

# XV Reunión Anual CIBERER

## Libro de resúmenes

Casteldefells, Barcelona  
26-27 de mayo 2022

**#RACIBERER2022**



Web de la  
XV Reunión Anual CIBERER





## CONTENIDO

<b>PRESENTACIÓN</b>	<b>3</b>
<b>PROGRAMA RESUMIDO</b>	<b>5</b>
<b>PROGRAMA DETALLADO</b>	<b>6</b>
<i>JUEVES 26 DE MAYO DE 2022</i>	<b>6</b>
<i>VIERNES 27 DE MAYO DE 2022</i>	<b>8</b>
<b>RESÚMENES PONENCIAS PRINCIPALES ORALES</b>	<b>13</b>
<i>BASES MOLECULARES</i>	<b>13</b>
<i>NUEVOS DIAGNÓSTICOS</i>	<b>18</b>
<i>NUEVAS HERRAMIENTAS DE INVESTIGACIÓN</i>	<b>20</b>
<i>NUEVAS TERAPIAS</i>	<b>23</b>
<i>INICIATIVAS CIBERER</i>	<b>27</b>
<b>RESÚMENES PRESENTACIONES CORTAS PREGRABADAS</b>	<b>29</b>
<i>BASES MOLECULARES</i>	<b>29</b>
<i>NUEVOS DIAGNÓSTICOS</i>	<b>40</b>
<i>NUEVAS HERRAMIENTAS DE INVESTIGACIÓN</i>	<b>42</b>
<i>NUEVAS TERAPIAS</i>	<b>46</b>
<b>NOTAS</b>	<b>48</b>

## PRESENTACIÓN

Queridos compañeros:

Como bien sabéis, nuestros principales retos y objetivos en el CIBERER, alineados con el Consorcio Internacional de Investigación en Enfermedades Raras (IRDiRC), son desarrollar nuevas terapias y apoyar los desarrollos diagnósticos, para que cualquier persona afectada por una enfermedad rara sea diagnosticada en menos de un año.

En este sentido, estoy orgulloso de la celebración de nuestra XVª Reunión Anual que una vez más contará con la exposición de nuestros hitos científicos que demuestran el avance en el cumplimiento de dichos objetivos. Poniendo en valor el arduo trabajo colaborativo y la increíble implicación de todos los que formamos el CIBERER, incluyendo al colectivo de pacientes, que forma parte activa del funcionamiento de nuestro centro.

Los 78 grupos que componen actualmente el CIBERER han realizado grandes avances en la búsqueda de terapias para diferentes enfermedades y grupos de patologías. Estos proyectos se encuentran en diferentes etapas, desde la búsqueda de dianas terapéuticas en modelos celulares, animales o bioinformáticos, pasando por la designación de medicamentos huérfanos, hasta los ensayos clínicos con terapias celulares o génicas en sus últimas fases.

Prueba de ello es que CIBERER sigue siendo abanderado en el desarrollo de medicamentos para enfermedades raras, ya que actualmente es el patrocinador de 15 designaciones de medicamentos huérfanos europeas.

Además, desde el CIBERER se está contribuyendo a la mejora del diagnóstico de las enfermedades raras, entre otros aspectos gracias a la identificación de más de 100 nuevos genes causantes de enfermedades raras. Grandes aportaciones en este sentido provienen de uno de los programas estrella del centro, el Programa de Enfermedades No Diagnosticadas (ENoD), que alcanza una tasa diagnóstica de un 33 %.

A los avances en el ámbito diagnóstico se suma un gran proyecto nacional liderado por el CIBERER, IMPaCT-GENÓMICA, que gracias a la experiencia de ENoD, está sentando las bases de una infraestructura que posibilitará la mejora en el diagnóstico de las enfermedades raras de forma equitativa en todo el territorio nacional.

Todo ello se apoya en el trabajo de plataformas como la Plataforma de Bioinformática de Enfermedades Raras (BIER), el CIBERER Biobank (CBK) y Orphanet. En este sentido merece una mención la consolidación del Registro de Enfermedades Genéticas y de Baja Prevalencia (GenRaRe), que actualmente alberga 5 subregistros que permitirán avanzar en el conocimiento de las enfermedades mitocondriales, la enfermedad de Pompe, la amiloidosis por transtiretina, la encefalopatía epiléptica por mutación en el gen KCNA2 y los defectos congénitos de la glicosilación (CDG).

Gracias a todas y a todos por hacer posible el CIBERER.

Pablo



Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER

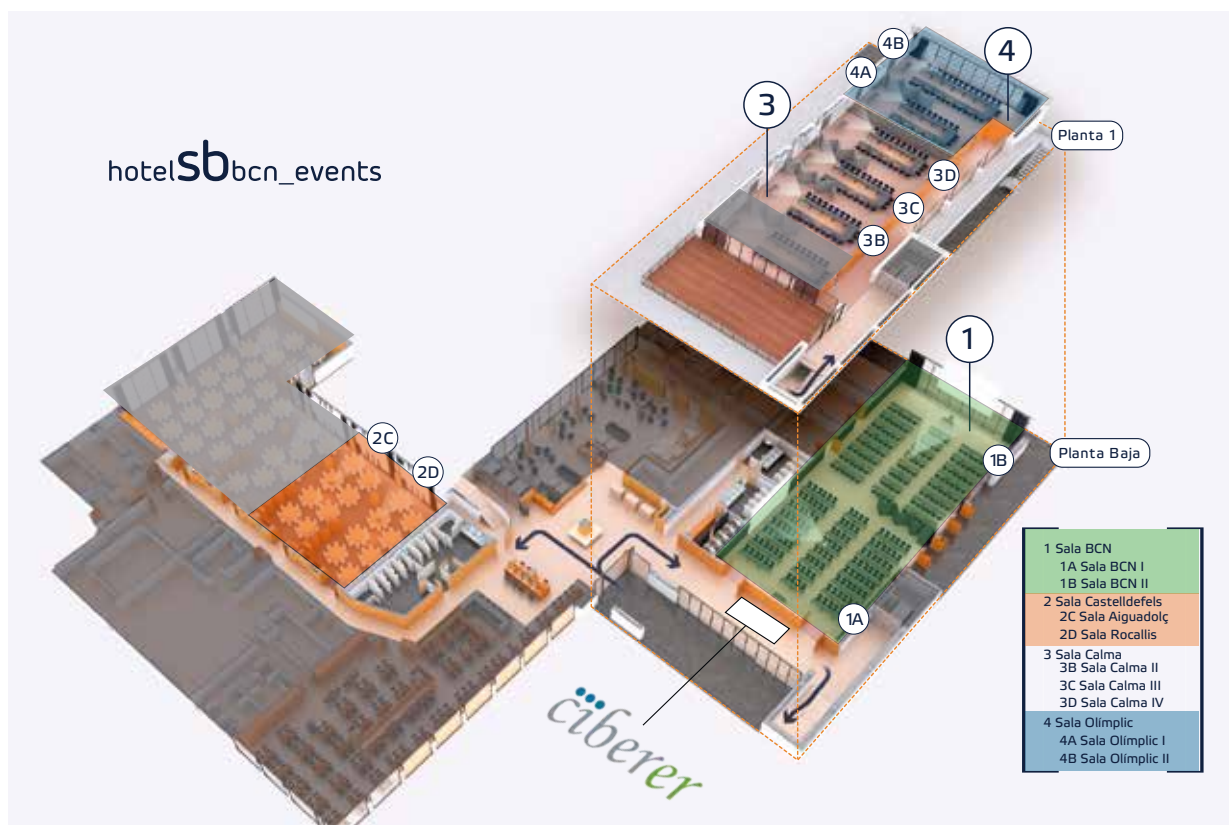
## PROGRAMA RESUMIDO

### Jueves 26 de mayo de 2022

10:00	11:00	Recepción y café de bienvenida	
11:00	12:15	Inauguración y presentación general del CIBERER	
12:15	13:30	Mesa redonda "Hacia dónde debe caminar el CIBERER"	
13:30	13:35	Foto de grupo	
13:35	14:45	Almuerzo	
14:45	16:45	Sesión paralela de resultados 1	Sesión paralela de resultados 2
16:45	17:45	Proyección de presentaciones cortas (videos) con pausa café	
17:45	19:30	Sesión paralela de resultados 3	Sesión paralela de iniciativas CIBERER
19:30	20:30	Tiempo para reuniones y networking	
20:30		Cena en el hotel	

### Viernes 27 de mayo de 2022

8:30	10:00	Sesión paralela de resultados 4	Sesión paralela de resultados 5
10:00	11:00	Sesión plenaria de resultados 6	
11:00	11:30	Pausa café	
11:30	13:00	Sesión plenaria de resultados 7	
13:00	14:00	Mesa redonda "Inteligencia artificial aplicada a las Enfermedades Raras"	
14:00	14:15	Despedida y entrega de premios a mejor presentación pregrabada y mejor grabación	
14:15	15:30	Almuerzo	
15:30		Salida del hotel	



# PROGRAMA DETALLADO

## Jueves 26 de mayo de 2022

10:00	Recepción y café de bienvenida		
11:00	Inauguración y presentación general del CIBERER		
12:15	Mesa redonda "Hacia dónde debe caminar el CIBERER"		
13:30	Foto de grupo		
13:35	Almuerzo		
14:45	<b>Sesión paralela de resultados 1</b> <b>Nuevas herramientas de investigación y Bases moleculares</b>		
U735	Carlos Ruiz Arenas	O01-Epimutations in a clinical context: guidelines and a case-example	U763
U702	María González del Pozo	O02-Identificación de CFAP20 como gen candidato asociado a retinosis pigmentaria usando una estrategia personalizada para el análisis de datos de secuenciación de genoma completo	U701
U715	Rosario Carmona Muñoz	O03-Trayectoria y nuevas oportunidades a raíz del proyecto ENOD de enfermedades no diagnosticadas	U719
U720	Ester Antón Galindo	O04-The 14-3-3 gene family contributes to neurodevelopmental disorders: genetics, functional studies and zebrafish models	U703
U756	Almudena Fernández López	O05-Estudio de las variantes S192Y y R402Q del gen de la tirosinasa de significado incierto y su posible implicación en Albinismo Oculocutáneo de tipo 1 (OCA1)	U764
GCV03	Emilia Amengual Cladera	O06-Penetrance of aortic arch defects in 22q11DS can be modulated by dietary vitamin A and response to supplementation or deficiency depends on the mother's genotype	GCV01
<b>Sesión paralela de resultados 2</b> <b>Nuevas terapias y Nuevos diagnósticos</b>			
U763	Marta Selva Giménez	O07-Edición genética a través de CRISPR/Cas9 de la mutación de TNPO3 causante de la Distrofia Muscular de Cinturas D2 en un modelo celular de mioblastos	
U701	Javier Ramón Pasías	O08-Eficacia y seguridad génica de los desoxirribonucleósidos como terapia para síndromes causados por mutaciones en genes involucrados en el mantenimiento del ADN mitocondrial	
U719	Fátima Crispi	O09-Adaptación cardiovascular fetal a un sistema de placenta artificial en un modelo experimental en oveja	
U703	Alfonso Oyarzabal Sanz	O10-La disfunción mitocondrial en el Síndrome de Rett: Estudio de un trastorno neurológico desde la perspectiva del metabolismo sináptico para encontrar nuevas opciones de tratamiento	
U764	Lidia Sabater Baudet	O11-Encephalitis with Autoantibodies against the Glutamate Kainate Receptors GluK2	
GCV01	Vanesa López González	O12-Characterización clínica y molecular de pacientes con síndrome de haploinsuficiencia de DYRK1A a nivel nacional	

16:45

Proyección de presentaciones cortas (videos) con pausa café

17:45

Sesión paralela de resultados 3 (Bases moleculares de la enfermedad)

		Sesión paralela de Iniciativas CIBERER		
		GenRaRe	Francesc Pla	GenRaRe y manejo de datos en registros REDCap
U729	Carlos Santos Ocaña	MitoSPAIN	Marcello Bellusci	O17-Epidemiología molecular de las enfermedades mitocondriales en España
U706	Cristina Montero Conde	ENoD	Beatriz Morte Molina	O18-Estrategias colaborativas del programa de enfermedades raras sin diagnóstico genético, ENoD
U738	Silvia González Sanz	GdT-BIOINFO21	Pablo Mínguez	O19-Grupo de Bioinformática (GdT-BIOINFO21): Actualización en el análisis de datos de NGS para el Diagnóstico. La importancia de "compartir conocimiento"
U713	Sonia Domínguez Zorita	GdT-Organoides	Carlos Santos Ocaña	O35 – Grupo de trabajo de Organoides

O13-El análisis clínico y molecular de la deficiencia de coenzima Q10 en pacientes con variantes de COQ7 revela la existencia de una respuesta común de represión mitocondrial asociada a la gravedad de los síntomas

O14-Comprehensive molecular analysis of immortalization hallmarks in thyroid cancer reveals new prognostic markers

O15-Ocular phenotype in a mouse C3- Glomerulopathy model carrying a gain-of-function C3 mutation

O16-Mitochondrial ATP synthase dysfunction links purine metabolism to the immune response

19:30 Tiempo para reuniones y networking



Presentaciones cortas pregrabadas



Votaciones  
Mejor oral  
Mejor grabación corta

# PROGRAMA DETALLADO

## Viernes 27 de mayo de 2022

8:30	<b>Sesión paralela de resultados 4 (Nuevas herramientas de investigación y Bases moleculares de la enfermedad)</b>		<b>Sesión paralela de resultados 5 (Nuevas terapias)</b>		
U766	Mario Fernández Fraga	O20-Marcadores epigenéticos de malignidad en lesiones de tiroides raras de diagnóstico anatomopatológico incierto	U759	Laura Planas Serra	O24-Novel biomarkers for diagnosis and treatment of HLD18 hypomyelinating leukodystrophy
U741	James Richard Perkins	O21-Towards a better understanding of rare diseases using medical data and systems biology	U758	Saint Thomas Cervera	O25-Vesículas extracelulares terapéuticas (TEVs) para el tratamiento de enfermedades raras mediante edición génica
U731	Susanna Boday Salvans	O22-Insights into the erythropoiesis of lysinuric protein intolerance mouse model	U755	Ana Pilar Gómez Escribano	O26-Ubiquibodies to degrade CRX mutant proteins selectively
U718	Serena Mirra	O23-CERKL, a retinal dystrophy gene, regulates mitochondrial function and dynamics in both mammalian neuroretina and retinal pigment epithelium	U744	Daniel Fernández Burgos	O27-El tratamiento temprano con metformina atenúa la progresión de la enfermedad de Lafora
10:00	<b>Sesión plenaria de resultados 6</b>				
U710	Juan Antonio Bueren	O28-La expresión de ligandos del receptor NKG2D en células progenitoras hematopoyéticas contribuye al fallo de médula ósea en pacientes con anemia de Fanconi			
U728	Ignacio del Castillo Fernández del Pino	O29-Construcción mediante edición CRISPR-Cas9 y estudio funcional e histopatológico de un modelo murino con la deleción del(GJB6-D13S1830), causante de la hipoacusia no sindrómica más frecuente en humanos			
U760	Ana Rivera Barahona	O30-Variantes bialélicas de pérdida de función en MAPKAPK5 causan un nuevo trastorno del desarrollo caracterizado por anomalías neurológicas, cardíacas y faciales combinadas con simpodactilia			
11:00	<b>Pausa café</b>				



11:30

**Sesión plenaria de resultados 7**

U707	Ángel Cuesta Martínez	O31-Blockers of 2-adrenergic receptors reduce inflammation and oxidative stress in von Hippel-Lindau rare tumor
U768	María Luisa Cayuela Fuentes	O32-Aptámeros basados en el ARN de la telomerasa para neutropenias congénitas
U704	Pablo Mínguez	O33-Aggregated genomic data as cohort-specific allelic frequencies can boost variants and genes prioritization in non-solved cases of Inherited retinal dystrophies
U765	Belén de la Morena-Barrio	O34-Utilidad de la secuenciación de tercera generación con nanoporos en la identificación y caracterización de variantes estructurales. Deficiencia de antitrombina como modelo

13:00

**Mesa redonda "Inteligencia artificial aplicada a las Enfermedades Raras"**

14:00

**Despedida y entrega de premios a mejor presentación oral y mejor grabación**

14:15

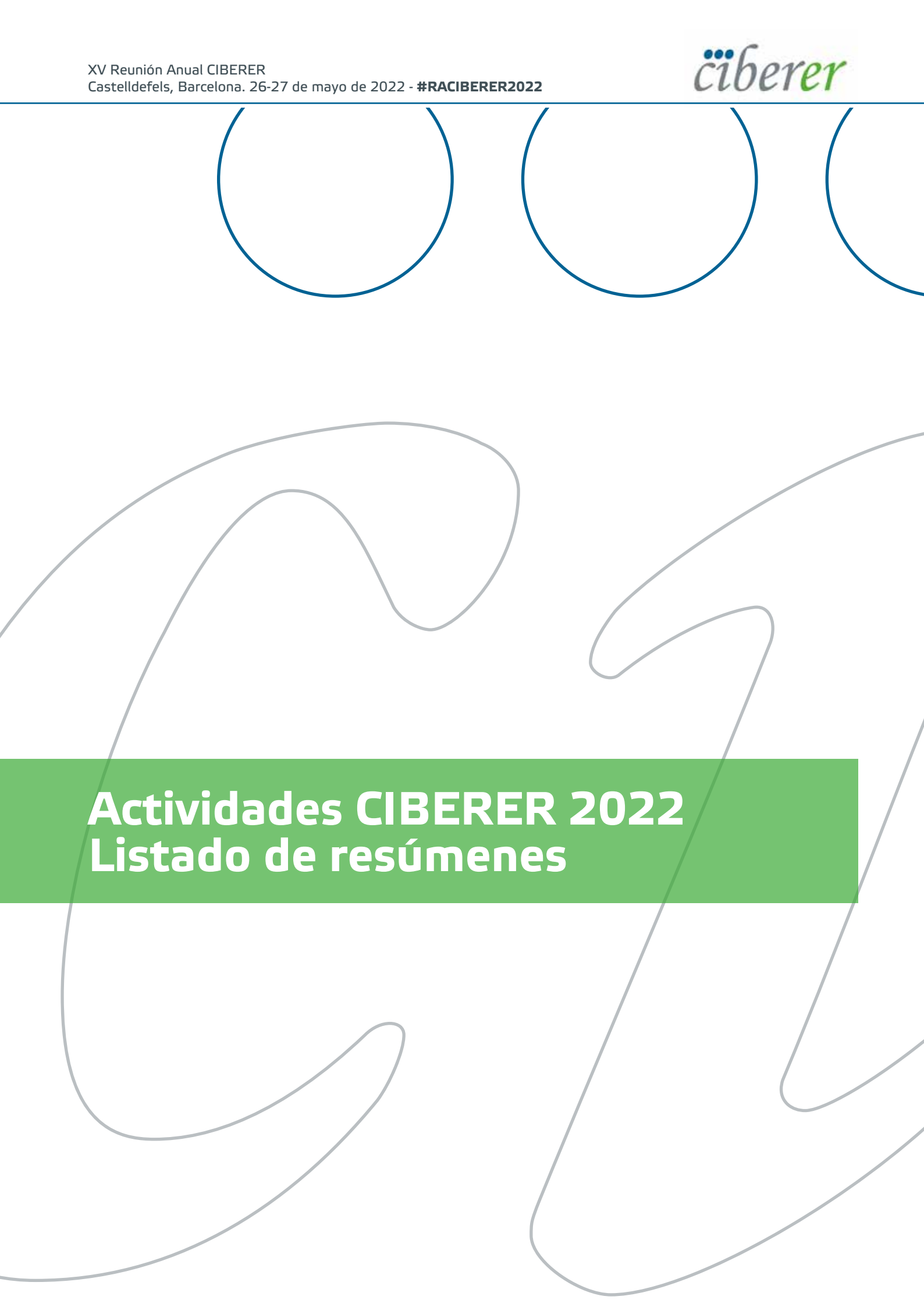
**Almuerzo**

15:30

**Salida del hotel**



Votaciones  
Mejor oral  
Mejor grabación corta

The background features three blue circles at the top and two large, light gray, abstract, swirling lines that frame the central text area.

# Actividades CIBERER 2022

## Listado de resúmenes



Votaciones Mejor grabación corta

## RESÚMENES PONENCIAS PRINCIPALES ORALES

### Bases moleculares

#### 004 The 14-3-3 gene family contributes to neurodevelopmental disorders: genetics, functional studies and zebrafish models.

**Autores:** Ester Antón-Galindo, Elisa Dalla Vecchia, Javier G Orlandi, Gustavo Castro, Emilio J Gualda, Andrew MJ Young, Marc Guasch-Piqueras, Concepció Arenas, Carlos Herrera-Úbeda, Jordi García-Fernández, Fernando Aguado, Pablo Loza-Alvarez, Bru Cormand, William HJ Norton, Noèlia Fernández-Castillo.

**Grupo U720 Susanna Balcells Comas**, presentado por Ester Antón Galindo  
[ellantongalindo@gmail.com](mailto:ellantongalindo@gmail.com)

**Background:** The 14-3-3 protein family is a group of molecular chaperones involved in several biological processes that are important for neuronal development. We previously identified, through whole-exome sequencing, a frameshift variant (c.659-660insT, p.L220Ffs18) in the YWHAZ gene, encoding 14-3-3 $\zeta$ , in two siblings with Autism Spectrum Disorder (ASD) and attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). **Aim:** Here we explored the contribution of 14-3-3 family members, and YWHAZ in particular, to neurodevelopmental and psychiatric disorders by investigating: (i) functional impact of the 14-3-3 $\zeta$  mutation; (ii) contribution of genetic risk variants in 14-3-3 genes to neurodevelopmental and psychiatric disorders; (iii) role of ywhaz in nervous system development and function using a zebrafish knockout (KO) model. **Results:** First, using in vitro assays, we showed that the p.L220Ffs18 truncating variant produced an impairment of 14-3-3 $\zeta$  function. Second, genetic studies revealed an enrichment of ultra-rare variants in ASD across the 14-3-3 genes and in schizophrenia for YWHAZ, whereas common variants in YWHAZ contribute to schizophrenia. Furthermore, the expression of 14-3-3 genes was found altered in post-mortem brains of ASD and schizophrenia patients. Third, whole-brain imaging analyses performed in ywhaz KO larvae showed an altered hindbrain neuronal activity and connectivity in KO animals. Interestingly, ywhaz KO adults present decreased monoamine levels in the hindbrain and show a freezing behaviour that can be reversed with drugs acting on serotonin and dopamine neurotransmission. **Conclusions:** All this evidence supports a genetic contribution of the 14-3-3 family to neurodevelopmental disorders and provides clues to unravel the underlying mechanisms and to help develop therapeutical approaches.

#### 005 Estudio de las variantes S192Y y R402Q del gen de la tirosinasa de significado incierto y su posible implicación en Albinismo Oculocutáneo de tipo 1 (OCA1)

**Autores:** Almudena Fernández, Andrea Montero, Oksana Kutsyr, Gema Garrido, Marta Cantero, Ana Guardia, Inés Arroba, Julia Fernández, Nicolás Cuenca, Lluís Montoliu.

**Grupo U756 Lluís Montoliu José**, presentado por Almudena Fernández López  
[afernandez@cnb.csic.es](mailto:afernandez@cnb.csic.es)

**Introducción:** El albinismo es una condición genética poco frecuente caracterizada por alteraciones del sistema visual y una hipopigmentación variable que puede afectar a piel, pelo y ojos. En el albinismo oculocutáneo de tipo 1 el gen afectado es el gen TYR, que codifica la enzima tirosinasa, esencial para la síntesis de melanina. Conocemos 500 mutaciones asociadas al gen como causantes de OCA1, pero en el 30% de los pacientes sólo se detecta una de las dos mutaciones. En muchas personas con albinismo en los cuales solo detectamos una mutación patogénica se observa la presencia con alta frecuencia de los polimorfismos S192Y y R402Q. En la población general, estas mismas variantes se detectan con frecuencia, por lo que su patogenicidad genera controversia entre la comunidad científica. **Objetivo:** Generación y análisis de modelos animales para el estudio de la patogenicidad e implicación de estas variantes en el OCA1. **Métodos:** Hemos generado ratones con la mutación S192Y y R402Q en homocigosis y ratones heterocigotos para ambas, con CRISPR. Hemos estudiado cómo afectaban estas variantes a la pigmentación y al sistema visual mediante cuantificación de melanina, histología de piel y retina, marcaje anterógrado de tractos ópticos, microscopía electrónica de retina, test optomotor y electroretinografía. **Resultados:** Los resultados obtenidos sugieren la patogenicidad de ambas variantes, viéndose afectada la pigmentación y la capacidad visual. Estos datos apoyan el hecho de que estas mutaciones serían patogénicas y podrían corresponder a esa segunda mutación no hallada en pacientes diagnosticados clínicamente con OCA1, pero sin diagnóstico genético concluyente.

**006 Penetrance of aortic arch defects in 22q11DS can be modulated by dietary vitamin A and response to supplementation or deficiency depends on the mother's genotype.**

**Autores:** E, Amengual-Cladera; J, Rocha; J, Muncunill; D, Medina-Chávez; E, Lynton-Pons; P, Sureda-Horach; VJ, Asensio; L, Ruiz-Guerra; A, Tubau; M, Juan; G, Lania; M, Bilio; A, Baldini; I, Martínez; L, Torres-Juan; F, Santos-Simarro; C, Vives-Bauzá; D, Heine-Suñer.

**Grupo GCV03 Jordi Rosell Andreu**, presentado por Emilia Amengual Cladera  
[emi.amengual@gmail.com](mailto:emi.amengual@gmail.com)

22q11DS is caused by a recurrent 3Mb deletion present in 90 % of patients. Despite this genomic homogeneity there is a great phenotypic variability. This indicates the existence of genetic and/or epigenetic modifiers. Which are exactly these modifiers and, in particular, how they act is still poorly defined, but diet could be one of the candidates. Our hypothesis is that altered non-teratogenic vitamin A (VA) levels in the diet of pregnant mothers could modify the penetrance of aortic arch defects (AADs), one of the most prevalent phenotypic traits with an incidence of 50-75%. To perform this study a mouse model (Df1) with a hemizygous deletion equivalent to the human 22q11.2DS was used. Our experimental setup consisted of 3 diet groups (vitA-supplemented, -control and vitA-deficient) and 2 types of crosses between Df1 mothers with WT fathers and WT mothers with Df1 fathers. The dietary treatment lasted from the weaning and throughout pregnancy until gestational day (E) 18.5. Serum retinol levels were determined in the blood of the pregnant females and embryos were collected and phenotyped. RNA from embryonic hearts was isolated and used for whole genome expression analysis. Our results show that AADs are more frequent in the Df1 embryos of WT mothers fed a VA-supplemented diet (47%) than in those fed a VA-deficient diet (29%). On the contrary, when the mother is Df1 we observe more AADs in Df1 embryos of mothers fed a VA-deficient diet (45 %) than in those fed a supplemented diet (27%). Therefore, diet effect on AADs development is mother genotype-dependent. Gene enrichment analysis allowed us to identify 53 genes oppositely altered in WT and Df1 mothers in response to diet (up regulated in embryos of WT mothers and down regulated in those of Df1 mothers or vice versa when comparing VA supplemented to deficient diets). Most of these genes that are inversely modulated by the mother's genotype participate in pathways relevant to the causation of AADs. The largest group of these genes participate in heart function/development, vascular integrity /angiogenesis (19/53) (Wnt8b, Mtpn, Lox, Ang, Slpl, Eng, Esrrg, Faf1, Gins3, Jph2, Kif26B, Lbh, Lclat1, LPL, Prkaca, Smyd2, Unc45b, Vasp, Pde1c). In addition, 7/53 participate in metabolism or mitochondrial function (Ndufs2, Chkb, Suox, Pfkf, Fastk, Atp5s, Lclat1, Sirt5), 6/53 in gene expression, transcription, translation (RNase4, Polr2k, Fam103A1, Las1L, Wdr82, HIST2H2AC) and 3/53 in important signaling pathways (Mknk2, Plcg1, mTOR, PPIP5K2), among others.

**013 El análisis clínico y molecular de la deficiencia de coenzima Q10 en pacientes con variantes de COQ7 revela la existencia de una respuesta comun de represión mitocondrial asociada a la gravedad de los síntomas.**

**Autores:** María Alcázar Fabra, Abraham J. Paredes-Fuentes, Manuel Torralba Carnerero, Daniel J. Moreno Fernández de Ayala, Antonio Arroyo Luque, Ana Sánchez Cuesta, Paula Sanchez-Pintos, María Luz Couce, Miguel Tomás, Ana Marco, Carmen Orellana, Francisco Martínez, Mónica Roselló, Alfonso Caro, Silvestre Oltra, Sandra Monfort, Alejandro Sánchez, Lola Rausell, Isidro Vitoria, Mireia del Toro, Angels Garcia-Cazorla, Natalia A Julia, Cristina Jou, Delia Yubero, Juan Diego Hernández Camacho, Guillermo López Lluch, Manuel Ballesteros Simarro, Luis Carlos López, Gloria Brea Calvo, María Victoria Cascajo Almenara, Rafael Artuch, y Carlos Santos-Ocaña.

**Grupo U729 Carlos Santos Ocaña**, presentado por Carlos Santos Ocaña  
[csanoca@upo.es](mailto:csanoca@upo.es)

La proteína codificada por el gen COQ7 es una hidroxilasa dependiente de NADH necesaria para la síntesis de CoQ10 en humanos. Las mutaciones en COQ7 conducen a un síndrome de deficiencia primaria de CoQ10, una rara enfermedad mitocondrial que afecta a órganos de alta demanda energética. Este trabajo muestra la caracterización clínica, fisiológica y molecular de tres nuevos casos de deficiencia primaria de CoQ10 causados por cinco mutaciones bialélicas de COQ7. La deficiencia de CoQ10 induce una disfunción mitocondrial en todos los pacientes, pero la combinación de las variantes de los pacientes genera cambios fisiopatológicos y moleculares que afectan a la respuesta de los fibroblastos a las terapias de suplementación. Los cambios pueden ser causados por alteraciones específicas en la estructura de la proteína COQ7 que impactan en la interacción con COQ9 necesaria para la presentación de la DMQ10, el precursor de COQ7. Un segundo efecto son los cambios transcripcionales que modifican el metabolismo energético hacia un metabolismo glicolítico, lo que podría constituir un mecanismo adaptativo contra la deficiencia de CoQ10. El cambio del perfil transcripcional se asocia a la disminución de la expresión de proteínas mitocondriales como la PPTC7, una fosfatasa descrita previamente como potencial

regulador post-translacional del metabolismo mitocondrial. En general, el estudio sugiere que la disponibilidad de nuevos modelos estructurales de proteínas humanas podría ayudar a explicar el origen de la pleiotropía fenotípica observada en algunas enfermedades genéticas y las diferentes respuestas a las terapias disponibles.

## 014 Comprehensive molecular analysis of immortalization hallmarks in thyroid cancer reveals new prognostic markers.

**Autores:** Cristina Montero-Conde, Luis Javier Leandro-García, Ángel M. Martínez-Montes, Paula Martínez, Francisco J. Moya, Rocío Letón, Eduardo Gil, Natalia Martínez-Puente, Sonsoles Guadalix, María Currás-Freixes, Laura García-Tobar, Carles Zafon, Mireia Jordà, Garcilaso Riesco-Eizaguirre, Patricia González-García, María Monteagudo, Rafael Torres-Pérez, Veronika Mancikova, Manuel Pérez-Martínez, Guillermo Pita, Juan Carlos Galofré, Anna Gonzalez-Neira, Alberto Cascón, Cristina Rodríguez-Antona, Diego Megias, María A. Blasco, Eduardo Caleiras, Sandra Rodríguez-Perales, Mercedes Robledo.

**Grupo U706 Mercedes Robledo Batanero**, presentado por Cristina Montero Conde  
[cmontero@cniio.es](mailto:cmontero@cniio.es)

**Introduction:** Around 1 of 2000 individuals in Spain develop thyroid cancer fatal disease. Comprehensive molecular studies on thyroid tumors are needed to identify prognostic molecular biomarkers that will allow the early detection, and thus a personalized management and follow-up, of these rare but life-threatening cases. **Objectives:** Here, we extensively characterize cancer immortalization-related alterations in a series of 106 thyroid tumors enriched with clinically-aggressive carcinomas to define disease prognostic markers. **Results:** Using a custom-designed RNA-seq panel, we identified 5 telomerase holoenzyme-complex genes over-expressed in clinically-aggressive tumors compared to tumors from long-term disease-free patients, being TERT and TERC denoted as independent prognostic markers by multivariate regression model analysis. Characterization of alterations related to TERT re-expression revealed that promoter mutations, hypermethylation and/or copy gains exclusively co-occurred in clinically-aggressive tumors. Quantitative-FISH analysis of telomere lengths showed a significant shortening in these carcinomas, which matched with a high proliferative rate measured by Ki-67 immunohistochemistry. RNA-seq data analysis indicated that short-telomere tumors exhibit an increased transcriptional activity in the 5 Mb-subtelomeric regions, site of several telomerase-complex genes. Gene upregulation enrichment was significant for specific chromosome-ends such as the 5p, where TERT is located. Co-FISH analysis of 5p-end and TERT loci showed a more relaxed chromatin configuration in short telomere-length tumors compared to normal telomere-length tumors. **Conclusions:** Overall, our findings support that telomere shortening leads to a 5p subtelomeric region reorganization, facilitating the transcription and accumulation of alterations at TERT-locus, and unveil a FISH-based assay as a potential cytogenetic tool to predict disease prognosis in thyroid cancer.

## 015 Ocular phenotype in a mouse C3-Glomerulopathy model carrying a gain-of function C3 mutation.

**Autores:** Silvia González-Sanz, Marta Subías Hidalgo, Lucía Juana López, Marina Alonso Riaño, Paola Bovolenta Nicolau, Santiago Rodríguez de Córdoba.

**Grupo U738 Santiago Rodríguez de Córdoba**, presentado por Silvia González Sanz  
[silvia.gonzalez@cib.csic.es](mailto:silvia.gonzalez@cib.csic.es)

C3 glomerulopathy (C3G) is a heterogeneous group of rare kidney diseases characterized by complement dysregulation and a predominant C3 deposition in the kidney biopsy that sometimes concur with early forms of age-related macular degeneration (AMD)(1). Using CRISPR/Cas9 methodologies we have generated mice carrying the C3del923\_924DG gain of function mutation. The functional characterization of the mouse mutant C3 protein demonstrate that it behaves like its human counterpart. Our mice exhibit a renal phenotype that resembles a C3G of the C3GN subtype, with normal levels of plasma C3 and strong C3 deposition in the glomeruli by IF, which is limited mesangial regions in a granular pattern. Histopathological examination of the kidneys from C3del923\_924DG mice showed characteristics of C3G and ultrastructural findings illustrates non-organized, electron-dense mesangial deposits. No deposits were seen within the glomerular basement membrane of these mice and they did not show evidence of endothelial injury or thrombi in light or electron microscopy. Remarkably, the examination of the eyes in these mice revealed the presence of an intense C3 deposition in the Bruch membrane of C3del923\_924DG mice that increases with time and sustains complement activation. Moreover, the C3del923\_924DG mice present lipofuscin deposits in the retinal pigment epithelium much earlier than wildtype mice, suggesting an early retinal aging in our C3G model. These data suggest that our mice replicate the human C3G phenotype and therefore may represent an excellent model to study both C3G and AMD.

1) Montes et al. Mol Immunol. 45(10):2897-2904 (2008)

## 016 Mitochondrial ATP synthase dysfunction links purine metabolism to the immune response.

**Autores:** *Sonia Domínguez-Zorita, Inés Romero-Carramiñana, Fulvio Santacatterina, Pau B. Esparza-Moltó y José M. Cuezva.*

**Grupo U713 José M. Cuezva**, presentado por *Sonia Domínguez Zorita*  
[sonia.dominguez@cbm.csic.es](mailto:sonia.dominguez@cbm.csic.es)

La ATP sintasa mitocondrial es un transductor clave del metabolismo energético. La actividad de este complejo se ve regulada por su inhibidor fisiológico IF1. Cuando IF1 se encuentra defosforilado es capaz de unirse a la ATP sintasa y ejercer su función inhibitoria sobre la actividad hidrolítica y sintética del enzima. Sin embargo, IF1 no solo actúa regulando la actividad de la ATP sintasa, sino que además es un factor clave en la oligomerización de la ATP sintasa promoviendo la formación de tetrámeros. Por consiguiente, IF1 tiene un papel clave en la organización de las crestas mitocondriales. IF1 es una proteína que se encuentra expresada de una manera tejido-específica siendo el colon murino uno de los tejidos con mayor nivel de expresión de IF1. Se ha demostrado in vivo, en un modelo murino que sobreexpresa IF1 en colon, una estrecha relación del eje ATP sintasa/IF1 sobre la modulación del sistema inmune. Con objeto de desentrañar el papel de IF1 endógeno en la homeostasis tisular del epitelio intestinal hemos desarrollado un modelo de ratón knockout condicional para IF1 (IF1-KO) en colon. Así, la ausencia de IF1 en el intestino provoca una disfunción mitocondrial, una pérdida en la barrera intestinal y una respuesta proinflamatoria. Además, en condiciones de inflamación el 60% de los ratones IF1-KO no son capaces de sobrevivir. Por tanto, el modelo IF1-KO en colon supone un modelo experimental de gran valía para el estudio de la patofisiología y desarrollo de terapias efectivas de las enfermedades inflamatorias del intestino.

## 022 Insights into the erythropoiesis of lysinuric protein intolerance mouse model.

**Autores:** *Judith Giroud-Gerbetant, Fernando Sotillo, Jorge Couso, Rafael Artuch, Antonio Zorzano, Aida Ormazabal, Mayka Sanchez, Günter Weiss, Manuel Palacín y Susanna Bodoy.*

**Grupo U731 Manuel Palacín**, presentado por *Susanna Bodoy Salvans*  
[susanna.bodoy@irbbarcelona.org](mailto:susanna.bodoy@irbbarcelona.org)

SLC7A7 encodes for  $\gamma$ -LAT1, a cationic amino acid transporter expressed on the basolateral membrane of epithelial cells and macrophages. Mutations in human SLC7A7 cause lysinuric protein intolerance (LPI), a rare autosomal disorder with a variety of clinical symptoms. Citrulline and a low protein diet are widely used to treat the main symptoms of LPI; however, the hematological and immunological abnormalities in LPI remain poorly understood and difficult to manage by established treatments. Here, we show that erythropoietin levels are significantly diminished in mice lacking Slc7a7, which reduces the number of erythroblast precursors, resulting in mature red blood cells with a smaller mean corpuscular volume. Ex vivo analysis demonstrated that erythrocytes from Slc7a7-deficient mice were phagocytosed more by bone marrow-derived macrophages. Gene expression analysis of sorted red pulp macrophages (RPMs) from Slc7a7-deficient mice indicated that this cell population had higher erythrophagocytic activity, but preserved heme catabolic activity. The increase in erythrophagocytosis resulted in iron accumulation in macrophages and tissues, and ultimately led to RPM apoptosis. Surprisingly, ablation of Slc7a7 in myeloid cells failed to trigger tissue iron accumulation or changes in the RPM population, indicating that the expression of this gene in macrophages is not key for the development of iron accumulation in tissue. Finally, restoration of serum erythropoietin levels in Slc7a7-deficient mice re-established normal erythropoiesis and erythrophagocytosis and prevented the accumulation of iron in tissues. Thus, erythropoietin has a fundamental role in the immune-hematological alterations of LPI in mice, revealing a new crucial role for this hormone in this disease.

## 023 CERKL, a retinal dystrophy gene, regulates mitochondrial function and dynamics in both mammalian neuroretina and retinal pigment epithelium.

**Autores:** *Serena Mirra, Rocío García Arroyo, Elena B Domènech, Aleix Gavaldà-Navarro, Carlos Herrera-Úbeda, Clara Oliva, Jordi Garcia-Fernández, Rafael Artuch, Francesc Villarroya, Gemma Marfany.*

**Grupo U718 Gemma Marfany Nadal**, presentado por *Serena Mirra*  
[sere.mirra@gmail.com](mailto:sere.mirra@gmail.com)

**Introduction:** The retina is a highly active metabolic organ that displays a particular vulnerability to genetic and environmental factors causing stress and homeostatic imbalance. Mitochondria constitute a bioenergetic hub that coordinates stress response and cellular homeostasis, therefore structural and functional regulation of the mitochondrial dynamic network is essential for the mammalian retina. CERKL (ceramide kinase like) is a retinal



degeneration gene whose mutations cause Retinitis Pigmentosa in humans, a rare disease characterized by photoreceptors neurodegeneration and progressive vision loss. **Objectives:** We aim to elucidate the precise cellular and molecular function of CERKL in mammalian retina and retinal pigment epithelium (RPE), by taking advantage of the knockdown/knockout (Cerkl KD/KO) in vivo model, generated by our group using CRISPR/Cas9. **Results:** Our results showed that depletion of Cerkl in the retina causes increased autophagy, alteration of the mitochondrial size and distribution, and dysregulation of mitochondrial metabolism and other energy-related markers. Moreover, we found that under oxidative stress, CERKL overexpression protects RPE mitochondrial morphology, whereas depletion of CERKL causes mitochondrial fragmentation, respiratory dysfunction and polynucleation in RPE. **Conclusions:** Overall, our results suggest that one of the physiological roles of CERKL is to protect the mitochondrial network in retinal cells, both neurons and epithelium, against the injury of light/oxidative stress. Importantly, we provide a solid link between inherited retinal disorders and the alteration of cell metabolism and homeostasis in the mammalian retina. The characterization of Cerkl KD/KO retinas will contribute to the design of effective treatments for patients carrying CERKL mutations.

## 028 La expresión de ligandos del receptor NKG2D en células progenitoras hematopoyéticas contribuye al fallo de médula ósea en pacientes con anemia de Fanconi.

**Autores:** José Antonio Casado, Antonio Valeri, Rebeca Sánchez-Domínguez, Paula Vela, Andrea López, Susana Navarro, Omaira Alberquilla, Helmut Hanenberg, Roser Pujol, José-Carlos Segovia, Jordi Minguillón, Jordi Surrallés, Cristina Díaz de Heredia, Julián Sevilla, Paula Rio y Juan Antonio Bueren.

**Grupo U710 Juan Antonio Bueren**, presentado por Juan Antonio Bueren  
[juan.bueren@ciemat.es](mailto:juan.bueren@ciemat.es)

**Introducción:** La anemia de Fanconi (AF) es el síndrome hereditario de fallo de médula ósea (FMO) más prevalente, donde los mecanismos fisiopatológicos implicados en este fallo medular no han sido completamente establecidos. **Objetivos:** Primero, estudiar si los defectos de reparación del DNA que caracterizan las células de FA, incluidas las células madre y progenitoras hematopoyéticas (CMPHs), generan altos niveles de moléculas de estrés celular como los ligandos (NKG2D-Ls) que se unen al receptor de activación NKG2D expresado en células citotóxicas como las NK y linfocitos CD8+. Segundo, analizar si la expresión de NKG2D-Ls induce una respuesta inmune contra las CMPHs que explique un nuevo mecanismo de FMO. **Resultados:** Comparado con donantes sanos, nuestro estudio muestra que fibroblastos y células T de pacientes con AF presentan altos niveles de NKG2D-Ls, cuya expresión es incrementada con mitomicina C o formaldehído. Significativamente, pacientes de AF muestran un alto porcentaje de CMPHs CD34+ con elevada expresión de NKG2D-Ls que correlacionó inversamente con el porcentaje de estos progenitores en su MO. Estudios in vitro muestran un incremento en el potencial clonogénico de las CMPHs de FA al bloquear las interacciones NKG2D/NKG2D-Ls. Además, en un modelo de ratón de AF con FMO, el bloqueo in vivo de estas interacciones disminuyó la anemia en los animales. **Conclusiones:** Nuestro estudio demuestra por primera vez la participación de las interacciones NKG2D/NKG2D-Ls en la eliminación CMPHs en AF, sugiriendo un nuevo mecanismo del sistema inmune en el proceso FMO que puede tener valor pronóstico y posibilidad de nuevos tratamientos.

## 029 Construcción mediante edición CRISPR-Cas9 y estudio funcional e histopatológico de un modelo murino con la delección del(GJB6-D13S1830), causante de la hipoacusia no sindrómica más frecuente en humanos.

**Autores:** María Domínguez-Ruiz, Silvia Murillo-Cuesta, Julio Contreras, Marta Cantero, Gema Garrido, Elena Gómez-Rosas, Almudena Fernández, Francisco J. del Castillo, Lluís Montoliu, Isabel Varela-Nieto, Ignacio del Castillo.

**Grupo U728 Miguel Ángel Moreno Pelayo**, presentado por Ignacio del Castillo Fernández del Pino  
[idelcastillo.hrc@salud.madrid.org](mailto:idelcastillo.hrc@salud.madrid.org)

DFNB1 es la hipoacusia hereditaria no sindrómica más frecuente en la mayoría de las poblaciones. Tiene herencia autosómica recesiva y es causada por la inactivación de ambos alelos del gen GJB2, que codifica la conexina 26, una proteína de las uniones intercelulares comunicantes (gap junctions). El espectro mutacional incluye todo tipo de mutaciones en la región codificante y sitios consenso de splicing de GJB2. Nuestro equipo fue pionero en caracterizar una nueva clase de mutaciones que causan DFNB1: grandes delecciones, frecuentes en muchas poblaciones, que eliminan secuencias reguladoras esenciales para la expresión de GJB2, dejando este gen intacto. Hemos creado un modelo murino de DFNB1 generando, mediante edición CRISPR-Cas9, una delección de 275 kb equivalente a la delección del(GJB6-D13S1830), que identificamos originalmente (N Engl J

Med 2002; 346: 243-249) y es la más frecuente en humanos. Los ratones homocigotos presentan hipoacusia severa-profunda en todas las frecuencias, recapitulando el fenotipo observado uniformemente en pacientes homocigotos para del(GJB6-D13S1830). El análisis histológico muestra que los ratones homocigotos tienen alteraciones en la región basal de la cóclea, incluyendo anomalías en la disposición de la membrana de Reissner, en las dimensiones de las escalas media y vestibular, en la estructura del órgano de Corti (ausencia de surco espiral y de túnel de Corti, con preservación de las células ciliadas), así como de las máculas de sáculo y utrículo. Este modelo murino, el primero de tipo no condicional de la hipoacusia DFNB1, permitirá profundizar en sus mecanismos fisiopatológicos y avanzar en el diseño de nuevas terapias.

### 030 Variantes bialélicas de pérdida de función en MAPKAPK5 causan un nuevo trastorno del desarrollo caracterizado por anomalías neurológicas, cardíacas y faciales combinadas con simpodactilia.

**Autores:** Denise Horn, Elisa Fernández-Núñez, Ana Rivera-Barahona, Ricardo Gomez-Carmona, Julian Nevado, Sarina Schwartzmann, Nadja Ehmke, Pablo Lapunzina, Ghada A. Otaify, Samia Temtamy, Mona Aglan, Felix Boschann, Victor L Ruiz-Perez.

**Grupo U760 Victor Luis Ruiz Pérez**, presentado por Ana Rivera Barahona  
[arivera@iib.uam.es](mailto:arivera@iib.uam.es)

Este estudio describe por primera vez que mutaciones bialélicas en MAPKAPK5, un gen que codifica una proteína quinasa implicada en las vías de señalización dependientes de MAP quinasas, dan lugar a un síndrome clínicamente reconocible caracterizado por retraso grave en el desarrollo, anomalías cerebrales de carácter variable, defectos cardíacos congénitos, rasgos faciales dismórficos y un tipo distintivo de simpodactilia. Otros síntomas adicionales incluyen anomalías oculares, discapacidad auditiva y anomalías en el electroencefalograma. En este trabajo se estudiaron tres pacientes de dos familias no relacionadas en los que se llevó a cabo un estudio genético por secuenciación de exoma. El resultado de este análisis identificó variantes homocigóticas en MAPKAPK5 que conducen a la aparición de codones prematuros de terminación de la traducción. Estudios llevados a cabo en células derivadas de uno de estos pacientes mostró ausencia de expresión de la proteína MAPKAPK5, así como niveles reducidos de la proteína ERK3 que interactúa con MAPKAPK5. Asimismo, se observó que la recuperación de los filamentos de actina (actina F) después de un tratamiento con latrunculina B era menos eficiente en los fibroblastos del paciente que en células control. Este resultado es compatible con el papel de MAPKAPK5 en la polimerización de actina F. El trabajo aquí descrito es el resultado de una colaboración internacional de dos grupos CIBERER con investigadores de Charité-Universitätsmedizin de Berlín, y Center of Excellence for Human Genetics, National Research Centre de El Cairo.

## Nuevos diagnósticos

### 011 Encephalitis with Autoantibodies against the Glutamate Kainate Receptors GluK2.

**Autores:** Jon Landa, Mar Guasp, Federico Míguez-Cabello, Joana Guimarães, Takayasu Mishima, Fumiko Oda, Frauke Zipp, Vladimir Krajinovic, Peter Fuhr, Jerome Honnorat, Maarten Titulaer, Mateus Simabukuro, Jesus Planagumà, Eugenia Martínez-Hernández, Thais Armangué, Albert Saiz, Xavier Gasull, David Soto, Francesc Graus, Lidia Sabater, Josep Dalmau.

**Grupo U764 Josep Dalmau Obrador**, presentado por Lidia Sabater Baudet  
[lisabate@clinic.cat](mailto:lisabate@clinic.cat)

**Background:** Human autoantibodies can impair central nervous system (CNS) excitatory synaptic transmission causing different syndromes with a range of manifestations that vary according to the target antigen. We have identified a new autoimmune encephalitis with antibodies against glutamate kainate receptor 2 (GluK2-abs). **Objective:** To report the identification of GluK2-abs in patients with autoimmune encephalitis, and describe the clinical-immunological features and antibody effects. **Results:** Patients' antibodies precipitated GluK2 from neuronal cultures. GluK2 antibody-specificity was confirmed by cell-based assay, immunoprecipitation, GluK2-immunoabsorption, and GluK2 knockout brain immunohistochemistry. In 2 of 8 samples, antibodies reacted with additional GluK2 epitopes present in GluK1 or GluK3; in both, the reactivity was abrogated after GluK2 immuno-absorption. Six of 8 patients developed acute encephalitis and clinical or magnetic resonance imaging (MRI) features of predominant cerebellar involvement. One of the samples showed mild reactivity with non-kainate receptors (alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptors [AMPA] and N-methyl-D-aspartate receptors [NMDAR]) leading to identify 6 additional cases with GluK2-abs among patients with anti-AMPA (5/71) or anti-NMDAR encephalitis (1/73). GluK2-abs internalized GluK2 in HEK293 cells and neurons; these antibody-effects



were reversible in neurons. A significant reduction of GluK2-mediated currents was observed by electrophysiology studies in cells treated with patients' GluK2 serum following the time frame of antibody-mediated GluK2 internalization. **Conclusions:** GluK2-abs associate with an encephalitis with prominent clinico-radiological cerebellar involvement. The antibody effects are predominantly mediated by internalization of GluK2

## 012 Caracterización clínica y molecular de pacientes con síndrome de haploinsuficiencia de DYRK1A a nivel nacional.

**Autores:** Vanesa López González, Borja Balbastre, Alicia Raya, Antonio F. Martínez Monseny, Mercedes Serrano, Anna María Cueto González, Irene Valenzuela Palafoll, Sofia Ourani, Sixto García Miñaur, Fernando Santos Simarro, Kelly Escadajillo Vargas, Amparo Sanchís Calvo, Elisabeth Gabau, Ana Jiménez Moya, Cristina Arnaldos Pérez, M. Juliana Ballesta Martínez, M. José Sánchez Soler, Ana Teresa Serrano Antón, Pablo Lapunzina, Encarna Guillén Navarro, María L. Arbo-nés, Susana de la Luna.

**Grupo GCV01 Encarna Guillén Navarro**, presentado por Vanesa López González  
[vanesa.lopez2@carm.es](mailto:vanesa.lopez2@carm.es)

**Introducción:** El síndrome de haploinsuficiencia de DYRK1A (\*600855)(SHD; OMIM#614104; ORPHA:464311; 268261), supone en torno al 1% de la discapacidad intelectual (DI) y/o TEA y se encuentra en el diagnóstico diferencial del síndrome Angelman y entidades Angelman/Rett-like. Se caracteriza por DI, microcefalia, epilepsia, alteraciones conductuales y rasgos particulares distintivos. **Objetivo:** Identificación de afectados por SHD a nivel nacional con caracterización clínica y molecular. **Material y métodos:** Estudio descriptivo, retrospectivo y colaborativo nacional (a través de la Sociedad Española de Genética Clínica y Dismorfología). Caracterización bioquímica de la actividad quinasa de las nuevas variantes DYRK1A. **Resultados y conclusiones:** 21 casos de SHD de 8 hospitales, con 16 variantes, 8 no reportadas, contribuyendo a ampliar el conocimiento clínico y molecular de la enfermedad. Los escasos casos y su distribución en regiones con genetistas médicos apuntan a que se trata de una entidad infradiagnosticada, y subrayan la necesidad de acceso a valoración especializada y a estudios de secuenciación masiva. Las principales manifestaciones incluyen DI, epilepsia, autismo, microcefalia y fenotipo craneofacial reconocible, en consonancia con lo descrito, aunque con menor prevalencia de anomalías oftalmológicas, renales y dificultades de alimentación. Como características inusuales se describen 2 casos con inteligencia normal, el osteocondroma de tibia, la úvula bífida y el ano anterior. El análisis bioquímico de las variantes de cambio de aminoácido confirmó la haploinsuficiencia funcional. Un paciente con macrocefalia y fenotipo atípico, con variante de truncamiento en la región C-terminal que preserva la actividad enzimática, podría representar la existencia de un nuevo síndrome asociado a DYRK1A.

## 034 Utilidad de la secuenciación de tercera generación con nanoporos en la identificación y caracterización de variantes estructurales. Deficiencia de antitrombina como modelo.

**Autores:** Belén de la Morena-Barrio, Christelle Orlando, Alba Sanchís-Juan, Juan Luis García, José Padilla, María Eugenia de la Morena-Barrio, Marija Puruunen, Katrien Stouffs, Rosa Cifuentes, Nina Borrás, Carlos Bravo-Pérez, Rocio Benito, Javier Cuenca-Guardiola, Vicente Vicente, Fran Vidal, Jesús María Hernández-Rivas, Willem Owehand, Kristin Jochmans, Javier Corral.

**Grupo U765 Javier Corral de la Calle**, presentado por Belén de la Morena-Barrio  
[belendelamorenabarrio@gmail.com](mailto:belendelamorenabarrio@gmail.com)

**Introducción:** Las variantes estructurales (VEs) son alteraciones >50pb con mayor patogenicidad y dificultad diagnóstica que las SNVs. El 8% de las deficiencias de antitrombina (DAT), enfermedad rara que aumenta el riesgo de trombosis, son debidas a VEs que afectan SERPINC1 y se detectan por MLPA. **Objetivo:** Caracterizar VEs en SERPINC1 mediante secuenciación de tercera generación por nanoporos. Para ello, analizamos mediante MLPA, CGHa, Long-range (LR)-PCR y secuenciación con nanoporos, 39 pacientes no relacionados con DAT causadas por VEs. **Resultados:** 36 casos presentaban VEs detectadas por MLPA. GCHa solo detectó VEs >50Kb, Ambos métodos no definen con precisión ni extensión ni punto de ruptura. La LR-PCR solo detectó y caracterizó VEs pequeñas. La secuenciación con nanoporos caracterizó todas las VEs, incluida una compleja (CxSV) en un caso con resultados discrepantes de MLPA y LR-PCR. Al alcanzar resolución nucleotídica, facilitó el diseño de oligonucleótidos para validación, y detectó microhomologías y elementos repetitivos en todos los puntos de corte. Finalmente, este método fue el único que resolvió la alteración responsable de la DAT en los 4 casos restantes: delección del intrón 1 (N=1), e inserción de un retrotransposón en el intrón 6 de SERPINC1 (N=3). **Conclusiones:** La mayor disección de VEs causantes de DAT muestra gran heterogeneidad en tamaño (193pb a 8Mb) y tipo (deleciones, duplicaciones, inserciones y CxSV). La secuenciación por nanoporos es el método más robusto para identificar y caracterizar VEs; reveló un mecanismo común para las que afectan a SERPINC1 y detectó nuevas VEs, como inserciones de retrotransposones, indetectables por otros métodos.

## Nuevas herramientas de investigación

### 001 Epimutations in a clinical context: guidelines and a case-example.

**Autores:** Carlos Ruiz-Arenas, Leire Abarrategui, Carles Hernandez-Ferrer, Luis A Pérez-Jurado, Juan R González.

**Grupo U735 Luis Pérez Jurado**, presentado por Carlos Ruiz Arenas  
carlos.ruiza@upf.edu

**Introducción:** Epimutations are rare alterations in the methylation pattern at specific loci that can lead to rare diseases such as Prader-Willi syndrome. Although two methods for epimutations detection on methylation microarray data have been proposed (Barbosa et al, 2018, Aref-Eshghi et al, 2019), their implementation is not publicly available and they have not been compared. **Objetivos:** To implement an R package to facilitate the detection of epimutations and provide guidelines to incorporate epimutations evaluation into clinical practice. **Results:** We have implemented these two methods (called "quantile" and "manova", respectively) and four additional approaches (called beta, mlm, isoforest and mahdist) in the epimutations R package. epimutations can infer epimutations based on a case-control design, or using a leave-one-out approach, conforms with Bioconductor guidelines and is publicly available at <https://github.com/isglobal-brge/epimutations>. First, we compared the performance of the methods in 3 GEO datasets. mlm, isoforest and manova detected a high number of epimutations, beta and mahdist a subset of those, while quantile a more reduced subset. Next, we evaluated quantile, beta and mlm in HELIX, a general population cohort (860 children 8 yo). For all the methods, sex and age influenced epimutations discovery, while paternal smoking or study design did not. Finally, we applied quantile to an IBD dataset and showed how epimutations can define specific epismutations. **Conclusiones:** All in all, our package sets the ground to introduce epimutations in rare disease diagnoses, while our analyses provide some guidelines on how to design and perform the epimutation detection analysis.

### 002 Identificación de CFAP20 como gen candidato asociado a retinosis pigmentaria usando una estrategia personalizada para el análisis de datos de secuenciación de genoma completo.

**Autores:** María González-del Pozo, Elena Fernández-Suárez, Nereida Bravo-Gil, Cristina Méndez-Vidal, Marta Martín-Sánchez, Marcela Mena, Enrique Rodríguez-de la Rúa, Manuel Ramos-Jiménez, María José Morillo-Sánchez, Salud Borrego, Guillermo Antiñolo.

**Grupo U702 Salud Borrego**, presentado por María González del Pozo  
maria.gonzalez@ciberer.es

**Introducción:** Actualmente, el porcentaje de casos de retinosis pigmentaria (RP) no diagnosticados genéticamente tras aplicar las técnicas de rutina asciende hasta un 40%, lo que sugiere la presencia de variantes en regiones no analizadas, difíciles de detectar o interpretar. En algunos casos, la secuenciación del genoma completo (WGS) tiene el potencial de mejorar el diagnóstico, sin embargo, aún son necesarias estrategias estandarizadas de análisis. **Objetivos:** Establecer una estrategia para el análisis de datos de WGS que nos permita mejorar el rendimiento diagnóstico de familias de RP no diagnosticadas. Para ello, los datos genómicos de 415 individuos ya diagnosticados de nuestra cohorte han sido empleados en el diseño y validación de una estrategia que fue posteriormente aplicada en 14 individuos de familias no diagnosticadas. **Resultados:** Esta estrategia nos ha permitido identificar una variante homocigota en el gen candidato CFAP20 (c.337C>T; p.Arg113Trp) que segrega con la enfermedad en una familia consanguínea de RP no sindrómica. CFAP20 codifica para una proteína ciliar altamente conservada, que ha sido previamente asociada a ARL2BP, otra proteína implicada en RP. El estudio mediante qPCR usando mRNA de diferentes tejidos mostró una mayor expresión de CFAP20 en retina humana. Asimismo, el análisis inmunohistológico en cortes de retina de donantes sanos indicó que CFAP20 se encuentra localizada de forma preferencial en los fotorreceptores. **Conclusiones:** En este trabajo ofrecemos una estrategia para la priorización de variantes de WGS, y proponemos a CFAP20 como gen candidato de RP contribuyendo a ampliar el espectro mutacional de genes ciliares asociados a enfermedades humanas.

## 003 Trayectoria y nuevas oportunidades a raíz del proyecto ENOD de enfermedades no diagnosticadas.

**Autores:** Rosario Carmona, Ana Pérez-Gutiérrez, Daniel López-López, Javier Pérez-Florida, Virginia Aquino, Gema Roldán, Gerrit Bostelmann, José Luis Fernández, Francisco Ortuño, Beatriz Morte, María Peña-Chilet, Joaquín Dopazo.

**Grupo U715 Joaquín Dopazo Blazquez**, presentado por Rosario Carmona Muñoz  
[rosariom.carmona@juntadeandalucia.es](mailto:rosariom.carmona@juntadeandalucia.es)

Nuestro grupo participa en el proyecto ENOD de enfermedades no diagnosticadas del CIBERER, con un balance muy positivo en cuanto a los resultados obtenidos, dada la alta tasa de resolución. Los datos recopilados con este y otros proyectos similares nos han permitido ir más allá del proyecto ENOD y abordar otras posibles aproximaciones y aplicaciones:

- Desarrollo de una nueva metodología para la priorización de variantes que usa un modelo matemático mecánico de actividad de rutas de señalización, analizando las variantes en un contexto funcional, lo cual permitirá detectar nuevos genes diagnósticos o elucidar nuevos mecanismos de enfermedad. Aunque se ha puesto a punto sobre una cohorte con enfermedades mentales, es extrapolable a otras enfermedades.
- Desarrollo de la base de datos SPACNACS (<http://csvs.clinbioinfospa.es/spacnacs/>), que proporciona información sobre variantes en el número de copias (CNVs) en 417 individuos no relacionados de población española.
- Según las recomendaciones del American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) para la identificación de hallazgos secundarios, hemos interrogado los 2094 individuos no relacionados de la base de datos de variabilidad en la población española, CSVS (<http://csvs.babelomics.org/>) para determinar la presencia de variantes patogénicas en una lista de 73 genes accionables.
- Creación de un prototipo EGA community (<http://iva-enod.clinbioinfospa.es/ega/>) basado en una implementación simplificada de un sistema Beacon v2 que permite consultar la ausencia/presencia de variantes genómicas, así como aplicar determinados filtros sobre el conjunto de datos de ENOD y ENOD-cohortes.

## 020 Marcadores epigenéticos de malignidad en lesiones de tiroides raras de diagnóstico anatomopatológico incierto.

**Autores:** Sandra Rodríguez-Rodero; Paula Morales; Juan Ramón Tejedor; Rocío González Urduñigo; Andrés Coca-Pelaz; Cristina Mangas; Alfonso Peñarroya; Iván Fernández-Vega; Luis Fernández-Fernández; Agustín F. Fernández; Marina Arranz Álvarez; Aurora Astudillo; Pedro Pujante Alarcón; Cecilia Ragnarsson; Alberto Colina Alonso; Héctor Enrique Torres Rivas; Juan Pablo Rodrigo Tapia; Sandra Nieto Torrero; Yaiza Pedroche-Just; Rita María Regojo Zapata; Ana Margarita Rodríguez García; Ander Urruticochea Ribate; Anabel Abó; Edelmiro Menéndez-Torre; Elías Delgado; Mario F Fraga.

**Grupo U766 Mario Fernández Fraga**, presentado por Mario Fernández Fraga  
[mffraga@cinn.es](mailto:mffraga@cinn.es)

**Introducción:** El cáncer de tiroides se presenta como un nódulo tiroideo detectado por palpación y con mayor frecuencia por ultrasonido de cuello. La detección de nódulos tiroideos es frecuente (4% -50% dependiendo de los procedimientos diagnósticos y la edad del paciente), pero el cáncer de tiroides es raro (~ 5% de todos los nódulos tiroideos). Cuando las pruebas ecográficas muestran múltiples patrones sugestivos de malignidad en un nódulo de tiroides, la citología por aspiración con aguja fina (PAAF) se usa de modo conjunto para el diagnóstico. Sin embargo, esta técnica no permite discriminar entre neoplasias foliculares benignas (adenoma folicular) y maligno (carcinoma folicular y papilar variante folicular). Dicha distinción se realiza después de la lobectomía tiroidea, limitación que aumenta el número de cirugías innecesarias. **Objetivos:** Identificar marcadores epigenéticos que mejoren el diagnóstico de estos pacientes analizando los metilomas completos de muestras malignas y benignas. **Resultados:** Utilizando un enfoque basado en técnicas "Random Forest", desarrollamos un modelo de diagnóstico basado en tres marcadores de metilación, obtenidos de un análisis de metilación del epigenoma completo de 54 pacientes, que posteriormente validamos mediante experimentos de pirosecuenciación de bisulfito. Los resultados obtenidos en la cohorte de validación discriminaron entre nódulos benignos y malignos con una sensibilidad y especificidad del 97% y 88% respectivamente (VPP 0,85, VPN 0,98). **Conclusiones:** Por tanto, nuestro sistema de clasificación basado en un conjunto mínimo de biomarcadores epigenéticos puede complementar la información obtenida con las técnicas diagnósticas actualmente disponibles y podría priorizar intervenciones quirúrgicas que actualmente se realizan debido a una citología incierta.

## 021 Towards a better understanding of rare diseases using medical data and systems biology.

**Autores:** James R. Perkins, Pedro Seoane, Elena Rojano, Jose Córdoba-Caballero, Elena Díaz-Santiago, Pascual Sanz, Carlos Romá-Mateo, Belén Pérez, Francesc Palau, Florencio Pazos, Miguel Ángel Medina, Juan A.G. Ranea.

**Grupo U741 Miguel Ángel Medina Torres**, presentado por James Richard Perkins  
[jimrperkins@gmail.com](mailto:jimrperkins@gmail.com)

**Introduction:** The world of biomedicine is being revolutionised by the ability to generate and assimilate large amounts of data. For rare diseases, this can help better understand disease mechanisms with a view to improve diagnosis and treatment. As a primarily biocomputational lab group, the CIBERER group U741 collaborates with multiple rare disease research groups within CIBERER. **Objectives:** Here we present a number of these collaborations, with the overarching objective of developing and implementing state of the art methodology to: analyse -omics data related to gene and microRNA expression, evaluate the depth and breadth of phenotyping in patient cohorts, use phenotype assignment for patients and diseases to better understand the phenotypic profiles and genetic systems underlying diseases, and the use of literature based approaches to uncover relationships between disease, phenotypes, genes and more. **Results:** Collaborations related to gene expression analysis have revealed genes changing in expression for various rare diseases including Lafora, PMM2-CDG and more. Further analysis of transcriptomic data have been used to predict miRNAs that affect gene expression and their targets. Collaborations related to cohort-analysis have shown how well-phenotyped cohorts help better understand disease. Work based on phenotype assignment in patients and diseases has been used to investigate patterns of comorbidity. Co-citation analysis has been used to search for links between pathological phenotypes, diseases and drugs with potential adverse-effects. **Conclusions:** The studies presented here highlight the importance of interactions between wet and dry-lab researchers for rare-disease diagnosis and treatment.

## 033 Aggregated genomic data as cohort-specific allelic frequencies can boost variants and genes prioritization in non-solved cases of Inherited retinal dystrophies.

**Autores:** Ionut-Florin Iancu, Gonzalo Núñez-Moreno, Irene Perea-Romero, Lorena de la Fuente, Raquel Romero, Almudena Ávila-Fernandez, María José Trujillo-Tiebas, Rosa Riveiro-Álvarez, Berta Almoguera, Inmaculada Martín-Mérida, Marta Del Pozo-Valero, Alejandra Damián-Verde, Marta Cortón, Carmen Ayuso# and Pablo Mínguez#.

**Grupo U704 Carmen Ayuso**, presentado por Pablo Mínguez  
[pablo.minguez@quironsalud.es](mailto:pablo.minguez@quironsalud.es)

The introduction of next-generation sequencing techniques in the diagnosis of genetic and rare diseases has increased the known repertoire of causal variants and genes involved, as well as the amount of genomic information produced. Here, we aim to build an allelic-frequency database for a heterogeneous cohort of genetic diseases to explore the aggregated genomic information and boost diagnosis in inherited retinal dystrophies (IRD). We retrospectively selected 5683 index-cases with clinical exome sequencing tests available, 1766 with IRD and the rest, with diverse genetic diseases. We calculated subcohort's IRD specific allele-frequencies and compare it with suitable pseudocontrols. Focusing on non-solved IRD cases, we prioritized variants with a significant increment of frequencies, among them five found in IRD syndromic cases that may contribute to explain the phenotype, and 10 out of 11 of uncertain significance that were reclassified as likely-pathogenic according to ACMG guides. Besides, we developed a method to highlight genes with more frequent pathogenic variants in non-solved IRD cases than in pseudocontrols weighted by the increment of benign variants in the same comparison that identified five non-solved cases carrying mutations possibly associated to the phenotype in IRD genes. Our resource can also help to calculate the carrier frequency of deleterious variants in IRD genes, being the most prevalent ABCA4 (~7%) and USH2A (~3%). A cohort-specific genomic database and phenotype-specific allele frequencies compared to controls can assist with variants and genes prioritization and operate as an engine that provides new hypothesis in specific non-solved cases, hence augmenting disease diagnosis rate.

## Nuevas terapias

### 007 Edición genética a través de CRISPR/Cas9 de la mutación de TNPO3 causante de la Distrofia Muscular de Cinturas D2 en un modelo celular de mioblastos.

**Autores:** Marta Selva-Giménez, Javier Poyatos-García, Águeda Blázquez-Bernal, Ariadna Bargiela, Jorge Espinosa-Espinoza, Rafael P. Vázquez Manrique, Anne Bigot, Rubén Artero, Juan Jesús Vílchez.

**Grupo U763 María Teresa Sevilla Mantecón**, presentado por Marta Selva Giménez  
[martaselqi@gmail.com](mailto:martaselqi@gmail.com)

**Introducción:** La Distrofia Muscular de Cinturas D2 (LGMDD2) se describió en una gran familia española portadora de una delección de un solo nucleótido que elimina el codón de terminación del gen del receptor de importación nuclear de la transportina 3 (TNPO3) que transcribe (generando) proteínas mutadas alargadas con 15 aminoácidos adicionales. También se han descubierto más familias en todo el mundo con mutaciones similares. TNPO3 es responsable de la importación nuclear de proteínas ricas en serina/arginina (SR) esenciales para el empalme y la poliadenilación de ARN alternativos y para la integración del virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1), pero no se ha revelado su acción patomecánica en el músculo. Aquí, generamos el primer modelo in vitro derivado de un paciente de LGMDD2 como una línea celular de mioblastos inmortalizados que porta la mutación TNPO3. **Objetivos:** caracterización del primer modelo celular de la enfermedad, demostración de que la edición genética de la mutación de TNPO3 en el modelo celular rescata los fenotipos alterados. **Resultados:** El modelo celular reprodujo alteraciones moleculares críticas observadas en pacientes, incluida la sobreexpresión de TNPO3, defectos en los marcadores musculares terminales y sobreactivación de la autofagia. La corrección de la mutación TNPO3 mediante la edición CRISPR/Cas9 produjo una reversión significativa de los fenotipos patológicos en las células editadas. **Conclusión:** A nivel mundial, este trabajo proporciona una prueba de concepto del potencial de CRISPR/Cas9 en la edición genética, y en este caso del gen TNPO3, como enfoque terapéutico y describe reactivos fundamentales en la investigación de LGMDD2.

### 008 Eficacia y seguridad génica de los desoxirribonucleósidos como terapia para síndromes causados por mutaciones en genes involucrados en el mantenimiento del ADN mitocondrial.

**Autores:** Javier Ramón, María Ylla-Català, Cora Blázquez-Bermejo, Jordi Leno-Colorado, Anne Lombès, Miguel Ángel Martín, Cristina Domínguez-González, M. Dolores Sardina, Itxaso Martí, Adolfo López de Munain, Francina Munell, Antonia Ribes, Anna Karlsson, Antonella Spinazzola, Andrés Nascimento, Elena García Arumí, Yolanda Cámara, Ramon Martí.

**Grupo U701 Ramón Martí Seves**, presentado por Javier Ramón Pasías  
[javier.ramon@vhir.org](mailto:javier.ramon@vhir.org)

**Introducción:** Toda evidencia experimental indica que el tratamiento con desoxirribonucleósidos (dNs) incrementa la cantidad de dNTPs y favorece la replicación del ADN mitocondrial (ADNmt). Ello incluye modelos preclínicos de síndromes de depleción y delecciones múltiples del ADNmt (MDDS) causados por mutaciones en genes involucrados en el metabolismo de dNTPs (TK2, DGUOK, RRM2B). Además, los dNs han mostrado eficacia clínica en pacientes con mutaciones en TK2. **Objetivos:** (1) Explorar si el tratamiento con dNs se puede ampliar a MDDS causados por mutaciones en genes no involucrados en el metabolismo de dNTPs. (2) Como el tratamiento con dNs puede provocar desequilibrios de dNTPs potencialmente mutagénicos, estudiar mediante secuenciación masiva la seguridad génica del tratamiento sobre el ADNmt. **Resultados:** Los fibroblastos de pacientes con mutaciones en MPV17 y algunas mutaciones en SUCLG1 y OPA1 presentan replicación disfuncional del ADNmt, disfunción que es revertida si se adicionan dNs al cultivo. Además, el tratamiento con dNs no provoca mutaciones en el ADNmt en los modelos testados (fibroblastos en cultivo y ratón KO para Tk2) ni tampoco en pacientes con déficit de TK2 tratados con dNs durante meses e incluso años, lo cual apoya la genoseguridad del tratamiento. **Conclusiones:** El tratamiento con dNs mantiene niveles normales de ADNmt no sólo si hay déficit de dNTPs debido a mutaciones en genes involucrados en el metabolismo de dNTPs, sino también en MDDS causados por mutaciones en otros genes, pudiéndose ampliar su uso a estos síndromes. Además, nuestros datos apoyan la seguridad génica de este tratamiento.



## 009 Adaptación cardiovascular fetal a un sistema de placenta artificial en un modelo experimental en oveja.

**Autores:** Fàtima Crispi, Sergio Sánchez, Paula C. Randanne, Ameth Hawkins, Kambiz Rezaei, Aleix Garcia, Miguel Morán, Santiago López, Juan Medina, Raquel Fucho, Sara Bobillo, Victor Gómez, Mireia Gispert, Maite Mata, María José López Martínez, Miriam Illa, Elisenda Bonet, Daniel Pereda, Elisenda Eixarch, Bart Bijmens, Eduard Gratacós.

**Grupo U719 Eduard Gratacós**, presentado por Fàtima Crispi  
[fcrispi@clinic.cat](mailto:fcrispi@clinic.cat)

**Introducción:** La prematuridad extrema es una de las principales causas de morbimortalidad neonatal. Los sistemas de soporte vital en las unidades de cuidados intensivos neonatales parecen haber alcanzado un límite de eficacia. Hemos desarrollado un sistema de placenta artificial (PA) que permitiría continuar el desarrollo fetal ex utero. **Objetivo:** Describir la adaptación y respuesta hemodinámica fetal a PA. **Métodos y resultados:** Estudio experimental en 6 fetos de oveja (105-115 días) transferidos a un sistema PA (circuito sin bomba con conexión de cordón umbilical y oxigenador de baja resistencia). La transición a PA resultó en una reducción del índice de pulsatilidad de la arteria umbilical: mediana in utero 1,26 (IQR 1,1-1,48) vs. 30min 0,42 (0,34-0,52) vs 2-6h 0,42 (0,36-0,45),  $p=0,004$ ), con aumento de las presiones arterial y venosa (presión arterial media in utero 44 mmHg (35-54) vs 30min 72 mmHg (64-80) vs 2-6h 56 mmHg (50-70),  $p=0,007$ ) y aumento de la frecuencia cardiaca fetal (in utero 144 lpm (141-157) vs 30min 198 lpm (176-222) vs 2-6h 175 lpm (165-190),  $p=0,004$ ). La estructura y la función del corazón fetal se mantuvieron (gasto cardíaco combinado in utero 452 ml/kg/min (431-502) vs 30min 495 ml/kg/min (450-632) vs 2-6 h 447 ml/kg/min (446-459),  $p=0,337$ ). **Conclusiones:** El feto presenta una respuesta cardiovascular aguda en su conexión a una PA. Datos a más largo plazo ayudarán a refinar la configuración de la circulación extracorpórea óptima.

## 010 La disfunción mitocondrial en el Síndrome de Rett: Estudio de un trastorno neurológico desde la perspectiva del metabolismo sináptico para encontrar nuevas opciones de tratamiento.

**Autores:** Alfonso Oyarzábal, Uliana Musokhranova, Cristina Grau, Rafael Artuch, Àngels García-Cazorla.

**Grupo U703 Rafael Artuch Iriberrí**, presentado por Alfonso Oyarzábal Sanz  
[alfonsoluis.oyarzabal@sjd.es](mailto:alfonsoluis.oyarzabal@sjd.es)

**Introducción:** El síndrome de Rett es una enfermedad del neurodesarrollo que afecta a 1:10.000 niñas, normalmente debido a mutaciones en MECP2. Aunque tradicionalmente se ha estudiado como un trastorno de la neurotransmisión y la maduración neuronal, recientemente está tomando importancia la bioenergética. **Objetivos:** Hemos centrado nuestra investigación en dos cuestiones: el análisis de la homeostasis mitocondrial en modelos de Rett y si puede ser modulada con fines terapéuticos. **Métodos y resultados:** En primer lugar, hemos analizado la función mitocondrial en fibroblastos de pacientes de Rett, centrándonos en la producción de ATP, la generación y el metabolismo de ROS, y la dinámica y la ultraestructura mitocondrial. Observamos de una severa disfunción mitocondrial caracterizada por una bioenergética defectuosa y una dinámica mitocondrial y producción de ROS alteradas. Curiosamente, cuando tratamos los fibroblastos con un agonista de PPAR $\gamma$ , registramos una recuperación de la función mitocondrial. Comprobado esto, pasamos a estudiarlo en modelos animales. Nuestros resultados sugieren que la disfunción mitocondrial desempeña un papel en el desarrollo y la progresión de la enfermedad. El tratamiento de los ratones sintomáticos dio lugar a una mejora del comportamiento y de la disfunción mitocondrial. **Conclusiones:** Nuestros resultados reafirman que las mitocondrias son una diana eficaz para el tratamiento del síndrome de Rett y avalan un ensayo clínico con el mencionado agonista PPAR $\gamma$ . Además, destacamos la disfunción mitocondrial incluso antes de la aparición de los síntomas, estableciendo la mitocondria como una diana muy relevante para modificar la historia natural del síndrome de Rett.

## 024 Novel biomarkers for diagnosis and treatment of HLD18 hypomyelinating leukodystrophy.

**Autores:** Laura Planas-Serra, Montserrat Ruiz, Josefina Casas, Natalia Juliá-Palacios, M Pradeep Kumar, Reza Maroofian, Kristen Wigby, Adeline Vanderver, Àngels García-Cazorla, Aurora Pujol.

**Grupo U759 Aurora Pujol Onofre**, presentado por Laura Planas Serra  
[lplanass@idibell.cat](mailto:lplanass@idibell.cat)

We identified that loss of the sphingolipid desaturase DEGS1 function causes hypomyelinating leukodystrophy-18 (HLD18, OMIM #618404), an autosomal recessive ultrarare genetic disorder characterized by an early onset of global neurodevelopmental delay. DEGS1 is essential for catalyzing the insertion of a  $\Delta$ -4,5-trans dou-

ble bond into dihydroceramide to convert it to ceramide, crucial for brain function. Through collaboration with international centers of reference for Leukodystrophies and GeneMatcher, we identified 25 patients worldwide with the disease. Clinical shared features include severe motor arrest, early nystagmus, dystonia, spasticity and profound failure to thrive. MRI showed hypomyelination, thinning of corpus callosum and progressive thalami and cerebellar atrophy, suggesting a critical role of DEGS1 in myelin development and maintenance. Patients' defects were recapitulated in a DEGS1 knockout zebrafish model, and then improved by FTY720 (Fingolimod), a drug in use for Multiple Sclerosis. Fingolimod was shown to inhibit ceramide synthases, a prior step to DEGS1, and thus, our rational was that of substrate reduction therapy (SRT). Using a mass-spectrometry lipidomic approach in patients' plasma, we identified diagnostic biomarkers of the disease, such as the accumulation of several dihydrosphingolipid species together with a deficit of ceramides, useful for early diagnosis and monitoring therapeutic approaches. In a pilot international clinical trial, we are currently treating two patients with Fingolimod, which have improved levels of the selected biomarkers, showing target engagement. We aim to gain insight on the drug's mechanisms of action in this disease to encourage recruitment of additional HLD18 patients and assessment of clinical efficacy.

## 025 Vesículas extracelulares terapéuticas (TEVs) para el tratamiento de enfermedades raras mediante edición génica.

**Autores:** Saint T. Cervera, Raquel M. Melero-Fernández de Mera, Selene Martínez, Carlos Rodríguez-Martín, Enrique Fernández-Tabanera, Santiago Josa, Sergio Fernández-Peñalver, Matias Morín, Miguel Ángel Moreno-Pelayo, Fernando Larcher, Javier Alonso.

**Grupo U758 Francisco Javier Alonso García de la Rosa**, presentado por Saint Thomas Cervera  
[scervera@isciii.es](mailto:scervera@isciii.es)

**Introducción:** El sistema de edición génica CRISPR/Cas9 ha revolucionado el campo de la terapia génica. Aunque el sistema es extraordinariamente eficaz in vitro, su uso in vivo está limitado por las dificultades que conlleva transportar la maquinaria de edición de manera específica a las células dianas, por lo que son necesarias nuevas aproximaciones experimentales. **Objetivos:** i) Producir y caracterizar molecular y funcionalmente vesículas extracelulares terapéuticas (TEVs) capaces de transportar la maquinaria de edición génica Cas9/sgRNAs a las células diana. ii) Evaluar la sensibilidad y especificidad de esta aproximación en dos enfermedades raras: sarcoma de Ewing (ORPHA:319) y epidermólisis bullosa (forma distrófica recesiva) (ORPHA:79408). **Resultados:** Nosotros mostramos que, mediante la combinación de un sistema de dimerización química, ribozimas y proteínas que unen RNA, es posible obtener TEVs que contienen Cas9 y las sgRNAs de interés. Estas TEVs pueden ser aisladas a partir del medio de cultivo de células 293T transfectadas con los plásmidos adecuados. La adición de estas TEVs a células diana in vitro produce alrededor de un 50% de edición génica a las 48-72 horas. **Conclusiones:** El uso de TEVs para inducir edición génica es efectivo in vitro. El sistema puede ser fácilmente adaptado a otras patologías y por tanto es de interés para otras unidades CIBERER interesadas en desarrollar estrategias de terapia génica basadas en CRISPR/Cas9. El sistema puede modificarse para incrementar su especificidad por las células diana in vivo. En este proyecto (solicitado a la convocatoria ACCI 2021) participan tres unidades CIBERER (U758, U714, U728).

## 026 Ubiquibodies to degrade CRX mutant proteins selectively.

**Autores:** Gómez-Escribano AP, González-Rojo P, Vázquez-Manrique RP, García-García G, Millán JM.

**Grupo U755 José María Millán Salvador**, presentado por Ana Pilar Gómez Escribano  
[ana\\_pilar\\_gomez@iislafe.es](mailto:ana_pilar_gomez@iislafe.es)

**Introduction:** Inherited Retinal Dystrophies (IRDs) are a group of rare diseases characterized by progressive photoreceptor death causing vision loss and, in some cases, legal blindness. CRX (Cone Rode Homeobox) is a transcription factor that regulates the maintenance and differentiation of photoreceptor cells in a coordinated-manner. We know that several mutations into CRX domains cause different IRDs. In our case, we are focused in dominant mutations located into transactivation domain and produced by a frameshift that incorporate a novel region in the C-terminal region of the mutant protein (p.e. p.Leu146Glnfs\*37 or mutCRX). CRX mutant forms compete with CRX wild type (CRX) to DNA joining so it carries on a negative effect from mutCRX over gene photoreceptor expression. **Aim:** Our approach consists of developing a strategy to eliminate mutCRX and restores cellular homeostasis. For this purpose, we are going to use camelid nanobodies fused to E3 ubiquitin ligase (or ubiquibodies) to catch mutCRX selectively. **Results:** Transient expression of eGFP::CRX and eGFP::-

mutCRX in HEK293 produces an increase of mRNA and protein levels of mutCRX compared to CRX. We have taken advantage of a published nanobody sequence against GFP to develop a plasmid that expresses vhhGFP ubiquibody to degrade GFP-tagging nuclear proteins. Co-expression of eGFP::mutCRX and vhhGFP produce total protein degradation of eGFP::mutCRX after 24h of treatment. **Conclusions:** mutCRX alters mRNA and protein levels but its location is not affected. Nuclear vhhGFP ubiquibody degrades more efficiently eGFP::mutCRX than cytoplasmic eGFP, confirming that ubiquibody is translocated mainly to nucleus.

## 027 El tratamiento temprano con metformina atenúa la progresión de la enfermedad de Lafora.

**Autores:** Daniel F. Burgos, María Machío-Castello, Nerea Iglesias-Cabeza, Luis Zafra-Puerta, Beatriz G. Giráldez, Juan González-Fernández, Gema Sánchez-Martín, Marina P. Sánchez, José M. Serratosa.

**Grupo U744 José Serratosa**, presentado por Daniel Fernández Burgos  
[daniel.fburgos@quironsalud.es](mailto:daniel.fburgos@quironsalud.es)

**Introducción:** La enfermedad de Lafora es una epilepsia mioclónica progresiva rara y letal, que aparece generalmente durante la adolescencia. Los pacientes presentan mioclonus, crisis epilépticas y deterioro neurológico. El principal marcador histopatológico son agregados aberrantes de poliglucosanos en cerebro y otros tejidos, los cuerpos de Lafora. Está causada por la mutación de los genes EPM2A o EPM2B, que codifican las proteínas laforina y malina. Los modelos murinos Epm2a<sup>-/-</sup> y Epm2b<sup>-/-</sup> presentan alteraciones neurológicas similares a las descritas en pacientes, así como hiperexcitabilidad neuronal al agente epileptógeno PTZ. La metformina es un antidiabético que actúa como neuroprotector. Previamente, hemos descrito que su administración en ratones Epm2b<sup>-/-</sup> adultos mejora su fenotipo. Por ello, ha obtenido la designación como medicamento huérfano para el tratamiento de la enfermedad de Lafora por la FDA y la EMA. **Objetivo:** Evaluar si la administración temprana de metformina incrementa las mejoras observadas tras la administración tardía en las alteraciones neurológicas de los modelos Epm2a<sup>-/-</sup> y Epm2b<sup>-/-</sup>, y analizar el efecto de metformina en la progresión de la enfermedad en pacientes. **Resultados:** En los modelos Epm2a<sup>-/-</sup> y Epm2b<sup>-/-</sup>, la metformina temprana es más efectiva que la administración tardía. Los animales tratados de forma temprana mejoraron más a nivel neurológico y comportamental. Además, durante un seguimiento de dos años, observamos que los pacientes tratados con metformina mostraron una evolución más lenta. **Conclusiones:** La administración temprana de metformina en los modelos Epm2a<sup>-/-</sup> y Epm2b<sup>-/-</sup> incrementa las mejoras observadas en adultos. En pacientes, metformina enlentece la progresión de la enfermedad.

## 031 Blockers of $\beta$ 2-adrenergic receptors reduce inflammation and oxidative stress in von Hippel-Lindau rare tumor.

**Autores:** Virginia Albiñana, Lucía Recio-Poveda, Pilar González-Peramato, Luis Martínez-Piñeiro, Luisa María Botella, Angel M. Cuesta.

**Grupo U707 Luisa María Botella Cubells**, presentado por Ángel Cuesta Martínez  
[angcuest@ucom.es](mailto:angcuest@ucom.es)

Lack of expression or the inefficient function of the VHL protein raises the rare inherited cancer von Hippel-Lindau (VHL). This multi-systemic rare disease affects mainly CNS and retina (hemangioblastomas, HBs), pancreas, and kidneys (cysts and clear cell renal cell carcinomas, ccRCC). The constitutive pseudo-hypoxic state in which the mutated cells subsist is triggered by the accumulation of HIFs. Since standard therapies have shown limited response, remaining surgery as the only possible treatment, the use of  $\beta$ 2-adrenergic receptor (ADRB2) antagonists, such as propranolol or ICI-118,551, have also shown antitumor therapeutic benefits in a clinical trial and a retrospective analysis of patients by decreasing HIFs nucleation and downstream target gene activation. HIF promotes glycolytic and inflammatory pathways; therefore, we addressed the effects of propranolol and ICI-118,551 on: (i) changes in the inflammatory response of ccRCC cells; and (ii) modulation on the Warburg effect (glycolytic metabolism), specifically, on the expression of genes involved in the balance and levels of cellular reactive oxygen species (ROS). Accordingly, in vitro studies were performed using primary VHL-ccRCC and 786-O cells, measuring ROS levels, expression of detoxifying enzymes, and expression of p65/NF- $\kappa$ B targets, by RT-PCR. Furthermore, histological analyses of ccRCC samples, from heterotopic mouse xenografts, were performed. The results obtained show that the blockade of ADRB2 in ccRCC cells reduces oxidative stress levels and stabilizes the inflammatory response. Therefore, these data further support the idea of targeting ADRB2 as a promising strategy for the treatment of VHL and other non-VHL tumors.



## 032 Aptámeros basados en el ARN de la telomerasa para neutropenias congénitas.

**Autores:** Elena Martínez-Balsalobre, Francisca Alcaraz-Pérez, Diana García-Moreno, Jesús García-Castillo, Miriam Fernández-Lajarín, David Hernández-Silva, Elena Naranjo-Sánchez, Alba Jiménez-Blaya, Victoriano Mulero, María L. Cayuela.

**Grupo U768 Víctor Mulero Méndez**, presentado por María Luisa Cayuela Fuentes  
[marial.cayuela@carm.es](mailto:marial.cayuela@carm.es)

El ARN de la telomerasa (TERC) tiene una función no canónica en la mielopoyesis uniéndose a una secuencia de unión al ADN consenso y atrayendo a la ARN polimerasa II (ARN Pol II), facilitando así la expresión de genes mieloides. Los aptámeros, oligonucleótidos cortos de cadena sencilla que se unen específicamente a una molécula diana, se consideran alternativas prometedoras a los anticuerpos para su uso como agentes de alta afinidad en el tratamiento de enfermedades. En este estudio, mostramos dos aptámeros, basados en la secuencia de TERC, que son capaces de aumentar la mielopoyesis sin afectar a la eritropoyesis en el pez cebra. Mecanísticamente, los aptámeros funcionaron como terc completo; es decir, aumentaron la expresión de genes mieloides maestros, independientemente de la expresión de terc endógena, al interactuar con RNA Pol II y con las secuencias de unión a terc de las regiones reguladoras de dichos genes, reforzando su transcripción. El potencial terapéutico de los aptámeros para tratar la neutropenia se demostró en modelos preclínicos de pez cebra de Disqueratosis congénita (DC, deficiencia de terc) y poiquilodermia con neutropenia (deficiencia de usb1). Por último, los aptámeros humanos correspondientes restauraron la expresión génica mieloides defectuosa y la diferenciación mieloides en células madre pluripotentes inducidas (iPSC) humanas de pacientes con DC. Los resultados de este estudio han identificado dos potenciales agentes terapéuticos para los pacientes de DC y otros pacientes neutropénicos.

## Iniciativas CIBERER

## 017 Epidemiología molecular de las enfermedades mitocondriales en España.

**Autores:** Marcello Bellusci, Abraham J. Paredes-Fuentes, Eduardo Ruiz-Pesini, Beatriz Gómez, Grupo MitoSPAIN, Miguel A. Martín, Julio Montoya, Rafael Artuch.

**Grupo MitoSPAIN**, presentado por Marcello Bellusci  
[marcello.bellusci@salud.madrid.org](mailto:marcello.bellusci@salud.madrid.org)

**Introducción:** La frecuencia de las enfermedades mitocondriales primarias (EM) ha sido escasamente documentada y solo algunos estudios han informado datos en pequeñas áreas geográficas. **Objetivos:** Como primer paso para la implementación de un registro de pacientes, organizamos una convocatoria de ámbito nacional para obtener una estimación global del número de casos, la edad de debut, la prevalencia de genes y variantes. Se han incluido solo pacientes con genética definida, incluyendo los 293 genes causantes EM primarias según Frazier 2019. **Resultados:** Participaron 39 centros, reportando un total de 3.274 casos originarios de 49 provincias españolas y diagnosticados entre 1990 y 2020. Tras eliminar los casos duplicados y aquellos con estudio genético no conclusivo, se identificaron 2.761 pacientes con mutaciones patogénicas en 141 genes de los 293 genes incluidos. Un total de 508 pacientes exhibieron mutaciones en genes de nDNA (75% pediátricos) y 1.105 en genes de mtDNA (33% pediátricos). Otros 1.148 casos con sordera presentaban mutaciones en el gen MT-RNR1 (56% pediátricos). Se observó, a partir de 2014 un significativo aumento de los diagnósticos en nDNA, debido a la implementación de la NGS en los centros de referencia. Entre 2014 y 2020, excluyendo los casos MT-RNR1, la tasa de incidencia/millón de habitantes fue de 6,34 (IC 95%: 5,71-6,97) en la edad pediátrica y de 1,36 (IC 95%: 1,22-1,50) para adultos. **Conclusiones:** Es el primer estudio en reportar los datos epidemiológicos de las EM en España. La falta de identificación de un número notable de genes sugiere que sean todavía enfermedades infradiagnosticadas.

## 018 Estrategias colaborativas del programa de enfermedades raras sin diagnóstico genético, ENoD.

**Autores:** Morte B., Carmona R., Aquino V., Pérez-Florido J., Peña-Chillet M., Pérez-Gutiérrez A., Bostelmann G., López D., Fernández J.L., Roldán G., Seoane P., Rojano E., Sevilla M., Ruiz-Arenas C., Benítez Y., Díes C., Ruiz-Arenas C., Casabó G., García-Giménez J.L., Ranea J.A., Dopazo J., Pérez-Jurado L.A.

**Grupo ENoD**, presentado por Beatriz Morte Molina  
[bmorte@ciberer.es](mailto:bmorte@ciberer.es)

ENoD nace como un modelo de gestión conjunta para casos sin diagnóstico más allá de la clínica asistencial, aprovechando la estructura multidisciplinar del CIBERER (casi 100 profesionales han colaborado remitiendo y/o evaluando casos). El programa está abierto a todas las enfermedades raras sin diagnóstico y a todos los grupos/hospitales nacionales. Actualmente recoge información de 590 casos con cerca de 400 admitidos, y una tasa diagnóstica del 33%. La mayoría tienen exoma previamente realizado, y actualmente se aborda el reanálisis y estudio ulterior de genomas (y/o metilomas o transcriptomas). ENoD se basa en cuatro pilares: (i) Compartición de datos: mediante red de expertos, programas internacionales de intercambio de información (GeneMatcher y otros), sistemas de consulta tipo Beacons, mejora continuada de bases de datos de variantes nacionales. (ii) Correcto fenotipado: recogida sistemática y estructurada de la información clínica a través de una herramienta en red y uso de terminología estandarizada (HPO). (iii) Exhaustivo genotipado: optimizando el reanálisis de datos previos (22% de casos resueltos) y trabajando para su automatización y análisis periódico, mejorando pipelines de análisis de genomas (variantes estructurales y otras), e incorporando herramientas de biología de sistemas para predicción de nuevos genes. El análisis de genomas incrementa en un 14% el rendimiento diagnóstico del exoma. (iv) Implementación de nuevas estrategias diagnósticas para casos negativos o no concluyentes: Hemos completado un estudio piloto de análisis metilómico en 45 pacientes sin diagnóstico (ver Casabó et al). El programa está abierto a colaboraciones orientadas a la mejora diagnóstica de las enfermedades raras.

## 019 Grupo de Bioinformática (GdT-BIOINFO21): Actualización en el análisis de datos de NGS para el Diagnóstico. La importancia de "compartir conocimiento"

**Autores:** Mínguez P., Pérez-Florido J., Álvarez-Mora M.I., Peña-Chillet M., Rodríguez-Santiago B., Castejón-Fernández N., Fernández S., Martín Y., López D., Rojano E., Seoane P., Fernández-Rueda J.L., Fernández G., del Pozo A., Arroyo A., Maynou J., Ortiz V., Couce M.L., Ruiz-Arenas C., Almoguera B., Amigo J., Aquino V., Ayuso C., Barros F., Benítez Y., Borrego S., Bravo N., Carmona R., Capella S., Carracedo A., Cascajo M.V., Corral J., Cortón M., de la Morena B., Dopazo J., López-Escámez J.A., Fraga M., Gallano P., Gallego-Martínez A., González A., González-Quereda L., Gutiérrez-Solana L., Hernández C., Lapunzina P., Lezana J.M., Martín-Casanueva M.A., Medina M.A., Méndez C., Moreno M.A., Morín M., Núñez G., Ortuño F., Palau F., Pérez B., Pérez-Jurado L.A., Perkins J., Portell L., Puig S., Quesada J.F., Ranea J.A., Rodríguez C., Romero R., Ruz B., Sánchez P., Santos C., Solís M., Surrallés J., Tejedor J.R., Morte B.

**Grupo GdT-BIOINFO21**, presentado por Pablo Mínguez  
[pablo.minguez@quironsalud.es](mailto:pablo.minguez@quironsalud.es)

El grupo de trabajo de Bioinformática (GdT-BIOINFO) surge en la anterior edición con el fin de poner en común el conocimiento de los grupos CIBERER en el análisis de datos de secuenciación masiva (exoma/genoma) para optimizar y elaborar recursos compartidos consensuados, y así aumentar la tasa diagnóstica. Constituyó una herramienta muy útil desde el punto de vista técnico, pero también se convirtió en un foro de discusión de estrategias futuras que se materializan en esta segunda edición con los siguientes objetivos en desarrollo:

- Asentar el trabajo realizado en cuanto al análisis primario, identificación de SNVs e indels, criterios de priorización en estudios de genoma (estructurales, CNVs), análisis de sitios de splicing, mosaicismo, biología de sistemas en priorización de variantes.
- Explorar nuevas estrategias y necesidades: establecer guías de materiales de referencia para estudios de benchmarking, establecer sistemas colaborativos de explotación y consulta de variantes (ej: Beacon), estudiar opciones de validación funcional, modelización de estructura, estudios de docking, secuenciación de reads largos (long-reads).
- Colaboración con la red Transbionet en el uso de la plataforma OpenEBench para el estudio de CNVs
- Desarrollo de pipelines de análisis en lenguajes de trabajos de flujo (WDL, Nextflow o CWL), que permita flujos de análisis escalables, reproducibles y accesibles.
- Debatir aspectos relevantes para una correcta conexión entre la bioinformática y la práctica clínica, identificar nuevas necesidades, estrategias diagnósticas, etc.

Los resultados y experiencia de este GdT estarán a disposición de todos los grupos interesados, así como para el desarrollo del proyecto IMPaCT.

## 035 Grupo de trabajo de Organoides

**Grupo GdT-Organoides**, presentado por Carlos Santos Ocaña  
[csanoca@upo.es](mailto:csanoca@upo.es)

El grupo de trabajo "Generación de organoides y tejidos 3D como modelo de estudio de enfermedades raras" inició su trabajo en abril de 2021 con el objetivo de analizar la situación actual de esta metodología para aplicarla a la investigación de las enfermedades raras en sus diferentes aspectos: diagnóstico, establecimiento de la enfermedad, y terapia. Tras un año de trabajo, que ha finalizado en Carmona (Sevilla) el pasado mes de abril, este grupo de trabajo CIBERER ha identificado las debilidades y necesidades de los grupos que tienen entre sus objetivos el uso de organoides como modelo de estudio. Este trabajo se ha completado con acciones formativas, de movilidad y con la solicitud, y obtención, de proyectos colaborativos. El análisis llevado a cabo ha permitido establecer una serie de objetivos asociados fundamentalmente a la formación, colaboración entre grupos y dotación de capacidades técnicas de los grupos CIBERER, que se han concretados en una serie de acciones que permitirán que la actividad del grupo de trabajo pueda proyectarse en el futuro e involucre a nuevos grupos.

## RESÚMENES PRESENTACIONES CORTAS PREGRABADAS



Votaciones Mejor grabación corta

### Bases moleculares

## P01 Alteración en la red mitocondrial y estructura del sarcómero en las fibras tipo IIa en el músculo de los pacientes y el modelo de ratón McArdle.

**Autores:** Mónica Villarreal-Salazar, Alberto Real-Martinez, Antoni L. Andreu, Miguel A. Martín, Joaquín Arenas, Alfredo Santalla, Alejandro Lucia, John Vissing, Thomas O. Krag, Tomàs Pinós.

**Grupo U701 Ramón Martí Seves**, presentado por Mónica Villarreal Salazar  
[monicaazucena.villarreal@e-campus.uab.cat](mailto:monicaazucena.villarreal@e-campus.uab.cat)

**Introducción:** La enfermedad de McArdle es una enfermedad autosómica recesiva. El gen causante de la enfermedad (PYGM) codifica la enzima glucógeno-fosforilasa muscular. A nivel clínico se caracteriza por intolerancia al ejercicio, contracturas, rhabdomiolisis, hiper-CK-emia y mioglobinuria. Los mecanismos fisiopatológicos producidos por la enfermedad no han sido bien establecidos. **Resultados** en el ratón McArdle nos indican que el grado de afectación causado por la enfermedad difiere en los tipos de fibras musculares (fibras tipo I, I/IIA y IIX/IIB menos dañadas que las fibras IIA, IIA/IIX y IIX) y es independiente de la naturaleza metabólica del mismo. **Objetivo:** Determinar si la estructura del citoesqueleto y la red mitocondrial se encuentra alterados como consecuencia de la acumulación de glucógeno en el músculo esquelético de los pacientes y del modelo de ratón McArdle. **Resultados:** A través de imágenes de inmunofluorescencia observamos una ruptura de la red mitocondrial, acompañada de una desestructuración de los diferentes componentes del sarcómero y citoesqueleto en las fibras musculares tipo IIa. Además, se observa una distribución anormal de mitocondrias, en este sentido nuestros datos muestran una disminución de contenido mitocondrial viéndose alterado los mecanismos de biogénesis mitocondrial. Lo que podría explicar por qué los pacientes presentan una menor eficiencia en respiración mitocondrial. **Conclusión:** La severa acumulación de glucógeno afecta no solo a nivel estructural toda la miofibrila, sino también la estructura citoplasmática, la red y la dinámica mitocondrial, confirmando que el daño muscular no está solo en las fibras anaeróbicas, sino también en las fibras de metabolismo aeróbico.

**P02 Panorama genómico de la retinosis pigmentaria dominante en la cohorte del HUFJD.**

**Autores:** Lidia Fernández-Caballero, Inmaculada Martín Merida, Fiona Blanco-Kelly, Irene Perea-Romero, Olga Zurita, Blanca García Sandoval, Almudena Ávila Fernández, Pablo Mínguez, Marta Cortón, Carmen Ayuso.

**Grupo U704 Carmen Ayuso**, presentado por Lidia Fernández-Caballero Palomeque  
[lidia.fernandezc@quironosalud.es](mailto:lidia.fernandezc@quironosalud.es)

**Introducción:** Las distrofias hereditarias de retina (DHR) son un grupo de enfermedades raras cuya prevalencia es 1:3000-4000. Actualmente, su tasa diagnóstica es, aproximadamente, del 60%. Estas enfermedades se transmiten con un patrón de herencia autosómico dominante en el 15-25% de los casos. **Objetivos:** El objetivo de este trabajo es actualizar los datos sobre caracterización molecular y frecuencia génica de la retinosis pigmentaria autosómica dominante (adRP) en España. En febrero de 2022, se seleccionaron 372 familias con sospecha de adRP de nuestra cohorte, de las cuales 333 habían sido estudiadas mediante genotipado clásico y/o secuenciación masiva (NGS). La última actualización de los datos de adRP de nuestro hospital se realizó en 2018 con 258 familias con adRP. **Resultados:** El 70% de las familias con adRP han sido caracterizadas, habiendo aumentado la tasa diagnóstica en aproximadamente +10% desde 2018. Además, el 7,5 % de ellas se reclasificaron a otros tipos de herencia. También identificamos mutaciones causantes de DHR en 4 genes no informados previamente en las adRP de nuestra cohorte (GUCA1A/RP1L1/RAX2/FZD4). Aunque los datos de frecuencia génica han cambiado ligeramente, las mutaciones en RHO/PRPF31/PRPH2/RP1 siguen siendo las más frecuentes. **Conclusiones:** En conclusión, la implementación de NGS ha incrementado la tasa diagnóstica. Sin embargo, aún hay un 30% de casos no caracterizados, que o bien no han sido estudiados mediante NGS todavía, o podrían estar causados por variantes/genes desconocidos o reordenamientos genómicos difíciles de identificar con estas técnicas. Por lo tanto, es esencial el estudio de nuevos mecanismos moleculares que expliquen la enfermedad.

**P03 Papel de IF1 en la regulación del metabolismo y la función del sistema inmune.**

**Autores:** Inés Romero Carramiñana, Sonia Domínguez Zorita, Pau B. Esparza Moltó y José M. Cuezva.

**Grupo U713 José M. Cuezva**, presentado por Inés Romero Carramiñana  
[ines.romero@cbm.csic.es](mailto:ines.romero@cbm.csic.es)

Las células del sistema inmune al activarse experimentan una reprogramación metabólica hacia un metabolismo altamente glucolítico, aun en presencia de oxígeno, para satisfacer su gran demanda bioenergética y tasa proliferativa. Esta reprogramación metabólica también se produce en otros tipos celulares con altas tasas de división; como células cancerígenas, madre y pluripotentes. En estos tipos celulares la sobreexpresión del factor inhibidor 1 de la ATP sintasa (IF1) es clave para llevar a cabo esta reprogramación metabólica. IF1 es el inhibidor fisiológico de la ATP sintasa mitocondrial, enzima responsable de la síntesis de ATP en la fosforilación oxidativa. En este sentido, la sobreexpresión de IF1 inhibe la ATP sintasa, y por consiguiente la fosforilación oxidativa, favoreciendo un metabolismo glucolítico. Para estudiar el papel de IF1 en la reprogramación metabólica de las células del sistema inmune, se han estudiado sus niveles de expresión en los diferentes fenotipos funcionales de macrófagos y linfocitos CD4+, respectivamente. Los macrófagos quiescentes, inflamatorios y antiinflamatorios expresan altos e invariables niveles de IF1. Por el contrario, los linfocitos CD4+ quiescentes expresan niveles negligibles de IF1, pero al activarse aumenta drásticamente su expresión. Esto evidencia la especificidad funcional de IF1 entre tejidos. Además, se están fenotipando modelos murinos de pérdida de función de IF1 en ambos tipos celulares para comprender su función en la estructura y función mitocondrial. Con este estudio, se pretende entender procesos clave en la regulación del metabolismo del sistema inmune para encontrar dianas metabólicas que permitan el desarrollo de nuevos tratamientos contra enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

## P04 Transcriptomic and metabolomic effects of inflammation in the disruption of lipid metabolism in Severe Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa.

**Autores:** Carlos León, Sara Herraiz-Gil, María del Carmen Arriba, Lucía Martínez-Santamaría, Rosa Sacedón, Rocío Maseda, Jordi Capellades, Sandra Junza, Gemma Tell-Martí, Miriam Potrony, Celia Badenas, Eva Jiménez, Lucía Quintana, Nuria Illera, Marta García, Su M. Lwin, John A. McGrath, María Asunción Vicente, Oscar Yanes, Joaquín Dopazo, Susana Puig, Joan Anton Puig, Raul de Lucas, Marcela del Rio, María José Escámez.

**Grupo U714 Marcela del Río Nechaevsky**, presentado por Carlos León Canseco  
[cleon@ing.uc3m.es](mailto:cleon@ing.uc3m.es)

**Introducción:** La epidermolisis bullosa distrófica recesiva (EBDR) es una genodermatosis de baja prevalencia causada por mutaciones en COL7A1 que cursa con fragilidad mucocutánea y otras complicaciones que merman la calidad de vida y aumentan la morbimortalidad. Se han descrito genes modificadores y factores epigénéticos, asociados a inflamación, que contribuyen a la severidad clínica y repercutirían en el diseño de terapias efectivas.

**Objetivos:** Profundizar, mediante tecnologías ómicas, en las bases moleculares de la EBDR en una cohorte con alta prevalencia de hipolipidemia, que correlaciona con su estado inflamatorio y retraso del crecimiento. Esta cohorte incluye 8 pacientes pediátricos reclutados en Mesensistem-EB (NCT04153630). **Resultados:** El análisis transcriptómico reveló la desregulación de 255 genes (FDR<0.05) en la piel de los pacientes. En cuanto al metabolismo lipídico, se encontró una baja expresión en el gen de la leptina (FDR=0.0065) y otros de su red de interacción, relacionados con los procesos de inflamación. El análisis lipidómico mostró la disminución de 162 lípidos circulantes (FDR<0.05) en el suero de los pacientes. Entre las clases de lípidos más representadas se encuentran las carnitinas, ácidos grasos, esteroides, fosfatidilcolinas y fosfatidiletanolaminas, sugiriendo una desregulación lipídica en EBDR asociada al proceso de inflamación sistémica. **Conclusiones:** Este estudio identifica, por primera vez, los perfiles transcriptómicos cutáneos y metabolómicos sistémicos en pacientes con EBDR y dilucida los eventos moleculares subyacentes a la hipolipidemia clínicamente observada. Estos resultados contribuyen a la comprensión de las bases moleculares de la enfermedad y sugieren una relación entre la inflamación crónica y el metabolismo de lípidos.

## P05 Descubrimiento de potenciales interacciones mecánicas y funcionales entre enfermedades raras y COVID-19.

**Autores:** María Peña-Chilet, Macarena López-Sánchez, Carlos Loucera, Joaquín Dopazo.

**Grupo U715 Joaquín Dopazo Blazquez**, presentado por María Peña-Chilet  
[mariapch84@gmail.com](mailto:mariapch84@gmail.com)

Estudios recientes han demostrado el papel que la genética del individuo juega en el desarrollo y progresión de la COVID-19, compartiendo mecanismos de acción con otras enfermedades y pudiendo presentar interacciones con el proceso de infección viral o con las complicaciones asociadas. El estudio de estas interacciones es relevante en enfermedades raras (ER), ya que se conocen más de 7000 y la mayoría de ellas presenta un componente genético. Además, muchas de estas enfermedades conllevan tratamientos crónicos y una serie de consideraciones que se deben tener en cuenta a la hora de manejar a los pacientes de COVID-19 afectados por una ER. En este trabajo hemos usado un modelo mecánico matemático de COVID-19, para buscar in silico, de manera masiva, posibles interacciones entre ER y COVID-19. De los 2518 genes asociados a ER analizados, causantes de 3854 ER, detectamos 471 genes con impacto relevante en el modelo de COVID-19, viéndose interacción mecánica con más de 300 ER, identificando además, mediante un análisis sistemático mecánico y funcional, los principales hallmarks del COVID-19 potencialmente afectados. Este estudio demuestra la utilidad de la metodología propuesta para el análisis futuro de interacciones, de cara a establecer medidas preventivas en ER.



**P06 - Differences in cell shape and protein distribution between variants associated with TRAF7 syndrome or tumors and the TRAF7 wild-type form.**

**Autores:** Aina Prat-Planas, Laura Castilla-Vallmanya, Mónica Centeno-Pla, Daniel Grinberg, Raquel Rabionet, Roser Urreizti, Susanna Balcells.

**Grupo U720 Susanna Balcells Comas**, presentado por Aina Prat Planas  
[aina.prat98@gmail.com](mailto:aina.prat98@gmail.com)

**Introducción:** TRAF7 syndrome is an ultra-rare neurodevelopmental disorder characterized by intellectual disability, motor delay, cardiac alterations and dysmorphic features. It is caused by germline mutations in TRAF7, which codes for an E3 ubiquitin ligase acting in different signaling pathways. Somatic mutations in this same gene have been associated with tumorigenic processes. **Objetivos:** Our aim was to explore the effects of germline and somatic missense variants on TRAF7 subcellular localization and colocalization with its partner MEKK3. We selected five TRAF7 variants (one benign (p.H478Y), 2 tumorigenic (p.L519P, p.N520S), 2 syndromic (p.L519F, p.R655Q)) and introduced them in a TRAF7 expressing vector by site-directed mutagenesis. We then transfected these constructs into HeLa cells and performed immunocytochemistry to study their effects on TRAF7 subcellular localization and interaction with MEKK3. **Results:** Wild-type TRAF7 was found throughout the cytoplasm in aggregate-like structures. Upon transfection with TRAF7 pathogenic mutants, aggregate size was larger and cell shape was modified. TRAF7 syndromic mutations presented an aberrant behavior, with 86-95% of transfected cells being rounded (compared to 27-37% in WT/benign conditions). Additionally, tumorigenic and syndromic mutations showed higher levels of large protein aggregates in comparison to WT/benign conditions. Finally, TRAF7 and MEKK3 presented a high degree of colocalization, and no differences were noted between TRAF7 variants. **Conclusiones:** The pathogenic mutations caused drastical cell shape and TRAF7 subcellular localization modifications after their transfection. These modifications could be used as biomarkers to test the pathogenicity of newly identified variants in patients with an unclear neurodevelopmental presentation.

**P07 Efectos en la estabilidad de la F1F0-ATP sintasa en híbridos transmitocondriales con mutaciones en el gen MT-ATP8.**

**Autores:** Pablo Serrano-Lorenzo, Rocío Garrido-Moraga, Alberto Blázquez, Adrián González-Quintana Inés García-Consuegra, M. Esther Gallardo, Miguel A. Fernández-Moreno, Montserrat Morales-Conejo, María Moran, Cristina Ugalde, Joaquín Arenas, Miguel A. Martín.

**Grupo U723 Miguel Ángel Martín Casanueva**, presentado por Pablo Serrano Lorenzo  
[pserranolorenzo.imas12@h12o.es](mailto:pserranolorenzo.imas12@h12o.es)

**Introducción:** Los déficits de complejo V (CV) o F1F0-ATP sintasa son una causa poco frecuente dentro de las enfermedades mitocondriales OXPHOS. El monómero del CV está formado a partir de 17 subunidades, dos de ellas, la subunidad "a" (codificada por MT-ATP6) y la "A6L" (MT-ATP8), están codificadas por el ADN mitocondrial (mtDNA). Se han descrito escasos pacientes con mutaciones en el gen MT-ATP8, por lo que la caracterización de variantes patogénicas en MT-ATP8 a nivel celular puede ayudar a entender mejor la disfunción mitocondrial originada por estos trastornos. **Objetivos:** Caracterizar los efectos moleculares y celulares provocados por una variante nonsense y una variante missense en el gen MT-ATP8 asociadas con síndrome de NARP (neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa) y con MELAS (Encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a ictus)-like, respectivamente. **Métodos:** Establecimiento de modelos celulares de híbridos transmitocondriales con mutaciones en el gen MT-ATP8, y estudio de los efectos sobre la función, estructura, ensamblaje y oligomerización del CV mediante espectrofotometría, respirometría y electroforesis nativa. **Resultados:** Se observó una disminución de la actividad ATPasa del CV, una estabilidad comprometida del monómero de CV provocada por una desestabilización de los componentes del tallo periférico del CV, y una disminución de la capacidad de formación de dímeros y otros oligómeros del CV. **Conclusiones:** La subunidad A6L del CV es capaz de estabilizar el tallo periférico en el monómero de CV y está involucrada en la formación o estabilización de las formas oligoméricas de este complejo OXPHOS.

## P08 **Dunnigan-type familial partial lipodystrophy: a case report.**

**Autores:** Carmela Manrique Mutiozábal, Ana Rosa Molina Salas, Amada Guimon Bardesi, Maria Luisa Antuñano Lopez, Estela Benito Martínez, Laura Saso Jimenez, Rosa Martínez Salazar, Sonia Gatzambide Saenz.

**Grupo U725A Luis Castaño González**, presentado por Maria Sonia Gatzambide Saenz  
[MARIASONIA.GAZTAMBIDESAENZ@osakidetza.eus](mailto:MARIASONIA.GAZTAMBIDESAENZ@osakidetza.eus)

**Background:** Dunnigan-type familial partial lipodystrophy (FPLD type 2 or Dunnigan syndrome), is a recognised autosomal dominant disorder which is caused by heterozygous missense mutations in the lamin A/C gene (LMNA). Dunnigan lipodystrophy is an extremely rare condition characterised by a variable loss of fat from the trunk and limbs, and therefore, an excess of subcutaneous fat in the face, neck, supraclavicular area and also visceral (abdominal) fat. The associated metabolic abnormalities include: hypoleptinemia, marked insulin resistance, diabetes mellitus, dyslipidemia and hepatic steatosis. Case presentation: A 30-year-old caucasian woman with personal history of hypertriglyceridemia was hospitalised because of severe acute pancreatitis. A physical examination showed a loss of fat from the legs and buttocks accompanied by an excess of subcutaneous fat in the neck and supraclavicular area. Triglyceride levels were persistently high (1,059 mg/dl) and the abdominal ultrasound demonstrated hepatic steatosis. Dunnigan syndrome was suspected and whole exome sequencing was performed. The genetic study revealed the presence of a heterozygous pathogenic variant in the exon 8 of LMNA gene: c.1444C>T, p.(Arg482Trp). This variant has been described previously associated to Dunnigan lipodystrophy, which confirms the clinical diagnosis. **Conclusion:** Due to its extremely low prevalence, the knowledge of the typical signs in the physical examination, as well as the metabolic abnormalities and the genetic study are important to reach the diagnosis. Although there is currently no etiological treatment, it is necessary treat metabolic comorbidities to avoid short- and long-term complications.

## P09 **Caracterización molecular de los nevus melanocíticos congénitos grandes y gigantes y de los melanomas asociados a estos nevus.**

**Autores:** Teresa Torres, Gemma Tell-Martí, Neus Calbet-Llopert, Judit Mateu, Vanessa Martins da Silva, Asunción Vicente, Anna Esteve-Codina, Genís Parra, Raúl Tonda, Susana Puig, Josep Malvehy, Joan Anton Puig-Butillé y Cristina Carrera.

**Grupo U726 Susana Puig Sardà**, presentado por Teresa Torres Moral  
[teresa.torres@ciberer.es](mailto:teresa.torres@ciberer.es)

Los nevus melanocíticos congénitos grandes y gigantes (NMCG) son neoplasias benignas asociadas a un mayor riesgo a desarrollar melanosis neurocutánea y melanoma. Su prevalencia es de 1/20.000 y 1/500.000 nacimientos. Un 60-70% de los pacientes presentan mutaciones somáticas en NRAS y un 6-7% en BRAF, pero se desconocen las alteraciones causales en un 25% de los casos. Nuestro objetivo fue caracterizar a nivel molecular las neoplasias melanocíticas (NCMGs y melanomas) de estos pacientes. Se incluyeron 30 pacientes (7 con melanoma) y se obtuvieron 45 biopsias (37 de los 30 NMCGs y 8 melanomas). Éstas se analizaron mediante secuenciación completa del exoma y 19 de los NMCGs mediante secuenciación del ARN. Un 70% de los pacientes presentaron mutaciones en NRAS o BRAF, y un 20% en otros genes (LFNG, TMEM2, ROS1, FGFR2 y MAP4K3) o transcritos de fusión (ZEB2-ALK y SOX5-RAF1). El 10% restante no presentó ninguna alteración candidata. En 6 de los 8 melanomas se detectó la misma mutación causal que en el NCMG y todos presentaron alteraciones adicionales en genes en los que se han descrito eventos oncogénicos secundarios en melanomas convencionales. Sorprendentemente, sólo un melanoma presentó una pérdida de función de CDKN2A, descrita en un 50% de los melanomas. Estos resultados indican que los NMCGs pueden originarse a partir de eventos moleculares distintos a la aparición de mutaciones puntuales en NRAS o BRAF y que hay una coincidencia parcial en las vías de progresión de los melanomas de pacientes con NCMG y los melanomas convencionales.

**P10 Insights into the Pathophysiology of DFNA44 Hearing Loss Associated with CCDC50 Variants.**

**Autores:** Matías Morín, María Lachgar-Ruiz, Elisa Martelletti, Neil J Ingham, Lorenzo Preite, Luciana Santos Serrão de Castro, Karen P Steel, Miguel Ángel Moreno-Pelayo.

**Grupo U728 Miguel Ángel Moreno Pelayo**, presentado por Matías Morín  
[matmorinro@yahoo.es](mailto:matmorinro@yahoo.es)

We previously reported that the c.866\_873dup mutation in CCDC50 cause DFNA44 progressive non-syndromic hearing loss, producing the Ymer mutant protein (p.(Phe292Hisfs37)) that is aberrantly accumulated in the perinuclear area of NIH 3T3 transfected cells. Here we have expanded the mutation spectrum of DFNA44 in Spain by identifying a novel mutation in CCDC50 with our custom OTO-NGS-V1 gene panel. To explore the pathological mechanism associated with CCDC50 mutations an additional set of 6 artificial Ymer mutants sharing different parts of the protein tail were created and the cellular distribution evaluated in transfected NIH 3T3 cells. Moreover, to study the role of CCDC50 in the inner ear we have generated a Ccdc50tm1b mouse mutant and performed Auditory Brainstem Response (ABR) recordings in the animals. The novel frameshift mutation (c.828\_858del; p.(Asp276Glufs40)) produces an aberrant protein, 39 amino acids longer than the wildtype. Pairwise alignment revealed that p.(Asp276Glufs40) protein tail was identical to that generated by p.(Phe292Hisfs37) and led to a similar altered distribution pattern in NIH3T3, suggesting that the effect of the mutation might be mediated through the aberrant protein tail. Interestingly, in vitro cellular studies revealed that only the mutants containing the six amino acid sequence CLENGL as part of their aberrant protein tail showed perinuclear aggregates of Ymer. Moreover, Ccdc50tm1b homozygous and heterozygous mutant mice showed normal ABR thresholds up to 6 months old, suggesting the hearing loss is not due to a loss of function effect, but it result from a dominant-negative/gain of function mechanism mediated by the CLENGL motif.

**P11 LAT transporters and disease, from function to structure and back.**

**Autores:** Adrià Nicolàs, Niels Ziejlstra, Thorben Cordes, Manuel Palacín, Joana Fort.

**Grupo U731 Manuel Palacín**, presentado por Joana Fort  
[joana.fort@irbbarcelona.org](mailto:joana.fort@irbbarcelona.org)

L-Amino acid Transporters (LATs) play key roles in human physiology and are involved in several human pathologies such as primary inherited aminoacidurias (Cystinuria and Lysinuric Protein Intolerance or LPI) (Torrents et al. 1999; L Feliubadaló et al. 1999), autism spectrum disease (Tărlungeanu et al. 2016) and age-related hearing loss (Guarch et al. 2018), among others. LAT transporters are obligatory exchangers of amino acids, which implies that they have to adopt different conformational states to bind the amino acid to the intracellular side, close the inner gate, open the extracellular gate and release the substrate, and come back by the inverse process, taking a new substrate from the extracellular media. In 2019 we described the atomic structure of BasC complexed with a nanobody by crystallography (Errasti-Murugarren, Fort, Bartoccioni et al.). Comparing the structure with other available models we hypothesized, with respect to the inner gate movement, that: i) the transmembrane 1a (TM1a) was the TM with higher movement and ii) the Lys K154 in TM5 would be necessary in this process. Recently we developed intramolecular single molecule FRET experiments to follow the closing movement of TM1a. With this aim, we labelled the protein in TM1a and a fixed position in TM4 with two FRET compatible fluorophores in single BasC molecules and measured FRET energy of the protein solubilized in detergent when different conditions were applied. A movement to a higher FRET energy is seen when substrate is added, suggesting a tilting of TM1a and a closing of the inner gate. Moreover, the same labelling with mutation K154A is not capable of moving to higher FRET population with the addition of substrate, demonstrating that this Lys is necessary for closing of TM1a, as we had hypothesized. Interestingly, a missense mutation of a Lys to Glu in an equivalent position to K154 but in human  $\gamma$ -LAT1 is the cause of Lysinuric Protein Intolerance (LPI) in patients.



## P12 Mitochondria-lysosome contacts in Charcot-Marie-Tooth neuropathy.

**Autores:** Lara Cantarero, Jordi Pijuan, Daniel Natera-de Benito, Gisela García-Vargas, Andrés Nascimento, Janet Hoenicka, Francesc Palau.

**Grupo U732 Francesc Palau Martínez**, presentado por Lara Cantarero Abad  
[lara.cantarero@sjd.es](mailto:lara.cantarero@sjd.es)

**Introduction:** GDAP1 mutations cause Charcot-Marie-Tooth (CMT), the most common hereditary motor and sensory neuropathy. CMT-GDAP1 can be axonal or demyelinating, with both autosomal dominant or recessive inheritance, leading to a high phenotypic heterogeneity. Autosomal recessive mutations are associated with severe disease while dominant mutations used to be associated with a milder course. However, much remains to be understood regarding the differences in the underlying pathophysiological mechanisms of recessive and dominant mutations. Recently, we identified a structural function of GDAP1 in mitochondria-lysosome contacts, through interaction with LAMP-1. **Objectives:** Study how dominant or recessive mutations in GDAP1 affect mitochondria-lysosome contacts. **Results:** The dominant mutation, associated to GDAP1 gain of function, causes an increase in mitochondria-lysosome contacts while the loss of function recessive mutations produce a significant decrease in these contacts. These effects correlate with morphological alterations in mitochondrial network and lysosomes, which are regulated by these membrane contact sites. In addition, by delving into the biology of these contacts we have found that MFN2, another protein involved in CMT, interacts with LAMP-1 and participates in mitochondria-lysosome contacts. MFN2 also interacts with GDAP1, both playing a key role in mitochondrial dynamics. **Conclusions:** We postulate that mitochondria-lysosome axis dysfunction is primary insult in CMT pathophysiology, highlighting new targets in axonopathies where mitochondria and lysosomes are involved.

## P14 ROS dysregulation and oxidative stress: common pathologic mechanisms in Marfan and Williams-Beuren syndrome phenotypes.

**Autores:** Isaac Rodríguez-Rovira, Noura Abdalla, Karo De Rycke, Cristina Arce, Francesc Jiménez-Altayó, Victoria Campuzano and Gustavo Egea.

**Grupo U735 Luis Pérez Jurado**, presentado por Victoria Campuzano Uceda  
[vcampuzanou@ub.edu](mailto:vcampuzanou@ub.edu)

Elastic fibers are an abundant extracellular matrix component in dynamic connective tissues such as arteries. Mutations in some of the main structural components of these fibers, especially elastin (ELN) and fibrillin-1 (FBN1), cause severe connective tissue diseases, such as Marfan (MFS) and Williams-Beuren syndrome (WBS). MFS is a syndromic disease caused by heterozygous mutations in FBN1. Most common histological manifestations in MFS are found in the aortic tunica media leading to thoracic aortic aneurysm and premature death by aortic rupture. WBS is a developmental disease caused by heterozygous deletion of 26-28 contiguous genes on chromosome 7q11.23, including ELN. Mortality in WBS patients is mostly due to arteriopathy. Histological analysis of arterial wall shows that WBS and MFS share a disorganization and fragmentation of elastic lamellar structures, and abnormal smooth muscle cell phenotype. Both diseases have a common ground in signaling pathways that could help to define joint molecular targets and therapies. Increasing evidences support an intimate relationship between oxidative stress, vascular dysfunction and cardiovascular (CVD) risk. Our experimental results support the idea that MFS and WBS present common alterations in mechanisms involving ROS dysregulation. Our studies with antioxidants have demonstrated their potential use improving vascular function in mouse models of both diseases. Hence, it is plausible that using some of these antioxidants vascular function is improved both in MFS and WBS. In this presentation, we demonstrate that the administration of allopurinol, an specific inhibitor of XOR, blocked the progression of aortic root aneurysm in MFS mice and improve cardiovascular disease in WBS.

**P15 Leigh syndrome is the main clinical characteristic of PTC3 deficiency.**

**Autores:** Gerard Muñoz-Pujol, Juan D. Ortigoza-Escobar, Abraham J. Paredes-Fuentes, Olatz Ugarteburu, Laura Gort, Delia Yubero, Angels García-Cazorla, Mar O'Callaghan, Jaume Campistol, Jordi Muchart, Vicente A. Yépez, Julien Gagner, Mirjana Gusic, Holger Prokisch, Rafael Artuch, Antonia Ribes, Roser Urreizti, Frederic Tort.

**Grupo U737 Antonia Ribes**, presentado por Gerard Muñoz-Pujol  
[gemunoz@clinic.cat](mailto:gemunoz@clinic.cat)

**Introduction:** Mitochondrial translation defects are a large group of disorders showing a wide variety of clinical symptoms and neurological abnormalities. To date, mutations in PTC3, encoding a component of the mitochondrial ribosome, has only been reported in a single individual with clinical evidence of Leigh syndrome. Here we provide the second description of PTC3 deficiency by reporting three additional patients from two unrelated families. **Objectives:** To characterize the phenotypic spectrum and mitochondrial dysfunction caused by PTC3 deficiency. **Results:** The patients presented in the first months of life with psychomotor delay, respiratory insufficiency, feeding difficulties, dystonia, optic atrophy, nystagmus and tonic-clonic seizures. Brain MRI was consistent with Leigh syndrome. WES and RNA-seq identified compound heterozygous variants in PTC3 in both families: c.[1453-1G>C];[1918C>G] and c.[710del];[902C>T]. RT-PCR analysis in patients' fibroblasts and functional studies based on transient transfection of minigene vectors in HAP1 cells demonstrated that these variants were pathogenic by altering PTC3 mRNA processing. PTC3 protein levels were strongly decreased in patients' fibroblasts. On the other hand, a reduction in the steady state levels of complexes I and IV subunits were detected, and were consistent with a mitochondrial translation defect. Accordingly, the activity of these complexes was also low, and high resolution respirometry showed a significant decrease in the maximal mitochondrial respiratory capacity. **Conclusions:** We provide evidence of PTC3 involvement in human disease and confirm that PTC3 deficiency is definitively associated to Leigh syndrome. We strongly recommend the analysis of this gene in the diagnostic workflow of patients with Leigh syndrome.

**P17 Characterization and clinical association of autoantibodies against Perilipin 1 in patients with acquired generalized lipodystrophy.**

**Autores:** Fernando Corvillo, Brent S. Abel, Alberto López-Lera, Giovanni Ceccarini, Silvia Magno, Ferruccio Santini, David Araújo-Vilar, Rebecca J. Brown, Pilar Nozal, Margarita López-Trascasa.

**Grupo U754 María Teresa Caballero Molina**, presentado por Fernando Corvillo Rodríguez  
[fernando.corvillo@ciberer.es](mailto:fernando.corvillo@ciberer.es)

**Introduction:** Acquired generalized lipodystrophy (AGL) is a rare condition characterized by massive loss of adipose tissue through the body, causing severe metabolic complications. Autoimmune destruction of adipocytes is strongly suspected based on the frequent association of AGL with autoimmune disorders. In 2018 autoantibodies against Perilipin 1 (PLIN1) were identified in three patients with autoimmune-associated AGL. However, the pathogenic mechanism and clinical impact of anti-PLIN1 remain unsolved. **Objective:** To characterize anti-PLIN1 autoantibodies and assess the its clinical association of autoantibodies against PLIN1 in patients with AGL. **Results:** The prevalence of anti-PLIN1 autoantibodies in an AGL cohort of 40 patients was 50% (20/40). Among positive patients, ten had the autoimmune variety and ten had panniculitis-associated AGL. The IgG isotype was predominant although some IgM antibodies were detected. Epitope mapping studies did not identify a single, major epitope. Instead, autoantibodies typically bound to several different peptides, among which the central (233-405) domain was detected in all antibody positive patients, both for IgG and IgM autoantibodies. In-depth epitope mapping indicated that anti-PLIN1 autoantibodies predominantly recognize the ABHD5 binding site (383-405). Autoantibodies dose-dependently blocked binding of PLIN1 to ABHD5 and anti-PLIN1 titers significantly correlated with greater fat loss, impaired metabolic control, and severe liver injury. **Conclusions:** Our data strongly support that anti-PLIN1 autoantibodies are a diagnostic biomarker and a cause of lipodystrophy in patients with AGL.

## **P18** Telomere-related and non-related alterations produced by TERT and TERC variants identified in patients affected by telomeropathies.

**Autores:** Beatriz Fernández-Varas, Carlos Benítez-Buelga, Rosa Guerrero-López, Cristina Manguán-García, Paula Guillén-Morales, Rosario Perona and Leandro Sastre.

**Grupo U757 Rosario Perona Abellón**, presentado por Beatriz Fernández Varas  
[bfvaras@iib.uam.es](mailto:bfvaras@iib.uam.es)

Telomeropathies are rare genetic diseases caused by mutations in genes related to telomere maintenance. In the Telomeropathies Unit of the Instituto de Investigaciones Biomedicas, we have characterized at the molecular level mutations found in patients with dyskeratosis congenita, aplastic anemia or idiopathic pulmonary fibrosis. These mutations are in two genes that code for essential components of the telomerase complex: telomerase reverse transcriptase (TERT) and telomerase RNA (TR/TERC gene). 14 TERT mutations (5 unreported) and 5 TERC mutations (1 unreported) were generated by site directed mutagenesis in the pBABE-TERT/TERC vector. We transiently transfected these mutations in the telomerase-negative human cell line VA-13 and measured the telomerase activity using the TRAP assay. Additionally, we evaluated the impact of these mutations on oxidative stress control and DNA damage response (DDR), using different techniques such as RT-qPCR, oxidative-qPCR, WB, IF and IF-FISH. We found that most of the TERT and TERC mutations led to a reduction in telomerase activity. Some of them were also associated with oxidative stress and DDR activation. Interestingly, we observed that mutations in the TEN-GQ domain of TERT presented high cytosolic ROS levels, that correlated with accumulation of 8oxoG-like lesions, reduction of TRF2 binding and activation of double-strand breaks DDR, all at telomeres. These results suggest that mutations in TERT and TERC tested are deleterious and probably contribute to the etiopathogenesis of these telomeropathies patients, not only by a direct effect decreasing telomerase function, but also by an indirect effect related to oxidate stress and DNA damage.

## **P19** Organoides de hígado con Déficit de Alfa-1 Antitripsina explican la esteatosis hepática de los pacientes mediante alteración en el transporte lipídico.

**Autores:** Sara Perez-Luz, Jaanam Lalchandani, Nerea Matamala, Iago Justo, Alberto Marcacuzco, Cristina Garfia, Loreto Hierro Llanillo, Gema Gomez-Mariano, Beatriz Martinez-Delgado.

**Grupo U758 Francisco Javier Alonso García de la Rosa**, presentado por Beatriz Martinez Delgado  
[bmartinezd@isciii.es](mailto:bmartinezd@isciii.es)

La deficiencia de alfa-1 antitripsina (DAAT) es un trastorno genético debido a mutaciones en el gen SERPINA1 que produce principalmente afectación pulmonar y/o hepática. Más del 90% de los pacientes con deficiencia grave son homocigotos para la mutación PiZ (Glu342Lys), que se acumula en los hepatocitos en forma de polímeros de AAT-Z dando como resultado niveles plasmáticos del 10% al 15% respecto a niveles normales, y por otro lado producen daño hepático con manifestaciones como esteatosis, fibrosis, que pueden derivar en alteraciones graves como cirrosis o hepatocarcinomas. Hemos utilizado organoides hepáticos derivados de pacientes homocigotos para la mutación Z y células HepG2 que sobreexpresan Z-AAT para verificar la relación entre la acumulación de polímeros AAT-Z y el aumento de lípidos detectados mediante tinción Oil Red O. Además, realizamos un análisis lipídómico para determinar las especies lipídicas acumuladas en nuestro modelo, así como un estudio transcriptómico para identificar genes expresados diferencialmente. Nuestros resultados muestran cómo la acumulación de proteína Z-AAT desencadena un aumento en el contenido de lípidos en los hepatocitos e identifican específicamente tres especies lipídicas que presentaron un incremento más notable. Además, el análisis transcriptómico reveló genes relacionados de alguna manera con el metabolismo y transporte de los lípidos. En conclusión, los polímeros de AAT causan la acumulación de lípidos intracelulares principalmente debido a la alteración de la expresión de genes asociados con el transporte de lípidos y que son reflejo de la esteatosis que presentan los pacientes con DAAT con afectación hepática.

## P20 Respuesta diferencial frente a ototóxicos en células de neuroblastoma de ratón deficientes en IGF-1

**Autores:** Lourdes Rodríguez-de la Rosa e Isabel Varela-Nieto.

**Grupo U761 Isabel Varela Nieto**, presentado por Lourdes Rodríguez de la Rosa  
 lrodriguez@iib.uam.es

La deficiencia humana del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) causa una enfermedad sindrómica rara (ORPHA73272) caracterizada por sordera neurosensorial y trastornos neurológicos [1,2]. El ratón deficiente en *Igf1* reproduce este fenotipo neurológico con alteraciones en la diferenciación neuronal y mayor apoptosis de las neuronas auditivas [3,4]. El IGF-1 es una hormona pleotrópica asociada a la disminución de la neuroinflamación [5] y al aumento de la senescencia celular mediante mecanismos moleculares poco conocidos [6]. Para estudiar la pérdida neuronal asociada a la deficiencia se generó un modelo de la enfermedad en la línea celular N2a de neuroblastoma murino mediante edición génica. El complejo crRNA:tracrRNA:Cas9 se transfectó como ribonucleoproteína y los clones se aislaron por dilución límite. La edición del gen *Igf1* se confirmó mediante secuenciación Sanger y de nueva generación. Los clones deficientes en *Igf1* seleccionados, 4A10 y 2G3, expresaron diferencialmente los factores del sistema IGF, mostraron alteraciones en la senescencia inducida por bleomicina y una mayor resistencia al tratamiento con cisplatino. La deficiencia crónica de IGF-1 altera la respuesta frente a fármacos ototóxicos como el cisplatino y la bleomicina en células de neuroblastoma. Estos clones constituyen una nueva herramienta para el estudio de los mecanismos moleculares de daño neuronal asociados a la deficiencia crónica de IGF-1.

[1] N Engl J Med., 335(18):1363-7 (1996).

[2] Front Aging Neurosci., 9: 411 (2017).

[3] J. Neurosci., 21(19): 7630-7641 (2001).

[4] Eur J. Neurosci., 23(2): 587-590 (2006).

[5] Cells, 10(7):1686 (2021).

[6] Cells, 9(6):1384 (2020).

Agradecimientos: Proyecto PID2020-115274RB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y ACCI/ISCIII; ER19P5AC761.

## P21 Two SERPINC1 variants affecting N-glycosylation of Asn224 cause severe thrombophilia not detected by functional assays.

**Autores:** Maria Eugenia de la Morena-Barrio, Pierre Suchon, Eva Marie Jacobsen, Nina Iversen, Antonia Miñano, Belén de la Morena-Barrio, Carlos Bravo-Pérez, Jose Padilla, Rosa Cifuentes, Susana Asenjo, Jean François Deleuze, David Alexandre Trégouët, Maria Luisa Lozano, Vicente Vicente, Per Morten Sandset, Pierre Emmanuel Morange, Javier Corral.

**Grupo U765 Javier Corral de la Calle**, presentado por María Eugenia de la Morena Barrio  
 uge2985@hotmail.com

Antithrombin deficiency, the most severe congenital thrombophilia, might be underestimated, as some pathogenic variants are not detected by routine functional methods. We have identified two new SERPINC1 variants, p.Glu227Lys and p.Asn224His, in four unrelated thrombophilic patients with early and recurrent thrombosis that had normal antithrombin activity. In one case, the mutation was identified by whole genome sequencing, while in the 3 remaining cases, the mutation was identified by sequencing SERPINC1 based on a single functional positive finding supporting deficiency. The two variants shared a common functional defect, an impaired or null N-glycosylation of Asn224 according to a eukaryotic expression model. Carriers had normal anti-FXa or anti-FIIa activities, but impaired anti-FVIIa activity and a detectable loss of inhibitory function when incubating the plasma 1 hour at 41°C. Moreover, the beta glycoform of the variants, lacking two N-glycans, had reduced secretion, increased heparin affinity, no inhibitory activity, and a potential dominant negative effect. These results explain the increased thrombin generation observed in carriers. Mutation experiments reflected the role that Lysine residues close to the N-glycosylation sequon have in impairing the efficacy of N-glycosylation. Our study shows new elements involved in the regulation of N-glycosylation, a key post-translational modification that, according to our results affects folding, secretion and function, providing new evidence of the pathogenic consequence of an incorrect N-glycosylation of antithrombin. This study supports that antithrombin deficiency is underestimated and encourages the development of new functional and genetic tests to diagnose this severe thrombophilia.

## P22 **Disección vía PI3K-Akt-S6 por citometría de flujo para screening/monitorización Errores Congénitos de la Inmunidad con ganancias de función.**

**Autores:** Lucía del Pino Molina, Yadira Bravo, Juan Torres Canizales, María Coronel, Yolanda Soto Serrano, Carla Gianelli, María Bravo, Rebeca Rodríguez Pena y Eduardo López Granados.

**Grupo U767 Eduardo López Granados**, presentado por Lucía del Pino Molina  
[ldelpinomolina@gmail.com](mailto:ldelpinomolina@gmail.com)

**Introducción:** Las enfermedades monogénicas del sistema inmune, llamados Errores Congénitos de la Inmunidad (ECI) son un conjunto de más de 450 enfermedades que afectan a algún componente del sistema inmunológico, como pueden ser los linfocitos B y T del sistema inmune adaptativo. **Objetivo:** El objetivo es el desarrollo y/o implementación de técnicas que permitan la disección de vías de señalización intracelulares de los linfocitos, como por ejemplo las proteínas intermedias Akt y S6 de la vía de señalización PI3K-Akt-S6, cuya activación en respuesta a la señalización de los receptores de los linfocitos está mediada por fosforilación, como métodos de screening para detectar alteraciones que pudieran tener un impacto en la supervivencia y activación de los linfocitos. **Resultados:** Inicialmente observamos que los linfocitos B naive de los pacientes con IDCV presentaban defectos en la inducción de la fosforilación de Akt y S6 tras la estimulación del receptor de los linfocitos B. Además, la puesta a punto de esta técnica nos llevó a explorar en otras ECI por ganancia de función en PIK3CD o PIK3R1 (APDS). **Conclusiones:** El ensayo de citometría de flujo intracelular para evaluar los niveles de fosforilación de Akt y S6 sirven de herramienta de apoyo para el diagnóstico de pacientes con ganancias de función en PI3Kd mediante la caracterización funcional, así como la evaluación del seguimiento de pacientes con APDS tratados con fármacos inhibidores de la vía como la rapamicina.

## P23 **Abordaje integral de la caracterización funcional de los Errores Congénitos de la Inmunidad.**

**Autores:** Lucía del Pino Molina, Yadira Bravo, Yolanda Soto Serrano, María Bravo, Carmen Cámara, Juan Torres Canizales, María Coronel, Carla Gianelli, Rebeca Rodríguez Pena y Eduardo López Granados.

**Grupo U767 Eduardo López Granados**, presentado por Eduardo López Granados  
[elgranados@salud.madrid.org](mailto:elgranados@salud.madrid.org)

**Introducción:** Los Errores Congénitos de la Inmunidad (ECI) son un conjunto creciente de más de 450 enfermedades que se manifiestan fundamentalmente como susceptibilidad a infecciones, complicaciones autoinmunes e inflamatorias y en ocasiones riesgo de malignidad. La secuenciación masiva ha desentrañado una base monogénica para muchos tipos, pero persisten numerosas entidades sin una base (epi) genética, y la etiopatogenia precisa, heterogeneidad clínica y manejo individualizado de las complicaciones persisten como los principales retos. **Objetivos:** Incluir el análisis de la metilación del ADN y la citometría de flujo multiparamétrica como herramientas complementarias de soporte a la secuenciación masiva en la comprensión de los mecanismos etiopatogénicos de los ECI más prevalentes, las deficiencias primarias de la respuesta de anticuerpos (PADs). **Resultados:** Hemos aplicado el estudio de la metilación de genes relevantes para la diferenciación tardía del linfocito B, desarrollado modelos de activación de sus principales vías intracelulares de activación y la simulación del proceso de maduración y cambio de isotipo de inmunoglobulina en el centro germinal in vitro al estudio y validación funcional de variantes de secuencia en casos esporádicos de PADs. **Conclusiones:** El diagnóstico y plena comprensión de la fisiopatogenia de los ECI requiere de manera creciente la integración de abordajes genéticos, epigenéticos y de inmunología celular y molecular.



## Nuevos diagnósticos

### P24 Estudio piloto para la implementación de la secuenciación del genoma completo (WGS) en la rutina diagnóstica.

**Autores:** Víctor J. Asensio, Teresa Carrión Mera, Angeles Ruiz, Elena Miravet, Montserrat Pons, Miguel Carmona, Juan Lastra, Begoña de Azua Brea, Tomas Ripoll, Elena Fortuny, Jaume Pons, Susana Avellá, Laura Torres-Juan, Fernando Santos Simarro, Iciar Martínez-Lopez, Damia Heine-Suñer.

**Grupo GCV03 Jordi Rosell Andreu**, presentado por Víctor Asensio  
[victor.asensio@ssib.es](mailto:victor.asensio@ssib.es)

La incorporación de nuevas técnicas moleculares, de imagen e informáticas están cambiando la forma de diagnosticar, prevenir y tratar a nuestra población. En este sentido, el estudio del genoma es un requisito imprescindible para aplicar e implementar la medicina 5P. El WGS tiene varias ventajas sobre otras pruebas de secuenciación masiva dado que nos proporciona toda la información necesaria para encontrar cualquier anomalía de base genética sin tener que recurrir a pruebas adicionales. Ello supone un ahorro considerable, una mayor eficiencia diagnóstica y evita al paciente pruebas sucesivas ("la odisea diagnóstica"). Hemos realizado un estudio piloto en 24 pacientes previamente analizados por exoma y/o arrays para poder evaluar la utilidad diagnóstica del WGS. Métodos WGS: Illumina TruSeq PCR-free kit, 2x150 en NovaSeq S4 v1.5. Software: Trusight Software Suite y Geneyx Analysis. Hemos detectado lo siguiente: 1) Una segunda mutación no codificante en el gen recesivo candidato en el que previamente habíamos detectado una sola mutación en 2 pacientes (HSD17B3/pseudohermafroditismo masculino y SUCLG1/retraso global desarrollo). 2) Una delección en heterocigosis de 116.5 kb que afecta al gen NOTCH1 en un paciente con fenotipo Marfan. 3) Una expansión patológica del triplete CAG del gen TCF4 en un paciente con afectación ocular. 4) Varias variantes raras en heteroplasmia en el genoma mitocondrial en un paciente con apraxia oculomotora y sin variantes detectadas en estudios previos. 5) Una duplicación de 27 kb en tándem y una variante que afecta al splicing en el gen NMNAT1 en un paciente con atrofia óptica e hipomielinización. **Conclusiones.** El análisis WGS identifica variantes claramente significativas, no detectadas con otras técnicas permitiendo reorientar el diagnóstico clínico. El porcentaje de nuevos hallazgos mediante WGS en pacientes ha sido del 30%. Ello muestra que el WGS en combinación con paquetes informáticos ad hoc, es útil como prueba única diagnóstica de primer nivel.

### P25 Análisis de epimutaciones en pacientes con enfermedades raras no diagnosticadas.

**Autores:** Germán Casabó-Vallés, Feliciano Ramos, Berta Almoguera, Marta Cortón, Carmen Ayuso, Encarna Guillén-Navarro, M. Juliana Ballesta, Vanesa López, Irene Madrigal, Maribel Álvarez, Laia Rodríguez-Revenga, María García-Barcina, Julio Rodríguez, Ángel Carracedo, Miguel Ángel Martín Casanueva, Elena Martín Hernández, Valentina Ortiz, Luis Gutiérrez Solana, Irene Valenzuela, Blanca Gener, José María Millán, Gema García-García, Luis Pérez Jurado, José Luis García-Giménez, Beatriz Morte.

**Grupo U733 Federico Pallardó Calatayud**, presentado por Germán Casabó Vallés  
[german.casabo@epidisease.com](mailto:german.casabo@epidisease.com)

Un porcentaje importante de casos clínicos no resueltos, principalmente de trastornos del desarrollo neurológico y/o anomalías congénitas, (hasta el 12%) pueden estar causados por defectos de metilación del ADN localizados (epimutaciones) o por defectos múltiples (epi-patrones). Las epimutaciones pueden ser primarias o secundarias. Las primarias se deben a errores estocásticos en el establecimiento o mantenimiento del estado epigenético, mientras que las secundarias se deben a cambios en la secuencia genética del ADN. En el presente trabajo se ha analizado mediante herramientas bioinformáticas los resultados de arrays EPIC850K para identificar la presencia de epimutaciones en una cohorte de 45 muestras de pacientes del Programa ENoD y 14 controles internos sanos por edad y género. Para ello, se ha comparado individualmente el metiloma de cada una de las muestras contra una cohorte de más de 700 controles obtenida a partir de repositorios públicos. La mayoría de las muestras analizadas presentaron 2 o menos epimutaciones, mientras que 5 muestras presentaron entre 3 y 10 epimutaciones y 4 muestras presentaron más de 20 epimutaciones. En particular, en un paciente se identificó una epimutación consistente en la hipermetilación del promotor del gen DIP2B. Este hallazgo es de especial interés ya que se ha asociado una expansión del triplete CGG en la región 5' UTR de dicho gen con discapacidad intelectual de tipo FRA12A por lo que esta epimutación podría estar involucrada en la patogénesis del paciente. El estudio de los defectos de metilación debe considerarse una estrategia complementaria de alta relevancia diagnóstica en casos complejos.

## P26 Identification of Blood Biomarkers in Murine Lafora Disease Models.

**Autores:** Mireia Moreno-Estelles, Angela Campos-Rodríguez, Marcos Lahuerta y Pascual Sanz.

**Grupo U742 Pascual Sanz**, presentado por Mireia Moreno Estellés  
mmoreno@jibv.csic.es

Lafora disease (LD) is a rare autosomal recessive progressive myoclonus epilepsy. The disease usually manifests in healthy adolescents, and death commonly occurs within 10 years of symptom onset. Lafora disease is caused by loss-of-function mutations in EPM2A or EPM2B/NHLRC1 genes, which encode the proteins Laforin and Malin, respectively. Identification of blood biomarkers for LD could be helpful for diagnosis and for tailored therapeutic approaches. This work focuses on the identification of serological diagnostic biomarkers in two LD-models, Epm2a<sup>-/-</sup> and Epm2b<sup>-/-</sup> knockout mice. Based on our recent publication on neuroinflammation in LD, we analyzed by ELISA the levels of different cytokines. In addition, we analyzed a panel of 111 cytokines using a Mouse XL Cytokine Array. We analyzed by ELISA CXCL10, S100b, LCN2, CCL5, C3, HMGB1 and CCL20 in the serum of LD animals of 16 months of age. Only the levels of CXCL10 were elevated in both mouse models of LD. In the case of S100b and CCL20 they were increased only in Epm2b<sup>-/-</sup> mice. CXCL10 was also elevated in samples from both LD animals of 12 month of age but not at 7 months of age. The array did not detect any additional protein whose levels were significantly augmented in samples from Epm2b<sup>-/-</sup> mice in comparison to controls. The analysis of the levels of CXCL10 could be used as a biomarker of the progression of the disease in both LD mouse models. These results provide a way to analyze the levels of these biomarkers in samples from human patients

## P27 Primeros pasos del proyecto IMPaCT en la Comunidad Valenciana: Retos en el reclutamiento de pacientes.

**Autores:** Cinta Navarro-Moreno, Gema García-García, Belén García-Bohórquez, Pilar Barberán-Martínez, Alba Berzal-Serrano, José Cervera, Purificación Marín, Elena Aller, Teresa Jaijo, José María Millán-Salvador.

**Grupo U755 José María Millán Salvador**, presentado por Cinta Navarro-Moreno  
cinta.navarro@iislafe.es

**Introducción:** La Comunidad Valenciana, desde el Hospital Universitario y Politécnico de la Fe, se encuentra en pleno proceso de reclutamiento de pacientes para el proyecto IMPACT. **Objetivos:** Seleccionar los pacientes candidatos de la Comunidad Valenciana para el análisis del genoma en el marco del proyecto IMPACT. **Resultados:** Hasta la fecha se han propuesto un total de 63 pacientes desde varias especialidades médicas de diferentes hospitales. Cinco de ellos han sido descartados y la inclusión de otros siete ha sido pausada por estar pendientes de otros estudios o contar con exomas clínicos de menos de 3000 genes. La candidatura de otros 23 pacientes, cuyo exoma se secuenció fuera del servicio genético de la Fe, está pendiente de que las diferentes entidades nos den acceso a los datos necesarios para el reanálisis. Los pacientes que sí cumplen criterios y cuyo exoma está disponible están siendo fenotipados, extrayendo la máxima información posible de la historia clínica y codificándola en términos HPO (Human Phenotype Ontology). De estos 28 pacientes, seis exomas ya se están reevaluando con un nuevo pipeline basado en el filtrado por HPO. En una de estas pacientes, afecta de coartación aórtica y válvula bicúspide, se ha detectado una variante intrónica que podría ser causante de la enfermedad y que anteriormente había pasado desapercibida. Actualmente se está realizando la segregación familiar de la misma. **Conclusiones:** El proyecto tiene una buena acogida entre los clínicos y semanalmente recibimos varias propuestas de candidatos. Es probable que en poco tiempo tengamos la cohorte completa.

## P28 Neurofilament light chain levels in anti-NMDAR encephalitis and primary psychiatric psychosis.

**Autores:** Mar Guasp; Lorena Martín-Aguilar; Lidia Sabater; Miquel Bioque; Thaís Armangué; Eugenia Martínez-Hernández; Jon Landa; Estibaliz Maudes; Roger Borràs; Amaia Muñoz-Lopetegui; Albert Saiz; Josefina Castro-Fornieles; Francesc Graus; Eduard Parellada; Luis Querol; Josep Dalmau.

**Grupo U764 Josep Dalmau Obrador**, presentado por Mar Guasp Verdaguer  
guasp@clinic.cat

**Background:** Differentiating NMDARe from a first episode of psychosis (FEP) caused by a psychiatric disease (pFEP) is challenging, as spinal taps are difficult to obtain in psychiatric facilities. A separate problem is the lack of biomarkers of NMDARe severity and outcome. **Objective:** To assess the performance of neurofilament light chain (NfL) testing by SiMoA in anti-NMDAR encephalitis (NMDARe) and its differential diagnosis with pFEP and herpes simplex encephalitis (HSE). **Results:** 118 patients with NMDARe (33 with isolated psychosis), 45 pFEP,

36 HSE, and 36 HC were studied. NMDARe patients with seizures/status epilepticus, ICU admission, CSF pleocytosis, and without early immunotherapy were more likely to have higher sNfL than NMDARe without these features. NfL levels at diagnosis of NMDARe did not correlate with outcome at 1 year follow-up assessed with the mRS. NMDARe patients had significantly higher NfL than pFEP and HC, and lower than HSE patients. ROC analysis of sNfL levels between NMDARe with isolated psychosis and pFEP provided an AUC of 0.93 (95% CI 0.87-0.99) and a sNfL cutoff =15 pg/mL to distinguish these disorders. 43/45 (96%) pFEP had sNfL<15pg/mL whereas 5/33 (15%) NMDARe with isolated psychosis were below this cutoff. None of the HSE and 35/36 (97%) HC had sNfL<15pg/mL. **Discussion:** NfL measured at diagnosis of NMDARe associated with several features of disease severity but not with long-term outcome. sNfL cutoff =15pg/mL correctly classified 96% of pFEP and 85% of NMDARe with isolated psychosis. Patients with FEP of unclear etiology and sNfL=15pg/mL should undergo CSF NMDAR-antibody testing.

## Nuevas herramientas de investigación

### P29 Modelo predictivo basado en datos de secuenciación para evaluar la predisposición familiar en la Enfermedad de Meniere.

**Autores:** Pablo Roman-Naranjo, Alba Escalera-Balsera, Alvaro Gallego-Martinez, Carmen Ayuso, Joaquin Dopazo, Jose M. Millan, Miguel A Moreno-Pelayo, Jose A Lopez-Escamez.

**Grupo GCV22 José Antonio López Escámez,** presentado por Pablo Román-Naranjo Varela  
[pablo.roman@genyo.es](mailto:pablo.roman@genyo.es)

**Introducción y Objetivos:** La enfermedad de Meniere (EM) es una enfermedad rara del oído interno caracterizada por episodios de vértigo hipoacusia neurosensorial y acúfenos. La mayoría de los pacientes diagnosticados son esporádicos, no obstante, un 8-9% presenta agregación familiar. Esto sugiere la existencia de variantes compartidas y una arquitectura genética diferente en casos familiares y casos esporádicos. El objetivo de este trabajo es desarrollar una herramienta basada en machine learning capaz de clasificar pacientes con EM en familiares y esporádicos, tomando como entrada los datos de un exoma. Métodos: Para este estudio se han utilizado 74 exomas de pacientes con EM familiar no relacionados y 226 exomas de pacientes con EM esporádica. Para identificar los genes distintivos de estas dos cohortes se realizó un análisis de enriquecimiento de variantes missense (MAF<0.1). Los modelos de clasificación se evaluaron mediante una validación cruzada de 10 iteraciones. Una vez seleccionado los modelos candidatos, se desarrolló una herramienta en Python basada en aprendizaje automático supervisado. **Resultados:** Tras comparar nuestros datos con poblaciones de referencia española y europea, la herramienta CLASSIFI\_ER clasificó los pacientes familiares y esporádicos con una alta sensibilidad y especificidad (AUC=0,93±0,05, modelo regresión logística, y AUC=0,92±0,06, modelo potenciación del gradiente). **Conclusiones:** Este trabajo presenta una herramienta en fase inicial basada en modelos supervisados capaz de diferenciar casos esporádicos y familiares con EM a partir de datos de exoma. Esto podría aplicarse a otras enfermedades raras y facilitar el asesoramiento genético. Financiación Financiado por CIBERER, convocatoria intramural de Proyectos de Investigación Traslacional 2021.

### P30 Fibroblasts-derived cell models contribute to Inclusion Body Myositis pathogenesis.

**Autores:** Judith Cantó-Santos, Laura Valls-Roca, Ester Tobías, Francesc Josep García-García, Mariona Guitart-Mampel, Ana Seremet, Ana Sevilla, Emma Peruga, Irene Madrigal, Pedro J. Moreno-Lozano, José César Milisenda, Josep M. Grau-Junyent, Glòria Garrabou.

**Grupo U722 Josep María Grau Junyent,** presentado por Judith Cantó Santos  
[jcanto@clinic.cat](mailto:jcanto@clinic.cat)

**Introduction:** Inclusion body myositis (IBM) is an inflammatory myopathy clinically characterized by proximal and distal muscle weakness, with inflammatory infiltrates, rimmed vacuoles and mitochondrial changes in muscle histopathology. This rare disease (ORPHA 611) has unknown aetiology, no biomarkers or effective treatments, in part due to the lack of validated disease models. **Aim:** Here we present the use of patients' derived fibroblasts as a disease model by identifying muscle pathological hallmarks at transcriptomic (778 deregulated expressed genes) and functional level (increased inflammation, impaired autophagy and dysfunctional mitochondria). **Results:** These findings, from fibroblasts, confirm the presence of molecular alterations in peripheral tissues from IBM patients and in consequence we propose patients' derived fibroblasts as a promising disease



model, that may be eventually exported to other neuromuscular disorders. We additionally reveal new molecular players in IBM associated with disease progression, prompting to deepen into disease etiology, in the identification of novel biomarkers and in testing new therapeutic strategies. Moreover, we developed myotubes derived from induced pluripotent stem cells, previously obtained from fibroblasts, to obtain a closer insight into IBM target tissue, muscle, but avoiding the invasiveness of a muscle biopsy. **Conclusions:** Overall, fibroblasts could be a disease model for IBM but also, a source to develop new cell models closer to the target tissue pathophysiology. Funding: FIS PI1800498 and PI2100935 granted by ISCIII and FEDER

### **P31** Análisis de las actividades de los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial ex vivo.

**Autores:** Emilio Siendones, Ana Sánchez-Cuesta, María Victoria Cascajo, Plácido Navas, Carlos Santos-Ocaña.

**Grupo U729 Carlos Santos Ocaña**, presentado por Emilio Siendones Castillo  
[esiecas@upo.es](mailto:esiecas@upo.es)

**Introducción:** El heterogéneo fenotipo clínico de una disfunción mitocondrial hace crítico un diagnóstico precoz y acertado para un abordaje terapéutico efectivo. Es habitual valorar las actividades de los complejos de la CR mitocondrial como herramienta de diagnóstico de la patología. Los fibroblastos procedentes de biopsias de piel es una nuestra biológica adecuada para analizar estas actividades enzimáticas, sin embargo, hay un considerable riesgo de imprecisión debido a que las condiciones óptimas para el ensayo in vitro no siempre corresponden con las condiciones fisiopatológicas y a la dificultad de obtener valores estándares entre distintos laboratorios. Además, los altos requerimientos de masa celular dificultan un diagnóstico precoz de la patología. **Objetivo:** Optimización de un protocolo en fibroblastos de pacientes en cultivo para analizar las actividades de los complejos de la CR mediante la determinación del consumo de oxígeno mitocondrial dependiente de cada complejo o supercomplejo. **Resultados:** El uso optimizado del analizador de flujo extracelular permite cuantificar la actividad enzimática de los distintos complejos en una mínima cantidad de células vivas permeabilizadas y establecer un perfil energético mitocondrial a través de la inyección de diferentes sustratos del ciclo de Krebs y de la cadena respiratoria, en combinación con diferentes inhibidores de las actividades enzimáticas. **Conclusiones:** Nuestros resultados muestran una mayor sensibilidad y precisión en la identificación de la disfunción mitocondrial que la obtenida a través de los ensayos in vitro, y validarían el uso de esta estrategia de mayor eficiencia y precisión, para el diagnóstico de la disfunción y patología mitocondrial.

### **P32** Uso de módulos de fenotipos comórbidos en el diagnóstico de enfermedades raras.

**Autores:** Pedro Seoane, Jose Córdoba-Caballero, Álvaro Parés, Miguel Ángel Medina, Juan A.G. Ranea.

**Grupo U741 Miguel Ángel Medina Torres**, presentado por Pedro Seoane Zonjic  
[seoanezonjic@uma.es](mailto:seoanezonjic@uma.es)

**Introducción:** Grandes consorcios como OMIM, Orphanet o Monarch se han establecido para recopilar información sobre enfermedades raras y su diversidad fenotípica. Esto permite buscar patrones para poder identificar la causa de la enfermedad en casos complejos. Una aproximación muy prometedora es el análisis de co-dependencia de fenotipos en estas enfermedades. **Objetivos:** La hipótesis más sencilla es que estos conjuntos de fenotipos comórbidos o co-dependientes aparecen por la desregulación de ciertos genes causada por la mutación responsable de la enfermedad. Por ello, descomponer el cuadro fenotípico de un paciente en módulos de comorbilidad permitiría localizar genes con regulación alterada y a partir de ellos los posibles genes responsables de la misma. **Resultados:** Usando las fuentes citadas, se generan redes fenotípicas que reflejan la co-dependencia de los fenotipos en las enfermedades. Estas redes se clusterizan en módulos de fenotipos que reflejan la comorbilidad de un conjunto de los mismos. Los genes asociados a estos fenotipos se pueden usar para buscar en redes de interacción los genes responsables del módulo. Finalmente, se utilizan estos módulos comórbidos asociados a enfermedades conocidas para intentar identificar el gen responsable de las mismas. Con esta metodología, se han identificado alrededor de 6800 clústeres de fenotipos comórbidos. Cuando se analizan con un priorizador de variantes basado en Exomiser que usa la descripción fenotípica del paciente sobre estos clústeres, un 73% son asociados a 4026 enfermedades OMIM. **Conclusiones:** La existencia de fenotipos co-dependientes demuestra la utilidad del análisis de comorbilidad fenotípica para diagnóstico genético.

### P33 Caracterización de dos modelos knock-in del gen Epm2b de la enfermedad de Lafora.

**Autores:** Nerea Iglesias-Cabeza<sup>†</sup>, Luis Zafra-Puerta<sup>†</sup>, Daniel F. Burgos, Gema Sánchez-Martín, José M. Serratosa, Marina P. Sánchez\*.

**Grupo U744 José Serratosa**, presentado por Nerea Iglesias Cabeza  
[nerea.iglesiasec@gmail.com](mailto:nerea.iglesiasec@gmail.com)

**Introducción:** La enfermedad de Lafora es una forma rara y letal de epilepsia mioclónica progresiva causada por mutaciones en los genes EPM2A o EPM2B, que codifican para las proteínas laforina o malina. Se caracteriza por la aparición de mioclonus, crisis epilépticas y deterioro cognitivo y motor, así como por la acumulación de poliglucosanos, formando agregados conocidos como cuerpos de Lafora. Dos de las mutaciones más frecuentes en pacientes en el gen EPM2B son P69A y D146N. Dado que los modelos murinos nulos para la expresión de laforina y malina no muestran con precisión todas las características de los pacientes, modelos que portan mutaciones humanas podrían reflejar la patología con mayor similitud. **Objetivos:** Caracterizar el fenotipo epiléptico, el comportamiento neurológico y la histopatología de los modelos knock-in del gen Epm2b: Epm2bP71A y Epm2bD148N. **Resultados:** Ambos modelos knock-in muestran características semejantes a las que manifiestan los ratones Epm2b<sup>-/-</sup>. Los dos modelos muestran mayor susceptibilidad al agente epileptógeno PTZ, así como cuerpos de Lafora y neuroinflamación a 3 y a 6 meses de edad. El modelo Epm2bP71A muestra alteraciones cognitivas y motoras y el modelo Epm2bD148N presenta ansiedad e hiperactividad. **Conclusiones:** Los modelos knock-in del gen Epm2b presentan rasgos representativos de la enfermedad a 3 y 6 meses de edad. Estos resultados sugieren que estos modelos murinos son más fieles al curso de la enfermedad en pacientes. Ello acelerará el desarrollo de nuevas terapias y tratamientos farmacológicos más eficaces.

### P34 From iPSCs to astrocytes: Modelling two neurometabolic disorders.

**Autores:** Laura Arribas-Carreira, Mar Álvarez, Karla Chavarri, Margarita Castro, Paloma Sanz, Fernando García, Francisco Zafra, Belén Pérez, Lourdes R. Desviat, Eva Richard and Pilar Rodríguez-Pombo.

**Grupo U746 Belén Pérez González**, presentado por Laura Arribas Carreira  
[laura.arribas@cbm.csic.es](mailto:laura.arribas@cbm.csic.es)

**Introduction:** Most metabolic diseases are associated with neurological complications driven mainly by the accumulation of toxic metabolites. Understanding the mechanisms of brain alteration is needed to develop future therapeutic strategies. The limitations of animal models are exaggerated in disorders that affect the brain, where the most significant differences between humans and animal models exist. Thus, the development of human astrocyte-like cells by differentiation from induced pluripotent stem cells (iPSCs) could represent a significant advance in studying neurometabolic diseases without a definitive treatment, like Nonketotic Hyperglycinaemia (NKH) and Propionic Acidaemia (PA). **Objective:** We aimed here to generate cellular models based on human neural cells from patients-derived iPSCs to gain further insights into the brain pathophysiology of both diseases. **Results:** To differentiate iPSCs into neural progenitors and astrocytes, we used a dual SMAD-inhibition protocol. Results from the expression analysis of representative markers and the functional test of glutamate transport confirmed the potential use of hiPSCs to generate neural progenitors and astrocyte-like cells from patients with both diseases. In NKH cells, we evaluated the effect of GLDC-deficiency on serine-glycine-one carbon metabolism (SGOC) by evaluating the expression of representative proteins and metabolite levels, identifying changes compatible with an alteration in SGOC at iPSC-stage. In PA, we observed a deregulation of different brain-expressed miRNAs through different differentiation stages in patients' cells compared to control. **Conclusion:** Hence, our findings provide an experimental suitable model for the investigation of the pathogenesis of these severe diseases serving also as ex vivo platform for therapeutic applications.

## **P35** Reposicionamiento de medicamentos para el tratamiento personalizado de enfermedades raras usando pez cebra.

**Autores:** Isabel Cabas Sánchez, Beatriz Bernal Bermúdez, Francisco Javier Martínez Morcillo, Alicia Martínez López, Haleh Nikzamid, Joaquín Cantón Sandoval, Francisca Alcaraz Pérez, Ana Belén Pérez Oliva, María Luisa Cayuela Fuentes, Victoriano Mulero Méndez, Diana García Moreno.

**Grupo U768 Víctor Mulero Méndez**, presentado por Isabel Cabas Sánchez  
[icabas@um.es](mailto:icabas@um.es)

Debido a la necesidad de nuevas opciones terapéuticas en enfermedades raras, nace una plataforma de investigación para el reposicionamiento de medicamentos y tratamiento personalizado de enfermedades raras, dentro del Plan Integral de Enfermedades Raras de la Región de Murcia, utilizando el modelo animal de pez cebra. Este modelo ofrece multitud de ventajas tales como una sencilla manipulación genética y la visualización de procesos biológicos in vivo. Los objetivos específicos son: (1). Generación de modelos de pez cebra mediante técnicas de edición genética (CRISPR) que reproduzcan las posibles variantes genéticas causantes de la enfermedad (Avatar). (2). Identificación de la variante genética causante de la enfermedad: Caracterización funcional de los modelos desarrollados. (3) Reposicionamiento de fármacos para terapias personalizadas: Cribado de librerías de fármacos aprobados para uso clínico en modelos Avatar. Desde su inicio, se han generado modelos en pez cebra para varias enfermedades raras, incluyendo ciertas discapacidades intelectuales, interferonopatía tipo I, disqueratosis congénica, entre otras. Con ello, un total de 13 modelos de enfermedad, implicando unos 17 genes, están siendo abordados, algunos de ellos en colaboración con otros centros. Además, se ha modelado en pez cebra la causa genética concreta para varios pacientes pediátricos. Muchos de los modelos mencionados han sido validados y se está en disposición de realizar el escrutinio de fármacos con compuestos aprobados por la FDA y la EMA. Dichos avances podrán suponer una alternativa en la terapia y medicina de precisión en estas enfermedades, además de poder modelarlas y caracterizarlas en profundidad.

## **P36** ¿Cómo gestionar muestras humanas para proyectos de investigación en enfermedades raras?

**Autores:** Aguado Muñoz C., Martí Pérez S., Millán Salvador J.M. y Pallardó Calatayud F.V.

**Grupo CIBERER Biobank**, presentado por Carmen Aguado Muñoz  
[carmen.aguado@ciberer.es](mailto:carmen.aguado@ciberer.es)

El CIBERER Biobank (CBK) es una plataforma de apoyo a la investigación donde se conservan de forma indefinida muestras biológicas y sus datos asociados, pudiéndose ceder a cualquier grupo de investigación nacional o internacional, de una forma transparente y abierta, cumpliendo con lo establecido por ley. El buen uso de esas muestras es evaluado por un comité científico y uno ético, que trabajan conjuntamente con el CBK. La legislación vigente sobre investigación biomédica con muestras humanas dispone que para realizar cualquier investigación se debe contar con un consentimiento expreso y escrito de obtención y utilización de estas muestras (LIB 14/2007). También, se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos, utilización de muestras biológicas, el almacenamiento o la cesión de dichas muestras (RD 1716/2011). Esta normativa hace posible tres modelos básicos para la gestión de muestras humanas y de sus datos asociados para investigación: i) colección para un proyecto de investigación, ii) colección para una línea de investigación y iii) colección en régimen de biobanco. Cada modelo con características propias, pero compartiendo puntos claves como la aprobación de un proyecto de investigación y el consentimiento informado del donante. Ante esta complejidad, la participación del CBK en la gestión de muestras va a asegurar una investigación de calidad garantizada por nuestro Sistema de Gestión de Calidad (ISO 9001:2015) y una cobertura ético-legal para el investigador responsable del proyecto, convirtiendo al biobanco en una plataforma clave de transferencia del conocimiento científico a la salud del individuo.

## Nuevas terapias

### P37 Propranolol: A repurposing drug for an increasingly number of Rare Diseases.

**Autores:** Angel M Cuesta, Eunate Gallardo-Vara, Juan Casado-Vela, Lucía Recio-Poveda, Botella Luisa María, Virginia Albiñana

**Grupo U707 Luisa María Botella Cubells**, presentado por Virginia Albiñana Díaz  
[vir\\_albi\\_di@yahoo.es](mailto:vir_albi_di@yahoo.es)

Rare Diseases (RD) are defined by their prevalence: as less than 5:10,000 people in EU or less than 200,000 people in the USA. Considered individually, each RD may seem insignificant, but together they add up to more than 7,000 different diseases. Research in RD is not attractive for pharmaceutical companies, since it is unlikely to recover development costs for medicines aimed to small numbers of patients. Since most of these diseases are life threatening, this fact underscores the urgent need for treatments. Drug repurposing consists of identifying new uses for approved drugs, outside the scope of the original medical indication. It is an alternative option in drug development and represents a viable and risk-managed strategy to develop for RDs. In 2008, the "off label" therapeutic benefits of propranolol were described in the benign tumor Infantile Hemangioma. Propranolol, initially prescribed for high blood pressure, irregular heart rate, essential tremor, and anxiety, has shown in the last decade increasing evidence of its antiangiogenic, pro-apoptotic, vasoconstrictor and anti-inflammatory properties in different RDs, including vascular or oncological pathologies. This review highlights the finished and ongoing trials in which propranolol has arisen as a good repurposing drug to improve the health condition in RDs.

### P38 Towards lentiviral gene therapy for RPS19-Diamond Blackfan anemia patients.

**Autores:** Yari Giménez, Manuel Palacios, Rebeca Sanchez, Christiane Zorbas, Laura Ugalde, Omaira Alberquilla, Paula Río, Eva Gálvez, Marion Strullu, Alexander Puzik, Anna Ruiz., Jose C. Segovia, Julián Sevilla, Albert Catala, Charlotte Niemeyer, Cristina Beléndez, Thierry Leblanc, Denis, Lafontaine, Juan A. Bueren, Susana Navarro.

**Grupo U710 Juan Antonio Bueren**, presentado por Susana Navarro  
[s.navarro@ciemat.es](mailto:s.navarro@ciemat.es)

Allogenic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) currently represents the only curative treatment for patients with Diamond Blackfan Anemia (DBA) despite the mortality associated. In DBA, mutations in 20 ribosomal genes, plus 4 "DBA-like" genes, account for 70-80% of DBA patients, representing RPS19 25% of them. Therefore, we have focused in an alternative treatment based in an ex vivo lentiviral gene therapy approach to correct the genetic defect of RPS19-deficient cells. Initially, we analyzed that transduction with the therapeutic lentiviral vectors generated (LVs; PGK.CoRPS19.Wpre\* and EF1(s).CoRPS19.Wpre\*-LVs) restored the expression of RPS19 and corrected the ribosomal biogenesis defects in DBA-like cells. Subsequently, the therapeutic efficacy, was evaluated in primary bone marrow HSCs (CD34+ cells) from RPS19-deficient patients. Correction of CD34+ cells significantly increased the number of BFU-E colonies and reverted the red blood cell differentiation defect, as revealed by the increased output of CD71-/CD235+ erythroid cells. Remarkably, DBA CD34+ cells that had been transduced with the therapeutic LVs were also capable of repopulating the hematopoiesis of immunodeficient mice. In these studies we also confirmed the healthy status of transplanted immunodeficient recipients, as well as the polyclonal repopulation pattern of corrected hematopoietic cells. Taken together, our preclinical studies support an efficient and safe approach to restore the hematopoietic defects of these RPS19-deficient DBA patients. Based on these preclinical evidences we have recently obtained designation of "autologous CD34+ enriched cells transduced with a self-inactivating lentiviral vector containing the codon-optimized RPS19 gene as an orphan medicinal product by the European Medicaments Agency (EMA/OD/0000060407).

## P39 Administración sistémica de gentamicina para el tratamiento de una paciente con Epidermolisis bullosa simple y distrofia muscular causada por mutaciones sin sentido en PLEC1.

**Autores:** Lucía Martínez-Santamaría, Rocío Maseda, María del Carmen de Arriba, Javier A. Membrilla, Alberto Iglesias Sigüenza, Javier Mascias, Marta García, Lucía Quintana, Isabel Esteban-Rodríguez, Carlos Pelayo Hernández-Fernández, Nuria Illera, Blanca Duarte, Sara Guerrero-Aspizua, David T. Woodley, Marcela del Río, Raúl de Lucas, Fernando Larcher, María José Escámez.

**Grupo U714 Marcela del Río Nechaevsky**, presentado por María José Escámez Toledano  
[mescamez@ing.uc3m.es](mailto:mescamez@ing.uc3m.es)

**Introducción:** La epidermolisis bullosa simple con distrofia muscular (EBS-DM; OMIM226670) es una genodermatosis de muy baja prevalencia causada por mutaciones recesivas en PLEC1. La deficiencia de plectina provoca ampollas generalizadas y debilidad muscular progresiva, que merma la calidad de vida y aumenta la morbimortalidad. La EBS-DM es incurable por lo que su tratamiento es paliativo. La gentamicina tiene la capacidad de leer a través de los codones de terminación prematura producidos por mutaciones sin sentido, permitiendo que sea añadido un aminoácido y continúe la traducción (translational readthrough). **Objetivo:** Evaluar si la administración sistémica de gentamicina, es clínicamente beneficiosa para una paciente con EBS-DM causada por mutaciones sin sentido (PLEC1: c.4261C>T, p.Q1421\*). **Resultados:** La administración intravenosa de gentamicina (7,5 mg/kg/d; 2 ciclos de 2 semanas), realizada tras demostrar su capacidad para inducir la expresión de plectina en cultivos primarios de queratinocitos de la paciente, fue bien tolerada. Tras el tratamiento, además de un aumento de plectina en la piel de la paciente, la mialgia desapareció observándose una leve mejoría tanto de la función de la musculatura esquelética y respiratoria como de la calidad de vida. **Conclusión:** Estos hallazgos sugieren que la gentamicina es capaz de leer a través de los codones de terminación prematura de PLEC1 e inducir la expresión de la proteína en los queratinocitos primarios y la piel de la paciente con EBS-MD. Por tanto, la gentamicina podría representar una opción eficaz para el tratamiento de la EBS-MD, y quizá otras plectinopatías, debidas a variantes sin sentido.

## P40 Desarrollo de una nueva estrategia terapéutica basada en RNA de interferencia para enfermedades del catabolismo de la lisina.

**Autores:** E. Segur-Bailach, A. Mateu-Bosch, F. Tort, A. Ribes, J. García-Villoria, C. Fillat.

**Grupo U716 Cristina Fillat**, presentado por Eulàlia Segur-Bailach  
[seguri@clinic.cat](mailto:seguri@clinic.cat)

La aciduria glutárica (AG1) y la epilepsia dependiente de piridoxina (EDP) son dos enfermedades raras de origen genético, causadas por defectos enzimáticos en la vía del catabolismo de la lisina. Ambas se caracterizan por el acúmulo de metabolitos tóxicos en el sistema nervioso central. Actualmente, el tratamiento disponible es la restricción dietética de lisina y administración de piridoxina para EDP, que no permiten revertir el daño neurológico causado por el debut clínico. En este estudio proponemos explorar el silenciamiento del primer enzima de la vía de degradación de la lisina, el alfa-aminoadípico semialdehído sintasa (AASS), como estrategia terapéutica común para AG1 y EDP. El bloqueo de dicha vía permitiría la reducción del acúmulo de metabolitos neurotóxicos, provocando hiperlisinemia, siendo ésta una entidad benigna en humanos. Para ello, estamos desarrollando una terapia basada en RNA de interferencia (iRNA) mediante virus adeno-asociados (AAV). Hemos explorado distintas aproximaciones, que consisten en la activación del mecanismo de iRNA. Hemos realizado un cribado de secuencias candidatas estudiando la eficiencia de silenciamiento in vitro, y se han identificado secuencias capaces de inducir el silenciamiento de los transcritos AASS en células humanas y de ratón. Consecuencia del silenciamiento se observa inhibición de la actividad enzimática AASS, frenando el catabolismo de la lisina. Nuestros resultados apuntan a que una terapia basada en el uso de iRNA frente a AASS es atractiva para evaluar in vivo en modelos de AG1 y EDP.







