

Nuestro objetivo fue estudiar el efecto del IFN-I *in vitro* y evaluar la eficacia del bloqueo de la vía de señalización del IFN-I con fines terapéuticos. Durante la diferenciación de mioblastos, IFN-I eliminó la formación de miotubos mientras que en miotubos maduros, se observó una reducción del tamaño y una sobrerregulación de genes asociados a atrofia muscular. La exposición de células endoteliales a IFN-I *in vitro* interrumpió la formación de la red vascular. Todos los efectos patogénicos observados *in vitro* fueron bloqueados por ruxolitinib, un inhibidor de JAK1/2 que participa en la señalización de IFN-I y que actualmente se aplica para otras enfermedades. Finalmente, cuatro pacientes con DM refractaria fueron tratados con ruxolitinib y se observó una mejoría en la clínica cutánea y muscular juntamente con la reducción de IFN-I a nivel sérico y la reducción de ISG en células mononucleares de sangre.

Proponemos la inhibición de JAK como un tratamiento efectivo para DM, un hallazgo que es relevante para el diseño de futuros ensayos clínicos en DM.

xsuarez@santpau.cat

Disease Severity Modulators in Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa

Chacón-Solano E, León C, Quero F, García M, Díaz F, Carretero M, Llamas S, Trujillo MJ, Escámez MJ, Larcher F, del Río M.
Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid
Otros grupos: U704

Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa (RDEB) is a skin fragility monogenic disease caused by mutations on COL7A1 gene, which encodes collagen VII anchoring fibrils that attach the dermis to the epidermis. Here, we studied two RDEB siblings with the same highly recurrent mutation (c6527insC), but with marked phenotypic differences. The more affected sibling shares the severe generalized phenotype observed in other isogenic RDEB patients. On the other hand, the less affected sibling displayed reduced blistering and fibrosis, regardless the absence of Col VII expression. Based on the important role of the dermal component in the disease pathogenesis, fibroblasts from the two siblings and from 7 other isogenic RDEB patients were analyzed for their global gene expression profile. The results revealed a set of 339 genes differentially expressed between the mild patient and all other RDEBs. Gene enrichment analysis pinpointed the relevance of the extracellular matrix (ECM). Protein-protein interaction network revealed a cluster of 11 genes related to basement membrane adhesion, extracellular matrix stability, and fibrosis. Interestingly, PRELP (a basement membrane anchor protein) and COMP (a collagen secretion assisting protein) were

differentially expressed. Consistently with the clinical findings, fibroblasts of the less affected patient have higher cell adhesion and less contractile phenotype, and secrete less Col I and Col III to the extracellular matrix. Additionally, fibroblasts and artificial dermis from the mild patient have reduced response to TGF β , a key modulator in the disease progression and fibrosis. These results highlight new molecular modulators involved in RDEB and may open new therapeutic opportunities.

echacon@ing.uc3m.es

Beneficios de un Programa Completo de Ejercicio en Enfermos Mitocondriales.

Fiuza-Luces C, Díez-Bermejo J, Fernández-de la Torre M, Rodríguez-Romo G, Sanz-Ayán P, Delmiro A, Munguía-Izquierdo D, Rodríguez-Gómez I, Ara I, Domínguez-González C, Arenas J, Martín MA, Lucía A, Morán M. Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Objetivos: Analizar los efectos de un programa de entrenamiento completo (aeróbico, fuerza, y de músculos respiratorios) de 8 semanas de duración en pacientes con enfermedad mitocondrial (EM).

Métodos: En pacientes con EM (n=12), en los momentos de pre-, post- y desentrenamiento, se analizaron las siguientes variables: capacidad aeróbica, fuerza/potencia muscular, presión respiratoria máxima, capacidad de realizar actividades de la vida diaria (AVD), composición corporal, calidad de vida y mioquinas.

Resultados: La intervención en pacientes fue segura, e indujo una mejora significativa en casi todas las variables relacionadas con la capacidad aeróbica y la fuerza ($p \leq 0.004$). Asimismo, se observó un efecto positivo sobre las variables relacionadas con las AVD, composición corporal, riesgo de fractura femoral y percepción de salud ($p \leq 0.003$). No se encontraron efectos sobre los niveles de mioquinas, salvo un efecto agudo del ejercicio en la IL-8 en el post- y desentrenamiento, y en la proteína 'fatty acid binding protein 3' en el desentrenamiento (ambas $p = 0.002$).

Conclusión: Un programa completo de ejercicio, que incluyó entrenamiento de la musculatura respiratoria, indujo numerosos beneficios en la capacidad física, y un cambio hacia una composición corporal más saludable no descrito previamente, en pacientes con EM.

mmoran@h12o.es

The Effect of Micrnas in T-Cell Lymphoblastic Lymphoma Development Through Down-Regulation of FBXW7 Expression.

Vázquez-Domínguez I., González-Sánchez L., López-Nieva P., Cobos M.A., Fernández-Navarro P., Roncero A.M., Sastre I., Malumbres M., Graña O., Santos J., Llamas P., López-Lorenzo J.L. and Fernández-Piqueras J. Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

FBXW7 is a key tumor suppressor gene involved in a wide range of cell processes, such as cell growth, differentiation and survival. Interestingly, the presence of inactivating mutations in *FBXW7* have been described in T-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma (T-ALL/LBL). In previous works, we observed a complete absence of *FBXW7* after performing targeted deep sequencing analyses and massive sequencing by RNA-Seq. Both analyses showed significant down-regulation of mRNA α and mRNA β *FBXW7* isoforms, indicating the existence of regulatory mechanism responsible for these observations.

After a complex filtering work, we selected three microRNAs (miR-223-3p, miR-101-3p, and miR-195-5p) and studied their effects in T-ALL/LBL-derived cell lines. We observed that deregulation of *FBXW7* isoforms by microRNAs not only have a regulatory effect in the levels of *FBXW7* proteins but also contribute to the development of a pro-oncogenic profile that induce an increase in cell proliferation. We compared the effects of transient transfection of inhibitors and mimics of these microRNAs, highlighting their differential effect both in targets of *FBXW7* and in proliferation. Moreover, we performed rescue experiments using lentiviral constructions of the three *FBXW7*-isoforms to clarify the role of each isoform in the regulation of *FBXW7* protein-targets and to find out how this regulation could affect the development of an oncogenic profile. Finally, our results showed that up-regulation of c-MYC and CCNE1 are essential to generate a proliferative pattern mainly due to down-regulation of both alpha and beta-isoforms.

Therefore, up-regulating *FBXW7* expression might be an attractive targeted strategy to treat these hematological malignancies.

ivazquez@cbm.csic.es

SESIÓN ORALES, MARTES 13, 10:00 – 11:30, 1ª PLANTA

Autophagic neuromyopathy caused by p.R140G Heat Shock Protein B1 (HSPB1) gene mutation

Frasquet, M (1, 2); Muelas, N (1,2); Lupo, V (3); Azorin, I (2); Vilchez, R (2); Chumillas, MJ (2,5); Rojas, R (6); Espinós, C (4); Sevilla, T (1, 2, 4); Vilchez, JJ (1, 2, 4). Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital UiP La Fe, Valencia

Introduction: Mutations in the *heat shock protein B1* (HSPB1) gene are responsible of a variety of neuromuscular disorders including diverse forms of neuropathies and rare cases of distal myopathy, the latter not being fully characterized yet. The mechanism responsible of these variable phenotypic manifestations reminds unrevealed. We report a large cohort of patients from different families harboring the same mutation in the HSPB1 gene. Our data provides novel pathological features that contribute to the understanding of the pathogenesis of HSPB1-related disorders.

Methods: Clinical, neurophysiological and muscle MRI evaluations. Muscle and sural nerve biopsies studied by conventional, immune-fluorescence and electron-microscopic methods. Sanger and NGS methods (gene panel) for genetic studies.

Results: The cohort comprises 18 Spanish patients (6 families) harboring the HSPB1 p.R140G mutation. Twelve subjects from 5 families developed a neuropathy (distal hereditary motor neuropathy and CMT2). The additional six patients belonged to a different family and presented a myopathic picture that was characterized by raised serum creatine-kinase (CK) and progressive distal weakness in three cases and as a long-lasting asymptomatic hyperCKemia in the other two. There was an asymptomatic carrier with normal ancillary tests. Pathologically the myopathy was characterized as an autophagic vacuolar myopathy (AVM) defined by the occurrence of sercolemma lined vacuoles (SLV), proliferation of phagosomes and presence of aggregates containing the autophagic markers LC2-II and p62.

Conclusions: This study gives more insights into the clinical presentation of HSPB1 gene mutations and widens the list of causes of AVMs. This observation may also contribute to guide futures research approaches.

vilchez_jje@gva.es

Decapping protein EDC4 regulates DNA repair and phenocopies BRCA1

Ramírez MJ, Hernández G, Minguillón J, Quiles P, Ruiz de Garibay G, Aza-Carmona M, Bogliolo M, Pujol R, Prados-Carvajal R, Fernández J, García N, López A, Gutiérrez-Enríquez S, Díez O, Benítez J, Salinas M, Teulé A, Brunet J, Radice P, Peterlongo P, Schindler D, Huertas P, Puente X, Lázaro C, Pujana MA and Surrallés J. Grupo CIBERER: U745 Universitat Autònoma de Barcelona / Hospital de Sant Pau

BRCA1 is a tumor suppressor that regulates DNA repair by homologous recombination. Germline mutations in BRCA1 are associated with increased risk of breast and ovarian cancer and BRCA1 deficient tumors are exquisitely sensitive to PARP inhibitors. Therefore, uncovering additional components of this DNA repair pathway is of extreme importance for further understanding cancer development and therapeutic vulnerabilities.

This study identified EDC4, a known component of P-bodies and regulator of mRNA decapping, as a member of the BRCA1-BRIP1-TOPBP1 functional complex. EDC4 plays a key role in homologous recombination by stimulating end-resection at double strand breaks. EDC4 deficiency leads to genome instability and hypersensitivity to DNA interstrand cross linking drugs and PARP inhibitors. Lack-of-function mutations in EDC4 were detected in BRCA1/2-mutation negative breast cancer cases, suggesting a role for this gene in breast cancer susceptibility.

Collectively, this study recognizes EDC4 with a dual role in decapping and DNA repair whose inactivation phenocopies BRCA1 deficiency.

mariajose.ramirez@uab.es

Estudios de Nuevos Pathways Potencialmente Implicados en el Desarrollo de Cáncer Testicular Familiar

*Martín-Gimeno P, Paumard-Hernandez B, Inglada L, Calvete O, Benítez J, Grupo Germinal.
Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid*

Los tumores germinales testiculares (TGCT) son el tipo de cáncer más común en hombres entre los 15-45 años (1 cada 250 hombres). Estos tumores presentan un fuerte componente genético, pero no se ha descrito ningún gen de alta penetrancia (modelo monogénico, un gen implicado), por lo que se cree que hay varios genes de baja/moderada susceptibilidad implicados (modelo poligénico).

Nuestro grupo ha secuenciado el exoma de 19 familias con al menos dos miembros afectados con TGCT. Se identificaron 131 variantes por el modelo monogénico y 46 por el poligénico potencialmente involucradas en el desarrollo tumoral, que se validaron en una serie independiente de 400 casos esporádicos y 500 controles.

Nuestro objetivo en este trabajo es validar funcionalmente algunas variantes del modelo monogénico. Para ello hemos establecido un criterio de priorización: hemos seleccionado aquellas variantes exclusivas de familias, que aparecen sólo en afectados o mujeres sanas, que segregan con la patología, y que podrían explicar la enfermedad en una familia.

Los pathways más representados siguiendo estos criterios son ciclo celular (5 variantes) y espermatogénesis (5 variantes).

Un estudio de agregación de otros tipos de tumores en los parientes de las familias estudiadas sugiere que las mutaciones son específicas de tejido, por lo que el pathway más probablemente alterado en los casos familiares sería la espermatogénesis.

La inmunohistoquímica con γ H2AX nos ha permitido identificar cuando estas rutas están alteradas en nuestros pacientes. Adicionalmente, dicha inmunohistoquímica nos ha permitido describir un biomarcador diferencial entre tipos de tumores (seminomas y no seminomas).

pmarting@cnio.es

Mutaciones en Diferentes Genes que Regulan la Clorhidria Gástrica Explican desde Tumores Neuroendocrinos hasta Patologías Tirogástricas Autoinmunes.

*Calvete, O; Valdés-Socin, H; Reyes, J y Benitez, J.
Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid*

Los tumores neuroendocrinos gástricos (gNET) surgen de la hiperplasia de las células enterocromafines y se asocian a la destrucción de las células parietales (responsables de la acidez gástrica a través de la bomba de protones ATP4A) favoreciendo la aclorhidria. Clásicamente, esta hiperplasia se produce en pacientes con gastritis atrófica autoinmune. Sin embargo, recientemente hemos descrito una mutación en el gen *ATP4A* que explicó la aclorhidria, siendo esta la causa de un caso hereditario de gNET.

Un segundo estudio de otro caso familiar de gNET que segregaba con otras dos enfermedades autoinmunes (hipotiroidismo y artritis reumatoide) nos ha permitido describir un segundo gen mutado. Los tres individuos diagnosticados con gNET tenían dos mutaciones heterocigóticas en los genes *ATP4A* y *PTH1R* (modelo digénico). El gen *PTH1R*, que está involucrado en el desarrollo de las PC y la homeostasis celular gástrica, también es el receptor de la tirotrina (TSH) en la glándula tiroidea para regular el metabolismo de Ca^{2+} . El efecto acumulativo de ambas mutaciones explicó el gNET pero también nos ha permitido vincular ambas patologías autoinmunes (hipotiroidismo y artritis) y la enfermedad gástrica con una predisposición genética común (*PTH1R*).

Con el fin de profundizar en la relación entre estas patologías de origen autoinmune (gastritis crónica e hipotiroidismo), hemos estudiado otras cinco familias con enfermedades tirogástricas. En todas, hemos encontrado mutaciones constitucionales en nuevos genes implicados en la regulación de la clorhidria gástrica y la homeostasis del Ca^{2+} en las células parietales, permitiéndonos un estudio integral de la biología de la aclorhidria gástrica en las enfermedades tirogástricas.

ocalvete@cnio.es

Implicación de las histonas extracelulares en los mecanismos de disfunción y muerte endotelial. Uso de las histonas circulantes como biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de la sepsis.

*Ibañez-Cabellos J.S., Beltrán-García J., García-Giménez J.L., Romá-Mateo C., Aguado C., García-López E., Carbonell E., Ferreres J., Rodríguez-Gimillo M., Peiró-Chova L., Pérez-Cremades D., Novella S., Hermenegildo C., Pallardó F.V.
Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultat de Medicina, Universitat de València, Valencia
Otros grupos: U721*

La sepsis (SE) es una condición que amenaza la vida y que surge cuando la respuesta del organismo a una infección produce daño sistémico en sus propios tejidos y órganos. Cuando las anomalías celulares, metabólicas y circulatorias son lo suficientemente profundas que incrementan significativamente la mortalidad se produce el choque séptico (CS). Algunos subtipos de sepsis se consideran enfermedades raras, como la sepsis en neonatos prematuros (ORPHA 90051) y el síndrome de choque tóxico bacteriano (ORPHA 36234). Actualmente, es necesario caracterizar los mecanismos que contribuyen a la evolución clínica de la SE, el CS y otras patologías relacionadas, e identificar nuevos biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico temprano, ya que el tiempo es un factor crítico en el manejo clínico de los pacientes.

En esta comunicación demostramos que las histonas circulantes constituyen un buen biomarcador para el diagnóstico y pronóstico de la SE y el CS. Además, describimos una técnica basada en espectrometría de masas para la cuantificación de los niveles de histonas circulantes. Además, para profundizar en la fisiopatología de la SE y el CS estudiamos, mediante técnicas de RT-qPCR, citometría de flujo y Western blot, los mecanismos moleculares por los que las histonas extracelulares inducen inflamación y estrés oxidativo, produciendo la muerte de células endoteliales por inducción de la apoptosis y la autofagia.

j.luis.garcia@uv.es

Why don't Corticotroph Tumours Always Produce Cushing Disease?

*García-Martínez A, Cano D, Gil J, Fajardo C, Cámara R, Lamas C, Soto A, Puig M, Webb SM, Picó A
Grupo CIBERER: GCV13 Laboratorio de Apoyo a la Investigación y Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital General Universitario de Alicante (ISABIAL-FISABIO), Alicante
Otros grupos: GV15, GV14, U747*

Silent corticotroph tumours (SCT) are a pituitary tumours (PT) subtype of corticotroph lineage that do not clinically express Cushing disease. The silencing mechanisms of this type of tumours are not fully understood. The aim of the study was to sequence the POMC gene and quantify the expression of transcription factors of corticotroph lineage (TBX19 (Tpit), NEUROD1) and convertases involved in the processing of POMC (PC1/3) and in the degradation of ACTH (PC2, CPE and PAM) by qRT-PCR in 22 silent corticotroph, 22 functioning corticotroph and 26 silent gonadotroph tumours. Preliminary sequencing of POMC in SCT identified some SNPs that are associated with POMC deficiency. Besides, compared with FCT, SCT showed an overall lower expression of PC1/3, only significant in microadenomas but not in the FCT macroadenomas. There were no differences in the expression of the other genes studied. Molecularly identified IHC-ACTH(+) SCT showed a higher PC2 and CPE gene expression than IHC-ACTH(-) ones. Moreover, and in comparison to FCT, there were no differences in the expression of PC1/3 and PAM between SCT and the control group of SGT. In conclusion, SCT have lower POMC expression and processing than FCT, especially in functioning microadenomas. Indeed, the expression of the genes involved in the degradation of ACTH seems to be related to the amount of this hormone in the tumour. SCT share some similarity with SGT in the processing of POMC and in the degradation of ACTH, suggesting the possible existence of silent corticogonadotroph tumours.

garcia_aramara@gva.es

SESIÓN ORALES, MARTES 13, 12:00 – 13:30, PLANTA BAJA

Determination of the Minimum Amount of Corrected Hematopoietic Stem Cells Needed to Compensate Pyruvate Kinase Deficiency Hematopoiesis

Rebeca Sanchez-Dominguez, Sergio López-Manzaneda, Omaira Alberquilla, Aida Garcia-Torralba, Oscar Quintana-Bustamante, Juan A. Bueren, Susana Navarro, Jose C Segovia
Grupo CIBERER: U710 Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas CIEMAT, Madrid.

Pyruvate Kinase Deficiency (PKD) is an autosomal recessive disease caused by mutations in the PKLR gene. PKD produces chronic non-spherocytic hemolytic anemia, which can be fatal during early childhood. PKD may result in lifelong transfusion dependence that in some instances persists despite therapeutic splenectomy. Although not considered a standard-of-care, allogeneic bone marrow transplantation has been curative in a limited number of cases. Both, PKD as monogenic disease and success of allogeneic bone marrow transplantation in some PKD patients make PKD a candidate for gene therapy. Our lab has developed a therapeutic Orphan Drug lentiviral product (EMA: EU/3/14/1330; FDA: DRU-2016-5168) for the treatment of PKD and is working to develop an efficient and safe gene therapy clinical trial for the treatment of PKD.

To define the optimal conditions for the gene therapy application we have been working to study the minimal number of normal or corrected cells needed to get a therapeutic effect. With this aim, mouse bone marrow competition experiments have been performed. PKD mice were transplanted with chimeric bone marrow cells containing different proportions of wild type and PKD cells ranging from 5 to 100% wild type cells. Results of these *in vivo* experiments have shown that 30% of donor wild type healthy cells were needed to get a therapeutic effect and correct the disease. In order to demonstrate if similar conditions could be obtained using gene corrected PKD cells, mouse hematopoietic progenitors from PKD mice were transduced using a GMP-like lentiviral vector. Different multiplicities of infection (MOI) were used to get different amounts of corrected cells transplanted. Consistent with the data obtained in the competition experiments, the minimum number of transduced cells capable of compensating the disease ranged between 0.3 and 0.4 VCN/cell in our mouse model of PKD. Overall, the presented data demonstrates that a minimum chimerism of 30% of either healthy or corrected cells is required to correct the disease in the PKD mouse model. These data indicate that similar transduction values should be obtained in human cells in order to treat PKD patients with our lentiviral product.

jc.segovia@ciemat.es

Pre-clinical trials in murine models for Williams-Beuren Syndrome

Campuzano, V; Ortiz-Romero, P; Navarro, A.; Borralleras, C; Galera, L; Ozaita, A.; Pérez Jurado, L.A.
Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona

Cardiovascular complications are the most common cause of health problems and even death in patients with Williams-Beuren Syndrome (WBS). In addition, WBS individuals present cognitive, behavioral and neuropsychiatric problems that can affect their quality of life. In fact, the goal of independent living and competitive employment is not frequently achieved by adults with WBS. The efficacy and safety of pharmacological treatments in WBS is under investigation. Therefore, it is mandatory to go from bedside to bench for improved understanding of WBS pathogenesis, to uncover new potential effective pharmacological strategies, particularity for the management of both cognitive and cardiovascular conditions.

Recently, with advances in cell studies and in mouse models generation opens up a new perspective for treatment of Williams Syndrome Mouse models will be invaluable in advancing our understanding of interactive genetic effects on cardiac and neural phenotypes. A new degree of modeling validity is achieved that can also be expected to assist translation efforts in finding drug targets that address specific aspects of WBS (a condition where specific pharmacological interventions are currently absent).

In this presentation, we will explain how we have brought the basic / fundamental knowledge to the development of pre-clinical trials, always using the murine models together with combined methodologies (classic molecular biology and new generation tools).

victoria.campuzano@upf.edu

Potential New Treatment for Cystine Lithiasis

Miguel López de Heredia(1), Clara Mayayo-Vallverdú(1), Laura González(1), Esther Prat(1,2), Luis Lucena(1), Miriam C. Fernández-Vaquero(1), Belén García(1), Virginia Nunes(1,2)
(1) U730, Human Molecular Genetics Laboratory, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. (2) Genetic Unit, Physiological Sciences Departament, Health Science and Medicine Faculty, University of Barcelona, Spain.
Grupo CIBERER: U730 Centro de Genética Médica y Molecular CGMM, CGMM-IDIBELL Hospital Duran y Reynals, Fundación IDIBELL, Barcelona

Cystinuria is an hereditary aminoaciduria caused by a defect in the apical membrane transport system, b⁰⁺, for cystine and dibasic amino acids in renal proximal tubules and intestine, resulting in recurrent urolithiasis. Mutations in *SLC3A1* and *SLC7A9* genes, that code for rBAT/b⁰⁺AT transporter subunits, cause type A and B cystinuria, respectively. The transporter is in charge of reabsorbing 90% of the excreted cystine. In humans, cystinuria treatment is based on the prevention of calculi formation and its dissolution or breakage. Persistent calculi are treated with thiols for cystine solubilization with important side-effects, causing discontinuation of treatment. This situation leads our investigations in finding new molecules that could be used for cystinuria treatment through a better understanding of cystine lithiasis and its modulation. We have assessed the effect on cystine lithiasis of one compound on the *Slc7a9*^{-/-} mouse model (both male and female) in chronic administration in two scenarios, before and after lithiasis onset. We could not observe any effect on cystine stone growth rate when the compound is provided after lithiasis onset. In contrast, when the treatment is initiated before lithiasis onset, the compound was capable of reducing i) the percentage of lithiasic animals, ii) the size of cystine stones at the end of the treatment and iii) the stone growth rate when compared with non-treated animals.

Financed by: FIS (PI13/00121-R-FEDER and PI16/00267-R-FEDER)

mlopezheredia@idibell.cat

Terapia Génica para el Tratamiento de la Aciduria Glutárica Tipo I

Luna, J., Gea-Sorlí, S., García-Villoria, J., Teixido, L., Ribes, A., Fillat, C.
Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona
Otros grupos: U737

La aciduria glutárica tipo I (AG I) es una enfermedad rara, de herencia autosómica recesiva, causada por la deficiencia del enzima glutaril-CoA deshidrogenasa (GCDH) en la vía catabólica de lisina, hidroxilisina y triptófano. Actualmente, los pacientes reciben tratamientos dietéticos con suplementos de carnitina, lo que permite reducir la frecuencia de episodios encefalopáticos agudos y por tanto la morbi/mortalidad. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos realizados para su detección y tratamiento precoz, algunos pacientes permanecen con sintomatología clínica.

En el presente trabajo abordamos el potencial de la terapia génica como vía de tratamiento para pacientes con AG I. Hemos generado herramientas para dos aproximaciones distintas. Por un lado se han obtenido vectores para desarrollar una estrategia basada en la inserción dirigida del gen GCDH en el locus genómico AAVS1, mediante cirugía genética con el sistema CRISPR/Cas9. Por otro lado hemos obtenido el vector adenoasociado viral AAV9-PGK/GCDH a fin de desarrollar una estrategia de terapia génica clásica. El vector AAV9-PGK/GCDH se ha administrado por vía sistémica al modelo preclínico de la enfermedad, los ratones *Gcdh*^{-/-}. Hemos observado expresión sostenida de GCDH en el hígado de los animales inyectados en un estudio longitudinal, indicando estabilidad de la expresión a lo largo del tiempo. Los ratones *Gcdh*^{-/-} presentan un perfil bioquímico muy similar a los pacientes con AG I. El análisis de metabolitos en suero de ratones *Gcdh*^{-/-} evidenció un incremento en el acúmulo de los mismos respecto los ratones control, que se redujo significativamente tras el tratamiento con AAV9-PGK/GCDH.

cfillat@clinic.ub.es

Terapia de la Distrofia Muscular LGMD1f mediante CRSPR/cas9

Poyatos-García J, Gomis C, Vázquez-Marique R, García-García G, Martín R, Vilchez JJ
Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital UiP La Fe, Valencia
Otros grupos: U701, U755

La distrofia muscular LGMD 1F es una enfermedad rara autosómica dominante causada por una mutación puntual en el codón Stop nativo en el gen de la transportina 3 que produce la extensión de la pauta de lectura hasta el siguiente codón STOP en 3' UTR. De esta manera se produce una proteína con 15 aacs extra, afectando al transporte entre el citoplasma y el núcleo de ciertos factores de *splicing*, llevados a cabo por dicha proteína.

Mediante la aplicación del sistema Crispr/Cas9 a esta enfermedad pensamos en inducir una delección para eliminar la cola aberrante producto de la mutación. Para ello diseñamos 3gRNAs mediante predictores bioinformáticos. Debido a la limitación de la región, los gRNAs obtenidos presentaban muchos *off-targets*, pero tras un análisis bioinformático exhaustivo se redujo la lista a 9 posibles *off-targets* entre los 3gRNAs candidatos, y demás presentaban más de 2 *mismatches*. Los gRNAs fueron clonados en un plásmido que contienen la spCas9 y transfectados en células HEK293 para evaluar su eficiencia mediante la endonucleasa T7. 2gRNAs fueron cotransfectados en células HEK293 y se comprobó que producían la delección deseada. Actualmente estamos intentando introducir el sistema Crispr mediante Ribonucleoproteínas en mioblastos primarios de pacientes afectados por la enfermedad aún sin resultados satisfactorios.

Paralelamente hemos recientemente empezado el diseño del sistema Crispr/Ca9 para realizar un modelo de enfermedad en el gusano *C.elegans*. Debido a que estos gusanos son transparentes, sería un modelo ideal para los estudios funcionales de transporte entre núcleo y citoplasma.

vilchez_jje@gva.es

Inhibición de la Vía del FGF (Fibroblast Growth Factor) como Terapia Antiangiogénica Tópica para Epistaxis en Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT)

Patier² JL, Albiñana¹ V; Palacios¹ P; Recio-Poveda¹ L; Zarrabeitia³ R; Bernabéu¹ C, Giménez-Gallego¹, G; Botella¹ LM
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

La Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT) es una enfermedad vascular caracterizada entre otros síntomas, por la aparición de epistaxis recurrentes y espontáneas, debidas a una angiogénesis anómala en la mucosa nasal. Entre sus causas genéticas se encuentran mutaciones en genes que codifican proteínas de la ruta de TGF- β , siendo endoglin (*ENG*), y *ALK1* (*ACV1L1*) responsables del 90% de la patología.

La antiangiogénesis es una aproximación terapéutica empleada para controlar las epistaxis, teniendo como objetivo reducir la angiogénesis anormal de las mucosas. Las dos vías principales de angiogénesis son las dependientes de VEGF y FGF. Los ensayos publicados en la literatura hasta ahora, siguen principalmente una estrategia anti-VEGF.

En este trabajo hemos empleado la inhibición de la señalización de FGF, mediante el etamsilato, inhibidor de señalización del factor de crecimiento fibroblástico (FGF). Los experimentos *in vitro* demuestran que el etamsilato actúa disminuyendo la señalización de fosfo-Akt y fosfo-ERK1/2 en células endoteliales. Además tiene un papel antiangiogénico, ya que inhibe la migración en un ensayo de "wound healing" y la tubulogénesis en matrigel.

Al disponerse de la formulación genérica en farmacia (Dycinone), se ha realizado un ensayo clínico N° de EudraCT: 2016-003982-24 con 12 pacientes HHT, de administración intranasal tópico, pulverizando dos veces al día durante 4 semanas. Se ha registrando frecuencia y cantidad de epistaxis (HHT-ESS) y niveles de hemoglobina. Además se han medido marcadores, VEGF, FGF, ENG y ALK1. El análisis preliminar de los resultados muestra buena respuesta, con disminución de sangrado y sin efectos secundarios.

cibluisa@cib.csic.es

SESIÓN ORALES, MIÉRCOLES 14, 08:30 – 11:00, PLANTA BAJA**Evaluación de Diferentes Estrategias para el Cribaje Retrospectivo de Déficit de Lipasa Ácida Lisosomal**

Cebolla, JJ Irún, P Giraldo, P
Grupo CIBERER: U752 Grupo de estudio de enfermedad de Gaucher y neoplasias hematológicas. Servicio Hematología, Hospital Universitario "Miguel Servet", Instituto Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), Zaragoza

El déficit de Lipasa ácida lisosomal (DLAL) es un error innato del metabolismo lisosomal, depositándose ésteres de colesterol y/o triglicéridos. DLAL se asocia a dislipemia y transaminasemia y su fenotipo clínico puede solapar con el de otras enfermedades por depósito lisosomal (EDL). Los programas de búsqueda retrospectiva de pacientes están basados en el perfil hepato-lipídico (PHL), sin embargo no se consideran biomarcadores plasmáticos de EDL. El objetivo fue evaluar retrospectivamente la utilidad de biomarcadores EDL como actividad Quitotriosidasa (QT) y concentración de CCL18/PARC (CCL18), además del PHL, en la identificación de potenciales afectos de DLAL.

Colección 1 (n=2040 con sospecha de hipercolesterolemia primaria) y Colección 2 (n=1295 con sospecha de EDL). Se filtró la Colección 1 según niveles de colesterol total (CT) y estudio negativo para los genes *LDLR/PCSK9/APOB* (Set 1, n=79); La Colección 2 se filtró por niveles elevados de QT y/o CCL18 y estudio negativo para EDL (Set 2, n=64). Se re-evaluó en ambos subconjuntos el PHL. En el Set 1 se cuantificó QT y CCL18. En el Set 2 se determinó actividad de LAL. Probandos con alteraciones en el PHL y/o biomarcadores EDL y/o actividad LAL<50%, se analizó el gen *LIPA*.

Treinta probandos cumplieron criterios de secuenciación genética. Se identificaron dos afectos para DLAL en el Set 2. En el Set 1 no se identificó ninguna variante patológica.

El análisis de biomarcadores EDL, combinado con la determinación del PHL es una aproximación útil en el cribado retrospectivo de pacientes que deben ser sometidos a análisis molecular del gen *LIPA*.

jorgecebollasanz@gmail.com

Fenotipos solapantes debidos a variantes deletéreas en KAT6B, ¿qué los define?

Brea-Fernández, AJ; Dacruz, D; Eiris, J; Barros, F; Carracedo, A.
Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña

Los límites entre los fenotipos del síndrome de Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson (SBBYSS) y del síndrome genitopatelar (GTPTS) no están claramente establecidos. Debido a que ambos síndromes son causados por variantes deletéreas en el gen *KAT6B* cabe esperar que sus fenotipos compartan características comunes. Por ello, se recomienda que el conjunto de estos fenotipos variables sea recogido dentro de la nomenclatura "trastornos del espectro *KAT6B*". Sin embargo, se han identificado signos específicos de cada síndrome cuya aparición depende exclusivamente de la localización de la mutación en *KAT6B*. Mientras que las variantes deletéreas asociadas a SBBYSS tienen su densidad más alta en la parte distal del exón 18, las que resultan en GTPTS se distribuyen a menudo entre el final del exón 17 y el comienzo del exón 18. En el presente trabajo se recogen dos pacientes cuyas variantes en *KAT6B*, no descritas anteriormente, dan lugar a un fenotipo SBBYSS. Ambas variantes se localizan en la región intermedia del exón 16 y en la región más distal del exón 18, respectivamente. La caracterización clínica y genética de estos pacientes podría ser esencial para definir las características de un fenotipo SBBYSS puro.

a.brea@usc.es

Estudio de variantes en genes lisosomales en pacientes afectados de enfermedad de Parkinson

Texidó L, Gort L, Compta Y, Camara A, Fernandez M, Martí MJ, Ribes A.

Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Sección Errores Congénitos del metabolismo-IBC, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, CDB, Hospital Clínic, Barcelona

La enfermedad de Parkinson es neurodegenerativa, afecta al control del movimiento y se caracteriza patológicamente por pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra y presencia de agregados intraneuronales de la proteína alfa-sinucleína.

Se ha descrito una mayor frecuencia de portadores de mutaciones de la enfermedad de Gaucher (gen GBA) entre los enfermos de Parkinson. Por ello, nuestro objetivo consistió en ampliar el estudio a todos los genes lisosomales en pacientes con enfermedad de Parkinson para identificar posibles mutaciones y evaluar su posible asociación con esta patología.

Se analizaron 42 pacientes con enfermedad de Parkinson del Hospital Clínic de Barcelona mediante análisis por secuenciación masiva utilizando el panel de genes TrusightOne de Illumina. Se estudiaron las variantes presentes en 58 genes lisosomales.

En 20 de los 42 pacientes se detectaron 26 cambios distintos en 19 genes lisosomales; 11 de los cambios correspondían a mutaciones descritas como patogénicas en Human Gene Mutation Database (HGMD), 4 cambios, aunque descritos, correspondían a mutaciones de efecto incierto, habiéndose detectado además 11 nuevas variantes. Entre las mutaciones encontradas destacamos cinco pacientes con mutaciones descritas en el gen GBA.

Nuestros resultados corroboran las observaciones descritas anteriormente entre Parkinson y GBA y además amplían el espectro a otros genes lisosomales. Resultados recientes (Robak et al., Brain 2017) han asociado también una mayor frecuencia de variantes en genes lisosomales en pacientes con enfermedad de Parkinson. Estos hallazgos sugieren que, además del gen GBA, mutaciones en otros genes lisosomales podrían predisponer a padecer la enfermedad de Parkinson.

laura.texido@ciberer.es

Diagnóstico Molecular de la Discinesia Celular Primaria. Estudio Familiar.

Camats N, Fernández-Cancio M, Rovira S, Carrascosa A, Moreno A

Grupo CIBERER: U712 Crecimiento y Desarrollo, Institut de Recerca Vall d'Hebron - Hospital Universitari Vall d'Hebron, Institut Català de la Salut, Barcelona

La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad rara (1/15.000) caracterizada por una alteración en la estructura ciliar que impide el correcto aclaramiento de las secreciones del aparato respiratorio. Sus principales síntomas son tos productiva y rinorrea purulenta crónica desde el nacimiento, asma atípico, bronquiectasias, otitis supuradas, infertilidad masculina y subfertilidad y mayor riesgo de embarazo ectópico en mujeres. El 50% de los casos asocian *situs inversus*.

El diagnóstico de confirmación requiere, además de un cuadro clínico compatible, la demostración de la alteración funcional (videomicroscopía de alta resolución) y/o estructural ciliar (microscopía electrónica). En los casos dudosos es útil el cultivo de células epiteliales ciliares y la sublocalización de las proteínas ciliares por inmunofluorescencia. Además, en los últimos años, el diagnóstico molecular de los pacientes es crucial para confirmar el diagnóstico.

Con el objetivo de mejorar la tasa de diagnóstico y la terapéutica de los pacientes, nuestro grupo está implementando sus herramientas de diagnóstico de DCP (motilidad e ultraestructura ciliar) con un panel genético (Nimblegen), estudios de sublocalización por inmunofluorescencia, cultivos de células epiteliales ciliares y estudios funcionales gracias a un proyecto FIS (PI16/01233).

Presentamos una familia con 2 pacientes, hermanas, con neumonías y bronquitis de repetición. En los estudios de motilidad y estructura se observaron cilios prácticamente estáticos, 100% disquinéticos y un defecto en brazo externo de dineína, por lo que fueron diagnosticadas con DCP. El estudio genético confirmó el diagnóstico: dos mutaciones en el gen *DNAH5*, c.12706-2 A>T y p.Arg1542ThrfsTer6. Los padres son portadores de las mutaciones.

nuria.camats@vhir.org

Estudio Clínico y Molecular de una Serie de 35 Pacientes con Síndrome 5p-

Martínez-Fernández ML.^{1,2}, Cuevas L.^{1,2}, Grupo Periférico del ECEMC.^{1,2}, Martínez-Frías ML.², Bermejo-Sánchez E.^{1,2,3}, 1CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER). U724. Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC). Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Ministerio de Economía, Industria y Competitividad. Madrid. 2Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas (ECEMC). 3Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER). ISCIII. Ministerio de Economía, Industria y Competitividad. Madrid.

Grupo CIBERER: U724 Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas - CIAC, Centro mixto ISCIII - ASEREMAC, Madrid

El síndrome 5p- (OMIM #123450) está causado por la delección parcial o total del brazo corto del cromosoma 5. Su frecuencia se ha estimado en 1:15.000-50.000 recién nacidos, siendo uno de los síndromes más frecuentes de delección de genes contiguos. Las principales características clínicas incluyen llanto agudo, microcefalia, raíz nasal ancha, epicanthus, micrognatia, así como retraso psicomotor y discapacidad intelectual. Se ha descrito que el 80-90% de los casos se deben a delecciones terminales, el 10-15% a derivados de translocación y el 3-5% presentan delecciones intersticiales.

Presentamos 35 pacientes con síndrome 5p- procedentes de la Fundación Síndrome 5p- y del programa del ECEMC, estudiados todos mediante array CGH (180K). El objetivo del trabajo ha sido caracterizar la delección en los casos de delección pura y la duplicación del otro cromosoma en los casos con derivado de translocación, permitiendo así determinar el tamaño exacto de la alteración y los genes implicados en cada paciente.

Los resultados obtenidos fueron: 28 delecciones puras, 6 derivados de translocación y 1 duplicación probablemente patogénica además de la delección 5p. Se detectaron también 4 variantes de significado incierto. El rango de delección en estos pacientes ha sido de 4,32 a 34,57Mb.

La función de la mayoría de los genes localizados en 5p es desconocida. Los estudios genotipo-fenotipo de grandes cohortes de individuos con 5p- pueden definir regiones críticas asociadas a las distintas características del síndrome, lo que puede contribuir a establecer un pronóstico y seguimiento más adecuados.

Agradecimientos: Fundación Síndrome 5p-, Fundación Raúl González-Salas y Real Patronato sobre Discapacidad.

m.martinez@externos.isciii.es

OTO-NGS-v2: Una Herramienta Basada en NGS para el Diagnóstico Integral de Sordera Genética

Morín, M; Barca, V; Lachgar, M; del Castillo, I Moreno-Pelayo, MA

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

La prevalencia de los diferentes subtipos de pérdida auditiva hereditaria no sindrómica es todavía poco conocida debido a su gran heterogeneidad y complejidad genética, por lo cual el diagnóstico molecular basado en las técnicas tradicionales no es coste-efectivo. Además cada año se describen nuevos genes y mutaciones causantes de estas enfermedades raras. Previamente habíamos generado la herramienta OTO-NGS-v1 (tecnología Haloplex, Agilent), que permitía el análisis mutacional de 71 genes causantes de sordera. Aquí, presentamos la nueva versión de la herramienta: OTO-NGS-v2 que mediante captura con sondas IDT permite el análisis mutacional de los 117 genes hasta ahora descritos asociados a sordera genética. La profundidad obtenida es de más de 100x para el 99% de las regiones capturadas, lo cual permite la detección de CNVs; y más del 90% de las lecturas son "on target". Algunas de las mejoras con respecto a la versión anterior son: a) 47 genes más analizables, b) una captura más homogénea y c) la utilización de un software de análisis (Sophia Genetics DDM) que permite una fácil e intuitiva interpretación y clasificación de las variantes genéticas encontradas. En este trabajo se muestran los datos del proceso de validación empleando 12 muestras con mutaciones conocidas y el análisis de las primeras 36 muestras de pacientes. OTO-NGS-v2 es una potente herramienta integral (wet lab bioinformática) que permite una sencilla implantación en el diagnóstico genético rutinario para el análisis coste/efectivo de 117 genes causantes de sordera genética, así como la fácil clasificación de las variantes identificadas.

mopelayo@hotmail.com

Identification and Functional Characterization of non-coding Variants that Activate Exonic Cryptic-Splicing Sites in PAX6 as Cause of Aniridia

Tarilonte, M.1; Ramos, P. 1; Villaverde, C.1; Gener, B. 2, Swafiri S.T. 1, Blanco-Kelly, F. 1; Trujillo, M.J. 1; Ayuso, C. 1; Corton M. 1 1. U704. Servicio de Genética, Instituto de Investigación Sanitaria-Fundación Jiménez Díaz University Hospital- Universidad Autónoma de Madrid. 2. Servicio de Genética. Hospital Universitario de Cruces. IIS-Biocruces
Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Congenital aniridia is a panocular genetic disease with autosomal dominant inheritance. It is characterized by complete or partial absence of the iris and foveal hypoplasia. Up to 90% of aniridia patients carrying loss-of-function or copy number variants causing PAX6 haploinsufficiency. PAX6 is a highly conserved transcriptional regulator that is critical for normal ocular development.

Here, we describes new molecular pathological mechanisms for aniridia in which non-coding, silent synonymous or in-frame variants in PAX6 are affecting the accurate pre-messenger RNA splicing by creating new cryptic donor splice sites.

First, after analysis of the entire PAX6 locus by targeted NGS we identified 6 different non-coding exonic or in-frame rare variants segregating in 8 previously uncharacterized families. No additional pathogenic variants were found in other 250 eye developmental genes. In silico and *in vitro* analysis using minigene constructs for mutant and wild-type alleles were used to assess the impact of these variants on splicing.

Three undescribed, silent synonymous or in-frame variants on exon 6 generated or enhanced different cryptic splice sites at exonic regions, causing silencing of the canonical donor site. On consequence, exon 6 will be partially skipping on aberrant transcripts. For 3 variants located on non-coding exons, skipping of involved or even downstream coding exons was observed.

In brief, we demonstrated for the first time that silent exonic PAX6 variants could cause aniridia involving splicing alterations. In addition, non-coding PAX6 variants seem to be a frequent cause of aniridia, explaining up to the 10% of families in our cohort.

mcorton@fjd.es

Mutación p.Ala684Val en el Gen WFS1: ¿Síndrome de Wolfram?

Alías L., Venegas M.P., Clivillé N., Pujol A., Juan J., Martínez E., Quero S., Surrallés J., Orús C., Lasa A., Gallano P.
Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

INTRODUCCIÓN: La pérdida auditiva sensorial (SNHL) y la atrofia óptica (OA) caracterizan diversos síndromes, incluyendo al Síndrome de Wolfram (SW). Dicho síndrome, debido a mutaciones en el gen *WFS1* con herencia recesiva, también manifiesta diabetes insípida, trastornos neurológicos y/o urológicos. SNHL y OA sin ningún otro síntoma se han asociado a mutaciones en *WFS1* con herencia dominante. En este trabajo presentamos a un paciente con SNHL severa como único síntoma, con una mutación "de novo" en heterocigosis en *WFS1*.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se secuenciaron, en el DNA del paciente, genes asociados a SNHL incluidos en un panel de NGS (TruSeq Custom Amplicon), mediante el equipo MiSeq (Illumina) de nuestro hospital. 98% de las regiones de interés con cobertura superior a 50X. "DNAnexus" y "VariantStudio" detectaron las variantes que se validaron por Sanger.

RESULTADOS: Detección en heterocigosis de: 1) c.2051C>T(p.Ala684Val) en *WFS1* (NM_006005.3) en el paciente aunque se descartó su presencia en los progenitores. 2) c.932delC(p.Ala311Valfs*37) en *GJA1*(NM_000165.3) del paciente aunque posteriormente se comprobó que dicho cambio estaba localizado en el pseudogen *FER* del paciente y de su madre.

CONCLUSIONES: La mutación en heterocigosis c.2051 C>T (p.Ala684Val) detectada en *WFS1* explica la SNHL del paciente. La detección de una única mutación en *WFS1* podría deberse a una herencia dominante; por lo que el paciente presentaría SNHL y OA. Si en realidad hubiera una segunda mutación en *WFS1* no detectable por la técnica utilizada, el paciente desarrollaría un fenotipo mucho más severo (WS). El seguimiento clínico del paciente es crucial para detectar otros síntomas y adelantarnos con estrategias terapéuticas más convenientes.

lalias@santpau.cat

Generalized Lymphatic Anomaly Is Caused By Somatic Activating PIK3CA Mutations

Rodriguez-Laguna L, Agra N, Ibañez K, Gordo G, Ibañez K, Bustamante A, Ayuso C, Lapunzina P, Dellinger MT, Martínez-Glez V
Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Generalized lymphatic anomaly (GLA) is a vascular disorder of unknown etiology characterized by diffuse or multifocal lymphatic malformations (LMs), associated with osteolysis and involvement of skin, soft tissues, and viscera. To test the hypothesis that GLA is caused by somatic mutations, we performed targeted high-throughput sequencing on paired blood/tissue samples from 9 patients. We identified four distinct *PIK3CA* variants (Glu542Lys, Gln546Lys, His1047Arg, and His1047Leu) in tissue samples from five patients. These same *PIK3CA* variants occur in *PIK3CA* related overgrowth spectrum (PROS) patients and cause hyperactivation of the PI3K-AKT-mTOR signaling pathway. We found that rapamycin, an mTOR inhibitor, reduced pain in patients with GLA, and reduced the proliferation of lymphatic endothelial cells (LECs) isolated from affected tissue from a patient with GLA. Using a Cre-loxP system to express an active form of *PIK3CA* in mice LECs (Prox1-CreER^{T2};LSL-Pik3ca^{H1047R}), we found that excessive PI3K signaling in LECs induces lymphatic hyperplasia, impairs the function of lymphatic vessels, and induces the formation of lymphatics in bone. Rapamycin also prevented lymphatic hyperplasia and dysfunction in the mice model. In conclusion, we demonstrate that somatic activating *PIK3CA* mutations can cause GLA and provide preclinical and clinical evidence to support the use of rapamycin for the treatment of this disabling, disfiguring, and deadly disease.

v.martz.glez@gmail.com

Implicación de Variantes en el DNA Mitocondrial en el Desarrollo de FXTAS

Rodriguez-Revenga L, Alvarez-Mora MI; Santos C; Carreño-Gago L; Madrigal I; Tejada MI; Martínez F; Izquierdo-Alvarez S; García-Arumi E, Mila M
Grupo CIBERER: U726 Grupo de Investigación en Genética de Enfermedades Raras (GICER), Hospital Clinic GICER (Servicio de Bioquímica y Genética Molecular), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
Otros grupos: U701 y GCV04

FXTAS (Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome) es una enfermedad neurodegenerativa de aparición tardía que afecta a portadores de la premutación en *FMR1*. La pérdida progresiva de la función mitocondrial tiene un papel central en el envejecimiento y en enfermedades neurodegenerativas. Se desconoce el papel de las variantes en el mtDNA en FXTAS. El objetivo de este estudio es proporcionar nuevos conocimientos sobre los mecanismos implicados en la patogénesis de FXTAS mediante la caracterización de las variantes en el mtDNA. Para ello se han seleccionado dos sets independientes de muestras de portadores de la premutación en el gen *FMR1*. En el primer set (13 FXTAS y 13 no-FXTAS) se ha secuenciado el mitogenoma mediante técnicas de NGS. En el segundo set (39 FXTAS y 67 no-FXTAS), se ha determinado el haplogrupo mitocondrial. Los resultados muestran que el haplogrupo T se encuentra significativamente infrarrepresentado en los individuos con FXTAS. Por otra parte, el análisis de los datos de secuenciación masiva pone de manifiesto que el grupo de pacientes FXTAS presenta 3 veces más variantes heteroplásmicas de baja frecuencia en regiones codificantes del mtDNA respecto a los no-FXTAS. Concluimos que el haplogrupo T puede actuar como un factor protector para FXTAS y que los individuos con FXTAS presentan una carga superior de variantes en heteroplasmia en regiones importantes del genoma mitocondrial. Estos resultados pueden ayudar a una mejor comprensión de la fisiopatología del FXTAS y contribuir al desarrollo de nuevas estrategias de intervención terapéutica.

lbodi@clinic.cat

SESIÓN ORALES, MIÉRCOLES 14, 08:30 – 11:00, 1ª PLANTA**De novo mutations in SLC25A24 cause Fontaine syndrome, a disorder characterized by early aging, bone dysplasia and characteristic face, and are associated with defective mitochondrial function**

del Arco A., Martínez-Valero P., Contreras L., Moreno-González L., Satrustegui J.
Grupo CIBERER: U743: Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO)
CSIC-UAM, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Fontaine and Fontaine-Petty syndromes correspond to patients classified under various diagnoses sharing early aging, especially evident in congenitally decreased subcutaneous fat tissue and sparse hair, bone dysplasia of the skull and fingers, a characteristic face, and prenatal and postnatal growth retardation. Exome sequencing of four unrelated affected individuals has showed that all carried the de novo missense variant c.649C>T (p.Arg217Cys) or c.650G>A (p.Arg217His) in SLC25A24, a member of the mitochondrial carrier family also known as SCaMC-1, coding for the ATP-Mg/Pi transporter isoform expressed in proliferating cells (1). SLC25A24 allows an electro-neutral and reversible exchange of ATP-Mg and phosphate between the cytosol and mitochondria, which is required for maintaining optimal adenine nucleotide levels in the mitochondrial matrix. Molecular dynamic simulation studies predict that p.Arg217Cys and p.Arg217His narrow the substrate cavity of the protein and disrupt transporter dynamics. SLC25A24-mutant fibroblasts and HeLa cells stably expressing p.Arg217Cys or p.Arg217His variants showed altered mitochondrial morphology, a decreased proliferation rate, increased mitochondrial membrane potential, and decreased ATP-linked mitochondrial oxygen consumption. The results suggest that the SLC25A24 mutations lead to impaired mitochondrial ATP synthesis and cause hyperpolarization and increased proton leak in association with an impaired energy metabolism. Our findings identify de novo SLC25A24 mutations affecting codon 217 as the underlying genetic cause of human progeroid Fontaine syndrome and represent a new pathological mechanism for diseases associated with mitochondrial carriers.

(1) Writzl K, Maver A, Kovačić L, Martínez-Valero P, Contreras L, Satrustegui J, Castori M, Faivre L, Lapunzina P, van Kuilenburg ABP, Radović S, Thauvin-Robinet C, Peterlin B, Del Arco A, Hennekam RC. De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Disorder Characterized by Early Aging, Bone Dysplasia, Characteristic Face, and Early Demise. *Am J Hum Genet.* 101:844-855.

adelarco@cbm.csic.es

El Transcriptoma durante el Desarrollo Embrionario Predice la Patogénesis de la Deficiencia en Coenzima Q10.

Fernández-Ayala, DJM; Hernández-Camacho, JD; Cascajo, MV; Navas, P
Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla

En el momento del diagnóstico de una enfermedad rara, como es el caso de la deficiencia en Coenzima Q10, los pacientes tienen ya una serie de daños irreversibles que ni el propio tratamiento con Coenzima Q10 es capaz de revertir totalmente, aunque éste se haga prematuramente y a altas concentraciones. En nuestro laboratorio disponemos de modelos animales de deficiencia en Coenzima Q10 que presentan el mismo fenotipo patológico que los pacientes con la misma mutación, en concreto un ratón mutante en el gen ADCK2 con miopatía mitocondrial asociada a un defecto de la beta-oxidación de ácidos grasos y un ratón mutante en el gen COQ9 con neuropatía grave. Esto nos ha permitido estudiar el perfil transcriptómico durante el desarrollo embrionario, encontrando una alteración en la expresión génica que justifica el fenotipo patológico del adulto, la cual podría ser debida a cambios epigenéticos como mecanismo de adaptación para sobrevivir en presencia de la mutación causante de la patología mitocondrial. Conocer los mecanismos moleculares de la enfermedad, así como las rutas metabólicas y de señalización que se ven afectadas permitirá identificar cuándo y cómo se han producido los daños y como cambian las interacciones de proteínas como consecuencia de la alteración de la expresión génica. De esta manera podremos conocer el modo de enfermar de estos pacientes y proponer alternativas al diagnóstico, abriendo la posibilidad de proponer un tratamiento preventivo prenatal. Financiado por FIS PI14-01962.

dmorfer@upo.es

La inactivación de GLI1 causa alteraciones del desarrollo solapantes con el Síndrome de Ellis-vanCreveld

Palencia-Campos A, Ullah A, Nevado J, Yildirim R, Unal E, Ciorraga M, Barruz P, Chico L, Picci-Sparascio F, Guida V, De Luca A, Kayserili H, Ullah I, Burmeister M, Lapunzina P, Ahmad W, Morales AV, Ruiz-Perez VL.
Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid
Otros grupos: U753

Los factores transcripcionales GLI1, GLI2 y GLI3 actúan en el desarrollo embrionario como mediadores de los morfógenos Hedgehog (Hh). En consecuencia, variantes deletéreas en GLI2 y GLI3 han sido reportadas como responsables de defectos congénitos. Sin embargo, hasta la fecha no se habían descrito mutaciones en GLI1, por lo que el papel de este gen en el desarrollo humano permanecía desconocido. Aquí presentamos 8 pacientes de tres familias distintas con mutaciones en GLI1 y características clínicas similares a las del Síndrome de Ellis-van Creveld (EvC), una enfermedad causada por la disminución de la actividad de la vía de Hh. Dos familias portaban mutaciones de fin de mensaje en el último exón del gen y la tercera un codón de parada en la región N-terminal. El análisis de fibroblastos de uno de los pacientes con mutaciones en el último exón demostró que las células de este paciente sintetizan la proteína truncada correspondiente e inducen su expresión en respuesta a un agonista químico de Hh. Sin embargo, ensayos "in vivo" y en cultivo celular revelaron que la actividad transcripcional de la proteína mutante se encontraba drásticamente disminuida. Consistentemente, las células del paciente presentaron menor expresión de la diana de Hh, PTCH1. Este trabajo muestra que la inactivación de GLI1 da lugar a alteraciones del desarrollo que varían desde polidactilia postaxial aislada hasta fenotipos solapantes con EvC, a la vez que pone de manifiesto que todos los miembros de la triada GLI son necesarios en el desarrollo humano.

apalencia@iib.uam.es

La Enfermedad anti-IgLON5, ¿Autoinmune o Neurodegenerativa?

Sabater L., Planagumà J., Gelpí E., Graus F., Dalmau J.
Grupo CIBERER: U764 Servicio de Neurología, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

La enfermedad por anticuerpos contra IgLON5 se caracteriza por una evolución crónica potencialmente letal, y alteraciones típicas del sueño con parasomnias en fase REM y no-REM, apnea obstructiva, y estridor. En algunos pacientes, las alteraciones de la marcha, inestabilidad, y signos de afectación bulbar pueden anteceder a los problemas del sueño. La presencia de anticuerpos en líquido cefalorraquídeo contra IgLON5, una molécula de adhesión de la superfamilia de las inmunoglobulinas que se expresa en neuronas, y la susceptibilidad genética (el 86.6% de pacientes son HLA-DRB1*10:01 and HLA-DQB1*05:01) sugieren un origen autoinmune. Por otra parte, los estudios neuropatológicos muestran depósitos de tau fosforilada exclusivamente en neuronas del tronco encefálico y diencefalo sugiriendo un proceso neurodegenerativo. El objetivo de este trabajo fue determinar 1) las subclases de inmunoglobulina contra IgLON5, 2) la localización de los epitopos, y 3) los posibles efectos patogénicos de los anticuerpos. En nuestra cohorte de 21 pacientes (edad media 64.5 años, rango 46-83; 10 varones) 20 tenían anticuerpos IgG1 e IgG4; la subclase IgG4 predominaba en 16 pacientes. La región inmunodominante se encontró en el segundo dominio inmunoglobulina-like de IgLON5. En cultivos de neuronas, los anticuerpos causaron una internalización irreversible de IgLON5 que se asoció a alteraciones del citoesqueleto compatibles con un trastorno de transporte axonal. Estos resultados sugieren que los anticuerpos IgLON5 producen una degeneración neuronal irreversible; investigaciones futuras deberán centrarse en determinar si las alteraciones del citoesqueleto conducen a una tauopatía similar a la observada en los pacientes.

lisabate@clinic.ub.es

Redox-dependant mitochondrial dynamics imbalance in X-linked Adrenoleukodystrophy

Launay N, Bianchi P, Lopez-Erauskin J, Schluter A, Fourcade S, Ruiz M, and Pujol A.
Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL -Hospital Duran i Reynals, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Barcelona

Mitochondrial dysfunction, characterized by loss of energetic homeostasis and increased production of ROS, is a prominent feature in X-ALD neurodegeneration. As the mitochondrial morphology determines its key functions, we posited that imbalance of mitochondrial dynamics could play an important role in the X-ALD axonopathy. In this study, we applied 3D electron microscopy reconstruction to visualize mitochondrial ultrastructure in the spinal cord from X-ALD mouse model. We identified a previously unknown mitochondrial fission activation that results in specific axonal mitochondrial fragmentation and presynaptic mitochondria alteration in Abcd1- mouse spinal cord. Using human fibroblasts from X-ALD patients, we found that oxidative stress induced by VLCFA excess triggers the pro-fission DRP1-S616 phosphorylation, subsequent mitochondrial fragmentation and accumulation of fragmented and donut-shaped mitochondria. Moreover, we showed that deficient mitophagy produces damaged mitochondria accumulation, which in turn lead to a vicious cycle causing increases in ROS, more oxidative damage and finally axonal degeneration.

nlaunay@idibell.cat

Mitochondrial dysfunction, bioenergetic deficit and abnormal Ca²⁺ homeostasis in cultured neurons from Gdap1 KO model of Charcot-Marie-Tooth disease

Civera-Tregón A, Domínguez L, Martínez-Valero P, Hoenicka J, Satrustegui J, Palau F.
Grupo CIBERER: U732 Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Institut de Recerca, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona
Otros grupos: U743

Mutations in *GDAP1* gene cause Charcot Marie-Tooth (CMT) disease. CMT is characterized by progressive axonal degeneration of motor and sensory nerves. *GDAP1* protein is located in the outer mitochondrial membrane and it is also expressed in the mitochondria-associated membranes (MAMs), which are specialized subdomains of the endoplasmic reticulum (ER) that function as membrane contact sites between the ER and mitochondria. Importantly, MAMs are critical in maintaining neuronal homeostasis, playing an essential role in mitochondrial dynamics and bioenergetics, calcium homeostasis, autophagy, lipid synthesis and apoptosis.

We have previously demonstrated that *Gdap1*^{-/-} embryonic motor neurons (MNs) show reduced ER-mitochondria contacts, altered calcium homeostasis by abnormal store-operated calcium entry (SOCE) and changes in the autophagic flux (Barneo-Muñoz et al. PLoS Genet 2015). Now we are showing that the lack of *GDAP1* in MNs also induces alterations in mitochondrial dynamics and a defective pattern in mitochondrial axonal transport, which may produce a mislocalization of mitochondria within the neuronal axon and maybe in the neuromuscular junction. We have also observed that the absence of *GDAP1* impairs mitochondrial respiration and mitochondrial membrane potential, and reduces the ATP levels, which led to the increase of oxidative stress. Thus, as expected, we have observed that lack *GDAP1* induces a loss of viability of cultured motor neurons as well.

In summary, we conclude that loss of *GDAP1* causes abnormalities in the mitochondrial axonal transport and mitochondria-ER crosstalk, which may affect axonal biology and induce nerve degeneration. The spectrum of such abnormal changes represents druggable cellular pathways of *GDAP1*-related CMT.

acivera@fsjd.org

Análisis Transcriptómico y de Función Mitocondrial y Autofágica en Fibroblastos de Pacientes con Enfermedad de Parkinson por Mutación en Parkina

Ingrid Gonzalez Casacuberta; Constanza Morén Núñez; Diana Luz Juárez Flores; Anna Esteve Codina; Cristina Sierra; Marc Catalán García; Mariona Guitart Mampel; Ester Tobías; José César Milisenda; Claustre Pont Sunyer; Maria José Martí; Eduard Tolosa; Rafael Artuch; Francesc Cardellach López; Mario Ezquerro; Rubén Fernández Santiago; Glòria Garrabou
Grupo CIBERER: U722 Grupo de Investigación Muscular y Función Mitocondrial, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona
Otros grupos: Unidad de enfermedades metabólicas hereditarias del HSJdD (U703 CIBERER) y Equipo Trastornos del Movimiento y Enfermedad de Parkinson HCB (CIBERNED)

Background: Mutations in Parkin gene (PRKN) cause autosomal-recessive juvenile Parkinson's Disease (PD) (OMIM 600116). PRKN encodes a multifunctional E3-ubiquitin ligase involved in proteasomal-mediated protein turnover, mitochondrial function and mitophagy. We aim to study the molecular events underlying PRKN-PD to characterize a potential model for therapeutic approaches.

Methods: Transcriptomic analysis by RNA sequencing was performed in skin-derived fibroblasts from PRKN-PD patients. Mitochondrial function, biochemical analysis, oxidative stress and autophagy were assessed by spectrophotometry, HPLC, polarography and western blot in glucose and galactose media (glycolytic/oxidative conditions).

Results: Gene expression changes reflected two different networks: The first comprised the pathways of extracellular matrix organization, cell adhesion and cell motility. The second included anabolic pathways of glycine and serine aminoacid metabolism, 1C-folate-mediated metabolism, and the deoxyribonucleotide thymidine monophosphate (dTMP) biosynthesis. In glycolytic conditions we also reported a mild decrease of mitochondrial complex I activity and increased oxidative stress levels which significantly correlated in PRKN-PD. By forcing oxidative metabolism with galactose, PRKN-PD fibroblasts showed moderate recover of mitochondrial function together with a significant decrease in oxidative stress. Lastly, trends to increased autophagy flux and autophagosome synthesis were observed in PRKN-PD. Conclusions: Multifactorial pathological events take place in fibroblasts of PRKN-PD patients, with special relevance in mitochondrial and autophagic alterations. The fibroblast model of PRKN-PD contributes to characterize the pathologic phenotype and offers a platform to test therapeutic strategies.

garrabou@clinic.ub.es

Disminución en la Carga de Mutación del Mtdna Paralela a la Recuperación Visual de un Paciente LHON

Emperador S.¹, Vidal M.², Hernández-Ainsa C.¹, Ruiz C.¹, Woods D.¹, Morales-Becerra A.², Arruga J.³, Artuch R.², López-Gallardo E.¹, Bayona-Bafaluy M.P.¹, Montoya J.¹, Ruiz-Pesini E.¹
1University of Zaragoza, Spain. 2Hospital Sant Joan de Déu Barcelona, Spain. 3Bellvitge University Hospital, Spain.
Grupo CIBERER: U727 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza
Otros grupos: U703

El inicio de la neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON) en la infancia es bastante raro y curiosamente, la tasa de recuperación visual espontánea en este grupo de pacientes es muy alta.

En este trabajo nosotros describimos un niño portador de una mutación patológica rara del ADN mitocondrial (mtDNA) presente en heteroplasmia, asociada con enfermedad. El seguimiento del paciente mostró una rápida recuperación visual acompañada de una disminución en el porcentaje de ADN mitocondrial mutado.

El estudio retrospectivo sobre la edad de recuperación de varios pacientes con LHON de inicio en la infancia descritos en la literatura, sugiere que este proceso puede relacionarse con cambios puberales.

seortiz@unizar.es

Desregulación de la dinámica de la actina en los conos de crecimiento de neuronas deficientes en frataxina del ratón YG8R.

Muñoz-Laso, D.C. Mollá, B. Pallardo, F.V. Palau, F. González-Cabo, P.
Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universitat de València, Valencia
Otros grupos: U732

La ataxia de Friedreich (FRDA) es una enfermedad rara caracterizada por una pérdida temprana de neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG), uno de los tejidos más afectados en pacientes con FRDA. A pesar de los esfuerzos realizados para comprender por qué estas neuronas son las más afectadas, los mecanismos moleculares siguen siendo poco conocidos. Basado en el hecho de que las células FRDA presentan alteraciones en el citoesqueleto, estudiamos cómo afecta la falta de frataxina a la estructura y dinámica de filamentos de actina y microtúbulos en los conos de crecimiento (GC) de las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal. Para descifrar la conexión entre la frataxina y el citoesqueleto neuronal, hemos utilizado el modelo de ratón YG8R. Los estudios de inmunofluorescencia en cultivos primarios de DRG de ratones YG8R muestran neuronas con menos GC y más pequeños, asociado con la inhibición del crecimiento de neuritas. Además, hemos observado un aumento de la relación actina filamentosa (F)/actina monomérica (G) (ratio actina F/G) en los GCs y los axones, debido a la alteración de cofilina-1 y complejo ARP2/3, dos proteínas clave para el recambio y la ramificación de la actina filamentosa. En general, nuestros resultados describen que los niveles reducidos de frataxina pueden alterar el ensamblaje/desensamblaje de los filamentos de actina en las neuronas sensoriales adultas, contribuyendo así a la patogénesis de la FRDA.

pilargc@uv.es

Caracterización de las bases fisiopatológicas de la enfermedad mitocondrial causada por mutaciones en TIMM50

Tort F., Ugarteburu O., Teixidó L., Gea-Sorlí S., García-Villoria J., Ferrer-Cortès X., Arias A., Matalonga L., Gort L., Ferrer I., Guitart-Mampel M., Garrabou G., Vaz F., Esteban M., Beltran S., Wanders R., Fillat C., García-Silva MT., Ribes A.
Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Sección Errores Congénitos del Metabolismo-IBC, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, CDB, Hospital Clínic, Barcelona
Otros grupos: U716, U722, U723

En este estudio describimos un paciente de 17 años que presenta encefalopatía asociada a síndrome de West y posterior síndrome de Leigh, atrofia óptica y aciduria 3-metilglutacónica. En la infancia presentó miocardiopatía dilatada que evolucionó favorablemente. En la secuenciación del exoma se identificaron dos mutaciones *missense* en heterocigosis compuesta en *TIMM50* (c.[341G>A];[805G>A]). Este gen codifica para una subunidad del complejo TIM23, localizado en la membrana mitocondrial interna e implicado en el transporte de proteínas a la mitocondria.

El estudio de *TIMM50* en fibroblastos del paciente mostró ausencia prácticamente total de expresión proteica. El análisis mediante microscopía confocal evidenció importantes alteraciones, tanto en la morfología como en el grado de ramificación de la red mitocondrial. Además, mediante microscopía electrónica se detectaron alteraciones en la ultraestructura mitocondrial. Estudios bioquímicos demostraron alteraciones en los niveles de ciertas especies de cardiolipinas, pero sin afectar a los niveles globales de este fosfolípido. Estas observaciones sugirieron una posible deficiencia en el ensamblaje del sistema OXPHOS, aunque los complejos de la cadena respiratoria analizados por BN-PAGE fueron normales. Sin embargo, el ensamblaje de los supercomplejos OXPHOS estaba alterado.

El impacto de estas alteraciones sobre la función mitocondrial se demostró mediante estudios de respirometría de alta resolución, observándose una importante reducción de la capacidad respiratoria máxima en fibroblastos del paciente en comparación con individuos control. Además, un modelo celular deficiente en *TIMM50* en HEK293T mimetizó este defecto respiratorio, recuperándose el fenotipo al transfectar con *TIMM50 wild type*.

Este estudio supone la primera caracterización detallada de las bases moleculares y fisiopatológicas de esta enfermedad.

ftort@ciberer.es

SESIÓN ORALES, MIÉRCOLES 14, 11:30 – 14:00, PLANTA BAJA**Avances y Propuestas para un Sistema Compartido de Gestión de Datos Genómicos para el Diagnóstico y el Descubrimiento de Genes de Enfermedad**

Javier Perez Florido, Alexis Martínez, Gema Roldán, Joaquín Dopazo
Grupo CIBERER: U715 Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla

Actualmente nadie discute las ventajas del uso de secuenciación masiva para el diagnóstico y el descubrimiento de nuevas variantes de enfermedad sobre cualquier otra tecnología. Los obstáculos a su uso generalizado ya no son tanto de índole económica sino que tienen que ver con las complejidades derivadas del propio manejo de los datos genómicos. Desde el BiER/U715 llevamos varios años trabajando en distintos proyectos, como el TEAM y el BiERapp, que han ayudado a diagnosticar numerosos pacientes y encontrar nuevas variantes y genes de enfermedad. Presentamos la nueva generación de estas herramientas, en las que se da un salto tecnológico en términos de escalabilidad al incluir el motor de manejo de datos genómicos más potente del mundo, desarrollado en colaboración con el proyecto 100.000 genomas. También se comentarán las novedades de la base de datos de variabilidad de la población española, que actualmente contiene datos de 1600 exomas. Finalmente se dará una perspectiva de futuros desarrollos planificados.

joaquin.dopazo@juntadeandalucia.es

Contribution of the 14-3-3 Gene Family to Autism Spectrum Disorder

Fernández-Castillo, N. Torrico, B. Ghorbani, S. Hervás, A. Franke, B. Buitelaar, J. Freitag, C. Reif, A. Rueda, I. Kleppe, R. Haavik, J. Toma, C. Cormand, B.
Grupo CIBERER: U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona, Barcelona

Objectives: We recently identified a heterozygous 1-bp insertion in the *YWHAZ* gene (c.659_660insT, p.L220Ffs*18) in two brothers with Autism Spectrum Disorder (ASD) (Toma *et al.* Mol Psychiatry 2014;19:784). This gene encodes 14-3-3ζ, one of the seven isoforms of the 14-3-3 protein family. In this study we aimed to (1) functionally characterize the disruptive mutation identified in *YWHAZ*; and (2) evaluate the possible implication in ASD of all members of this gene family (*SFN*, *YWHAQ*, *YWHAG*, *YWHAZ*, *YWHAB*, *YWHAH*, *YWHAE*).

Methods: Normal and truncated 14-3-3ζ were expressed as fusion proteins in *E. coli*, where their solubility was tested. Furthermore, Biacore experiments were performed to assess the affinity of the truncated 14-3-3ζ with the well-known interactor Ser19-phosphorylated tyrosine hydroxylase (TH-Ser19P). To test the possible involvement of common and rare variants of the 14-3-3 genes in ASD we performed, respectively, (a) a case-control association study in 727 ASD patients and 714 controls, by using tagSNPs covering the seven genes; and (b) resequencing of all these genes in 285 ASD patients.

Results: Truncated 14-3-3ζ presented a decreased solubility and lost its affinity with TH-Ser19P. No common variants were found associated in our study. The mutation screening identified two potentially damaging variants in *SFN*.

Conclusions: These results suggest a possible dominant negative effect of the truncated 14-3-3ζ. The genetic study of the 14-3-3 gene family did not identify other risk variants in the *YWHAZ* gene. Although potential mutations were identified in *SFN*, further experiments are needed to test its possible contribution to ASD.

noe.genetica@gmail.com

Autosomal dominant Kidd-null blood group with mood disorders is associated to a Zinc-Finger deletion at ZNF850

Corominas, R García-Sánchez, F Pérez-García, D Schulz, VP Balas, A Rovira-Moreno, E Gallagher, PG Lawton, BR Vicario, JL Wang, L Zindel, M Sans, L Biesecker, LG Fornés, MG Nogués, N Takahashi, J Tani, Y V Campuzano, V Rodríguez-Granado, MA Krause, DS Pérez-Jurado, LA
Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona

The Kidd-null blood group, lacking the urea transporter UT-B1/SLC14A1 in the erythrocyte membrane, is a rare disorder associated with transfusion risk and urine concentration defect in humans, and depression-like behavior in mice. While the autosomal recessive form is due to biallelic *SLC14A1* mutations, the cause of the dominantly inherited form remained unknown. We identified six new families originating from the south of Spain with dominantly inherited Kidd-null.

Subjects with Kidd-null erythrocytes underwent medical and psychological evaluation, and two probands were tested for urine concentration. We performed genome-wide linkage analysis, exome sequencing, mRNA and protein expression analyses in samples from patients, and functional studies in cell lines.

Most Kidd-null individuals (81%) fulfilled criteria for mood and/or anxiety disorder, with 7.4-fold increased suicidal risk (95%CI:2.3-16.7, $p=7.9 \times 10^{-4}$). The tested cases presented a reduced ability to concentrate urea in urine. Kidd-null cells had reduced quantity of glycosylated UT-B1 at the erythrocyte membrane although *SLC14A1* mRNA levels were normal. Linkage analyses identified a shared haplotype at 19q13 and exome sequencing identified a deletion of a single C2H2 zinc finger-encoding the 8th domain of ZNF850 in Spanish kindreds, absent in controls. An overlapping deletion was identified in a Japanese Kidd-null case. Compared to wild-type, mutant ZNF850 had decreased cytoplasmic location in transfected cells.

A predicted zinc finger deletion at ZNF850, prevalent in Southern Spain due to a founder mutation, leads to UT-B1 dysfunction and underlies the dominantly inherited Kidd-null blood group. The phenotype associates subnormal urine concentrating ability, mood and/or anxiety disorders, and increased suicidal risk.

rosercorominas@gmail.com

Progress in the genetic diagnosis of inherited retinal dystrophies

García-García, G., Rodríguez-Muñoz, A., Hernán, I., Riveiro-Álvarez, R., Ávila-Fernández, A., Carballo, M., Ayuso, C., Barranco, H., Gallego-Pinazo, R., Jaijo, T., Aller, E., Millán, JM.
Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia

Inherited retinal dystrophies (IRD) encompass a group of disorders characterized by progressive loss of photoreceptors. The genetic diagnosis by traditional methods is challenging due to high genetic heterogeneity and clinical variability of the IRD. Therefore, the aim of this study is the molecular diagnosis by next generation sequencing of patients with IRD.

We designed a panel including 117 genes and 5 deep intronic mutations. We used SureSelectQXT (Agilent) for library construction and MiSeq (Illumina) for samples sequencing. Data were analysed by SureCall (Agilent) and wANNOVAR (WGLab) softwares. We analysed 8 patients, with mutations previously detected in 8 genes responsible of IRD, as controls for the panel validation. Then, we sequenced a cohort of 115 patients clinically classified as IRD but without molecular diagnosis.

The designed panel had a size of 490kbp. The average depth was 228x and the 98% of bases had a depth >50x. We detected the 100% of control mutations: one splicing mutation, 2 missenses, 5 frameshifts and one 5 exons deletion. We diagnosed 55% of patients studied and we found *ABCA4* (22%), *USH2A* (13%) and *RPGR* (13%) as the most frequently mutated genes. In 16% of patients we identified only an allele mutated in a recessive gene and in the 29% we did not detect any mutation.

Our results are promising as the detection rate of the panel is higher than 50% of all the patients analysed. Further analysis as MLPA, CGH-array, RNA sequencing or exome sequencing would be needed to complete the diagnosis of unsolved patients.

gegarcia@ciberer.es

Identification of a new mechanism of antithrombin deficiency hardly detected by current methods: Duplication of SERPINC1 exon 6

de la Morena-Barrio, B de la Morena-Barrio, ME Padilla, J Teruel, R Asenjo, S Wypasek, E Undas, A Miñano, A 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

Introduction. Antithrombin deficiency is a severe thrombophilia caused by gene variations or gross deletions affecting *SERPINC1* (78% and 2% of cases, respectively), but unknown molecular basis in 20% of cases.

Methods. Our study enrolled 223 unrelated cases with antithrombin deficiency. Genetic analysis included multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), and *SERPINC1* sequencing. Hypoglycosylation was evaluated by electrophoresis and HPLC.

Results. 166 cases had 95 different *SERPINC1* variants located in exons or flanking regions. MLPA revealed whole or partial gene deletions in 6 cases. Moreover, 3 cases had regulatory mutations and 11 had disorders of glycosylation. The use of new primers for exon 6 amplification in 37 cases with unknown gene defects, identified a patient with heterozygous tandem duplication of 193bp, which associated with antithrombin deficiency in family studies. This duplication was not detected by whole gene sequencing using IonTorrent technology. However, a fine setting of MLPA conditions allows the detection of this exon 6 duplication. We developed a set of primers that specifically detected this tandem duplication by a simple PCR. This method identified a new case without *SERPINC1* gene defects detected by Sanger or MLPA, carrying a 863bp duplication of exon 6. Tandem duplications of *SERPINC1* exon 6 are probably caused by unequal recombination of Alu sequences surrounding exon 6.

Conclusions. This new *SERPINC1* genetic defect, which represents almost half of the gross gene defect causing antithrombin deficiency, is hardly detected by molecular methods currently used, but may be diagnosed by a simple and specific PCR amplification.

PI15/00079 (ISCIII&FEDER), 19873/GERM/15.

uge2985@hotmail.com

Aplicaciones de la medicina de sistemas al diagnóstico genético y en la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas en EERR

Ranea, JAG, Medina M.A.
Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga

En este trabajo vamos a mostrar algunas de las aplicaciones basadas en el modelado y explotación de redes biomédicas y desarrolladas en nuestro grupo para la predicción de nuevas relaciones genotipo-fenotipo en pacientes con trastornos cromosómicos raros, así como en la identificación de nuevas dianas terapéuticas implicadas en la angiogénesis.

Copy Number Variations (CNVs) son variaciones estructurales genómicas que en algunos casos conducen a enfermedad. Nuestro objetivo fue mejorar la identificación de relaciones genotipo-fenotipo mediante la integración de todos los datos genéticos y clínicos de miles de pacientes con trastornos genómicos raros en una red tripartita fenotipo-paciente-genotipo. En estos trabajos, la prueba de concepto es desarrollada sobre distintos registros clínicos y demuestra que esta metodología basada en redes podría ayudar a mejorar la precisión del diagnóstico y la caracterización de síndromes raros.

La angiogénesis, es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes, es uno de los mecanismos principales de la vascularización durante el desarrollo embrionario, el crecimiento, la regeneración y la curación de heridas. Más de un 3% de todas las enfermedades raras (unas 200 EERR) están relacionadas con una angiogénesis desregulada (e.g. enfermedades neoplásicas raras, oftálmicas, dermatológicas, etc.). En este trabajo hemos utilizado redes de interacción entre proteínas en la identificación de nuevas dianas anti-angiogénicas humanas. Las dianas más prometedoras fueron validadas experimentalmente mediante una batería de ensayos celulares "in vitro" e "in vivo", identificándose una nueva diana anti-angiogénica con potencial terapéutico mediante el tratamiento con anti-cuerpos.

ranea@uma.es

Next Generation Sequencing in Bone Marrow Failure Syndromes

Gálvez Eva; Sebastián Elena; Madero Luis; Catalá Albert; Beléndez Cristina; Díaz De Heredia Cristina; Galera Ana; Plaza Diego; Badell Isabel; Vallespín Elena; Lapunzina Pablo; Sastre Leandro; Perona Rosario; Surrallés Jordi; Bueren Juan; Sevilla Julián
Grupo CIBERER: GCV19 Grupo CIBERER: GCV19, Hospital Niño Jesús, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Background: Inherited bone marrow failure syndromes (IBMFSs) are a heterogeneous group of genetic disorders, with similar clinical presentations, resulting in complex diagnosis. Molecular characterization is essential in order to establish diagnosis, treatment and prognosis. Next-generation sequencing (NGS) techniques seem to be a useful platform for genetically defining different IBMFSs.

Aim: To design a NGS panel with the objective of making a specific, fast and cost-effective diagnosis for these pathologies.

Methods: We developed a NGS panel of 164 genes involved in different IBMFSs. A total of 169 samples have been processed. Patients were classified into two groups based on the clinical presentation: classified IBMFS (CBMFS) for those with a clinical picture typical of some of these disorders, and unclassified IBMFS (UBMFS) for the others. For the NGS study the NextSeq platform of Illumina (Roche) has been used. Bioinformatic analysis has been oriented to the identification of point polymorphisms (SNPs) and insertions/deletions of small DNA fragments.

Results: Of the 169 samples processed, 7% (12/169) were not suitable for analysis. A total of 157 patients were studied. In 57,4% (90/157) causal mutations were detected. From the total samples analyzed (157), 78% (123/157) were included in the CBMFS patient group, obtaining a diagnostic yield of 61% (75/123). The remaining 34 patients (22%) were included in the UBMFS group and we found causal mutation in 44% (15/34). Therefore, it remains a percentage of patients without a genetic diagnosis, which seems more evident in the UBMFS group. This could be explained by the fact that the causal gene has not been described or due to the limitations of the technique.

Conclusions: NGS techniques are a fast and cost-effective option for the diagnosis of IBMFSs patients. In our series, we have reached a diagnosis rate of 57,4%, coinciding with that described in the literature. Undiagnosed patients should be included in new research projects.

julian.sevilla@salud.madrid.org

miRNA analysis provides new insights into propionic acidemia related cardiomyopathy

Richard E, Alonso-Barroso E, Fulgencio-Covian A, Rivera-Barahona A, Pérez B, Pérez-Cerdá C and Desviat L.R.
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. In this work, we aimed to better understand the PA pathophysiology and discover new therapeutic targets using two disease models: the hypomorphic *Pcca*^{-/-} (A138T) mouse and iPSC-derived cardiomyocytes. We evaluated the expression of heart-enriched miRNAs previously associated with cardiac hypertrophy. Several miRNAs were found upregulated in PA mouse hearts, among them miR-199a-5p which has an important role in suppressing cardiomyocyte autophagy and inducing cardiac hypertrophy by the activation of mTOR signaling pathway. The upregulation of miR-199a correlated with the decrease in its target, PPAR β/δ , a regulator of energy metabolism important to maintain proper cardiac function. In addition, the analysis of the levels of autophagy proteins indicated an autophagy inhibition. Furthermore, p70 S6 kinase and S6 ribosomal protein, downstream proteins of mTOR signaling pathway, were activated in PA mice hearts. Our work suggests that miR-199a overexpression could be in part involved in cardiac hypertrophy by suppressing cardiac autophagy through activation of mTOR signaling. Patient-derived iPSC differentiated into cardiomyocytes provide a new disease model in which to confirm the altered miRNAs expression and dysregulated signaling pathways contributing to the development of cardiomyopathy in PA.

erichard@cbm.csic.es

Análisis de enfermedades raras con base genética mediante el uso de predictores

Rojano E, Seoane P, Perkins JR, Ranea JAG.
Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga

Los análisis de redes de asociación sirven como ayuda para el estudio de enfermedades raras, las cuales tienen una baja prevalencia en la población. Dichas redes de asociación se elaboran a partir de información almacenada en bases de datos, que incluyen información de las enfermedades que presentan numerosos pacientes a lo largo de todo el mundo. Distintos pacientes pueden presentar regiones del genoma afectadas en común y un cuadro fenotípico similar, y con ello se pueden crear y analizar redes que relacionen fenotipos patológicos con regiones genómicas afectadas, en base a la información de los pacientes. Nuestro equipo de investigación está desarrollando un software informático que emplea asociaciones entre fenotipos HPO (Human Phenotype Ontology) con regiones del genoma previamente calculadas, con el fin de predecir las posibles regiones afectadas de pacientes con un cuadro fenotípico clínicamente caracterizado. Esta herramienta se puede utilizar para realizar una estimación previa de las posibles regiones genómicas afectadas y priorizarlas, lo cual serviría como apoyo al diagnóstico y para la toma de decisiones a la hora de emplear técnicas de análisis genómico de los pacientes afectados. Finalmente, estamos desarrollando una página web que incluye todas las funcionalidades de la herramienta para facilitar su uso por la comunidad científica y clínica.

elenarojano@uma.es

NeuroPaisaje, genómica clínica y funcional de enfermedades no-diagnosticadas neurológicas

Serrano M, Martínez-Monseny A, Armstrong J, Yubero D, Martorell L, Bolasell M, Arjona C, Maynou J, Fernández G, Roldan M, Osuna M, Dorado M, Roura M, Reina-Castillón J, Hoenicka J, Palau.
Grupo CIBERER: U732 Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona
Otros grupos: U703

NeuroPaisaje es un proyecto del Programa de Enfermedades No-Diagnosticadas del Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER) que tiene como objetivo mejorar la capacidad diagnóstica en pacientes sin diagnóstico, basado en el modelo 'Fenotipado a fondo – Genómica clínica – Genómica funcional (Ff-Gc-Gf)'.

PACIENTES Y MÉTODOS. Se ha seleccionado dos grupos de pacientes neurológicos: (A) 14 pacientes con trastorno del neurodesarrollo sin diagnóstico y (B) 7 pacientes en los que se ha encontrado un gen candidato para estudio funcional. En el grupo A, se ha evaluado el fenotipo clínico en profundidad (perfil HPO), secuenciación del exoma completo y análisis de las SNV y CNV empleando un pipeline bioinformático propio. En el grupo B, se ha realizado experimentos funcionales, celulares y moleculares, de mutaciones missense y de splicing. Los genes analizados son *MEGF10*, *ZEB2*, *DYNC1H1*, *ITPR1*, *GATAD2B*, *SCL6A1* y *GABBR2*.

RESULTADOS. Se ha determinado la presencia aproximada de 130.000 SNV y 200 CNV. Hemos encontrado el gen mutante en 7 de los 14 casos del grupo A. Estos genes y los diagnósticos clínicos (MIM) asociados son: *TBCK* (#616900), *TMCO1* (#213980), *PACS1* (#615009), *OFD1* (#311200), *EP300* (#613684), *DYRK1A* (#614104) y *KTM2A* (#605130). Los primeros estudios funcionales han mostrado una posible alteración en el gen *ZEB2*: p.His934Arg cambia el patrón de expresión nuclear del factor de transcripción *ZEB2*.

CONCLUSIONES. El modelo 'Ff-Gc-Gf' aplicado a un Programa de Enfermedades No-Diagnosticadas permite integrar el análisis del genoma y de los genes con la biología celular molecular en el proceso clínico diagnóstico en el marco del hospital de referencia.

fpalau@sjdhospitalbarcelona.org

MESA REDONDA DIAGNÓSTICO

Programa CIBERER para Casos Clínicos de Enfermedades Raras sin Diagnóstico Molecular Cerrado (ENoD)

Morte B., Rovira E., Medrano A., Herreras E., Pérez-Jurado L.A.
Grupo CIBERER: No procede, Programa Transversal

El programa de Enfermedades Raras no diagnosticadas (ENoD) tiene como objetivo contribuir al diagnóstico molecular preciso para los casos clínicos de origen genético no resueltos tras aplicar protocolos disponibles en la cartera de servicios del SNS y al mismo tiempo establecer nuevas asociaciones genotipo-fenotipo.

El programa se puso en marcha con un proyecto piloto de discapacidad intelectual en 2016, ya consolidado con éxito, y ahora está abierto a todos los investigadores CIBERER y facultativos con casos no resueltos en todas las enfermedades raras.

Se ofrece: 1. Orientación diagnóstica y consejo experto sobre posibles actuaciones 2. En caso necesario, reinterpretación de datos genómicos complejos (secuenciación de nueva generación). 3. Tras un proceso de priorización, para los casos seleccionados generación de nuevas evidencias mediante exoma/genoma/otras técnicas, susceptibles de ser cubiertas por presupuesto propio CIBERER.

Para ello se precisa compartir, de forma anonimizada, los datos clínicos y los generados tras secuenciación. Se ha establecido una herramienta en línea (<http://enod.ciberer.es>) que permite registrar los casos clínicos en una base de datos común, para la revisión cruzada de los expertos colaboradores y la selección para aplicar las nuevas técnicas diagnósticas. Se está optimizando los protocolos de estudio y algoritmos bioinformáticos de análisis, creando los comités científicos y de nuevos evaluadores y estableciendo las colaboraciones y estrategias futuras dentro del CIBERER y con otros agentes.

El éxito del programa se basa en las capacidades y conocimiento específico de todos los grupos básicos, clínicos y bioinformáticos y la infraestructura en red colaborativa de que dispone el CIBERER.

bmorte@ciberer.es, enod@ciberer.es

Caracterización y Contribución al Diagnóstico Genético de una Cohorte de Pacientes con Discapacidad Intelectual, Autismo y/o Epilepsia: Proyecto Cohortes

E Rovira Moreno, A Medrano, E. Herreras, J Dopazo, S García-Miñaur, B Gener, E Guillén, F Ramos, J Rosell, I Tejada, M Milà, L A Pérez-Jurado.
Grupo CIBERER: No procede

El Proyecto Cohortes es una iniciativa del CIBERER focalizada en el estudio discapacidad intelectual, trastornos del espectro autista y epilepsia. Estos fenotipos complejos están asociados a distintas enfermedades raras (ERs) y presentan una elevada heterogeneidad genética. En consecuencia, el diagnóstico molecular es complejo, con tasas de éxito inferiores a 1/3 casos. Aunque algunas técnicas como el cariotipado molecular ya están disponibles en rutina diagnóstica, otras técnicas moleculares avanzadas como la secuenciación de exoma o genoma completo todavía tienen un alcance limitado.

Los objetivos generales del proyecto son: (1) Establecer una cohorte de casos bien estudiados y sin diagnóstico causal. Registrarlos en una base de datos común para la revisión cruzada de expertos colaboradores. Seleccionar candidatos para nuevas técnicas diagnósticas. (2) Optimizar protocolos de estudio, algoritmos bioinformáticos de análisis, y establecer guías clínicas. (3) Compartir los datos generados. (4) Contribuir a la formación de profesionales de la salud en Medicina Genómica.

A través de la base de datos se ha recogido hasta el momento la información de 182 casos. El reanálisis de los datos genéticos previos de 65 casos evidencia que la tasa de diagnóstico con esta aproximación podría superar el 20%. Después de ser evaluados se han seleccionado 25 casos para la secuenciación de novo del exoma.

Los resultados preliminares evidencian que estos proyectos colaborativos contribuyen significativamente a la identificación de causas moleculares en estas ERs. Adicionalmente la integración de la información clínica en una Base de Datos común es un paso necesario para la implementación de la Medicina Genómica y mejorando las tasas de éxito diagnóstico

enod@ciberer.es

POSTERS

MEDICINA MITOCONDRIAL Y NEUROMUSCULAR

1 A Substantial Fraction of Mitochondrial dTTP and dGTP Is Bound to Respiratory Chain Complex I

Cámara Y., González-Vioque E., Molina-Granada D., Cabrera-Pérez R., Torres-Torronteras J., Martí R.
Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitochondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona

A balanced dNTP pool is critical to maintain DNA replication fidelity. However, we have found that dTTP and dGTP are largely the most abundant species within the mitochondrial dNTP pool of different mouse tissues. dNTPs are thought to be mostly soluble in the mitochondrial matrix where they should be available for polymerases and other enzymes acting at repair and replication processes. Nevertheless, our results indicate that a significant amount of dNTPs are bound to protein within mitochondria. Specifically, we have detected that 70% of dGTP and 60% of dTTP present in a mouse liver mitochondrial lysate are bound to protein. We have also observed a similar interaction in different human cell lines.

After sub-fractionation of mouse liver mitochondrial lysates on a discontinuous sucrose gradient, we have observed that endogenous dGTP and dTTP co-migrate with respiratory chain complex I. Furthermore, we have identified several subunits of respiratory complex I from mitochondrial lysates by affinity-purification with dGTP immobilized on sepharose beads, and subsequent LC-ESI-MS/MS analysis. In addition, we have found that both nucleotides co-immunoprecipitate with native complex I using specific monoclonal antibodies.

Given its biochemical characteristics and because it affects to such an important proportion of mitochondrial dNTPs, the interaction of respiratory chain complex I with dGTP and dTTP may represent a novel mechanism regulating mitochondrial dNTP availability and thus mtDNA maintenance.

yolanda.camara@vhir.org

2 Mutations in COQ8B Found in Patients with Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome Alter COQ8B Function

Vazquez-Fonseca L., Doimo M., Calderan C., Desbats MA., Acosta MJ., Cerqua C., Cassina M., Ashraf S., Hildebrandt F., Sartori G., Navas P., Trevisson E., Salviati L.
Grupo CIBERER: U717 Departamento de Bioquímica, Laboratorio B19, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM, Facultad de Medicina UAM, Madrid

The coenzyme Q (CoQ) biosynthesis pathway has been well studied in yeast and comprises at least 12 COQ genes. COQ8 encodes an atypical protein kinase that appears to be essential for the phosphorylation of several CoQ polypeptides. Yeast COQ8 mutants lack CoQ and are not able to grow in non-fermentable carbon media sources as glycerol. Humans harbor two paralog genes of COQ8; COQ8A and COQ8B (previously termed ADCK3 and ADCK4). Mutations in COQ8B cause steroid-resistant nephrotic syndrome with variable neurological involvement.

We have found that COQ8B is a mitochondrial matrix protein peripherally associated with the inner membrane with a similar behavior to other COQ proteins like COQ4 and COQ5.

Moreover, COQ8B can complement a COQ8 yeast null strain when its mitochondrial targeting sequence (MTS) is replaced by either the yCOQ3 or yCOQ8 MTS, but not when the MTS was simply added to the N-terminus. This model was employed to validate COQ8B mutations, and to establish genotype-phenotype correlations. All mutations affected respiratory growth, but there was no correlation between mutation type and the severity of the phenotype. These data also suggest that the system is redundant, and that other proteins (probably COQ8A) may partially compensate for the absence of COQ8B. Finally, a COQ8B polymorphism, present in 50% of the European population (NM_024876.3:c.521A > G, p.His174Arg), affects stability of the protein and could represent a risk factor for secondary CoQ deficiencies.

lvazfon@ibb.uam.es

3 Consecuencias Inesperadas de las Mutaciones "Missense" en la Enfermedad de McArdle

García-Consuegra I., Asensio-Peña S., Ballester-López A., González-Quintana A., Arenas J., Lucía A., Nogales-Gadea G., Martín M.A.

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

Otros grupos: GCV14/ER/8

La enfermedad de McArdle es un trastorno muscular del metabolismo del glucógeno causado por mutaciones en el gen *PYGM*, que codifica para la isoforma muscular de la glucógeno fosforilasa (M-GP) con una prevalencia $\approx 1/150000$. Las alteraciones moleculares suponen en prácticamente todos los pacientes una pérdida completa de la actividad enzimática de M-GP.

La finalidad de este estudio ha sido corroborar que la ausencia de proteína M-GP en el músculo esquelético es una característica típica de esta enfermedad que es independiente del genotipo *PYGM*. Se analizaron las biopsias musculares de 40 pacientes cubriendo un amplio espectro de mutaciones en el gen *PYGM* y 22 biopsias musculares de individuos control, para estudiar las consecuencias a nivel de síntesis proteica, utilizando diferentes aproximaciones metodológicas y distintos anticuerpos contra M-GP. En el 95% de los pacientes no se detectó proteína M-GP, indistintamente del tipo de mutación presente, incluyendo mutaciones no-sinónimas como p.Gly205Ser y p.Trp798Arg que son las mutaciones "missense" más frecuentes en población española.

Estos resultados permiten mejorar la comprensión de los mecanismos moleculares de esta enfermedad muscular, y posiblemente pueden ser aplicables a otras enfermedades genéticas; además, pueden tener implicaciones relevantes en el diseño y desarrollo de futuras terapias dirigidas a dianas genético-moleculares.

inesgcg@hotmail.com

4 Nueva Mutación en el tRNALys del DNA Mitocondrial en un Paciente con Lipomatosis

López-Gallardo E., Emperador S., Hernández-Ainsa C., Cammarata-Scalisi F., Ruiz-Pesini E., Montoya J.

Grupo CIBERER: U727 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza

Las enfermedades mitocondriales son un grupo de trastornos producidos por un defecto en la síntesis de ATP por el sistema de fosforilación oxidativa. Estas enfermedades son multisistémicas y, en muchos casos están producidas por la presencia de mutaciones en el DNA mitocondrial. La lipomatosis se ha visto, en asociación con otros síntomas, presente en el síndrome de MERRF. En todos los casos descritos se ha encontrado asociada a mutaciones en el tRNALys del DNA mitocondrial.

En este trabajo, presentamos el caso de un varón que presenta una lipomatosis simétrica benigna cuyo análisis genético reveló una mutación no descrita anteriormente pero que, de nuevo, se encontraba en el tRNALys.

Todos los estudios genético-moleculares, bioquímicos y celulares realizados mostraron que esta nueva mutación puede ser la causa de la lipomatosis del paciente. De esta manera, el tRNALys se afianza como un hot-spot de la lipomatosis ya sea en asociación con otros síntomas o como síntoma aislado.

esterlop@unizar.es

5 El Precursor de la Síntesis de NAD⁺, NMN, Mejora la Bioenergética de Cíbridos Mutantes del mtDNA

Cascajo M.V., Sánchez-Cuesta A., Siendones E., López Gallardo E., Ruiz Pesini E., Fernández-Moreno M., Navas P.

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

Otros grupos: U717, U727

No existen terapias efectivas para la mayoría de las enfermedades mitocondriales causadas por mutaciones en el mtDNA. Proponemos una aproximación de tratamiento con nicotinamida mononucleótido (NMN), precursor de NAD, que podría regular la cadena respiratoria vía SIRT3/SIRT4. Proponemos caracterizar el papel terapéutico del NMN utilizando cíbridos trans-mitocondriales con mutaciones en el mtDNA.

La administración de NMN causa un aumento en los niveles de NAD mitocondrial y citosólico. Los cíbridos suplementados con NMN muestran un incremento significativo del crecimiento y supervivencia celular en galactosa. El

NMN además provoca un aumento de la respiración máxima en cíbridos con mutación en tRNA12s, ND6 (complejo I), COX1 (complejo IV), siendo este efecto menos destacado en mutantes del gen ATP6 (complejo V), e incrementa el consumo de oxígeno acoplado a la producción de ATP en tRNA12s y ND6. El NMN aumenta la glicólisis de cíbridos control, pero no en células mutantes, indicando un efecto específico sobre la mitocondria en células con mutaciones en mtDNA. Este aumento en la capacidad respiratoria celular junto con un descenso del estrés oxidativo mitocondrial, indican una mejora de la eficiencia mitocondrial. Por otro lado, resultados preliminares muestran que el NMN induce la expresión de genes codificados por el mtDNA pero no de genes nucleares

Proponemos el NMN como tratamiento farmacológico de defectos del mtDNA por activación de la fosforilación oxidativa y funciones mitocondriales dependiente de NAD.

Financiado por CIBERER ACCI 2015 y FIS PI14-1962.

mvcasalm@gmail.com

6 Efecto de la Inhibición de MAPK en una Línea Celular de Rbdomiosarcoma: Modelo "in Vitro" de la Diferenciación Muscular

De Luna N., Suarez-Calvet X., Garicano M., Schirwis E., Fernandez-Simon E., Rojas-García R., Diaz-Manera J., Querol L., Illa I., Gallardo E.

Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

La mayoría de estudios sobre diferenciación muscular están basados en experimentos realizados en líneas celulares de ratón y/o rata. La línea celular de rbdmiosarcoma TE671 presenta una mutación en el gen k-RAS que produce un incremento en la actividad Ras, elemento principal en la vía de transducción de señales MAPK/ERK. La capacidad de diferenciar y formar miotubos de la TE671 no se ha explorado en detalle.

Examinamos la diferenciación muscular al inhibir, específicamente, la proliferación celular de la línea TE671 estimulando con 1,4-diamino-2, 3-diciano-1,4-bis[2-aminofenil] butadieno (UO126), un inhibidor de la MAPK. Al iniciar la diferenciación, la línea TE671 se trató con UO126 durante dos días, los siguientes tres días las células se cultivaron en medio de diferenciación, los ciclos de tratamiento-no tratamiento se repitieron durante 9 días. Observamos que las células tratadas, inician la fusión, forman miotubos e incrementan la expresión de disferlina, básica en la diferenciación muscular y la reparación del sarcolemma, y miogenina. La vitamina D3 potencia la expresión de disferlina mediante: i) acciones no genómicas vía cascada de MAPK y ii) genómicas uniéndose al receptor de vitamina D localizado en el promotor del gen de la Disferlina. El tratamiento de las TE671 con vitamina D3 o el tratamiento conjunto de vitamina D3 con UO126 también incrementan la expresión de disferlina y favorece la diferenciación muscular.

Este modelo celular puede ser de utilidad para estudiar no sólo la diferenciación muscular "in vitro" sino como herramienta de cribaje de fármacos que mejoren la reparación del sarcolemma tras un daño.

Financiación: Fundación Ramon Areces, FIS 15/1597

nluna@santpau.cat

7 Estudio de las Características de los Pacientes con Miositis por Cuerpos de Inclusión (Inclusion Body Myositis, IBM) en España. Registro de Miositis por Cuerpos de Inclusión (IBM)

Segovia-Simón S., Cortés-Vicente E., Díaz-Manera J., García Bragado F., Hernández Laín A., López de Munain A., Olivé M., Paradas C., Vilchez J.J., Rojas-García R., Rivas Infante E., Illa I., grupo estudio de MCI

Grupo CIBERER: Proyecto transversal Registro Enfermedades Neuromusculares

Los registros para enfermedades raras han demostrado su utilidad para realizar estudios en enfermedades de baja prevalencia. Nuestro objetivo es investigar las características de los pacientes con IBM en España, mediante un registro clínico. Se diseñó un registro de IBM con la colaboración de especialistas de todo el país, como parte del proyecto Registro Español de Enfermedades Neuromusculares (NMD-ES). Los pacientes se localizaron a través de neurólogos y de servicios de anatomía patológica de hospitales especializados en análisis de biopsias musculares. Los pacientes se clasificaron siguiendo los criterios diagnósticos de la 188th ENMC International Workshop on IBM in 2011.

Se registraron 51 pacientes, 38 hombres. Edad media de presentación fue de 60 años, media de 7 años de retraso diagnóstico (rango 0-26). Se clasificaron en IBM clínico-patológicamente definida: 32,6%; clínicamente definida

37,2% y probable IBM: 30,2%. 16 pacientes (31,37%) fueron previamente diagnosticados con otra enfermedad neuromuscular. El primer síntoma de debut fue debilidad muscular (80%). Disfagia aislada fue encontrada en el 2% de los casos. Durante la progresión desarrollaron otros síntomas: debilidad proximal de miembros inferiores (88,2%), atrofia de cuádriceps (62,7%) y debilidad del flexores de los dedos (41,2%). Disfagia fue encontrado en 37,3% de los casos. 38 pacientes (74,5%) fueron tratados: esteroides (42,1%) o Iglv (34,2%) sin respuesta.

La IBM es extremadamente rara en España. Los síntomas y progresión son similares a otras series descritas. El registro ha permitido recoger datos de manera sistemática y extraer información fiable para realizar investigación.

ssegovia@santpau.cat

8 Diseño y Puesta en Marcha de un Registro de Enfermedades Mitocondriales

Segovia S., Montero R., Yubero D., Pías L., O'Callaghan M., García-Cazorla A., Ortigoza D., Domínguez C., Illa I., Artuch R. Grupo CIBERER U703, U762, U723

Tanto las nuevas técnicas genéticas para el diagnóstico como las nuevas terapias, requieren de una caracterización clínico-genética de pacientes que permita su selección para investigación o ensayos clínicos. Los registros son una herramienta que facilitan la caracterización de los pacientes y su identificación para testar nuevos tratamientos.

El objetivo es caracterizar clínica y genéticamente a los pacientes con enfermedad mitocondrial de España a través de un registro. Un grupo de expertos definieron las variables del registro. Dicho registro es parte del proyecto: Registros Nacionales de Enfermedades Neuromusculares, consorcio encargado de la creación y gestión de registros y dinamización de entrada de datos, participan 29 hospitales y 67 médicos. El diseño se realizó con la herramienta electrónica REDCap, aplicación web segura que facilita la captura de datos para investigación. La introducción de datos se realizará por un "data entry" que se desplazará a los hospitales participantes y posteriormente por los propios hospitales. Investigadores básicos, neuropediatras, neurólogos de dos Hospitales CSUR de Enfermedades Neuromusculares, junto a la Asociación de Enfermos de Patologías Mitocondriales han formado parte del grupo de expertos. Se han definido 286 variables que comprenden datos demográficos, genéticos, edad de debut y síntomas iniciales, tratamiento y pruebas complementarias. Para clasificar la enfermedad se han utilizado los criterios diagnósticos de Morava. Para evaluar el estado funcional y evolución se ha utilizado la escala validada adultos/pediátrica The Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale. 29 Hospitales que introducirán datos.

El registro de miopatías mitocondriales realiza una recogida de datos exhaustiva que permitirá la correcta caracterización de los pacientes con enfermedades mitocondriales.

ssegovia@santpau.cat

MEDICINA METABÓLICA HEREDITARIA

9 Quantification of Urinary Derivatives of Phenylbutyric and Benzoic Acids by LC-MS/MS as Treatment Compliance Biomarkers in Urea Cycle Disorders

Andrade F., Villate O., Vitoria I., Martín Hernández E., Pintos-Morell G., Puig-Piña R., Peña-Quintana L., Aldámiz-Echevarría L., Grupo UCD España. Grupo CIBERER: GCV10 Group of Metabolism, BioCruces Health Research Institute, Bizkaia. Otros grupos: GCV08

Background: Salts of benzoic acid (BA), phenylacetic acid (PAA) and phenylbutyric acid (PBA) have been used for nitrogen elimination as a treatment for hyperammonemia caused by hereditary urea cycle disorders (UCD). It is necessary to develop a new analytical method for PBA measurement in urine that evaluates the drug dosage, checks the adherence and correlates with clinical parameters.

Methods: Urine specimens from UCD patients receiving PBA or PBA and BA were analysed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry to measure phenylacetylglutamine (PAGln) and hippuric acid. Collected data for each patient were age, gender, height, weight, UCD subtype, PBA dosage, protein intake, ammonium and glutamine (Gln) levels. The stability for these metabolites was also determined at different storage temperatures for one month.

Results: Our study included 25 patients suffering from UCD: 17 ornithine transcarbamylase deficiency, 5 Citrullinemia (argininosuccinate synthetase), 2 carbamyl phosphate synthetase deficiency and 1 argininosuccinate lyase deficiency. The PAGln levels did not correlate with height, weight or age. However, the PAGln values shown correlation with PBA dose ($r=0.554$, $P=0.009$). Gln and ammonia were related by positive correlation ($r=0.644$, $P=0.002$).

Conclusions: We have developed a simple method for the determination of PBA, BA and their metabolites in urine, showing them as useful biomarkers of effective drug delivery. PAGln in urine is stable at room temperature at least for 15 days and frozen at -20°C for several months. This procedure is useful for the optimization and monitorization of the drug dose allowing the use of spot urines.

FERNANDO.ANDRADELODEIRO@osakidetza.eus

10 Involvement of AGT1 in the Cystinuria Mouse Model Slc7a9

Mayayo-Vallverdú C.¹, López de Heredia M.¹, Cano-Morey I.¹, González L.¹, Prat E.^{1,2}, Nunes V.^{1,2} (1) U730, Human Molecular Genetics Laboratory, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. (2) Genetic Unit, Physiological Sciences Departament, Health Science and Medicine Faculty, University of Barcelona, Spain. Grupo CIBERER: U730 Centro de Genética Médica y Molecular CGMM, CGMM-IDIBELL Hospital Duran y Reynals, Fundación IDIBELL, Barcelona

Cystinuria (OMIM #220100) is a rare inherited aminoaciduria characterized by urine hyperexcretion of cystine and dibasic amino acids (lysine, arginine and ornithine). Its clinical manifestation is cystine lithiasis in the urinary system due to the low solubility of cystine at physiological urine pH that induces its precipitation and, as a consequence, stone formation. Cystinuria, with a prevalence of 1:7000 births, is the most common primary inherited aminoaciduria and, to date, genetic alterations in the renal amino acid transporters, *SLC7A9* (b^o AT) and *SLC3A1* (rBAT) have been identified as responsible for this manifestation. However, the lack of genotype/phenotype correlation in cystinuria patients justifies the search for modulating genes. AGT1, the second renal cystine transporter encoded by *SLC7A13*, heterodimerizes with rBAT in the renal apical membrane where mediates efflux of anionic amino acids in exchange for cystine.

Urine aminograms, renal expression of rBAT and AGT1 analyzed by western blot, analysis of *Slc7a13* mRNA by RT-PCR in WT and mutant (*Slc7a9*^{-/-}) mice of both sexes were compared to study AGT1 contribution in amino acid reabsorption. Significant differences were observed in C_{ss}C, Glu, Asp urine concentration among genders. Male mice have 30-40 times more rBAT protein than females and, as previously shown, female mice showed no AGT1 protein in kidney BBMs although *Slc7a13* mRNA was detected in kidney preparations.

Financed by: FIS (PI13/00121 and PI16/00267)

cmayayova@gmail.com

11 Metabolic Dysfunction Drives Immune Complications in Lysinuric Protein Intolerance Mouse Model

Bodoy S., Sotillo F., Couso J., Sanchez M., Artuch R., Sebastio G. and Palacín M. Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona. Otros grupos: U703

Lysinuric Protein Intolerance (LPI, MIM #222700) is a rare autosomic disease caused by mutations in *SLC7A7* gene. Hallmarks of LPI are malabsorption and deficient renal reabsorption of cationic amino acids which results in defective urea cycle that cause hyperammonemia in LPI patients. Immune and hematologic complications such as anemia, pulmonary alveolar proteinosis or hemophagocytic lymphohistiocytosis are also found in patients. However the molecular mechanism(s) of these complications remain unknown. Arginine has been demonstrated to be crucial for a correct immunity and specifically for a proper macrophage functioning. Thus we hypothesize that primary metabolic condition may be also contributing to the development of LPI immune and hematologic complications. Due to ablation of *Slc7a7* is perinatally lethal in mouse, our group has generated the first tamoxifen-inducible KO mouse model (*Slc7a7*^{-/-}) to study of human LPI. *Slc7a7*^{-/-} mouse model fulfilled human LPI metabolic disease and also developed anemia, hyperferritinemia, pulmonary alveolar proteinosis and increased erythrophagocytosis.

Furthermore we characterized a novel trait of *Slc7a7*^{-/-} macrophages in LPI; aberrant iron accumulation in macrophages, that may be a plausible explanation for some of the LPI immune-related complications. By treating the metabolic dysfunction we observed a clear improvement of the immune-hematologic condition. In addition, *Slc7a7*^{-/-} myeloid-specific

ablated animals did not show any apparent phenotype. Altered erythropoiesis and subsequent increased erythrophagocytosis, compromised ferroportin expression which seems to be at the bases of iron accumulation in LPI mouse.

For the first time, we are describing a direct relationship between the primary metabolic dysfunction and the immunohematologic complications in LPI.

susanna.bodoy@irbbarcelona.org

12 Bases de las Hiperamoniemias Primaria y Secundaria Asociadas a CPS1 y de su Tratamiento con Carbamilglutamato

*Gougard N., Díez-Fernández C., Barcelona-Andrés B., Häberle J., Rubio V.
Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia; y Hospital Pediátrico de Zürich, Suiza*

La CPS1 cataliza el primer paso del ciclo de la urea. Su déficit hereditario produce hiperamoniemia primaria, con coma, retraso mental e incluso muerte. Se han identificado muchas mutaciones "missense" en pacientes con déficit de CPS1. Es comprensible que las mutaciones localizadas en los dominios de unión de sustratos y del activador alostérico esencial, N-acetilglutamato (NAG), produzcan patología. Sin embargo, también hay mutaciones clínicas en el dominio N-terminal (casi 400 aminoácidos) de función desconocida. Aquí estudiamos los impactos de las mutaciones de pacientes que afectan a este dominio N-terminal, demostrando efectos negativos principalmente sobre el plegamiento del enzima y sobre la velocidad de catálisis, apoyando para este dominio papeles de estabilización del "fold" y de integración estructural, así como de optimización de V_{max} .

El N-carbamilglutamato (NCG) es un medicamento huérfano/activador artificial de la CPS1 que puede reemplazar al NAG. Basado en estudios con CPS1 murina se ha publicado recientemente que NCG podría tener efectos contraproducentes en pacientes con déficit incompleto de CPS1, aduciendo efectos subóptimos del NCG sobre la V_{max} del enzima. También existía la sospecha de que la activación subóptima de la CPS1 por el N-propionilglutamato acumulado explicaría parcialmente la hiperamoniemia secundaria observada en la acidemia propiónica. Aprovechando nuestra producción de CPS1 recombinante humana pura hemos reanalizado estas propuestas relativas a las acciones de NCG y propionilglutámico. Nuestros resultados no apoyan una V_{max} sustancialmente disminuida de la CPS1 humana por NCG ni por N-propionilglutamato, poniendo en cuestión ambas propuestas. Realizado con ayudas de la Fundación Inocente Inocente y del MINECO (BFU-2017-84264P).

ngougard@ibv.csic.es

13 Búsqueda de Nuevos Síndromes en Pacientes no Diagnosticados con Trastornos Cromosómicos Raros

*Jabato F.M., Moya A., Rojano E., Ranea G. Juan A.
Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*

Se define enfermedad rara (ER) como aquella que tiene una prevalencia de menos de 5 de cada 10.000 habitantes. Algunas enfermedades raras tienen definidos sus signos y síntomas asociados y, por tanto, reciben un nombre y una clasificación. Sin embargo, hay pacientes que padecen síntomas y signos que, en su conjunto, no encajan en ninguna enfermedad definida.

Es en este punto donde estamos desarrollando un sistema de búsqueda de patrones en pacientes no diagnosticados. Contamos con una red tripartita (Fenotipo-Paciente-Genotipo) con miles de individuos con trastornos cromosómicos raros (deleciones y duplicaciones). Haciendo uso de estos individuos, implementamos un sistema de búsqueda de comunidades basado en las similitudes fenotípicas de los pacientes teniendo en cuenta sus anotaciones en HPO (Human Phenotype Ontology) y el índice de similitud semántica de Robinson (Resnick bidireccional).

El proceso de búsqueda de comunidades ha sido configurado para localizar grupos de pacientes con alta conectividad (perfil fenotípico muy parecido entre todos los miembros de una comunidad), que tengan la posibilidad de compartir pacientes (un mismo paciente puede pertenecer a varias comunidades) y con diferente granularidad (se incluyen sub-comunidades). Para ello se ha utilizado software propio y el algoritmo de linkcomm ya implementado en el lenguaje R. Obtenidas las comunidades, comparamos los perfiles fenotípicos de cada una con síndromes descritos en bases de datos de enfermedades de origen genético, tales como OMIM, discriminando aquellas que se asemejan a síndromes ya descritos e identificando cuales son objeto de estudio como nuevos síndromes potenciales.

jabato@uma.es

14 Diagnosis of Mitochondrial Disorders: The Perspective of a Biochemical-Genetics Testing Laboratory

*Bravo-Alonso I., Vega A., Navarrete R., Merinero B., Pérez-Cerdá C., Ugarte M., Pérez B., Rodríguez-Pombo P.
Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*

High-throughput sequencing is improving the diagnosis of locus-heterogeneous diseases such as mitochondrial disorders (MD). The 58 patients included here are a representative sample of the broad-spectrum of clinical and biochemical profiles of the patients referred to our centre with a suspicion of MD.

For the genetic analysis we followed a diagnostic cascade that included the massive parallel sequencing of clinical exome to identify pathogenic mutations in nuclear genes, an amplicon-based whole mitochondrial DNA sequencing (mt-DNA), and an analysis of the complementary-DNA of single genes, mainly applied for cases where only one variant was identified in a candidate gene. After prioritization and classification of the variants according to the American College of Medical Genetics and Genomics criteria, we identified the genetic cause in 27 patients. Of these, 24 patients harbored 34 disease-causing changes in 19 nuclear genes. Other three patients carried known point mutations in mtDNA.

Exome-based molecular analysis was complemented with the analysis of patients' RNA to detect possible transcript-level changes of single genes. With this approach we identified a deep-intronic GFM1 c.689+908G>A that provokes the activation of a cryptic-site and the creation of a new exon as was demonstrated by minigene analysis, opening the way to explore a RNA-based therapy.

Our workflow that integrates the functional genomic information has increased our global rate of positive diagnosis to 48%. With all, beyond the use of genetic diagnosis strategies, the identification of specific metabolic-signatures and the unification of the criteria to classify clinical symptoms will improve the MD diagnosis and treatment.

bperez@cbm.csic.es

15 Salicylic Acid Derivatives Inhibit Oxalate Production in Mouse Hepatocytes with Primary Hyperoxaluria Type 1

*Moya-Garzón M.D., Martín-Higueras C., Rodríguez B., Franco-Montalbán F., Gómez-Vidal J.A., Díaz-Gavilán M., Salido E.
Grupo CIBERER U740. Fundación Canaria de Investigación Sanitaria (FUNCANIS)*

Primary Hyperoxaluria Type 1 (PH1) is a rare life-threatening genetic disease related to glyoxylate metabolism that develops from early ages and is characterized by an accumulation of calcium oxalate crystals starting in kidneys and spreading to the rest of tissues. Current therapies involve hepatic and/or renal transplantation. These procedures have significant morbi-mortality and require long-term immunosuppression. Thus, novel pharmacological treatments are needed to improve the health of PH1 patients.

We report the design and biological evaluation of salicylic acid derivatives able to reduce the oxalate output in hyperoxaluric mouse hepatocytes at the low micromolar range. An unprecedented application for salicylates is herein introduced.

The drug-like structure and ease of synthesis of our active compounds make them promising leads for future drug development.

esalido@ull.es

16 Descripción de una Nueva Variante Asociada a Porfiria Cutánea Tarda

*López de Frutos L., García Latasa de Aranibar F.J., Sarria Octavio de Toledo L., Giraldo P.
Grupo CIBERER: U752 Grupo de estudio de enfermedad de Gaucher y neoplasias hematológicas. Servicio Hematología, Hospital Universitario "Miguel Servet", Instituto Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), Zaragoza*

La porfiria cutánea tarda (PCT) se debe a una alteración en la función de la enzima uroporfirógeno descarboxilasa, necesaria para la correcta síntesis del grupo hemo. Clínicamente, se caracteriza por fotosensibilidad y un cuadro de fragilidad cutánea que suele aparecer entre los 20 y los 40 años, siendo más frecuente en varones. También se asocia a afectación hepática. La PCT hereditaria es la responsable del 20% de los casos, causándola mutaciones en el gen UROD (MIM*613521) con un patrón autosómico dominante.

El presente trabajo describe un paciente de 48 años con erosiones dérmicas en zonas fotoexpuestas, hirsutismo malar y una concentración de uroporfirina en orina de 1.360,97 mcg/24h (valores normales < 46 mcg/24h). Además mediante resonancia magnética hepática se observa un incremento en los depósitos de hierro. El análisis mediante secuenciación tipos "Sanger" del gen UROD completo detecta tres variantes, una de ellas presenta una baja frecuencia poblacional y sin efecto descrito.

Se ha analizado la presencia de esta variante en 21 sujetos control de población ibérica, no observándose en ninguno de ellos. Además se ha analizado el efecto de la misma mediante 5 predictores bioinformáticos, indicando todos ellos que puede tratarse de una variante asociada a patogenicidad.

Los resultados del estudio, así como la baja frecuencia poblacional y las manifestaciones clínicas del paciente nos llevan a la conclusión de que esta variante, cuyo efecto no se conocía, se asocia a la porfiria cutánea tarda hereditaria.

llopezdefrutos.uit@gmail.com

17 Efficacy of Network-Based Computational Strategies in the Diagnosis and Novel Gene Identification for Inherited White Matter Disorders

Schlüter A., Rodríguez-Palmero A., Verdura E., Ruiz M., Martínez J.J., Mandel J.L., Macaya A., López de Munain A., Casasnovas C., Pujol A.
Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL-Hospital Duran i Reynals, Barcelona

Leukodystrophies are neurodegenerative diseases manifesting frequently with similar clinical pictures, i.e. chronic progressive spasticity, due to common underlying causes and physiopathological mechanisms. Although the genetic basis is partly understood, only a small fraction of cases receives a definitive genetic diagnosis using targeted approaches nowadays. Whole exome sequencing (WES) may improve diagnostic yield and identify novel causative genes.

To improve analysis of WES data, we have developed a global, network-based computational method designed to prioritize disease genes based on the observation that genes causing similar diseases tend to lie close to one another in a network of protein-protein physical and functional interactions. This information is integrated with a phenotypic disease metric based on Human Phenotype Ontologies (HPO), to score the strength-of-association of proteins with white matter diseases.

Following strictly the ACMG criteria (Richards et al, Genet Med 2015) for interpretation of variants, our diagnostic yield from 87 WES cases is as follows: i) positive or probable diagnosis in 56% (pathogenic, likely pathogenic or vus variants); ii) novel candidate genes in 13%; and iii) Negative cases in 31%. Our analysis links HSP and leukodystrophy to other neurodegenerative disorders and may facilitate gene discovery and mechanistic understanding of white matter and cortical motor neuron diseases.

aschluter@idibell.cat

MEDICINA PEDIÁTRICA Y DEL DESARROLLO

18 A Mouse Model for DYRK1A Haploinsufficiency Syndrome Presents Autistic-Like Behaviours, Epilepsy and Altered Brain Cytoarchitecture

Barallobre M.J., Arranz J., Arató K., Sánchez-Elexpuru G., Najas S., Sahún I., Rebollo E., Sánchez M.P., de la Luna Arbonés M.L.
Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona

DYRK1A is a human chromosome 21 gene encoding a protein kinase that regulates critical neurodevelopmental processes including brain growth, neurogenesis and neurite extension. Advances in sequencing technologies have allowed the identification of de novo mutational events in DYRK1A and the identification of a clinical syndrome known as DYRK1A haploinsufficiency syndrome (OMIM 614104). Mutational events include small insertion and deletions, non-sense mutations and missense mutations. In the latter case, the functional impact is unknown. The main features of the syndrome are developmental delay, moderate or severe intellectual disability, microcephaly, impaired speech and typical facial dysmorphism. Epileptic seizures and autistic behaviors have been also reported in most patients.

In this work we have functionally characterized the DYRK1A missense variants and found that most of them are loss of function mutations. We have previously shown that haploinsufficient Dyrk1a^{-/-} mice present microcephaly and cognitive deficits. Here, we extend the characterization of the Dyrk1a^{-/-} mice as a disease model for the haploinsufficient syndrome. Intracranial recordings performed in adult Dyrk1a^{-/-} mutants showed spontaneous interictal epileptiform activity and generalized tonic-clonic seizures. Moreover Dyrk1a^{-/-} mice showed poor reciprocal social interactions and stereotyped and repetitive behaviors in tests designed to assess autistic-like behaviors. These behaviors correlate with an altered balance of excitatory and inhibitory neurons in the neocortex and hippocampus that could lead to abnormal network activity.

Altogether our results indicate that Dyrk1a^{-/-} mouse recapitulates the syndromic phenotypes observed in human patients and constitutes a useful model for mechanistic and therapeutic research in patients with heterozygous mutations in DYRK1A.

mbfbmc@ibmb.csic.es

19 Congenital Hypoplasia of DAOM: Descriptive Epidemiology and Clinical Characteristics in The Spanish Series of Liveborn Infants Registered by ECEMC

Cuevas-Catalina L.^{1,2}, Martínez-Fernández M.L.^{1,2}, ECEMC Peripheral Group³, Bermejo-Sánchez E.^{1,2,4}
1ECEMC (Spanish Collaborative Study of Congenital Malformations). Research Center on Congenital Anomalies (CIAC). Institute of Health Carlos III. Madrid, Spain. 2CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), U724. Madrid, Spain. 3 As listed in www.fundacion1000.es 4 Institute of Rare Diseases Research (IIR). I. of Health Carlos III. Madrid, Spain.
Grupo CIBERER: U724 Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas - CIAC, Centro mixto ISCIII - ASEREMAC, Madrid.

Objectives: To estimate the prevalence of congenital hypoplasia of Depressor Anguli Oris Muscle (CHDAOM) in liveborn infants (LB) controlled by ECEMC in 1976-2014, and to study its epidemiological and clinical characteristics, and associated defects.

Methods: Among 3,113,608 LB, 350 presented CHDAOM. A total of 4,002 healthy LB constituted the control group. Descriptive measures and inference methods were used for the comparisons.

Results: Birth prevalence for CHDAOM was 1.12/10,000 LB (95% CI: 1.01-1.25). Left side was more commonly affected (69.5%). The percentage of cases with associated anomalies was significantly higher (p=0.002) among CHDAOM (34%) than among those without CHDAOM (26.6%). Cardiovascular anomalies were equally frequent in both groups. With regard to the obstetric perinatal variables, primigravidity, podalic presentation, induced labor and cesarean section were significantly more frequent among CHDAOM (vs. controls). Mean birthweight of CHDAOM cases was 65.7 g lower than among the controls (p<0.025). The CHDAOM cases had more relatives with congenital defect (41.67% of them had also CHDAOM) than the cases without CHDAOM and the controls.

Discussion: In some series, including ours, there was an excess of associated anomalies among children with CHDAOM. This finding may be in part due to a more intense search for associated anomalies in these cases, especially after the first published studies on the association of CHDAOM and cardiovascular defects. Some perinatal obstetric variables might indicate that the defect could be partly associated to fetal distress.

Conclusions: Analytic multivariate epidemiological studies on CHDAOM would be useful to identify risk factors and preventive measures.

lcc@externos.isciii.es

20 Implementación y Aplicación de un Panel de Secuenciación Masiva para el Estudio Genético de las Anomalías de la Diferenciación Sexual

Benito-Sanz S., Mora-Palma C., Lapunzina P., Fernández-Cancio M.
Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U712

Introducción: Las Anomalías de la Diferenciación Sexual (ADS) constituyen un amplio espectro de patologías originadas por anomalías en las etapas embrionarias imprescindibles para el desarrollo normal del sexo genético, gonadal y/o genital interno/externo. Actualmente, se conoce la base molecular ~56% de los ADS 46,XY y del ~95% 46,XX y se han identificado ~45 genes implicados en diferenciación sexual.

Objetivo: Identificar el defecto molecular en 167 pacientes con ADS (138 descartados anteriormente para genes/ mutaciones frecuentes) mediante secuenciación masiva (NGS).

Metodología: Se realizó la secuenciación mediante un panel diseñado de NGS, DSDSeqV1.0 (112 genes y 3 regiones reguladoras) en plataforma NextSeq. Análisis bioinformático con herramientas propias e Illumina. Estudio patogénicidad mediante herramientas bioinformáticas de predicción de patogénicidad y evaluación de frecuencia alélica mediante bases de datos poblacionales. Confirmación de variantes observadas por secuenciación Sanger o MLPA.

Resultados: Se han identificado 188 variantes en 118 pacientes con ADS, 21 con variantes patogénicas, mientras 98 presentan variantes probablemente patogénicas o clasificadas como de significado incierto (VUS). Las variantes están repartidas en 64 genes, de los cuales un número significativo de los mismos no han sido asociados hasta el momento con ADS en humanos.

Conclusiones: En el 12,6% de pacientes analizados se identifica directamente el defecto molecular asociado a ADS. El 58% presentan variantes probablemente patogénicas y/o VUS, pero que pueden ser la causa de ADS en nuestros pacientes; será necesario estudios funcionales para determinar su implicación en el fenotipo. En los casos sin mutación identificada debe considerarse realizar la secuenciación de exoma y aCGH.

sara_bsanz@yahoo.es

21 2016 BBMRI-LPC WES Call: An Opportunity to Diagnose Six Unsolved Cases Within SpainUDP

López E., Bermejo E., Martínez B., Alonso F.J. and Posada M.
Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid
Otros grupos: U724

The 2016 BBMRI-LPC Whole Exome Sequencing Call offered a great opportunity to genetically diagnose RD patients with DNA from the EuroBioBank. The Institute of Rare Diseases Research (IIER-ISCIII) led one of the 17 awarded projects, entitled "Undiagnosed cases with complex phenotypes including intellectual disability". Sequencing for this project was conducted at the Centro Nacional de Análisis Genómico (CNAG-CRG, Spain) and was completed by early 2017. On the other hand, phenotypic terms were extracted from clinical documents stored in the Spanish Rare Diseases Registry, mapped to HPO (Human Phenotype Ontology) terms and uploaded into PhenoTips, a software tool useful for collecting standardized phenotypic information. Data was processed through the RD-Connect validated analysis pipeline and was made available to authorized users through its platform once all the required commitments were fulfilled.

Six undiagnosed pediatric cases from SpainUDP were selected for participation in this Call. All of them had complex phenotypes with intellectual disability as a common feature. After an exhaustive study of patient's data in the RD-Connect platform by two independent researchers, a consensus was reached to select the candidate variants. These were confirmed by the Sanger technique in all family members.

As a conclusion, thanks to this Call five patients have been diagnosed with the following disorders: Kabuki syndrome 1, SHORT syndrome, Mental retardation X-linked 102, Combined oxidative phosphorylation deficiency 13 and Mental retardation autosomal dominant 32. On the other hand, one patient is still pending on results, although it is expected to reach a diagnosis at the beginning of 2018.

elopez@isciii.es

22 Epidemiology of Granulomatosis with Polyangiitis Mortality in Spain: Spatial and Temporal Dynamics

Sánchez-Díaz G., Arias-Merino G., Villaverde-Hueso A., Posada de la Paz M. and Alonso V.
Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid

Objective: Granulomatosis with polyangiitis (GPA) is a rare disease of the immune system affecting commonly the respiratory tract. The aim was to examine spatial and temporal variability on GPA mortality in Spain.

Methods: GPA deceases were extracted from the National Statistics Institute (1984-2013). Age-adjusted mortality rates were calculated. Temporal trends were assessed through Joinpoint regression analysis. Smoothed Standardized Mortality Ratio and Posterior Probability were estimated at a district level.

Results: 568 deaths due to GPA were recorded in the period 1984-2013 (55.6% males; 44.4% females). Global age-adjusted mortality rate was 0.036 (95% IC: 0.033-0.039) being higher in males than females. Joinpoint analysis showed an annual growth from 1984 to 1992 ($p < 0.001$) and rates remained stable after that year. The 1999-2003

period showed the highest rate: 0.044 per 100,000 inhabitants (95% CI: 0.036-0.053). Geographical differences in death risk among districts have been observed in isolated locations but no spatial pattern is observed. Results show significant high risk in districts of Galicia and Basque Country, and Seville and Cadiz.

Conclusions: A significant growth in mortality due to GPA was detected in the first years of study, remaining steady in the last 15 years in Spain. Reasons determining geographic differences in GPA mortality among districts should be studied deep in the future.

g.sanchez@externos.isciii.es

23 Mutaciones en FAM46A en un Paciente con Osteogénesis Imperfecta

Ruiz-Perez V.L., Aglan M.S., Temtamy S., Otaify G.A., Lapunzina P.
Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid
Otros grupos: U753

Osteogénesis imperfecta (OI) es una enfermedad asociada a fragilidad ósea y osteoporosis, producida principalmente por mutaciones heterocigotas en los genes codificantes de las cadenas polipeptídicas de colágeno tipo I, *COL1A1* y *COL1A2*. Asimismo, también existen otras formas recesivas y dominantes de esta enfermedad, las cuales se caracterizan por una alta variabilidad genética. Hasta la fecha se han descrito 19 loci de OI, cuya función está relacionada con el metabolismo del colágeno I; la mineralización de la matriz ósea; o la diferenciación de los osteoblastos. Aquí presentamos un paciente de origen egipcio con una mutación en homocigosis en *FAM46A*, un nuevo gen recientemente identificado como causante de esta enfermedad, y en cuya publicación ha colaborado nuestro laboratorio.

FAM46A codifica una proteína perteneciente a la superfamilia de las nucleotidil-transferasas, pero su función molecular a día de hoy permanece desconocida. No obstante, existen evidencias, incluido un modelo animal generado por mutagénesis ENU publicado con anterioridad, que indican que *FAM46A* desempeña un papel esencial en el desarrollo óseo.

vlruiz@iib.uam.es

MEDICINA GENÉTICA

24 LUCAT1 Alters Cell Proliferation and Invasion on Papillary Thyroid Cancer through Transcriptional Regulation

Luzón Toro B., Fernández R.M., Martos-Martínez J.M., Rubio-Manzanares-Dorado M., Antiñolo G., Borrego S.
Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud en Sevilla, Sevilla.

Long non-coding RNAs (lncRNAs) have emerged as a novel class of regulators of cancer biological processes. While they are dysregulated in many cancer types, little is known about their expression and functional profiles. This study has been focused on the determination of the role of a specific lncRNA in papillary thyroid cancer.

Quantitative reverse transcription PCR was performed to detect the expression levels of 84 lncRNAs in 61 papillary thyroid carcinoma tissues and their adjacent non-tumor tissues. Real-time PCR and western-blot were performed to determine the mRNA and protein expression of P21, P57 and EZH2 in silenced B-CPAP cells. In addition, in situ hybridization was performed to determine its location and expression levels in formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissue samples.

The highest fold-change was obtained for *LUCAT1*, and thus, this study determines the expression and biological implication of lncRNA *LUCAT1* through different *in vitro* and *ex vivo* approaches. The effect of *LUCAT1* both on cell proliferation and migration was evaluated. *LUCAT1* was observed to be localized at the cell nucleus, specifically in tumoral regions of the tissues. Furthermore, knockdown of *LUCAT1* significantly reduced cell proliferation and invasion *ex vivo*. In addition, silencing *LUCAT1* remarkably increased *P21* and *P57* expression and reduced the levels of *EZH2*. All together indicate the potential role of *LUCAT1* as a regulator of gene transcription at cell nucleus.

Our study demonstrates that *LUCAT1* seems to be involved in the development of PTC and that it might be a potential target for new therapies for patients with PTC.

berta.luzon.exts@juntadeandalucia.es

25 Relevance of CYP3A4*20, UGT1A1*37 and UGT1A1*28 Variants in Irinotecan-Induced Severe Toxicity

Riera P., Virgili A., Tobeña M., Sebío A., Gallano P., Alias L., González-Quereda L., Barnadas A., Páez D. and Salazar J.
Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

Background: Irinotecan (CPT-11) is an active drug widely used for the treatment of several types of cancer, including colorectal, gastric and pancreatic cancer. Its dose-limiting and potentially life-threatening toxicities are delayed diarrhoea and severe neutropenia that can occur in up to 36% of patients. Severe irinotecan-induced toxicity is associated with UGT1A1 polymorphisms (UGT1A1*28 allele). The UGT1A1*37 allele is rare in the white population and its influence on irinotecan toxicity has not yet been reported. Some patients develop side-effects despite harboring a normal UGT1A1 genotype. As CYP3A4 is also an irinotecan-metabolizing enzyme, our study aimed to elucidate the influence of the CYP3A4*20 loss-of-function allele in the toxicity profile of these patients.

Methods: Three-hundred and eight metastatic colorectal cancer patients treated with an irinotecan-containing chemotherapy were studied. The presence of CYP3A4*20, UGT1A1*37 and UGT1A1*28 alleles was tested. Toxicity was graded according to the common toxicity criteria (CTC) v4.0: presence and grade of diarrhoea, neutropenia, febrile neutropenia, asthenia, nausea, and mucositis. Associations between these genetic variants and toxicity were evaluated.

Results: UGT1A1*28 was significantly associated with severe diarrhoea, neutropenia and asthenia ($P=0.002$, $P=0.037$ and $P=0.041$, respectively). One patient who was UGT1A1*28/*37 presented grade IV neutropenia and lethal septic shock. One heterozygous UGT1A1 (*1/*28) patient also carried the CYP3A4*20 allele but did not develop toxicity.

Conclusions: We confirm that UGT1A1*37 and UGT1A1*28 are associated with severe toxicity and suggest that the CYP3A4*20 allele does not play a role in irinotecan-induced toxicity.

jsalazar@santpau.cat

26 ICI118,551, a β 2 Blocker with Antiangiogenic and Apoptotic Properties, as a Promising Tool for the Treatment of Von Hippel-Lindau (VHL) Syndrome

Albiñana V., Cuesta A.M., Gallardo-Vara E., Recio-Poveda L., Villar K. and Botella L.M. *Both authors contributed equally
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

(VHL) syndrome is a rare disease (1:36,000) characterized by the growth of hemangioblastomas in central nervous system, renal carcinoma, and pheochromocytomas. The lack of treatment for VHL leads to repeated surgeries, making urgent pharmacological targeting of VHL-tumors. Propranolol has been assessed for hemangioblastomas *in vitro* since decreases viability by apoptosis activation and downregulates HIF targets. Moreover, propranolol was used in a 7 VHL patients harboring retina hemangioblastomas (EudraCT: 2014-003671-30). Along the treatment, all tumors remained stable, no new tumors appeared, and there was reabsorption of exudates. Therefore, propranolol was designated orphan drug for VHL (EU/3/17/1841).

Propranolol, a non-specific β -blocker (binds β 1- and β 2-receptors), causes hypotension as a side effect. Under the hypothesis that the propranolol acts via β 2-receptor, we wondered whether a β 2-specific blocker (ICI118551) mirrored propranolol therapeutic effects.

To confirm this hypothesis, HeLa cells were subjected to chemical hypoxia with or without β -blockers: atenolol for β 1, ICI for β 2, and propranolol for β 1- and β 2-receptors. Propranolol and ICI were able to reduce HIF expression induced by hypoxia, at variance with atenolol. Thus, ICI and propranolol were tested in hemangioblastomas primary cultures *in vitro*, both decreased cell viability by inducing caspases 3/7 at 100 μ M. Furthermore, ICI was also able to avoid hemangiospheres formation and inhibited wound-healing and tubulogenesis.

In summary, ICI118551, a specific β 2-blocker, leads to downregulation of HIF targets and induction of apoptosis and also avoids the cardio-specific side effects of propranolol, becoming a promising therapy for VHL hemangioblastomas.

cibluisa@cib.csic.es

27 Hailey-Hailey Disease and Papular Acantholytic Dyskeratosis of Genitoperineal Area: Unusual Manifestation of the Same Entity?

Santamariña Pena M., Sainz Gaspar L., Esperon Moldes U., Rodríguez Rodríguez M., Pita Da Veiga Seijo G., Bacariza Goiri S., Méndez González A., Ginarte M., Suárez Peñaranda J.M., Vázquez-Veiga H., Carracedo A. y Vega A.
Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña

Introduction: Papular acantholytic dyskeratosis (PAD) of the genitoperineal area was described as a new entity in 1984. Although clinically it has some distinct features, PAD shows histological changes resembling Hailey-Hailey disease (HHD) and Darier disease (DD) and its relation with these two entities is not fully understood. We report two cases of PAD with positive family history of HHD supporting the association between these conditions.

Material/methods: We examined two women who consulted for perianal itching lesions that had been present for several years in both patients. Biopsies were taken with the clinical suspicion of lichen planus and acuminated condyloma, respectively. Finally PCR and direct sequencing of the ATP2C1 were performed

Results: Two women, 48 and 25 years-old, consulted for perianal itching lesions that had been present for several years in both patients. Physical examination showed perianal white, coalescent, papules, while the remaining skin was not affected. Biopsies were taken with the clinical suspicion of lichen planus and acuminated condyloma, respectively. Histopathological examination revealed similar findings in both cases: hyperkeratosis with irregular acanthosis and suprabasilar clefting, as well as extensive acantholysis at different levels of the epidermis. Genomic investigation of ATP2C1 revealed a heterozygous mutation (c.2338G>A), rendering the diagnosis of HHD.

Conclusions: We report two women with the diagnosis of PAD carrying the same DNA mutation in the ATP2C1 gene and family history for HHD. Although PAD has been considered an independent entity, our results might suggest PAD being an unusual manifestation or an incomplete form of HHD.

santamarinapena@gmail.com

28 Contribución del BIER al Reanálisis de las Cohortes EnoD

Peña, M., Pérez Florido, J., Castellano, G., López, M., López, D., Dopazo J.
Grupo CIBERER U715 Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla

El proyecto EnoD del CIBERER pretende ofrecer un diagnóstico molecular preciso para casos clínicos no resueltos tras aplicar todos los protocolos disponibles en la cartera de servicios del grupo que refiere el caso. La disponibilidad de herramientas de análisis de datos de secuenciación masiva que facilita su almacenamiento en un repositorio común que garantice su posible reanálisis y su incorporación a las estadísticas de la base de datos de frecuencias de variantes en la población española constituye una aportación clave de nuestro grupo al proyecto EnoD.

El análisis de la cohorte de discapacidad intelectual ha servido para demostrar las posibilidades del proyecto EnoD. Se procedió al reanálisis de 93 muestras correspondientes a 53 cohortes de pacientes individuales o tríos, secuenciados con distintas tecnologías (illumina e IonProton), con distintos paneles de captura, tanto exomas (MedExomeRoche, AgilentV3, AgilentV4, SeqCapEZVCromeRoche) como paneles clínicos (TruSeq y TruSightOne). El análisis partió, según la disponibilidad, de datos menos procesados (FASTQ) o más procesados (VCFs) y permitió descubrir una media de entre 2 y 3 variantes altamente sospechosas de ser causantes de la enfermedad. En los casos en los que fue posible, también se hizo un análisis de CNVs.

En general consideramos que la experiencia de EnoD ha sido positiva y servirá para aumentar la tasa de diagnóstico. Una de las conclusiones del análisis de esta cohorte es nuestra recomendación negativa del uso de IonTorrent como tecnología para el diagnóstico por las dificultades de reanálisis debido a que todo el software disponible es propietario.

joaquin.dopazo@juntadeandalucia.es

29 New Insights on the Role of Laforin and Malin in the Cell Nucleus

Lahuerta M., Fathinajafabadi A., Rubio MP., Knecht E, Sanz P., Aguado C.
Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia
Otros grupos: U742

Lafora progressive myoclonus epilepsy (LD) is a rare and fatal neurodegenerative disorder characterized by intracellular accumulation of polyglucosans. LD is caused by mutations in *EPM2A* and *EPM2B* genes (encoding laforin, a dual-phosphatase, and malin, an E3-ubiquitin ligase, respectively). Since it has been described that laforin and malin form a complex, they may participate in a common unknown biochemical process.

Most work on LD has focused on the function of both proteins in cytosolic processes (glycogen metabolism and protein degradation). However, we found by immunofluorescence in different cell lines that overexpressed laforin localizes in cytosol and nucleus while malin is mainly in nucleus.

To investigate a possible role of both proteins in nucleus we identified in HEK293T cells laforin protein partners by pull-down and liquid-chromatography/mass-spectrometry. The interacting proteins were classified by their biological function using DAVID-software and STRING-software was used to identify protein complexes. We found that those with higher Unused-ProtScore have nuclear functions (chromatin remodeling, gene transcriptional regulation, RNAs processing/export). By pull-down, we confirmed the interaction of some of the identified proteins with laforin and malin, suggesting that they participate in the regulation of gene expression. We postulate that these genes are related to pathological manifestations in LD, such as alterations in glycogen metabolism and epilepsy. Preliminary transcriptional results using laforin-KO mice brains indicate that mRNAs related to glycogen synthesis and degradation are increased and decreased, respectively. mRNAs from proteins involved in dopaminergic neurotransmission are also overexpressed, which could be related to the epilepsy in LD.

caguado@cipf.es

30 Preclinical Study of a Novel Indole-Derived AMPK Activator in a Mouse Model of Lafora Disease (Epm2b^{-/-})

Mollá B., Heredia M., Serrano B., Sanchís A., García-Gimeno M.A., Sanz P.
Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia

Lafora Disease (LD; OMIM# 274780) is a rare neurodegenerative disease characterized by generalized epileptic seizures and polyglucosan accumulation, called Lafora bodies (LBs), in brain and other tissues. The molecular bases of LD are unknown, and an appropriate treatment is still missing, therefore patients die within 10 years since the onset of the disease. LD is caused by mutations in two genes *EPM2A* and *EPM2B*, which respectively encode laforin, a dual specificity phosphatase, and malin, a E3-ubiquitin ligase. Defects in both proteins have been related with oxidative and endoplasmic reticulum stresses and autophagic and proteostasis defects in LD.

Using a mouse model deficient in malin protein, *Epm2b^{-/-}*, we recently published the benefits of a metformin treatment (an indirect AMPK activator) which decreased the accumulation of LBs, neurodegeneration and ameliorated neuropsychological signs. At present, we are testing alternative compounds with a direct AMPK activation mechanism (i.e., indole-derived compounds, IND).

In this work, we evaluate the therapeutic effectiveness of IND_1316 treatment in *Epm2b^{-/-}* mice. For this purpose, we administered IND_1316 (6 mg/Kg) in *Epm2b^{-/-}* mice and control (C57BL/6JRccHsd) during 2 months, from 3 to 5 months of age. We analyzed behavioral phenotyping (activity, anxiety and memory) and histopathological brain signs (presence of LBs, neuronal density and hippocampal gliosis). We also tested AMP-activated protein kinase (AMPK) activation, as a direct target of IND_1316.

This preclinical study in mice will help us to decipher whether this novel indole-derived AMPK activator could be effective as a potential pharmacological treatment in LD patients.

bmolla@ibv.csic.es

31 Estudios de MRI y FDG-PET en el Modelo Epm2b^{-/-} de la Enfermedad de Lafora

Sánchez-Elexpuru G., Cussó L., Calle D., Fernández-Burgos D., Desco M., Serratos J.M., Sánchez M.P.
Grupo CIBERER: U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid

INTRODUCCIÓN La enfermedad de Lafora (LD) es una forma rara de epilepsia mioclónica progresiva causada por mutaciones en los genes *EPM2A* (proteína laforina) y *EPM2B* (proteína malina). Aunque la resonancia magnética (RM) es normal en las primeras fases de la enfermedad, pueden observarse diversos grados de atrofia cerebral en estadios avanzados. En los estudios de PET se ha descrito hipometabolismo en regiones posteriores y en corteza sensitivo-motora. El ratón *Epm2b^{-/-}*, deficiente para la proteína malina, muestra anomalías neurológicas similares a las presentes en pacientes con esta enfermedad.

OBJETIVOS Estudiar la estructura y función del cerebro mediante RM y PET en el modelo *Epm2b^{-/-}*, con el fin de identificar un biomarcador específico de la enfermedad y su progresión.

MÉTODOS Estudios de neuroimagen en ratones control y *Epm2b^{-/-}* de 16 meses de edad. Análisis de imágenes de RM en secuencias T2 por morfometría basada en vóxel (VBM) y estudio PET-CT tras la inyección intravenosa de 18F-FDG.

RESULTADOS El modelo *Epm2b^{-/-}* presenta un incremento del volumen de sustancia gris en corteza cingulada, hipotálamo, cuerpos mamilares y cerebelo. Además, las adquisiciones por PET muestran un descenso del metabolismo de glucosa en el hipocampo ventral y un incremento en corteza somatosensorial primaria y en los lóbulos II-IV del cerebelo.

CONCLUSIONES El ratón *Epm2b^{-/-}* presenta alteraciones estructurales y funcionales del cerebro, algunas de ellas similares a las descritas en pacientes con epilepsia mioclónica juvenil. Los estudios de neuroimagen representan una buena herramienta para el análisis de la progresión de la enfermedad en este modelo de LD.

msanchezg@fjd.es

32 Complemento Intracelular: Estudios Moleculares y Celulares en Pacientes con Deficiencia Congénita y Adquirida de C3

López-Lera A., Jiménez-Reinoso A., Marín A.V., Subías M., Rodríguez de Córdoba S., Regueiro J.R., López-Trascasa M.
Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid
Otros grupos: U738

El sistema del complemento es un elemento clave en la eliminación de patógenos extracelulares, células apoptóticas e inmunocomplejos. Recientemente, se ha descrito la presencia y activación intracelular de C3 en linfocitos T, así como un papel esencial de esta activación intracelular para la homeostasis de linfocitos T CD8.

En este trabajo se analiza la presencia y grado de activación de C3 intracelular en linfocitos T y B mediante RT-PCR, western blot y microscopía confocal. A través del estudio de pacientes con deficiencia genética (C3def) o adquirida (por deficiencia de Factor I, CFIdéf) de C3, se ha valorado además la contribución del complemento extra- e intracelular en la funcionalidad de linfocitos T y B en ensayos de activación *in vitro*, y la repercusión de deficiencias de C3 en la expresión de receptores de complemento en PBMCs.

Nuestros resultados demuestran la presencia y activación intracelular de C3 en linfocitos T y líneas HTLV de controles y pacientes con deficiencia extracelular de C3 (C3def y CFIdéf). En la cohorte analizada, los niveles séricos de C3 determinan la maduración de linfocitos B de memoria y los niveles de expresión de receptores de complemento en PBMCs.

alberlola@gmail.com

33 Papel de la Glicosilación en la Función y Niveles Plasmáticos del FXII. Información de Pacientes con Trastorno de Glicosilación Congénita (CDG)

López-Gálvez R.¹, de la Morena-Barrio M.E., Miñano A.¹, Serrano M.², López-Lera A.³, Pérez-Dueñas B.², Emsley J.⁴, Vicente V.¹, Corral J.¹.
1Servicio de Hematología y Oncología Médica, Hospital Universitario Morales Meseguer, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia, IMIB-Arrixaca, CIBERER, Murcia. 2Departamento de Neurología Pediátrica, Departamento de Bioquímica Clínica, Instituto de Investigación Pediátrica-Hospital Sant Joan de Déu, CIBERER, Barcelona. 3 Unidad de Inmunología, IdiPAZ, CIBERER, Madrid. 4Universidad de Nottingham. Nottingham. Inglaterra.
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: U703; CB06/07/1033

Introducción: El FXII desempeña funciones en distintos sistemas biológicos: coagulación, complemento, inflamación. Su activación, tras interacción con superficies cargadas negativamente, podría estar condicionada por distorsiones del potencial electrostático. Así, la mutación p.Thr309Lys asociada con una O-glicosilación defectuosa, facilita la activación del FXII y causa angioedema tipo III.

Objetivo: Analizar el FXII en pacientes con trastornos de glicosilación congénitos (CDG).

Resultados: Los 23 pacientes CDG analizados no mostraban deficiencia de FXII (125±42%), pero presentaban una glicofoma con un solo glicano, como demostró el tratamiento con N-glicosidasa-F. Los niveles de la forma hipoglicosilada se correlacionaron significativamente con los de asialotransferrina. La forma hipoglicosilada presentaba una activación con sílica similar a la del FXII nativo (con 2 N-glicanos), pero era menos activable con dextran sulfato. La cadena pesada resultante tras activación de la forma hipoglicosilada era idéntica a la del FXII completamente glicosilado, lo que demostraba que todo el FXII hipoglicosilado tiene el N-glicano en la cadena pesada (Asn230). La mutagénesis dirigida de este residuo redujo significativamente la secreción del FXII en un modelo de expresión recombinante que empleaba células de insecto, mientras que la del otro sitio de N-glicosilación (Asn414) apenas tuvo efecto.

Conclusiones: El defecto de glicosilación de CDG ha permitido conocer la importancia de la N-glicosilación en el FXII. El glicano N-terminal es clave para su plegamiento/secreción, mientras que el C-terminal es poco relevante tanto para la secreción como función del FXII, lo que justifica la ausencia de angioedema o la baja incidencia de trombosis en estos pacientes.

PI15/00079; 19873/GERM/15.

uge2985@hotmail.com

CÁNCER HEREDITARIO, ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS Y DERMATOLÓGICAS

34 Regulated CD18 Expression in Hematopoietic Stem Cells for the Treatment of Leukocyte Adhesion Deficiency Type I (LAD-I)

Mesa-Núñez C.^{1,2}, Damián C.^{1,2}, León-Rico L.^{1,2}, Aldea M.^{1,2}, Thrasher A.³, Bueren J.A.^{1,2}, Almarza E.^{1,2}
1Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas / Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras. 2Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz (CIEMAT/CIBERER/IIIS-FJD), Madrid, 28040, Spain. 3Molecular Immunology Unit, Institute of Child Health - University College London (ICH-UCL), London, WC1N1EH, United Kingdom.
Grupo CIBERER: U710 1Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas, CIEMAT, Madrid

Leukocyte Adhesion Deficiency Type I (LAD-I) is a primary immunodeficiency characterized by recurrent and life-threatening bacterial and fungal infections. It is caused by mutations in the ITGB2 gene, encoding the CD18 subunit of $\beta 2$ integrins. These mutations lead to defective or absent expression of $\beta 2$ integrins on the leukocytes' surface, limiting their adhesion to the endothelium and therefore their extravasation to infection sites. $\beta 2$ integrins are formed by the $\beta 2$ subunit (CD18) and different α subunits (CD11a-d) in cells of the hematopoietic system. Due to the low membrane expression of CD18 in primitive hematopoietic stem cells, compared with mature granulocytes, a lentiviral vector aiming at conferring specific expression of CD18 in mature granulocytes was constructed.

With this aim, the ITGB2 gene (CD18) was driven by a chimeric promoter consisting on the fusion of the 5' -flanking regions of the FES and CTSG genes, both of them highly expressed in mature granulocytes. Studies conducted with human hematopoietic cells from healthy donors showed that the integration of even high copy numbers of the therapeutic Chim.hCD18 LV in human CD34+ cells did not result in supra-physiological expression levels of the CD18 or

CD11 subunits in the membrane of transduced cells, despite the high levels of CD18 mRNA observed in these cells. Transplantation experiments in immunodeficient mice showed that healthy donor CD34+ cells transduced with the therapeutic vector engrafted as efficiently as not transduced CD34+ cells in these animals.

Both the design of the therapeutic vector and the physiological interaction between the CD18 and CD11 subunits in human hematopoietic cells constitute the basis of the proposed gene therapy of LAD-I patients with the Chim.hCD18 LV.

Juan.bueren@ciemat.es

35 Development and Characterization of *in Vitro* and *in Vivo* Models Resembling Netherton Syndrome. Looking for Possible Therapeutic Approaches

Gálvez V., Carretero M., Duarte B., Llamas S., Escámez M.J., Di W.L., del Río M., Larcher F.
Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid

Netherton Syndrome (NS) is an autosomal recessive form of ichthyosis regarded as one of the most severe genodermatoses affecting newborns. NS is caused by loss-of-function mutations in the SPINK5 gene encoding the serine-protease inhibitor LEKTI, whose deficiency results in unrestricted activity of kallikreins that leads to the detachment of the stratum corneum and disruption of the epidermal barrier. In order to recapitulate the hallmarks of the condition we first considered an approach consisting in the overexpression of the KLK5 gene in human keratinocytes by lentiviral transduction, and alternatively the disruption of the SPINK5 gene by CRISPR-Cas9.

We sought to develop an *in vivo* model based on the grafting of transgenic bioengineered human skin overexpressing KLK5 onto immunodeficient mice, and an *in vitro* one based on the generation of an organotypic culture system with genetically modified cells. An initial characterization of the models through the analysis of histopathological markers associated to NS confirmed the presence of proliferation and differentiation alterations, similar to those observed in skin biopsies of NS patients. In a preliminary experiment, a topical formulation of a KLK5 inhibitory peptide was applied to KLK5 overexpressing grafts. The analysis of the treated grafts showed a lower activity of KLK5 and a certain degree of reversion of the main phenotypic markers. The CRISPR-Cas9 approach allowed efficient deletion of SPINK5 with concomitant reduced expression of LEKTI.

Establishing reliable models for hyperkeratotic genodermatoses would enable to understand the underlying pathogenic mechanisms as well as developing novel therapeutic strategies to treat these conditions.

victoriagalvezc@hotmail.com

36 From Whole Exome Analysis in Idiopathic Azoospermia to the Identification of a High Risk Subgroup for Occult Fanconi Anemia

Pujol R., Bogliolo M., Krausz C., Riera-Escamilla A., Chianese C., Moreno-Mendoza D., Rajmil O., Ignacio Blanco I., Rodríguez I., Ars E., Ruiz-Castañé E., Surrallés J.
Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

Purpose: In about 10% of patients affected by Fanconi Anemia (FA) the diagnosis is delayed until adulthood and the presenting symptom in these "occult" FA is often a solid cancer and cancer-treatment related toxicity. Highly predictive clinical parameter(s) for diagnosing such an adult onset cases are missing.

Methods: i) Whole-Exome Sequencing (WES) ii) Sanger sequencing of the FANCA gene; iii) DEB-induced chromosome breakage test.

Results: WES identified a pathogenic homozygous FANCA variant in a patient affected by Sertoli Cell Only Syndrome (SCOS) and in his azoospermic brother. Although they had no overt anemia, chromosomal breakage test revealed a reverse somatic mosaicism in the former and a typical FA picture in the latter. In 27 selected SCOS cases one additional patient showing compound heterozygous pathogenic FANCA variants was identified with positive chromosomal breakage test.

Conclusion: We report an extraordinary high frequency of FA in a specific subgroup of azoospermic patients (7.1%). The screening for FANCA mutations in such patients has the potential to identify undiagnosed FA before the appearance of other severe clinical manifestations of the disease. The definition of this high-risk group for "occult" FA, based on specific testis phenotype with mild/borderline hematological alterations, is of unforeseen clinical relevance.

mariaoser.pujol@uab.cat

37 Detection of Fusion-Transcripts as New Biomarkers for T-Cell Lymphoblastic Lymphomas by Using RNA-Seq.

López-Nieva P., Fernández-Navarro P., Graña-Castro O., Andrés-León E., Santos J., Villa-Morales M., Cobos-Fernández M.A., González-Sánchez L., Malumbres M., Salazar M., Fernández-Piqueras J.
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

ANTECEDENTS.- Precursor T-cell lymphoblastic neoplasms are aggressive haematological malignancies that most often exhibit extensive marrow and blood affectation (T-cell acute lymphoblastic leukaemia or T-ALL) or less commonly reveals as a thymic mass with limited bone marrow infiltration (T-cell lymphoblastic lymphoma or T-LBL). Fusions transcripts resulting from the exchange of coding or regulatory DNA sequences between different genes have been proven to be strong drivers for neoplasia-associated mutations with great importance in the development of T-ALL, although their incidence in T-LBL needs to be determined yet.

RESULTS.- In this work we searched for novel fusion transcripts after RNA deep-sequencing of a sample series of nine T-LBL. We selected 55 fusion transcripts identified by at least two of three detection methods (*ChimeraScan*, *EricScript*, and *TopHat-Fusion*) in the same tumour. Among them, 23 fusions were absolutely novel, 17 had been identified only in non-neoplastic or normal tissues, 1 had been detected exclusively in T-cell lymphoblastic leukaemia/lymphoma (*RIC3-TRBC2*), 1 exclusively in cancers other than T-cell lymphoblastic leukaemia/lymphoma (*MRPS16-TTC18*), 10 in cancer others than T-cell lymphoblastic leukaemia/lymphoma and in non-neoplastic or normal tissues, and finally 2 in T-cell lymphoblastic leukaemia/lymphoma and other cancers (*PICALM-MLL10*, and *MLL10-PI-CALM*). Six of the novel fusions were confirmed here for the first time in T-cell lymphoblastic neoplasms (*ZMYM2-FGFR1*, *TFG-ADGRG7*, *JAK3-INSL3*, *KANSL1-LRRC37A*, *KANSL12-ARL17A*, and *COMMD3-BMI1-TRB52-1*), which could explain the overexpression of driver genes such as *COMMD3-BMI1*, *LMO1*, or *JAK3*. Notably, some fusions as *COMMD3-BMI1-TRB52-1* and *JAK3-INSL3* were confirmed in more tumour samples than predicted, indicating that the detection methods underestimated the real number of existing fusions.

CONCLUSIONS.- Our results confirm the potential of RNA-Seq to identify cryptic fusions, which could be new drivers or new tumour-maintaining passenger genes. Such novel findings shed light on the searching for new T-LBL biomarkers and contribute to the design of promising therapeutical approaches.

jfpiqueras@cbm.csic.es

38 Potential Use of GSE4 Peptide to Restore Cell Viability, Increase Telomerase Activity and Telomere Length, Decrease Oxidative Telomere Lesions in Ataxia Telangiectasia Patient Cells

Pintado-Berninches L.^{1,2}, Fernandez Varas B.¹, Benitez-Buelga C.³, Serrano-Benitez A.⁴, Manguan-García C.^{1,5}, Iarriccio L.^{1,2}, Carrillo J.¹, Guenechea G.^{5,6,7}, García Arias-Salgado E.², Cortés-Ledesma F.⁴, Sastre L.^{1,5} and Perona R.^{1,5}
1Instituto de Investigaciones Biomédicas CSIC/UAM, IDiPaz, Madrid, Spain. 2 Advanced Medical Projects, Madrid, Spain. 3 CNIO. National Research Center in Oncology. 4Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina regenerativa (CABIMER) - CSIC, Universidad de Sevilla, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, Spain. 5 CIBER de Enfermedades Raras. Madrid (Spain). 6Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid, Spain. 7Advanced Therapies Unit, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain.
Grupo CIBERER: U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid
Otros grupos: U706 y U710

Ataxia telangiectasia (AT) is a rare genetic disease caused by mutations in the atm gene. Key functions of ATM protein include sensing/regulation of cellular redox status and transducing DNA-double-strand-break (DSB) signals to downstream effectors. AT cells show increased ROS accumulation, activation of p38 protein kinase and increased levels of DNA damage. GSE24.2-peptide and a short derivative GSE4-peptide corresponding to an internal domain of Dyskerin induces telomerase activity, decrease oxidative stress and protect dyskeratosis congenita cells from DNA damage.

We here describe that expression of GSE24.2 and GSE4 in human AT-cells is able to decrease DNA-damage, detected by decreased number of H2AX and 53BP1-induced foci. However, DSB-ends generated in AT-cells are not repaired by GSE24.2/GSE4. The peptides also decrease 8-oxoguanine and ROS levels in AT-cells due to increased expression of SOD1, SOD2 and Catalase. These cells also showed lower levels of IL6 and decreased p38 phosphorylation, decreased senescence and increased ability of the cells to divide for longer periods of time. Finally we found shorter telomere length (TL) in AT cells, lower levels of TERT expression and telomerase activity that were reverted in GSE4-AT cells, inducing an increase in TL of 500bp after two months of continuous culture. These cells also showed lower levels of OGG1-derived lesions at telomere, mitochondrial and genomic DNA.

These observations suggest that GSE4 may be considered as a new therapy for the treatment of AT that attenuates cellular effects of high ROS levels in AT cells. Additionally GSE4-peptide increases telomerase activity contributing to increased cell proliferation.

rperona@iib.uam.es

MEDICINA ENDOCRINA

39 Hypermethylation of Tumour Suppressor Genes in Pituitary Tumours: Contribution to Oncogenesis and Tumour Behaviour

García-Martínez A., Sottile J., Fajardo C., Cámara R., Lamas C., Picó A.
Grupo CIBERER: GCV13 Laboratorio de Apoyo a la Investigación y Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital General Universitario de Alicante (ISABIAL-FISABIO), Alicante

Epigenetic and genetic alterations contribute to cancer initiation and progression and may be playing a determinant role in the development of pituitary tumours (PT). One of these epigenetic processes is the DNA methylation and, specifically, methylation of Tumour Suppressor Genes (TSG). A better understanding of the underlying epigenetic alterations during tumorigenesis and the discovery of epigenetic biomarkers are essential aspects to develop new therapies in these tumours.

The aim was to analyze the methylation status of 36 TSG in 105 PT (MS-MLPA technique) and quantify the gene expression by qRT-PCR. Tumours were classified as aggressive (invasive or ki67≥3%) or non-aggressive (non-invasive and ki67<3%). We chose the five genes with higher frequency of methylation in the overall series and in the different subtypes: TP73, CADM1, CASP8, MGMT and RASSF1. The expression of CADM1 was significant lower in SCT and in CT than in SGT. Moreover, the expression of CADM1 was also lower in CT than in ST. The expression of RASSF1 was lower in ST than in SGT. TP73 was the only TSG studied whose expression correlated negatively with the aggressiveness although only in SCT subtype. Regrettably, methylation was associated with a decrease in the expression of TP73 only in the global series.

In conclusion, we identified a reduction in the expression of CADM1 in the PT derived from Tpit lineage. Although a larger number of SCT should be studied, it is possible that the methylation of TP73 could also contribute to the aggressiveness of this subtype of PT.

garcia_aramara@gva.es

40 Análogos de Hormonas Tiroideas con Acciones Tiromiméticas en el Sistema Nervioso Central en Condiciones de Deficiencia del Transportador de Monocarboxilatos Mct8

Bárez-López S., Hartley M.D., Grijota-Martínez C., Scanlan T.S., y Guadaño-Ferraz A.
Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid

El síndrome de Allan-Herndon-Dudley (SAHD, ORPHA:59) se asocia a mutaciones en el transportador de monocarboxilatos 8 (MCT8), una proteína de membrana que transporta específicamente hormonas tiroideas (HTs). La deficiencia de MCT8 conduce a un retraso psicomotor profundo con niveles anormales de HTs en plasma, con baja tiroxina (T4) y elevada triyodotironina (T3). Numerosas evidencias indican que las graves alteraciones neurológicas se deben a un transporte deficiente de HTs a través de las barreras cerebrales, produciendo un hipotiroidismo cerebral. Existen tratamientos para normalizar el hipertiroidismo periférico, pero ninguno ha sido efectivo para el síndrome neurológico.

Nuestro objetivo ha sido explorar posibles terapias farmacológicas efectivas para el SAHD. Para ello hemos realizado estudios preclínicos con modelos animales en los que se ha evaluado la capacidad que tienen distintos análogos de HTs, administrados sistémicamente, de acceder al cerebro y de ejercer acciones tiromiméticas en las células neurales en ausencia del transportador Mct8. También se ha evaluado el efecto de estos análogos en tejidos periféricos.

Los resultados en ratones muestran que en ausencia de Mct8 los análogos administrados pueden acceder al cerebro y allí ejercer acciones a nivel genómico modulando la expresión de genes dependientes de T3. A nivel periférico estos análogos no tienen efecto en corazón y corrigen el hipertiroidismo, aunque disminuyendo considerablemente los niveles de T3 y T4 en suero.

Nuestros estudios indican que éstos análogos pueden ser beneficiosos para paliar las alteraciones neurológicas de pacientes con SAHD, y que se deberían hacer más estudios para comprender sus mecanismos de acción.

aguadano@iib.uam.es

41 Estudio Funcional de Alteraciones Noveles en el Gen NR5A1 en Pacientes con Anomalías de la Diferenciación Sexual

Martínez de LaPiscina I., Costa I., Esteva I., Rodríguez A., Castaño L.
Grupo CIBERER: U725A Asociación Instituto de Investigación Sanitaria de Biocruces. Bilbao

INTRODUCCION: La causa genética de las anomalías de la diferenciación sexual (ADS) es altamente heterogénea. Aunque en las últimas dos décadas se han descrito más de 60 genes asociados con la determinación sexual, la diferenciación sexual y el hipogonadismo, se sabe que el 10-20% de los casos 46, XY DSD presenta una alteración en el gen NR5A1. Este gen codifica para el factor esteroideogénico-1 (SF-1), un receptor nuclear que regula el desarrollo y función de los sistemas suprarrenal y reproductor.

OBJETIVOS: Estudio molecular y funcional en modelo *in vitro* para caracterizar el impacto de las 3 alteraciones encontradas en el gen NR5A1 no descritas previamente en pacientes con ADS 46, XY.

MATERIAL Y MÉTODOS: El estudio molecular de los pacientes con ADS 46, XY se llevó a cabo utilizando la secuenciación masiva (NGS) en un panel de genes o mediante secuenciación Sanger de los 6 exones codificantes del gen NR5A1. Para el ensayo de la actividad promotora se transfectaron células no esteroideogénicas HEK293 con el plásmido NR5A1- WT o mutado junto con el promotor luciferasa mediante el kit comercial Lipofectamine® 2000 (ThermoFisher Scientific).

RESULTADOS: Se encontraron 3 alteraciones noveles en heterocigosis en el gen NR5A1. Los estudios *in vitro* mostraron que las 3 alteraciones estudiadas disminuían su habilidad para estimular el promotor CYP17A1, sobre todo aquellas que se encontraban en el dominio de unión del DNA.

CONCLUSIONES: Encontramos alteraciones en NR5A1 en un amplio espectro de fenotipos relacionados con ADS 46, XY impidiendo por el momento hacer una correlación genotipo- fenotipo.

idoia.martinezdelapiscinamartin@osakidetza.eus

42 Crecimiento Puberal de Acuerdo con la Edad de Inicio del Brote de Crecimiento Puberal e Índice de Masa Corporal (IMC). Patrones de Referencia (Nacimiento-Talla Adulta) Procedentes de 743 Mujeres y 710 Varones. "Estudio Longitudinal de Crecimiento en Población Sana y no Obesa. Barcelona 1995-2017"

Fernández-Cancio M., Yeste Fernández D., Clemente León M., Camats Tarruella N., Moreno Galdó A., Carrascosa Lezcano A.
Grupo CIBERER: U712 Servicio de Pediatría, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Institut Català de la Salut, Barcelona

El patrón de crecimiento puberal varía según la edad en la que cada sujeto inicia su brote de crecimiento puberal. En cuanto al IMC, es motivo de discusión qué patrones de referencia han de utilizarse para definir el grado de malnutrición, sobrepeso y obesidad durante la infancia y adolescencia dado que en los estudios de crecimiento recientes se incluyen sujetos obesos y no obesos.

Hemos realizado un estudio longitudinal prospectivo valorando talla (cm), velocidad de crecimiento (cm/a) (VC) e IMC en 743 mujeres y 710 varones en intervalos de 6-12 meses desde nacimiento a talla adulta: 12.818 evaluaciones en mujeres y 13.033 en varones. En cada sexo, existen diferencias con significación estadística ($p < 0,01$) para talla y VC entre los cinco grupos maduradores puberales, excepto para la talla adulta que es similar. En cambio, el IMC es similar entre los seis grupos y esto es debido a que los incrementos de talla y de peso son proporcionados por tratarse de una población sana no obesa ni malnutrida. Los datos de talla y VC confirman las diferencias en el patrón de crecimiento puberal según la edad de inicio del brote de crecimiento puberal y han de servir para realizar una correcta valoración del crecimiento puberal en poblaciones sanas, con patología y en la valoración de las respuestas terapéuticas.

Nuestros datos de IMC pueden servir como referencia para evaluar la malnutrición, el sobrepeso y la obesidad durante la infancia y adolescencia.

Más información en: www.millennialsgrowth.com

mfcancio75@gmail.com

43 Comparison of Psychopathology in Cushing's Disease and Acromegaly

Santos A., Resmini E., Crespo I., Valassi E., Martínez M.A., Webb S.M.
Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología., Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

INTRODUCTION: Cushing's disease (CD) and acromegaly often present psychopathology even after hormonal normalization.

AIM: To analyse the psychopathological profile in successfully treated acromegaly and CD, comparing both, establishing associations with clinical parameters.

METHODS: Twenty-one patients in remission of CD, 20 patients with controlled acromegaly for at least one year and 41-matched controls for age, sex and education years were included. They completed SCL-90R, Beck Depression Inventory-II (BDI-II), State-Trait-Anxiety-Inventory (STAI) and underwent endocrine evaluation.

RESULTS: Patients with CD and acromegaly presented more psychopathology than controls in most of the areas evaluated ($p < 0.05$). No differences were found between CD and controls for Phobic Anxiety, or between acromegalic patients and controls for Paranoid Ideation and Phobic Anxiety. When comparing both patient groups, only higher scores were found in CS for Somatization ($p < 0.001$), Paranoid Ideation ($p = 0.036$) and GSI ($p = 0.036$), while in acromegaly scores were higher for PST ($p = 0.001$). In CD (excluding those taking hydrocortisone), correlations were found between psychopathology and both morning cortisol (STAI-State: $p = 0.027, R = 0.521$; STAI-Trait: $p = 0.037, R = 0.495$; Depression: $p = 0.035, R = 0.513$; Hostility: $p = 0.041, R = 0.500$) and 24-hour urinary free cortisol (STAI-Trait: $p = 0.038, R = 0.521$; Depression: $p = 0.038, R = 0.539$; Hostility: $p = 0.007, R = 0.663$; Psychoticism: $p = 0.024, R = 0.578$; GSI: $p = 0.012, R = 0.629$; PST: $p = 0.040, R = 0.534$). These correlations were not found in normal controls. No correlations were found between psychopathology and IGF-1/GH in acromegaly. Psychopathology did not correlate with time since endocrine control.

CONCLUSIONS: After at least 1 year of cure, patients with CD and acromegaly score higher on psychopathology than controls. Current cortisol evaluation, despite being within normal values, correlated with psychopathology in CD, but not in controls. Despite some similarities, CD showed more somatizations, paranoid ideation and higher severity of psychopathological symptoms, while acromegalic patients reported a higher number of psychopathological symptoms.

asantos@santpau.cat

PATOLOGÍA NEUROSENSORIAL**44 Genotype-Phenotype Correlation in Patients with PROM1 Mutations.**

del Pozo-Valero M., Martín- Mérida M.I., Arteché-López A., Jiménez-Rolando B., Cortón M., Ávila-Fernández A. García-Sandoval B., Ayuso C.
Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Inherited retinal dystrophies (IRD) are a group of progressive and degenerative diseases caused by an affection of the photoreceptor cells leading to visual handicap. IRDs include retinitis pigmentosa (RP), cone-rod dystrophies (CRDs) and cone dystrophies (CD). In the retina, PROM1 is located in the base of photoreceptor outer segments and it is involved in the morphogenesis of disk membranes of photoreceptors. Up to now, 70 mutations have been reported in the human PROM1 gene, associated with different phenotypes, including autosomal recessive RP with macular degeneration, dominant Stargardt-like macular dystrophy, dominant macular dystrophy bull's-eye and dominant CRD.

The aim was to determine the prevalence and to establish the genotype-phenotype correlations of different PROM1 mutations in our RD cohort.

We studied a cohort of 19 families carrying mutations in this gene. In 15 families we found 9 different mutations with an autosomal recessive pattern of inheritance, 11 with CRD and 4 with RP diagnosis. Furthermore, in 4 families we identified 2 mutations with an autosomal dominant pattern of inheritance and CRD phenotype. Whereas one of these was previously reported as pathogenic, the other was a novel splicing variant that co-segregated with the disease.

Marta.Pozo@Quironsalud.Es

45 The Effect of Stress in the Retinal Cells of a Cerkl Mouse Model Generated by CRISPR/Cas9

Domènech E.B., Serra-Pascual C., González-Duarte R., Marfany G.
Grupo CIBERER: U718 Genética Molecular Humana, Departament de Genètica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona

Retinal neurodegeneration, characterized by the apoptosis of photoreceptor cells, is the major cause of genetic blindness. So far, mutations in over 200 genes are associated with inherited monogenic retinal diseases (1:3000 worldwide), but we are still far from completely understanding their ethiopathology. Therefore, animal models and *in vitro* cell culture assays are essential to characterize the precise role of CERKL, a causative gene of retinal dystrophies.

The physiological function of CERKL is yet to be determined, but it is related to stress cell resilience since its overexpression protects cells from the apoptosis triggered by oxidative stress. We generated a mouse model by causing the full deletion of the Cerkl gene using CRISPR/Cas9. In order to investigate the retinal effects in the oxidative/light stress response. Unexpectedly, complete ablation of Cerkl causes perinatal lethality in homozygosity. Therefore, to approach the CERKL function in the retina, we have generated a heterozygous knockdown/knockout mouse model (CerklKD/KO) in an albino background to perform *in vivo* light stress experiments. This model is viable and fertile, and the expression of Cerkl has been reduced to 18%. Our results showed that CERKL localized to the stress granules formed the retina in response to stress. Moreover, the number of stress granules was notably higher in the retinas with reduced CERKL expression compared to those of wild type mice, thus supporting the CERKL role in the protection and maintenance of retinal cells.

gmarfany@ub.edu

46 Glioma Óptico en la Neurofibromatosis Tipo 1: Estudios Genéticos para la Identificación de Biomarcadores de Susceptibilidad y de Pronóstico

Navarro-Abia V., Martín Y., Rearte-García S., Cevallos-Droguett F., Rebolledo-Fernández G., Medina-Díaz M., Duat-Rodríguez A., Buenache-Espartosa R., Lorenzo-Sanz G., Moreno-Pelayo M.A., Hernández-Chico
Grupo CIBERER: U728 Unidad de Genética Molecular, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Introducción: El glioma óptico (GO) es el tumor más prevalente en neurofibromatosis tipo 1 (NF1) en edad pediátrica.

Objetivos: Caracterizar fenotípica y genótipicamente pacientes NF1 pediátricos con GO para la búsqueda de marcadores de pronóstico.

Pacientes y métodos: 532 pacientes NF1 con confirmación genética, 85 (16%) presentaron GO. Se recogieron 34 pacientes NF1 pediátricos con confirmación radiológica de GO para realizar un seguimiento clínico, oftalmológico y radiológico. Se tomó muestra para estudios genéticos previo a la firma de consentimiento informado. Resultados: 34 niños NF1 con GO (62% mujeres). Edad media al inicio del estudio 9.3±4.1 años. Edad media al diagnóstico de glioma 3.6±2.5 años. Tiempo medio de evolución del GO al inicio del estudio: 5.9±3.9 años. Localización del GO: nervio óptico (NO) derecho 20.6%, NO izquierdo 17.6%, NO bilateral 14.7%, quiasma 20.6%, quiasma y otras localizaciones 26.5%. Dos pacientes mostraron manifestaciones clínicas al diagnóstico, cuatro presentaron síntomas evolutivamente, y uno tuvo progresión radiológica sin repercusión clínica (5/7 afectación quiasmática). En dos casos el GO desapareció. Actualmente tres pacientes presentan gran repercusión en la agudeza visual, todos con GO quiasmático. No hay diferencias en el espectro mutacional de NF1 en los niños con glioma y la cohorte de pacientes NF1.

Conclusiones: Los pacientes con GO quiasmático tienen mayor riesgo de progresión y afectación visual. La frecuencia de mujeres que desarrollan glioma es mayor significativamente. Confirmamos que no existe relación entre la mutación *NF1* y el padecimiento de este tumor. Mediante NGS de exomas se buscarán genes candidatos de susceptibilidad de gliomagénesis.

chchico@salud.madrid.org

47 sir-2.3/SIRT4 Modula la Agregación de Proteínas con Poliglutaminas en C. Elegans

Bono-Yagüe J., Milla V., Gómez-Escribano A.P., Sequedo M.D., Blanca J., Cañizares J., Millán J.M., Vázquez-Manrique R.
Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia

La enfermedad de Huntington (EH) es una enfermedad rara neurodegenerativa de herencia autosómica dominante, caracterizada por un declive motor, psiquiátrico y cognitivo. EH está causada por una expansión de codones de CAG, que codifican un tándem de glutaminas (poliQs) en el primer exón del gen *htt*. La proteína codificada por este gen, huntingtina (Htt), adquiere una función tóxica cuando los portadores presentan más de 36 o más tripletes CAG. Esto es porque la huntingtina mutante (mHtt) es propensa a la agregación sobre sí misma y a otras proteínas.

Las propiedades tóxicas de mHtt son reproducibles, mediante la expresión de la secuencia de poliQs, en cualquier organismo. En nuestro laboratorio, hemos empleado un modelo de *Caenorhabditis elegans* para buscar genes que modifican la dinámica de agregación de proteínas con poliQs. Mediante un experimento de mutagénesis al azar, se obtuvo una mutación en una sirtuina mitocondrial, *sir-2.3/SIRT4*, que reduce los niveles de agregación de proteínas con poliQs. Además, esta mutación en *sir-2.3* parece tener un papel modulador de la toxicidad inducida por poliQs, puesto que rescata la función de neuronas estresadas por estos péptidos en *C. elegans*. En este trabajo se ha comprobado que AMPK, un regulador maestro del estado energético celular, es parcialmente responsable del rescate producido en los mutantes *sir-2.3*. Además, hemos estudiado el potencial papel de la autofagia en este proceso regulado por AMPK y *sir-2.3*. Por último, hemos empleado CRISPR para editar *sir-2.3*, y poder analizar el posible mecanismo de modulación de las proteínas que contienen poliQs.

rafael_vazquez@iislafe.es

48 Actualización de la Iniciativa de Diagnóstico Genético de Albinismo

Fernandez A., Torres M., Corton M., Trujillo M.J., Ayuso C., Sobrino B., Carracedo A., Montoliu L.
Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid
Otros grupos: U711 y U704

El albinismo es una condición genética poco frecuente de la que se conocen 20 tipos, tantos como genes cuyas mutaciones están asociadas. Aproximadamente afecta a una de cada 17,000 personas. La característica principal del albinismo es una discapacidad visual severa (agudeza visual inferior al 10%) que puede presentarse de forma simultánea, o no, con déficits pigmentarios en la piel, ojos y pelo. Hoy en día sabemos que la falta de pigmentación es una consecuencia en diversos tipos de albinismo, pero no en todos, ni es la causa del albinismo. Conocemos albinismos no sindrómicos, denominados oculocutáneos (OCA1-7) u oculares (OA1) y sindrómicos (Hermansky-Pudlak, HPS1-10; y Chediak-Higashi, CHS), con graves alteraciones adicionales en otros órganos. Adicionalmente existe el síndrome FHONDA, asociado a mutaciones en el gen *SCL38A8*.

A través de una estrategia de diagnóstico genético masivo basada en el equipo Sequenom, y en colaboración con la unidad U711 dirigida por Ángel Carracedo, hemos podido procesar más de 560 muestras, teniendo en cuenta a pacientes y familiares, lo cual nos ha permitido obtener el diagnóstico genético de forma concluyente en un porcentaje importante de las mismas. Para el resto estamos aplicando estrategias de secuenciación masiva (exomas completos, con el CNAG) y aproximaciones complementarias basadas en paneles de genes relacionados con el albinismo, en la U711, o con genes relacionados con alteraciones oftalmológicas, en colaboración con la U704. En esta presentación anual se actualizarán los resultados conseguidos, agrupando los pacientes diagnosticados por tipos de albinismo y por tipo de mutación.

afernandez@cnb.csic.es

NOTAS:

NOTAS:
