

# XVI REUNIÓN ANUAL

# *ciber* | ER

CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED  
Enfermedades Raras

Del 22 al 24 de marzo 2023  
San Lorenzo de El Escorial, Madrid

**#RACIBERER2023**



Web de la  
XVI Reunión Anual CIBERER



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN



Instituto  
de Salud  
Carlos III



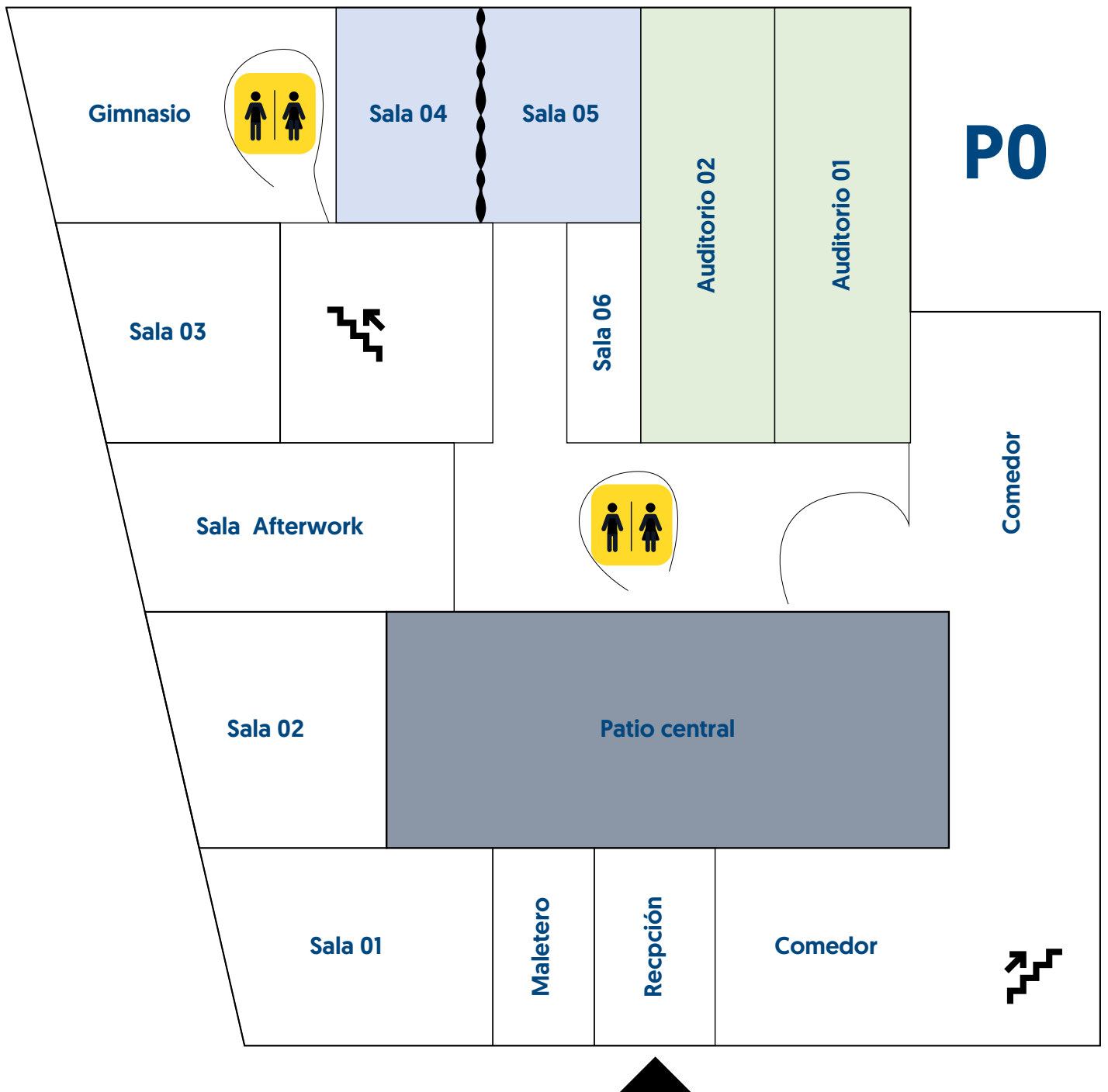
UNIÓN EUROPEA



# EUROFORUM

Palacio de los Infantes

Planta Baja



*ciber* | **ER**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED  
Enfermedades Raras

# CONTENIDO

<b>PRESENTACIÓN</b>	<b>3</b>
<b>COMITÉS</b>	<b>4</b>
<b>PROGRAMA RESUMIDO</b>	<b>5</b>
<b>PROGRAMA DETALLADO</b>	<b>6</b>
MIÉRCOLES 22 DE MARZO DE 2023	
JUEVES 23 DE MARZO DE 2023	
VIERNES 24 DE MARZO DE 2023	
<b>PONENCIA INVITADA</b>	<b>13</b>
<b>TALLERES DE FORMACIÓN</b>	<b>13</b>
<b>RESÚMENES PRESENTACIONES ORALES</b>	<b>15</b>
<b>SESIÓN ORALES 1 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD</b>	<b>15</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> JUEVES 23/03/2023 9:00H	
<b>SESIÓN ORALES 2 – NUEVAS HERRAMIENTAS DE INVESTIGACIÓN Y NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS</b>	<b>18</b>
SALA 04 - 05 -> JUEVES 23/03/2023 9:00H	
<b>SESIÓN ORALES 3 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD</b>	<b>21</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> JUEVES 23/03/2023 14:30H	
<b>SESIÓN ORALES 4 – NUEVAS TERAPIAS</b>	<b>24</b>
SALA 04 - 05 -> JUEVES 23/03/2023 14:30H	
<b>SESIÓN ORALES 5 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD Y NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS</b>	<b>27</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> JUEVES 23/03/2023 17:00H	
<b>PROYECTO IMPaCT GENÓMICA</b>	<b>28</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> JUEVES 23/03/2023 18:00H	
<b>SESIÓN ORALES 6 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD</b>	<b>29</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> JUEVES 23/03/2023 18:30H	
<b>SESIÓN ORALES 7 – NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS Y NUEVAS TERAPIAS</b>	<b>30</b>
SALA 04 - 05 -> JUEVES 23/03/2023 18:30H	
<b>SESIÓN ORALES 8 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD</b>	<b>31</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> VIERNES 24/03/2023 8:30H	
<b>PLATAFORMAS CIBERER</b>	<b>32</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> VIERNES 24/03/2023 8:30H	
<b>RESULTADOS GRUPOS DE TRABAJO CIBERER</b>	<b>33</b>
AUDITORIO 01 - 02 -> VIERNES 24/03/2023 8:30H	
<b>SESIÓN ORALES 9 – NUEVAS TERAPIAS Y BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD</b>	<b>34</b>
SALA 04 - 05 -> VIERNES 24/03/2023 8:30H	
<b>PRESENTACIÓN ORAL –NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS</b>	<b>36</b>
AUDITORIO 01-02 -> VIERNES 24/03/2023 11:30H	
<b>RESÚMENES PÓSTER</b>	<b>37</b>
<b>NOTAS</b>	<b>55</b>



# Presentación

Queridos amigos:

Agradecemos vuestra participación, una vez más, en la XVIª edición de nuestra Reunión Anual.

Como todos los años, son numerosas las contribuciones que hacéis y no sólo se ha mantenido, sino superado, la calidad de los trabajos científicos presentados en el ámbito de las enfermedades raras. Queremos valorar vuestro esfuerzo e implicación, además del arduo trabajo colaborativo que hace posible que alcancemos nuestros objetivos para el desarrollo de nuevas terapias y el rápido diagnóstico de enfermedades raras.

La divulgación, la comunicación y el compartir los hallazgos científicos, de cada uno de los 76 grupos que componen el CIBERER contribuyen al conocimiento transversal entre disciplinas y patologías aparentemente muy distintas.

Al formar parte del CIBERER, funcionamos como un equipo multidisciplinar, donde cada grupo es importante, desde el que busca dianas terapéuticas en modelos celulares, animales o bioinformáticos, pasando por los embarcados en la designación de medicamentos huérfanos, en ensayos clínicos con terapias celulares o genéticas.

Aprovechemos esta reunión científica para compartir conocimientos, hallazgos, datos, ¿y por qué no? a asentar colaboraciones futuras. ¡No sólo somos investigadores! Somos generadores de esperanza para los pacientes y sus familias, para que su calidad de vida mejore, que el dolor que padecen sea más llevadero, mientras nosotros, desde el estudiante predoctoral hasta el investigador más senior sigamos trabajando para alcanzar una cura.

Disfrutad de la XVI reunión del CIBERER.

Gracias a todos.



Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER

# Comités

## Comité Asesor Interno

**Almudena Fernández López**  
Investigadora contratada CIBERER  
en el grupo U756

**Ana Pilar Gómez Escribano**  
Investigadora contratada  
en el grupo U755

**María Victoria Cascajo Almenara**  
Investigadora contratada  
en el grupo U729

**Cristina Ugalde Bilbao**  
Investigadora adscrita  
en el grupo U723

**María del Carmen de Arriba Pérez**  
Investigadora contratada  
en el grupo U714

**Raquel Melero Fernández de Mera**  
Investigadora contratada  
en el grupo U758

**Marta Cortón Pérez**  
Investigadora adscrita  
en el grupo U704

**Miguel Angel Moreno Pelayo**  
Jefe del grupo U728

## Comité Evaluador Externo

**Iván Landires**  
Instituto de Ciencias Médicas  
Las Tablas, Panamá

**Mariela Larrandaburu**  
Universidad Católica del Uruguay  
Uruguay

**Gerardo Mejía**  
Ministerio de Salud de la República de  
Panamá  
Panamá

**Fernando Vargas**  
Universidade Federal do Estado do  
Rio de Janeiro  
Rio de Janeiro, Brasil

**Rodolfo Rey**  
Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez  
Buenos Aires, Argentina

**Augusto Rojas**  
Instituto Tecnológico y de Estudios  
Superiores de Monterrey  
Monterrey, México

Miembro del Comité Científico  
Asesor Externo del CIBERER



# Programa resumido

## Miércoles 22 de marzo de 2023

11:00	Recepción y café de bienvenida	
12:00	<b>Inauguración y presentación general CIBERER</b> <b>Ponencia invitada:</b> CIBER-BBN	
14:00	Foto de grupo	
14:00	Comida	
15:00	<b>Taller formación</b> - Orientación carrera profesional	<b>Reunión de Jefes de Grupo</b>
16:00	<b>Taller formación</b> - Divulgación y comunicación científica	<b>Taller formación</b> - Formulando las preguntas adecuadas para el tratamiento de datos personales en la investigación biomédica
17:00	Sesión de poster (impares) y pausa café	
18:00	<b>Reuniones de Programas de Investigación</b> (diversas salas)	
19:00	Tiempo para networking	
20:30	Cena	

## Jueves 23 de marzo de 2023

9:00	<b>Sesión Orales 1</b> - Bases moleculares de la enfermedad	<b>Sesión Orales 2</b> - Nuevas herramientas de investigación y Nuevos métodos diagnósticos
11:00	Sesión de poster (pares) y pausa café	
12:00	<b>Mesa redonda</b> - Investigación traslacional	
13:30	Comida	
14:30	<b>Sesión Orales 3</b> - Bases moleculares de la enfermedad	<b>Sesión Orales 4</b> - Nuevas terapias
16:30	Pausa café	
17:00	<b>Sesión Orales 5</b> - Bases moleculares de la enfermedad	
18:00	<b>Programa IMPaCT Genómica</b>	
18:30	<b>Sesión Orales 6</b> - Bases moleculares de la enfermedad	<b>Sesión Orales 7</b> - Nuevos métodos diagnósticos y Nuevas terapias
19:15	Tiempo para networking, reuniones y tiempo libre	
20:30	Cena	

## Viernes 24 de marzo de 2023

8:30	<b>Sesión Orales 8</b> - Bases moleculares de la enfermedad / Plataformas y Grupos de Trabajo CIBERER	<b>Sesión Orales 9</b> - Nuevas terapias y Bases moleculares de la enfermedad
11:00	Pausa café	
11:30	<b>Presentación Oral</b> - Nuevos métodos diagnósticos	
12:00	<b>Mesa redonda</b> - Cribado neonatal, cribado genómico, preimplantacional	
13:30	<b>Entrega de premios</b> <b>Clausura</b>	
13:35	Comida despedida	
14:45	Salida	

Auditorio 01 + 02

Sala 04 + 05

Varias salas

# Programa detallado

Miércoles 22 de marzo de 2023

11:00	<b>Recepción y café de bienvenida</b>	
12:00	<b>Inauguración XVI Reunión Anual CIBERER</b> Cristóbal Belda Iniesta, Director del ISCIII Santiago de la Riva, Federación Española de Enfermedades Raras (FEDER) Manuel Rego, Presidente Consejo Asesor Paciente (CAP) CIBERER Josep Torrent, Presidente Scientific Advisory Board (SAB) CIBERER Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER <b>Presentación general CIBERER:</b> Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER	
13:00	<b>Ponencia invitada:</b> Ramón Martínez Mañé, Director Científico CIBERER-BBN <b>Estrategias de liberación de agentes terapéuticos mediante nanopartículas.</b>	
14:00	Foto de grupo	
14:00	Comida	
15:00	<b>Taller formación trabajadores - Orientación carrera profesional</b> <b>Modera:</b> Raquel Melero, U758 Alfredo Giménez-Cassina Sendón, Nature Metabolism Rosana Cabello Moruno, Roche Estela Pérez Santamarina, Abcam	<b>Reunión de Jefes de Grupo</b> Gerencia CIBER Dirección Científica CIBERER
16:00	<b>Taller formación - Divulgación y comunicación científica.</b> <b>Modera:</b> Ana Pilar Gómez Escribano, U755 Miquel Calvet, CIBERER Kristin Suleng, Fundació Parc Científic Universitat de València Carlos Romá Mateo, U733 Juan Luque, CIBER	<b>Taller formación - Formulando las preguntas adecuadas para el tratamiento de datos personales en la investigación biomédica.</b> <b>Modera:</b> Carmen Ayuso, U704 Guillermo Lazcoz Moratinos, U704 Pilar Nicolás Jiménez, UPV/EHU
17:00	Sesión de poster (impares) y pausa café	
18:00	<b>Reuniones de Programas de Investigación</b> [Diversas salas, consultar pantallas del Euroforum]	
19:00	Actividad de networking	
20:30	Cena	
		Auditorio 01 + 02
		Sala 04 + 05
		Varias salas

## Jueves 23 de marzo de 2023

	Sesión Orales 1 - Bases moleculares de la enfermedad	Sesión Orales 2 - Nuevas herramientas de investigación y Nuevos métodos diagnósticos
9:00	O1 - Utilidad del análisis detallado del fenotipo facial (deep phenotyping) para la identificación clínica de enfermedades raras con base molecular común. El grupo PACS1-PACS2-WDR37 como ejemplo.	O7 - Reposicionamiento de fármacos guiado por machine learning y modelos mecanísticos en enfermedades raras.
9:00	Ana Latorre Pellicer, GCV02	María Del Carmen Peña Chilet, U715
9:20	O2 - Heterozygous variants in both the N- and C-terminal domains of IHH lead to defective secretion causing short stature and/or brachydactyly.	O8 - Secuenciación de lecturas largas basada en nanoporos para mejorar caracterización genética de enfermedades raras oculares.
9:40	Karen Heath, U753	Marta Corton Pérez, U704
9:40	O3 - Research-based flow cytometry assays for pathogenic assessment in the human B-cell biology of gene variants revealed in the diagnosis of inborn errors of immunity.	O9 - Identification of molecular signatures and pathways involved in Rett syndrome using a multi-omics approach.
10:00	Lucía Del Pino Molina, U767	Judith Armstrong, U703
10:00	O4 - Modelling Kearns Sayre's Syndrome using patient-derived fibroblasts.	O10 - Paneles de genes candidatos como herramienta para la identificación de nuevos genes asociados a hipoacusia autosómica dominante.
10:20	Laura Valls Roca, U722	Miguel Angel Moreno Pelayo, U728
10:20	O5 - Characterization of Tumor Derived Exosomes (TDEs) in Ewing sarcoma: implications in cell-cell communication and tumor dissemination.	O11 - Diagnosis implications of uniparental disomy in rare diseases and its detection through exome or genome sequencing data.
10:40	Raquel Melero Fernandez De Mera, U758	Marta Sevilla Porras, U735
11:00	O6 - ALTERACIONES MOLECULARES EN EL GEN GALE CAUSAN MACROTROMBOCITOPENIA SINDRÓMICA POR ALTERACIÓN EN LA GLICOSILACIÓN Y LA TROMBOPOYESIS.	O12 - Validación funcional en células humanas de nuevas herramientas CRISPR-Cas de edición genética obtenidas de lugares y tiempos remotos.
11:00	Ana Marín Quilez, U765	Almudena Fernández López, U756
12:00	Sesión de poster (pares) y pausa café	
13:30	<b>Mesa redonda: Investigación traslacional</b> <b>Moderador:</b> Juan Bueren Roncero, U710 Juan Luque, Plataforma Desarrollo Tecnológico CIBER Gloria González Aseguiñolaza, CIMA - Universidad de Navarra Jordi Cruz, Asociación MPS Lisosomales Francisco José Román Rodríguez, Rocket Pharmaceuticals España	
	Comida	

Auditorio 01 + 02      Sala 04 + 05

Jueves 23 de marzo de 2023

Sesión Orales 3 - Bases moleculares de la enfermedad		Sesión Orales 4 - Nuevas terapias	
14:30	O13 - A Novel Splicing Mutation in the ACVR1L/ALK1 Gene as a Cause of HHT2.	Luisa María Botella Cubells, U707	O19 - RNA interference as a substrate reduction gene therapy strategy for lysine catabolism diseases.
14:30	O14 - TNF and Il6/Jak2 signaling pathways are the main contributors of the glia-derived neuroinflammation present in Lafora disease, a fatal form of progressive myoclonus epilepsy.	María Teresa Rubio López, U742	O20 - An SPM-Enriched Marine Oil Supplement Shifted Microglia Polarization toward M2, Ameliorating Retinal Degeneration in rd10 Mice.
14:50	O15 - Characterization of a novel Type I interferonopathy due to a de novo NCOB2 mutation and development of zebrafish models for personalized medicine.	Diana García Moreno, U768	O21 - Lentiviral-mediated correction of telomeropathy-associated phenotypes in gene edited human hematopoietic progenitors with pathogenic mutations in DKC1 and TERC.
15:10	O16 - Dystrophinopathy Phenotypes and Modifying Factors in DMD Exon 45-55 Deletion.	M <sup>a</sup> Pilar Marti Martínez, U763	O22 - Terapia génica en la enfermedad de Lafora.
15:30	O17 - Generación de organoides cerebrales del síndrome de Schaaf-Yang.	Aina Prat Planas, U720	O23 - La acción antiinflamatoria de las células madre mesenquimales de médula ósea (MSC-MO) en epidermolísis bullosa distrofica recessiva [EBDR] está mediada por la disminución de citoquinas de daño tisular MCP1, sCD40L y TNFα y su impacto en las poblaciones linfocíticas circulantes (PBLs).
15:50	O18 - Hacia la comprensión del déficit de N-acetil-L-glutamato sintasa (NAGS) mediante la determinación estructural del metabolon de levadura NAGS-NAGK.	Clara Marco Marín, U739	O24 - Edición Génica del Gen FXN mediante el Sistema CRISPR/Cas9 en Linfocitos de pacientes con Ataxia de Friedreich.
16:10	Pausa café		M <sup>a</sup> Pilar González Cabo, U733
16:30			
17:00	Sesión Orales 5 - Bases moleculares de la enfermedad		
17:00	O25 - The Deubiquitinating Enzyme USP48 Interacts with the Retinal Degeneration-Associated Proteins UNC119a and ARL3.	Laura Sánchez Bellver, U718	
17:20	O26 - BI-ALLELIC MUTATIONS IN SCN11 IDENTIFIED AS A NEW CAUSE OF OROFACIODIGITAL SYNDROME DUE TO ABERRANT MINOR INTRON SPLICING.	Asier Iturrate Soletto, U760	
17:40	O27 - Rare variants in GJD3 connexin gene involving familial Meniere Disease and tectorial membrane.	Álvaro Gallego Martínez, GCV22	
18:00	Programa IMPaCT Genómica		
18:30	Sesión Orales 6 - Bases moleculares de la enfermedad		
18:30	O28 - Slc7a7 knockout mice develop iron overload due to erythropoietic failure.	Susanna Bodoy Salvans, U731	O30 - The application of phenomics and transcriptomics to PMM2-CDG to cluster patients and identify its underlying molecular mechanisms.
18:50	O29 - Characterization of UBTF-MAML3 as a new risk factor of metastatic PPG1: in search of a personalized treatment.	Alberto Diaz Talavera, U706	O31 - CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA DISCINESIA CILIAR PRIMARIA.
19:15	Tiempo para networking, reuniones y tiempo libre		
20:30	Cena		

Auditorio 01 + 02      Sala 04 + 05

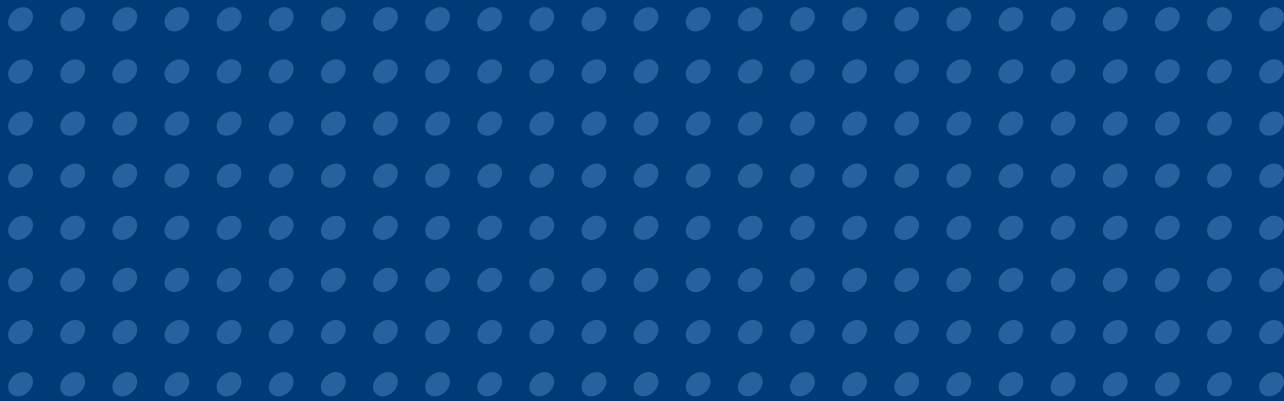
## Viernes 24 de marzo de 2023

Sesión Orales 8 - Bases moleculares de la enfermedad, Plataformas y Grupos de Trabajo CIBERER		Sesión Orales 9 – Nuevas terapias y Bases moleculares de la enfermedad	
8:30	O32 - Is FH desialylation an acquired cause of Complement dysregulation in atypical Haemolytic Uraemic Syndrome?	Laura González Sánchez, U754	O35 - Snail in the control of bone length: new avenues for therapeutic approaches in achondroplasia. Sonia Vega De Los Reyes, U769
8:50	O33 - GENOTYPIC AND PHENOTYPIC FEATURES OF A SERIES OF PATIENTS WITH A GENETIC DIAGNOSIS OF HYPERKPLEXIA: BEYOND EXAGGERATED STARTLE RESPONSE.	Eduardo López Laso, GCV07	O36 - Setting up of an artificial placenta experimental system in fetal sheep: critical issues for successful transition and short-term survival. Elisenda Eixarch Roca, U719
8:30	O34 - Cellular senescence: a potential therapeutic target in rare vestibular schwannomas.	Sandra Franco Caspueñas, U761	O37 - NUEVAS TERAPIAS NUTRICIONALES PARA ENFERMEDADES MITOCONDRIALES. María Jesús Morán Bermejo, U723
9:30	Plataformas CIBERER: CIBERER-Biobank	Carmen Aguado, CBK	O38 - Patient-named basis of treatment with Elesclomol Copper for a child with Menkes disease. Francesc Palau, U732
9:50	GenRaRe: Registros de enfermedades genéticas y de baja prevalencia	Miguel López de Heredia, Gestor Científico CIBERER	O39 - Mutaciones en el gen DNMT1 que generan desórdenes del neurodesarrollo inducen una disfunción mitocondrial y alteraciones extremas de la red mitocondrial en fibroblastos. Mariv Cascajo Almenara, U729
10:10	Resultados Grupos de Trabajo CIBERER: Catálogo biorecursos	Varios grupos CIBERER	
10:40	Diagnóstico de EERR mediante combinación de RNAseq y datos genómicos.	Belén Pérez González, U746	
11:00	Pausa café		
<b>Presentación Oral – Nuevos métodos diagnósticos</b>			
11:30	O40 - RNA-seq en 45 pacientes con sospecha de enfermedad metabólica hereditaria: contribución al diagnóstico y a la determinación del impacto funcional de variantes candidatas.	Frederic Tort Escalé, U737	
<b>Mesa redonda: Cribado neonatal, cribado genómico, preimplantacional (PGT-A cribado de aneuploidias).</b>			
12:00	<b>Moderador:</b> Miguel Ángel Moreno, U728 Santiago de la Riva, FEDER Carmen Ayuso, U704 Belén Pérez González, U746 José María Millán, U755		
13:30	<b>Entrega de premios y clausura</b>		
13:35	Comida despedida		
14:45	Salida		

Auditorio 01 + 02      Sala 04 + 05



# *Listado de resúmenes*







## Ponencia invitada

### Estrategias de liberación de agentes terapéuticos mediante nanopartículas

Ramón Martínez Mañez (Director Científico CIBER-BBN)

In last years, nanomedicine and nanotherapy are gaining an increasing attention as alternative to conventional treatments in main pathologies which require a selective and controlled drug administration. Numerous nanocarriers with different characteristics have been designed and applied in drug delivery protocols. In this field some delivery strategies are based on more sophisticated designs in which nanocarriers are tailored to deliver their cargo selectively in certain cells or tissues. In this talk new advances in the design of nanomaterials as nanocarriers for drug delivery will be described, paying especial attention to examples from groups from CIBER-BBN that involve both organic and inorganic nanocarriers for application in a number of diseases.

## Talleres de formación

### Orientación carrera profesional

**Imparten:** Alfredo Giménez-Cassina Sendón (Nature Metabolism), Rosana Cabello Moruno (Roche), Estela Pérez Santamarina (Abcam), Juan Luque (CIBER) y Raquel Melero (U758)

Históricamente, la investigación biomédica ha estado relacionada mayoritariamente al entorno académico y hospitalario. Sin embargo, en los últimos años y debido a la gran expansión que las ciencias de la vida han experimentado, han surgido múltiples y nuevas necesidades laborales fuera del entorno puramente académico y clínico que complementan y facilitan la traslación de resultados científicos a la práctica habitual. Si bien, la formación científica de base es muy valiosa en todos estos nuevos caminos laborales, en muchas ocasiones se requieren enfoques o formaciones adicionales especializados. A partir de las experiencias profesionales de los ponentes, mostraremos algunas de estas trayectorias alternativas que a menudo desconocemos, así como las habilidades y formación que pueden ser demandados para la carrera profesional en ciencias biomédicas, desde sus diferentes perspectivas, tanto dentro del mundo académico como fuera de él.

### Divulgación y comunicación científica

**Imparten:** Kristin Suleng (Fundació Parc Científic de la Universitat de València), Carlos Romá Mateo (U733), Miquel Calvet (CIBERER) y Ana Pilar Gómez Escribano (U755)

Divulgar a la sociedad y más aún a los pacientes, principales beneficiarios de la investigación biomédica, requiere de habilidades y de formas de comunicación específicas que no son las que se promueven en los entornos académicos. Los investigadores suelen emplear lenguajes técnicos, complejos y poco cercanos al día a día para comunicar sus investigaciones a la sociedad que demanda conocerlos. Es factible emplear un lenguaje divulgativo que sea comprensible sin perder la rigurosidad científica, pero para ello, hay que invertir tiempo y creatividad. Los científicos suelen caer en el error de no conectar con el público, y eso es primordial para transmitir el mensaje de manera exitosa.

De nada sirve ponerse delante de un micrófono si el mensaje no le llega a nadie. El lenguaje habitual es el que mejor conoce la sociedad, emplea símiles, ejemplos rutinarios, imágenes inesperadas y eso te acercará más al público que te escucha.

En el taller, expertos comunicadores (Carlos Romà y Kristin Suleng) nos trasladarán a ejemplos donde habitualmente un científico puede sentirse perdido porque no sabe gestionarlos. Nos demostrarán que todos tenemos la capacidad de divulgar, solo que a veces, es necesario un poco de entrenamiento.

## Formulando las preguntas adecuadas para el tratamiento de datos personales en la investigación biomédica

**Imparten:** Guillermo Lazcoz Moratinos [U704], Pilar Nicolás Jiménez [UPV/EHU] y Carmen Ayuso [U704]

El objetivo de este taller es que investigadores e investigadoras sean capaces de formular las preguntas adecuadas sobre el tratamiento de datos personales con fines de investigación, sin necesidad de tener un conocimiento exhaustivo de la normativa. Desde una perspectiva práctica, se trabajarán los conceptos fundamentales del Reglamento General de Protección de Datos y de la Ley Orgánica 3/2018 que desarrolla el tratamiento de los datos de salud en España: los distintos roles que ocupan las personas e instituciones que participan en la investigación (¿qué es un responsable del tratamiento? ¿y un encargado? ¿quién debe estar identificado en un HIP-CI?), los principios generales del tratamiento (¿qué derechos debe mi institución u otras garantizar en base al principio de transparencia? ¿qué implicaciones tiene para mi investigación el principio de minimización de datos?), sus bases legitimadoras (¿es el consentimiento la base adecuada para el tratamiento de datos en mi investigación? ¿puedo realizar un uso secundario de los datos?), las distintas medidas de seguridad y de responsabilidad proactiva (¿qué diferencia hay entre seudonimización y anonimización?, ¿qué es y cuándo debe realizarse una evaluación de impacto de protección de datos?), etc. El desarrollo del taller incluirá la exposición de nuestra experiencia en IMPaCT-Genómica para ilustrar cómo hemos podido alinear las obligaciones ético-legales aplicables a la investigación biomédica con la aplicación de la normativa de protección de datos.

# Resúmenes presentaciones orales

## Sesión Orales 1 – Bases moleculares de la enfermedad

Auditorio 01 - 02 -> jueves 23/03/2023 9:00h

### o01 Utilidad del análisis detallado del fenotipo facial (deep phenotyping) para la identificación clínica de enfermedades raras con base molecular común. El grupo PACS1-PACS2-WDR37 como ejemplo

**Autores:** Ana Latorre Pellicer, Julia del Rincón, María Arnedo, Marta Gil Salvador, Cristina Lucia Campos, Nicole Fleischer, Ariadna Ayerza Casas, Beatriz Puisac Uriol, Juan Pié, Feliciano J. Ramos

**Expone:** Ana Latorre Pellicer - [alatorre@unizar.es](mailto:alatorre@unizar.es)

**Grupo:** GCV02 - Universidad de Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza

El síndrome de Schuurs-Hoeijmakers (SHMS; #615009) es una enfermedad autosómica dominante cuyas características clínicas más relevantes incluyen retraso en el neurodesarrollo, convulsiones y un fenotipo facial distintivo. SHMS está causado por una variante patogénica recurrente de novo del gen PACS1 [NM\_018026.3; c.607C>T, p.[Arg203Trp]]. Debido al bajo conocimiento del mecanismo causal subyacente, se pretende identificar otros síndromes del neurodesarrollo con un fenotipo facial [gestalt] similar, a fin de poder establecer analogías entre las proteínas afectadas. Para ello se realizó un fenotipado clínico detallado de 14 individuos con SHMS, y se analizó la gestalt con el software Face2Gene®. La comparación binaria de este grupo con los individuos ya publicados en la literatura (n=24) usando GestaltMacher, capaz de cuantificar las similitudes entre las caras en función de una red neuronal convolucional, confirmó los rasgos dismórficos faciales característicos del síndrome SHMS. Posteriormente, mediante la combinación de los algoritmos DeepGestalt y GestalMatcher, se realizó un listado de los síndromes similares sugeridos por el programa, analizando la gestalt de cada uno de ellos. La comparación binaria no pudo distinguir entre SHMS y la 'Encefalopatía Epiléptica Infantil tipo 66' causada por alteraciones en el gen PACS2 [DEE66, #618067, PACS2], entre SHMS y el síndrome Neuro-Ocular-Genitourinario asociado con variantes en el gen WDR37 [NOGGUS, #618652], ni entre DEE66 y NOGGUS. Todo ello parece sugerir un posible mecanismo causal compartido entre los trastornos producidos por alteraciones de las proteínas PACS1, PACS2 y WDR37.

### o02 Heterozygous variants in both the N- and C-terminal domains of IHH lead to defective secretion causing short stature and/or brachydactyly

**Autores:** Francisca Diaz-González, Juan José Nuñez, Silvia Modamio-Høybjør, Lucia Sentchordi-Montané, Karen E. Heath

**Expone:** Karen Heath - [kheath71@yahoo.com](mailto:kheath71@yahoo.com)

**Grupo:** U753 - Servicio Madrileño de Salud, Madrid

**Introduction:** Indian hedgehog (IHH) plays a crucial role in endochondral bone development. It is synthesized as a precursor which is translocated to the endoplasmic reticulum and auto-cleaved into the active secreted N-terminal peptide (IHH-N) and a C-terminal peptide (IHH-C), critical for self-cleavage. In humans, IHH-N variants have been associated with Brachydactyly type A1 [AD] and Acrocapitofemoral dysplasia [AR], only three of which have been functionally studied. However, heterozygous IHH variants, majority classified as variants of unknown significance [VUS] are being increasingly identified, by NGS, in individuals with short stature and/or brachydactyly [Vasques et al., 2018; Sentchordi-Montané et al., 2020].

**Aims:** To functionally test IHH VUS variants and to determine whether IHH-C variants are pathogenic.

**Methods:** Ten IHH variants (5 IHH-N, 5 IHH-C) observed in patients with short stature and/or brachydactyly, a positive control and two Wobble variants were introduced into the pCMV6-IHH construct by site-directed mutagenesis and transiently transfected into HEK293T cells. Cultured media and cell lysates were collected and the different IHH peptides were analyzed by western blot.

**Results:** Surprisingly, all 10 mutants showed reduced IHH-N secretion (<50%) and decreased intracellular stability of both, IHH-N and IHH-C peptides compared to wildtype. Wobble variants behaved similar to wildtype.

**Conclusions:** All 10 IHH variants can now be re-classified as pathogenic. Reduced stability and impaired secretion are likely to be the underlying disease mechanism. Importantly, our study provides the first insight into functional consequences of C-terminal variants and highlights the importance of functional studies to confirm the pathogenicity of VUS.

### 003 Research-based flow cytometry assays for pathogenic assessment in the human B-cell biology of gene variants revealed in the diagnosis of inborn errors of immunity

**Autores:** Lucía del Pino Molina, Luz Yadira Bravo Gallego, Yolanda Soto Serrano, Keren Reche Yebra, Jaime Marty Lobo, Berta González Martínez, María Bravo García-Morato, Rebeca Rodríguez Pena, Mirjam van der Burg, Eduardo López Granados

**Expone:** Lucía Del Pino Molina - [ldelpinomolina@gmail.com](mailto:ldelpinomolina@gmail.com)

**Grupo:** U767 - Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Inborn errors of immunity (IEI) are an expanding group of rare diseases whose field has been boosted by next-generation sequencing (NGS), revealing several new entities, expanding the number of atypical presentations and generating uncertainties regarding the pathogenic relevance of several novel variants. Research laboratories that diagnose and provide support for IEI require accurate, reproducible and sustainable phenotypic, cellular and molecular functional assays to explore the pathogenic consequences of human leukocyte gene variants and contribute to their assessment. We have implemented a set of assays that could be applied to explore the pathogenic consequence of sequence variants in Btk or other functional related proteins, by analyzing the phenotype in bone marrow and peripheral blood and to explore Btk functionality with intracellular readouts measurable by flow cytometry in resting cells and after activation. We validated their utility in revealing the pathogenicity of a novel, clinically less severe and immunologically less disturbing R562Q Btk variant, predicted as likely pathogenic but with no previous insights into the protein and cellular effects. The patient presented reduced total B-cell numbers but detectable numbers of memory B-cells and plasma cells expressing distinct immunoglobulin subclasses. The phenotypic analysis of bone marrow (BM) revealed a slightly high percentage of pre-B-I subset. This variant allows Btk expression and normal activation of anti-IgM-induced phosphorylation. Within the canonical NF- $\kappa$ B activation pathway, normal I $\kappa$ Ba degradation occurs after CD40L stimulation. In contrast, disturbed I $\kappa$ Ba degradation and reduced Ca<sup>2+</sup> influx occurs on anti-IgM stimulation, suggesting an enzymatic impairment of the mutated tyrosine kinase domain.

### 004 Modelling Kearns Sayre's Syndrome using patient-derived fibroblasts

**Autores:** Laura Valls-Roca, Judith Cantó-Santos, Ester Tobías, Francesc Josep García-García, Félix Andújar-Sánchez, Laia Farré-Tarrats, Cristina Núñez de Arenas, Joan Padrosa, Raquel Aránega, Pedro J. Moreno-Lozano, José César Milisenda, María Del Mar O'Callaghan, María Teresa García-Silva, Montserrat Morales-Conejo, Rafael Artuch, Miguel Ángel Martín, José M. Cuezva, Josep Maria Grau-Junyent, Mariona Guitart-Mampel, Glòria Garrabou

**Expone:** Laura Valls Roca - [lvalls@recerca.clinic.cat](mailto:lvalls@recerca.clinic.cat)

**Grupo:** U722 - Universidad de Barcelona, Barcelona

Kearns Sayre's Syndrome (KSS) is a rare neuromuscular disorder (OMIM:530000) characterized by the presence of mitochondrial DNA (mtDNA) deletions and compromised cell bioenergetics. To date, KSS has a fatal outcome before the fourth decade of life and there are no biomarkers nor effective therapies, in part due to the lack of models of disease. The objective of this study was to validate fibroblasts from KSS patients to model the disease in a cross-sectional and multicentric study by phenotyping genetic and functional mitochondrial performance in these cells (n=11 KSS vs. 9 sex and age paired controls). In KSS-fibroblasts we observed mtDNA single deletions, as previously described in the muscle of these patients, together with a significant increase of 46.6% [p<0.0001] in lactate secretion. Also, KSS-fibroblasts showed lower 24.6% ATP production from oxidative phosphorylation, 33.1% decreased number of mitochondria (explored by TOMM20 and mtDNA depletion) and 23.1% less interconnected mitochondrial network. These mitochondrial defects were observed despite the upregulation of nuclear MRC proteins, that no further increased MRC enzymatic activity. In conclusion, KSS fibroblasts showed an altered mitochondrial phenotype that prompt the validation of this model as a powerful tool to deep into the underlying mechanisms of the disease and to screen new therapeutic options using lactate as potential biomarker.

**Funding:** ER20PR03ACC13G722 (CIBERER-ISCI), CD21/00019 (ISCI-FSE+), FI22/00142 (ISCI)

## 005 Characterization of Tumor Derived Exosomes (TDEs) in Ewing sarcoma: implications in cell–cell communication and tumor dissemination

**Autores:** Melero-Fernández de Mera R.M., Josa S., Martínez S., Cervera S.T., Seoane P., Montero-Calle A., Rojano E., Córdoba J., López J.A., Barderas R., García-Ranea J.A., Alonso J.

**Expone:** Raquel Melero Fernandez De Mera - [raquel.melero@externos.isciii.es](mailto:raquel.melero@externos.isciii.es)

**Grupo:** U758 - Instituto de Salud Carlos III, Madrid

Ewing sarcoma is a rare, very aggressive cancer that develops in bones. It is characterized by the presence of chimeric transcription factors such as EWSR1::FLI1, which play a central role in tumor development. It has been proposed that variations in EWSR1::FLI1 levels have the ability to modify the cellular phenotype. EWS::FLI1<sup>high</sup> cells will be associated with a more proliferative profile, while EWS::FLI1<sup>low</sup> cells will have enhanced metastatic properties. Tumor-derived exosomes (TDEs) can carry and transfer different types of molecules to recipient cells influencing and modifying their behavior. We think that each of the EWS::FLI1 profiles, EWS::FLI1<sup>high/low</sup>, will be characterized by a specific TDEs secretion. Those will influence the tumor cells themselves, contributing to the formation of a highly proliferative and metastatic tumor, and influencing the behavior of the non-tumor cells present in the microenvironment, and the pre-metastatic niche. To characterize the TDEs composition, we have used the Ewing sarcoma cell model A673/TR/shEF in which EWSR1::FLI1 expression can be down-regulated upon doxycycline stimulation. We have carried out proteomic and miRNA analysis of exosomes isolated from EWSR1::FLI1<sup>high</sup> and EWS::FLI1<sup>low</sup> A673/TR/shEF cells. We have detected a major presence of proteins related with integrin cell surface interactions, and degradation of the extracellular matrix pathways in the EWS::FLI1<sup>low</sup> phenotype. In addition, 24 miRNAs associated to cell-substrate adhesion, angiogenesis and osteoblast differentiation are differentially expressed between both conditions. The characterization of the TDE content will give us a piece of information about the tumor dissemination, contributing to the development of new therapeutic targets.

## 006 Alteraciones moleculares en el gen GALE causan macrotrombocitopenia sindrómica por alteración en la glicosilación y la trombopoyesis

**Autores:** Ana Marín-Quilez, Pedro Ruiz Sala, María Luisa Lozano, Javier Corral, José Rivera, José María Bastida

**Expone:** Ana Marín Quilez - [ana.marin.94@gmail.com](mailto:ana.marin.94@gmail.com)

**Grupo:** U765 - Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia

La glicosilación es un proceso clave para la formación de plaquetas. La enzima UDP-galactosa-4-epimerasa, codificada por GALE, interviene en el metabolismo de la galactosa y la glicosilación de proteínas. Se estudiaron tres pacientes de dos familias no emparentadas con trombocitopenia congénita severa, diátesis hemorrágica, retraso mental, prolapso de la válvula mitral e ictericia. La secuenciación del exoma completo reveló cuatro variantes que afectan a GALE (Pedigrí A: p.Lys78ValfsX32, p.Thr150Met; Pedigrí B: p.Val128Met, p.Leu223Pro). El análisis del fenotipo plaquetario mostró plaquetas gigantes y/o grises y una disminución de la agregación plaquetaria y la secreción de gránulos alfa y densos. La actividad enzimática de la UDP-galactosa-4-epimerasa estaba severamente reducida en todos los pacientes. El análisis de lisados plaquetarios reveló una reducción de los niveles de la proteína GALE, una disminución significativa de N-acetil-lactosamina [LacNAc], demostrando un patrón de hipoglicosilación, una reducción del complejo GPIb-IX-V y de la integrina  $\beta$ 1 madura, y un aumento de la apoptosis. Los estudios in vitro de megacariocitos de pacientes a partir de progenitores hematopoyéticos CD34+ demostraron una ploidía y maduración normales, pero una menor formación de proplaquetas debido a la alteración de la glicosilación y externalización de la GPIba y la integrina  $\beta$ 1 a la membrana de los megacariocitos, causando una alteración del citoesqueleto de actina y de filamina-A. Además, observamos una deslocalización del Factor Von Willebrand en la membrana de los megacariocitos. Por tanto, este estudio demuestra el papel crítico de GALE en la glicosilación fisiológica de proteínas clave implicadas en la producción y función plaquetaria.

## Sesión Orales 2 – Nuevas herramientas de investigación y Nuevos métodos diagnósticos

Sala 04 - 05 -> jueves 23/03/2023 9:00h

### 007 Reposicionamiento de fármacos guiado por machine learning y modelos mecanísticos en enfermedades raras

**Autores:** María Peña-Chilet, Marina Esteban-Medina, Carlos Loucera, Lorena Olivares-González, Regina Rodrigo, Joaquín Dopazo

**Expone:** María Del Carmen Peña Chilet - [mariapch84@gmail.com](mailto:mariapch84@gmail.com)

**Grupo:** U715 - Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla

El conocimiento de los mecanismos de enfermedad y el aumento de datos e iniciativas abiertas, promueve nuevas estrategias racionales de reposicionamiento, guiadas por el conocimiento generado y por la aplicación de métodos de Machine Learning. Estos modelos mecanísticos, que modelizan los mecanismos moleculares del funcionamiento celular, permiten predecir el efecto de intervenciones sobre los componentes del sistema modelizado, y obtener candidatos para el reposicionamiento de fármacos, una estrategia útil en enfermedades raras. Hemos desarrollado una metodología que permite crear mapas de enfermedad y emplea el uso de modelos mecanísticos para predecir, mediante un modelo MORF (Multi-Output Random Forest) y empleando bases de datos con información biológica y clínica, el impacto de las dianas conocidas de fármacos sobre el mapa de la enfermedad. Esta metodología la hemos aplicado de manera racional a retinosis pigmentaria (RP), obteniendo 106 dianas de fármacos con relevancia, de 707 analizados, de los cuales realizamos una selección funcional de 25 y validamos la implicación de 6 genes diana en modelos de ratón. Además, nos permite aplicarla de manera masiva a aquellas enfermedades de las que existan genes responsables conocidos con impacto en alguna ruta de señalización modelable mecanísticamente. De este modo, hemos obtenido fármacos candidatos para el reposicionamiento en 30 tumores raros. Esta herramienta permite obtener, con un enfoque mecanístico, una lista de fármacos y sus dianas para el reposicionamiento racional de fármacos en enfermedades raras, especialmente útil cuando la incidencia de una enfermedad es muy baja o se tiene poco conocimiento biológico de la misma.

### 008 Secuenciación de lecturas largas basada en nanoporos para mejorar caracterización genética de enfermedades raras oculares

**Autores:** Marta Corton, Gonzalo Núñez-Moreno, Alejandra Damián, Cristina Rodilla, Alejandra Tamayo, Irene Perea-Romero, Carolina Sánchez, Lidia Fernández-Caballero, Claire Jubin, Marta Rodríguez de Alba, Inmaculada Martín-Mérida, Almudena Ávila-Fernández, Berta Almoguera, José María Millán, Jean François Deleuze, Pablo Mínguez, Carmen Ayuso

**Expone:** Marta Corton Pérez - [mcorton@quironsalud.es](mailto:mcorton@quironsalud.es)

**Grupo:** U704 - Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Las nuevas técnicas de secuenciación de lecturas largas (LRS, long-read sequencing) presentan gran potencial para mejorar el diagnóstico genético de las enfermedades raras (ER). En este trabajo, expondremos nuestra experiencia con la secuenciación por nanoporos adquirida en los dos últimos años gracias al estudio de >40 casos sin diagnóstico genético con distintas aproximaciones metodológicas. Su uso en el análisis del genoma completo (WGS) nos ha permitido identificar variantes estructurales (SVs) crípticas no detectadas previamente por secuenciación con lecturas cortas en pacientes con aniridia congénita, entre otros ejemplos. Además, la LRS ha facilitado la caracterización de puntos de ruptura de distintas SVs en pacientes con distrofias hereditarias de retina (DHR) mediante WGS y/o secuenciación dirigida. Por otro lado, su uso combinado con CRISPR/Cas9 para la captura de locus completos de DHR permite una rápida evaluación y a tiempo real de variantes intrónicas y SVs en paciente monoalélicos para genes recesivos, siendo un análisis más asequible y con menor probabilidad de identificar hallazgos inesperados en comparación con las aproximaciones basadas en WGS. Por último, hemos desarrollado una nueva herramienta bioinformática (VISO-QLR) que facilita el análisis de patrones complejos de splicing mediante LRS. Su aplicación al análisis de minigenes multiexónicos nos ha permitido determinar de forma rápida las consecuencias de >30 variantes sobre el splicing del gen PAX6. Nuestro trabajo refleja la gran flexibilidad del uso de LRS para el diagnóstico de ER con ventajas para la detección y caracterización de SVs complejas en regiones repetitivas y otras variantes en regiones no codificantes.

## 009 Identification of molecular signatures and pathways involved in Rett syndrome using a multi-omics approach

**Autores:** Ainhoa Pascual-Alonso, Clara Xiol, Dmitrii Smirnov, Robert Kopajtich, Holger Prokisch, Judith Armstrong

**Expone:** Judith Armstrong - [judith.armstrong@sjd.es](mailto:judith.armstrong@sjd.es)

**Grupo:** U703 - Fundación para la Investigación y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona

**Background:** Rett syndrome (RTT) is a neurodevelopmental disorder mainly caused by mutations in the methyl-CpG-binding-protein-2 gene (*MeCP2*). *MeCP2* is a multifunctional protein involved in many cellular processes, but the mechanisms by which its dysfunction causes disease are not fully understood. The duplication of *MeCP2* is the cause of a different disorder, *MeCP2* duplication syndrome (MDS). There are patients with an overlap phenotype with RTT and mutations in genes other than *MeCP2* (RTT-like). The purpose of this study was to characterize the molecular alterations in patients with RTT in order to identify potential biomarkers or therapeutic targets for this disorder.

**Methods:** We used a combination of transcriptomics (RNAseq) and proteomics (TMT-mass spectrometry) to characterize the expression patterns in fibroblast cell lines from 22 patients with RTT-*MeCP2*, 15 patients with MDS, 12 patients with RTT-like phenotypes and 13 healthy controls.

**Results:** We identified molecular alterations in cellular functions and pathways that may contribute to the disease phenotype in patients with RTT, such as deregulated cytoskeletal components, vesicular transport elements, ribosomal subunits and mRNA processing machinery. We compared RTT expression profiles with MDS seeking changes in opposite directions that could lead to the identification of *MeCP2* direct targets. Some of the deregulated transcripts and proteins were consistently affected in patients with RTT-like phenotypes, revealing potentially relevant molecular processes in patients with overlapping traits and different genetic aetiology.

**Conclusions:** The integration of data in a multi-omic analysis has helped to interpret the molecular consequences of *MeCP2* dysfunction, contributing to the characterisation of the molecular landscape in patients with RTT.

**Keywords:** Rett syndrome, *MeCP2* duplication syndrome, Rett-like phenotypes, Multi-omics, Transcriptomics, Proteomics, Differential expression.

## 010 Paneles de genes candidatos como herramienta para la identificación de nuevos genes asociados a hipoacusia autosómica dominante

**Autores:** Matías Morín, María Lachgar, Lucia Soletto, Miguel Angel Moreno Pelayo

**Expone:** Miguel Angel Pelayo - [mopelayo@hotmail.com](mailto:mopelayo@hotmail.com)

**Grupo:** U728 - Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Las hipoacusias hereditarias (HH) son genéticamente muy heterogéneas con más de 150 genes descritos. Pese al elevado número de genes ya identificados, todavía queda un número elevado de casos de HH sin diagnóstico genético, que alcanza el 25% y el 60% de los casos de herencia autosómica recesiva (HHAR) y dominante (HHAD), respectivamente. En este trabajo hemos aplicado la combinación de NGS y selección de genes candidatos para la búsqueda de nuevos genes asociados a HHAD. Se han seleccionado 15 genes candidatos en base a la existencia de modelos de ratón con pérdida auditiva, genes que se expresan en oído interno y el mapeo en loci de HHAD ya identificados. Este panel se aplicó a 72 casos de HHAD con resultado negativo tras análisis con OTO-NGS-panel V1/V2. En 17 casos se han obtenido variantes candidatas con potencial patogenicidad: 14 missense, 1 splicing, 1 stop gain, 1 frameshift. Las variantes finalmente seleccionadas se han identificado en genes que codifican [1] proteínas de unión a actina: p.(Glu269Lys) en PLS1, que ha sido también descrita en otras familias con HHAD y p.(Lys1125Gln) en XIRP2 que mapea en los intervalos críticos de DFNA16 y DFNA17 y cuyo ratón KO muestra acortamiento de estereocilios; [2] p.(Tyr525Cys) en USP31, una proteína relacionada con ubiquitina; y [3] p.(Arg263Trp) en el canal de potasio KCNK5, cuyo KO muestra potenciales endococleares alterados. Los datos obtenidos indican que la aproximación por paneles de genes candidatos es una estrategia coste-efectiva como alternativa a WES para la identificación de nuevos genes de hipoacusia.

## o11 Diagnosis implications of uniparental disomy in rare diseases and its detection through exome or genome sequencing data

**Autores:** Marta Sevilla Porras, Carlos Ruiz-Arenas, Carla Dies Curia, Raquel Flores-Peirats, Gemma Bullich, Aurora Pujol, Agatha Schluter, Judith Armstrong, Irene Valenzuela, Antonia Ribes, Frederic Tort, Luis A Pérez-Jurado

**Expone:** Marta Sevilla Porras - [martasevillaporras@gmail.com](mailto:martasevillaporras@gmail.com)

**Grupo:** U735 - Universidad Pompeu Fabra, Barcelona

A highly percentage of patients with rare diseases remain undiagnosed, as no candidate genetic defects are able to explain its condition. Rare disease can be explained by unusual inheritance patterns, such as uniparental disomy (UPD). Uniparental disomy (UPD) is a rare genetic condition in which an individual inherits both copies of a chromosome from one parent instead of one copy from each parent. Its role as a causative factor in rare genetic diseases is still largely unexplored. UPDs can result in disease either by inheriting a carrier pathogenic mutation as homozygous from a carrier parent or by producing imprinting errors. However, UPDs can also have an opposite role by selecting the more functional allele in a given mutated locus, then acting as a protective mechanism against disease development. In this job, we present different examples of UPDs in different clinical situations. Each of them have a different impact on the disease underneath, such as hematologic disorders or neurodevelopmental disorder. Furthermore, we developed a computational tool for the evaluation of these events in exome and genome sequencing data. In conclusion, this study highlights the importance of exploring UPDs events as it can be a relevant mechanism in undiagnosed rare diseases and also the importance of a good characterization of their either protective or detrimental role, in order to better define the risk and prognosis of disease and the molecular mechanisms involved.

## o12 Validación funcional en células humanas de nuevas herramientas CRISPR-Cas de edición genética obtenidas de lugares y tiempos remotos

**Autores:** Almudena Fernández, Yolanda Benítez, Borja Alonso-Lerma, Ylenia Jabalera, Belén Esquerra-Ruvira, Matías Morín, Julia Fernández, Marta Cantero, Gema Garrido, Inés Arroba, Miguel Ángel Moreno Pelayo, Francisco JM Mojica, Raúl Pérez Jiménez, Lluís Montoliu

**Expone:** Almudena Fernández López - [afernandez@cnb.csic.es](mailto:afernandez@cnb.csic.es)

**Grupo:** U756 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

La mayoría de aplicaciones derivadas del uso de las herramientas CRISPR-Cas9 de edición genética utilizan los componentes del sistema de defensa de dos bacterias patógenas para los seres humanos: *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*. El uso de nucleasas Cas9 de estos dos microorganismos choca con la existencia de respuesta inmunitaria frente a ellas (anticuerpos y linfocitos T) en la mayoría de las personas. Por eso es necesario identificar y caracterizar sistemas CRISPR-Cas que tengan poca o ninguna relación con nosotros. Nuestro grupo ha participado en dos estudios, liderados respectivamente por Francisco JM Mojica [1] y por Raúl Pérez-Jiménez [2] validando en células humanas en cultivo sobre genes cuyas mutaciones causan la enfermedad rara del albinismo, nuevas nucleasas similares a Cas9 obtenidas de dos fuentes distintas. En primer lugar, una Cas9 obtenida de un medio natural, el parque natural de El Hondo, en la provincia de Alicante [1]. Y en segundo lugar, proteínas Cas ancestrales, inferidas mediante un estudio filogenético a partir de múltiples Cas actuales de bacterias más o menos evolutivamente relacionadas y la aplicación de un algoritmo de máxima verosimilitud. Estas Cas ancestrales pudieron haber existido en bacterias que habitaron este planeta hace 37, 137, 200, 1000 y hasta 2600 millones de años [2]. En ambas aproximaciones hemos transfectado las nuevas proteínas Cas a células humanas en cultivo y hemos comprobado que siguen funcionando como verdaderas herramientas de edición genética, promoviendo la edición de dos genes que estudiamos en nuestro laboratorio y cuyas mutaciones causan diferentes tipos de una enfermedad rara, el albinismo. Estas nuevas herramientas podrán ahora validarse en sistemas más complejos (modelos animales) antes de plantear su posible utilización posterior en ensayos clínicos y eventuales tratamientos de enfermedades congénitas.

1. Esquerra-Ruvira B, Baquedano I, Ruiz R, Fernandez A, Montoliu L, Mojica FJM. Identification of the EH CRISPR-Cas9 system on a metagenome and its application to genome engineering. bioRxiv, 1 nov 2022: doi: <https://doi.org/10.1101/2022.10.31.514646>

2. Alonso-Lerma B, Jabalera Y, Samperio S, Morin M, Fernandez A, Hille LT, Silverstein RA, Quesada-Ganuza A, Reifs A, Fernández-Peñalver S, Benitez Y, Soletto L, Gavira JA, Diaz A, Vranken W, Sanchez-Mejias A, Güell M, Mojica FJM, Kleinstiver BP, Moreno-Pelayo MA, Montoliu L, Perez-Jimenez R. Evolution of CRISPR-associated endonucleases as inferred from resurrected proteins. Nat Microbiol. 2023 Jan;8(1):77-90.



## Sesión Orales 3 – Bases moleculares de la enfermedad

Auditorio 01 - 02 -> jueves 23/03/2023 14:30h

### o13 A Novel Splicing Mutation in the ACVRL1/ALK1 Gene as a Cause of HHT2

**Autores:** Laura Lorente, Lucía Recio-Poveda, Mercedes Peñalva, Julián Pérez-Pérez, Virginia Albiñana, Angel M Cuesta, Luisa-María Botella

**Expone:** Luisa María Botella Cubells - [cibluisa@cib.csic.es](mailto:cibluisa@cib.csic.es)

**Grupo:** U707 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia (HHT) is a rare disorder of vascular development. Common manifestations include epistaxis, telangiectasias and arteriovenous malformations in multiple organs. Different deletions or nonsense mutations have been described in the ENG (HHT1) or ACVRL1/ALK1 (HHT2) genes, all affecting endothelial homeostasis. A novel mutation in ACVRL1/ALK1 has been identified in a Peruvian family with a clinical history compatible to HHT. Subsequently, 23 DNA samples from oral exchanges (buccal swaps) of the immediate family members were analyzed together with their clinical histories. A routine cDNA PCR followed by comparative DNA sequencing between the founder and another healthy family member showed the presence of the aforementioned specific mutation. The single mutation detected (c.525 + 1G > T) affects the consensus splice junction immediately after exon 4, provokes anomalous splicing and leads to the inclusion of intron IV between exons 4 and 5 in the ACVRL1/ALK1 mRNA and, therefore, to ALK1 haploinsufficiency. Complete sequencing determined that 10 of the 25 family members analyzed were affected by the same mutation. Notably, the approach described in this report could be used as a diagnostic technique, easily incorporated in clinical practice in developing countries and easily extrapolated to other patients carrying such a mutation.

### o14 TNF and IL6/Jak2 signaling pathways are the main contributors of the glia-derived neuroinflammation present in Lafora disease, a fatal form of progressive myoclonus epilepsy

**Autores:** María Teresa Rubio López, Mireia Moreno Estellés

**Expone:** María Teresa Rubio López - [trubio@ibv.csic.es](mailto:trubio@ibv.csic.es)

**Grupo:** U742 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia/València

Lafora disease (LD; OMIM#254780) is a rare form of progressive myoclonus epilepsy (prevalence <1:1,000,000) characterized by the accumulation of insoluble deposits of aberrant glycogen (polyglucosans), named Lafora bodies, in the brain but also in peripheral tissues. LD is the most severe form of the group of progressive myoclonus epilepsies, since patients present a rapid deterioration and dementia with amplification of seizures, leading to death after a decade from the onset of the first symptoms. We have recently described that reactive glia-derived neuroinflammation should be considered a novel hallmark of LD since we observed a florid upregulation of differentially expressed genes in both LD mouse lines, which were mainly related to mediators of inflammatory response. In this work, we define an upregulation of the expression of mediators of the TNF and IL6/JAK2 signaling pathways in LD. In addition, we describe the activation of the non-canonical form of the inflammasome. Furthermore, we describe the infiltration of peripheral immune cells in the brain parenchyma, which could aggravate glia-derived neuroinflammation. Finally, we describe CXCL10 and S100b as blood biomarkers of the disease, which will allow the study of the progression of the disease using serum blood samples. We consider that the identification of these initial inflammatory changes in LD will be very important to implement possible anti-inflammatory therapeutic strategies to prevent the development of the disease.

## o15 Characterization of a novel Type I Interferonopathy due to a de novo NCOR2 mutation and development of zebrafish models for personalized medicine

**Autores:** Alicia Martínez López, Francisco J. Martínez-Morcillo, Haleh Nikzamir, Beatriz Bernal, Joaquín Cantón-Sandoval, Isabel Cabas Sánchez, Teresa Martínez-Menchón, Pablo Mesa del Castillo, María L. Cayuela, Diana García-Moreno, Victoriano Mulero

**Expone:** Diana García Moreno - [dianagm@um.es](mailto:dianagm@um.es)

**Grupo:** U768 - Universidad de Murcia, Murcia

Type I Interferonopathies are a heterogenic group of rare diseases associated with an increase of type I interferon (IFN). We present a case of severe early onset autoinflammatory syndrome characterized by cutaneous lesions of vasculitis that evolved to necrosis of the fingers, nose and ears and intracranial calcifications. The patient's WES did not reveal mutations in genes described for autoimmune diseases. However, a scRNA analysis of the patient's peripheral blood leukocytes (PBLs) showed an interferon signature, being neutrophils and monocytes, the cells expressing higher levels of interferon-stimulated genes (ISGs). The Trio-WES revealed a de novo mutation in the transcriptional factor NCOR2 [p.V1904I], which has been demonstrated to repress the transcription factor IRF7, an inducer of Type I IFN, through the recruitment of the histone deacetylase 3 to its promoter. PBLs from the patient have high transcript levels of IRF7, suggesting that the mutation found in NCOR2 could be affecting to the complex formation necessary to repress the expression of IRF7. Moreover, the patient cells were more sensitive to the stimulation with IFNB than control cells and pharmacological inhibition of histone acetyl transferase restored basal IRF7 transcript levels, reinforcing the theory that the negative feedback loop of IRF7 is altered. Recently, we found a second patient with the same phenotype that also presented a mutation in NCOR2 [p.Arg1352His]. Strikingly, both NCOR2 variants failed to negatively regulate ISG expression. Finally, we developed several zebrafish models of interferonopathy to characterize the phenotype and to perform fast and high throughput drug screenings.

## o16 Dystrophinopathy Phenotypes and Modifying Factors in DMD Exon 45–55 Deletion

**Autores:** Javier Poyatos-García, Pilar Martí, Alessandro Liquori, Nuria Muelas, Inmaculada Pitarch, Luis Martínez-Dolz, Benjamín Rodríguez, Lidia González-Quereda, Roger Vilchez, Lorena Forés, Inmaculada Azorín, Pia Gallano, Teresa Sevilla, Juan Jesús Vilchez, Grupo español de estudio de distrofinopatías

**Expone:** M<sup>a</sup> Pilar Marti Martinez - [mapifres@gmail.com](mailto:mapifres@gmail.com)

**Grupo:** U763 - Fundación para la Investigación del Hospital Universitario y Politécnico la Fe de la Comunidad Valenciana, Valencia/València

**Objective:** Duchenne muscular dystrophy (DMD) exon 45–55 deletion (del45–55) has been postulated as a model that could treat up to 60% of DMD patients, but the associated clinical variability and complications require clarification. We aimed to understand the phenotypes and potential modifying factors of this dystrophinopathy subset.

**Methods:** This cross-sectional, multicenter cohort study applied clinical and functional evaluation. Next generation sequencing was employed to identify intronic breakpoints and their impact on the Dp140 promotor, intronic long noncoding RNA, and regulatory splicing sequences. DMD modifiers (SPP1, LTBP4, ACTN3) and concomitant mutations were also assessed. Haplotypes were built using DMD single nucleotide polymorphisms. Dystrophin expression was evaluated via immunostaining, Western blotting, reverse transcription polymerase chain reaction (PCR), and droplet digital PCR in 9 muscle biopsies.

**Results:** The series comprised 57 subjects [23 index] expressing Becker phenotype [28%], isolated cardiopathy [19%], and asymptomatic features [53%]. Cognitive impairment occurred in 90% of children. Patients were classified according to 10 distinct index-case breakpoints; 4 of them were recurrent due to founder events. A specific breakpoint [D5] was associated with severity, but no significant effect was appreciated due to the changes in intronic sequences. All biopsies showed dystrophin expression of >67% and traces of alternative del45–57 transcript that were not deemed pathogenically relevant. Only the LTBP4 haplotype appeared associated the presence of cardiopathy among the explored extragenic factors.

**vv:** We confirmed that del45–55 segregates a high proportion of benign phenotypes, severe cases, and isolated cardiac and cognitive presentations. Although some influence of the intronic breakpoint position and the LTBP4 modifier may exist, the pathomechanisms responsible for the phenotypic variability remain largely unresolved.

## o17 Generación de organoides cerebrales del síndrome de Schaaf-Yang

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

**Expone:** Aina Prat Planas - [aina.prat98@gmail.com](mailto:aina.prat98@gmail.com)

**Grupo:** U720 - Universidad de Barcelona, Barcelona

El síndrome de Schaaf-Yang (SYS) es una enfermedad ultrarrara del neurodesarrollo causada por mutaciones truncantes en MAGEL2, un gen de la región delecionada en el síndrome de Prader-Willi. Los rasgos clínicos más habituales del SYS incluyen: retraso del neurodesarrollo, trastornos del sueño, contracturas articulares y dismorfia facial. Un obstáculo importante para estudiar los trastornos del neurodesarrollo es la dificultad de obtener modelos de células humanas relevantes, como por ejemplo las neuronas. El objetivo del proyecto M.BRAIN es modelizar el SYS para elucidar las bases celulares de la patología mediante la generación de iPSC de pacientes para su posterior derivación a organoides cerebrales. En este trabajo hemos generado iPSC derivadas de fibroblastos de 4 líneas de pacientes SYS y 2 controles mediante una reprogramación no integrativa basada en mRNA. Para la caracterización de las iPSC se ha verificado la identidad, estabilidad genómica y pluripotencia de cada línea a través de diversas técnicas que incluyen, entre otras, la formación de cuerpos embrioides y posterior diferenciación a las tres capas embrionarias y el análisis de marcadores de pluripotencia por qPCR e inmunocitoquímica. Usando una línea de iPSC de paciente hemos generado organoides cerebrales corticales y ventrales siguiendo una adaptación de protocolos ya descritos. Asimismo, hemos creado una macro de ImageJ que nos ha permitido hacer una caracterización morfométrica de los organoides de forma automatizada. Con estos organoides se están haciendo estudios de inmunohistoquímica a distintos time-points y se usarán para generar asembloides ventrales-corticales y así estudiar la migración neuronal.

## o18 Hacia la comprensión del déficit de N-acetil-L-glutamato sintasa (NAGS) mediante la determinación estructural del metabolon de levadura NAGS-NAGK

**Autores:** Clara Marco-Marín, María Luisa López-Redondo, Nadine Gougeard, Segio de Cima, Carolina Espinosa, José Luis Llácer, Vicente Rubio

**Expone:** Clara Marco Marín - [cmarco@ibv.csic.es](mailto:cmarco@ibv.csic.es)

**Grupo:** U739 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia/València

El déficit de N-acetil-L-glutamato sintasa (NAGS), enfermedad del ciclo de la urea curable administrando N-carbamilglutamato, presenta retos de 1) discriminación de mutaciones patogénicas y variantes triviales; 2) comprensión de la activación de NAGS por arginina (relevante clínicamente) y de su intermitencia; 3) establecimiento del mecanismo de su extraordinaria inestabilidad y tendencia a desnaturalizarse por adhesión a superficies; 4) descubrimiento de formas de estabilización que permitan identificar mutaciones desestabilizantes. Un escollo para abordar estos retos es la falta de información molecular y estructural precisa sobre la NAGS humana o de vertebrados. Su adhesión a superficies y rápida inactivación, sugieren su asociación en mitocondria a proteínas estabilizadoras. La NAGS animal presenta diferencias tan importantes con las NAGSs bacterianas (enzimas estables) que los genes de las NAGSs de ratón y humana solo pudieron identificarse cuando se identificó la primera secuencia NAGS de un eucariota, la levadura *Sacharomyces cerevisiae*, con la que sí presentan clara identidad de secuencia. La NAGS de levadura es también inestable, no pudiendo producirse sin otra enzima que la co-estabiliza, N-acetilglutamato quinasa, con la que forma un metabolón. Hace 10 años determinamos la estructura cristalina de la NAGK de levadura. Ahora, usando criomicroscopía electrónica, hemos determinado la estructura de la NAGS de levadura formando parte del metabolon con la NAGK. La estructura [resolución, hasta 2.7Å] arroja potente luz sobre la NAGS eucariótica/humana y sobre sus determinantes de estabilización, que esperamos nos ayuden a la obtención de la estructura de la NAGS humana. Ayuda de la Fundación Ramón Areces [CIVP-20A6610]

## Sesión Orales 4 – Nuevas terapias

Sala 04 - 05 -> jueves 23/03/2023 14:30h

### o19 RNA interference as a substrate reduction gene therapy strategy for lysine catabolism diseases

**Autores:** Eulàlia Segur-Bailach, Anna Mateu-Bosch, Frederic Tort, Antònia Ribes, Judit García-Villoria, Cristina Fillat

**Expone:** Eulàlia Segur Bailach - [seguri@recerca.clinic.cat](mailto:seguri@recerca.clinic.cat)

**Grupo:** U716 - Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Barcelona

Glutaric aciduria (GA1) and pyridoxine-dependent epilepsy (PDE) are two inherited disorders caused by enzymatic defects in the lysine catabolism pathway. Both are characterized by the accumulation of toxic metabolites in the central nervous system. Currently, the available treatment consists on dietary restriction of lysine complemented with carnitine in GA1 or pyridoxine in PDE. Unfortunately, neither treatment fully prevents the neurological injury. In this study we propose a gene therapy strategy consisting in the silencing of the first enzyme of the lysine degradation pathway, the alpha-aminoacidic semialdehyde synthase (AASS), as a common therapeutic approach for GA1 and PDE. The blockade of this pathway should allow the reduction of the accumulation of neurotoxic metabolites. We developed an interfering RNA (iRNA)-based therapeutics using adeno-associated viruses [AAV] targeting AASS transcripts. Ex vivo validation in human and mouse cell lines showed a reduction of AASS protein expression and enzymatic activity, slowing down the catabolism of lysine. In vivo assays in GA1 mouse models receiving AAV-iAASS, showed good AAV biodistribution and AASS inhibition in striatum, the main brain structure affected in GA1. Results on the functional impact of this therapy will be presented and compared to an AAV-GCDH enzyme replacement therapy. Our results suggest that AAV-iRNA against AASS is an attractive substrate reduction therapeutic strategy for GA1 and PDE.

### o20 An SPM-Enriched Marine Oil Supplement Shifted Microglia Polarization toward M2, Ameliorating Retinal Degeneration in rd10 Mice

**Autores:** Lorena Olivares González, Sheyla Velasco, Idoia Gallego, Marina Esteban Medina, Gustavo Puras, Carlos Loucera, Alicia Martínez Romero, María Peña Chilet, Daira Valencia, José Luis Pedraz, Regina Rodrigo

**Expone:** Regina Rodrigo Nicolás - [regina.rodrigo@yahoo.es](mailto:regina.rodrigo@yahoo.es)

**Grupo:** U755 - Fundación para la Investigación del Hospital Universitario y Politécnico la Fe de la Comunidad Valenciana, Valencia/València

Retinitis pigmentosa (RP) is the most common inherited retinal dystrophy causing progressive vision loss. It is accompanied by a chronic and sustained inflammation, including M1 microglia activation. The study evaluated the effect of LIPINOVA<sup>®</sup>, a supplement containing specialized pro-resolving mediators (SPMs), on retinal degeneration and microglia activation in rd10 mice, model of RP, as well as on LPS-stimulated BV2 cells. LIPINOVA<sup>®</sup> was orally administered to mice from postnatal day (PD)9 to PD18. At PD18, retinal function was examined by electroretinography (ERG) and measuring innate behaviors to the light. Retinal degeneration was studied by histology including TUNEL assay and microglia immunolabeling. Microglia polarization (M1 and M2) was assessed by flow cytometry, qPCR, ELISA and histology. Redox status was analyzed by measuring antioxidant enzymes and markers of oxidative damage. LIPINOVA<sup>®</sup> ameliorated retinal dysfunction and degeneration by improving ERG recording, sensitivity to light and reducing photoreceptor cell loss. LIPINOVA<sup>®</sup> reduced inflammation and microglia activation attenuating M1 markers as well as inducing a shift to M2 phenotype in rd10 retinas and LPS-stimulated BV2 cells. It also reduced oxidative stress markers of lipid peroxidation and carbonylation. These findings could open new therapeutic opportunities based on resolving inflammation with oral supplementation of SPMs such as LIPINOVA<sup>®</sup>. It was a multidisciplinary research study involving members of two units of the CIBERER (U715 and U755) as well as the CIBER-BBN.

## o21 **Lentiviral-mediated correction of telomeroopathy-associated phenotypes in gene edited human hematopoietic progenitors with pathogenic mutations in DKC1 and TERC**

**Autores:** Néstor W. Meza, Diego Llorente-Arroyo, M. Luz Lozano, Leandro Sastre, Rosario Perona, Juan A. Bueren, Guillermo Güenechea

**Expone:** Néstor Wenceslao Meza - [nestorwmeza@gmail.com](mailto:nestorwmeza@gmail.com)

**Grupo:** U710 - Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid

Telomere biology disorders (TBDs) are caused by impaired telomere maintenance. Critically short telomeres limit the replicative cell capacity, leading to reduced tissue renewal. TBDs are characterized by cancer predisposition and multiorgan system complications, including organ failure and/or fibrosis. Progressive bone marrow failure (BMF) is the most common life-threatening complication, affecting up to 80% of patients with dyskeratosis congenita (DC). Classical DC is caused by autosomal and X-linked mutations on telomere maintenance-associated genes. The curative treatment for the BMF of these patients is bone marrow transplantation. However, the poor outcomes of transplanted patients make necessary the development of alternative therapies. To evaluate the efficacy of lentiviral vectors expressing DKC1 and TERC genes to keep telomere homeostasis, we first generated gene-edited CD34+ cells harboring DKC1 and TERC recognized mutations (DC-like CD34+ cells). Thereafter, telomere length and expansion rates were then evaluated ex vivo, either on untransduced and transduced DC-like CD34+ cells. Compared to healthy CD34+, DC-like CD34+ cells showed accelerated telomere attrition and reduced ex vivo expansion. Remarkably, transduction with the respective therapeutic vectors restored telomere length dynamic, as well as the ex vivo expansion of DC-like progenitor cells. Our next steps will consist of efficacy evaluation of lentiviral-mediated gene therapy in DC-like CD34+ cells after transplantation into immunodeficient mice. Additionally, gene therapy will be tested in lymphoblastic cell lines and hematopoietic stem cells from DC patients. These results initiate a pathway for building strategies to be used as alternative therapies for DC patients.

## o22 **Terapia génica en la enfermedad de Lafora**

**Autores:** Luis Zafra-Puerta, Daniel F. Burgos, Nerea Iglesias-Cabeza, Gema Sánchez-Martín, Marina P. Sánchez, José M. Serratos

**Expone:** Luis Zafra Puerta - [luis.zafra@quironsalud.es](mailto:luis.zafra@quironsalud.es)

**Grupo:** U744 - Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

**Introducción:** La enfermedad de Lafora es una forma rara y letal de epilepsia mioclónica progresiva causada por mutaciones en los genes EPM2A y EPM2B, que codifican laforina y malina. Estas mutaciones producen un glucógeno aberrante, insoluble, que precipita formando el principal marcador histopatológico de la enfermedad, los cuerpos de Lafora. Los principales síntomas son deterioro cognitivo y motor, mioclonías y crisis epilépticas, que aparecen durante la adolescencia viéndose agravados hasta causar la muerte entre 5 y 15 años desde su aparición. El uso y mejora de la terapia génica como tratamiento para enfermedades raras está creciendo, siendo los virus adeno-asociados recombinantes (rAAV) uno de los vectores más ventajosos.

**Objetivos:** Evaluar la eficacia in vivo de nuestra terapia con rAAV-transgeneX como tratamiento en un ratón knock-out Epm2a-/- modelo de la enfermedad de Lafora. **Métodos.** Los rAAV-tansgeneX se administraron mediante inyección intracerebroventricular a los 3 meses de edad. La eficacia fue evaluada a los 6 y 12 meses de edad mediante test motores y cognitivos y el estudio del fenotipo epiléptico. También se realizaron pruebas histopatológicas para analizar la presencia de neurodegeneración, neuroinflamación y cuerpos de Lafora.

**Resultados:** Los ratones tratados con rAAV-tansgeneX mejoraron a nivel cognitivo y motor, la hiperexcitabilidad neuronal disminuyó, y descendió la astrogliosis y la formación de cuerpos de Lafora.

**Conclusión:** La administración de rAAV-tansgeneX mostró efectos beneficiosos en el modelo Epm2a-/- . Nuestros resultados apoyan el desarrollo de una terapia génica basada en el uso de rAAVs como tratamiento para pacientes con enfermedad de Lafora.

**023 La acción antiinflamatoria de las células madre mesenquimales de médula ósea (MSC-MO) en epidermólisis bullosa distrófica recesiva (EBDR) está mediada por la disminución de citoquinas de daño tisular MCP1, sCD40L y TNF $\alpha$  y su impacto en las poblaciones linfocíticas circulantes (PBLs)**

**Autores:** M<sup>a</sup> del Carmen de Arriba, Rosa Sacedón Ayuso, Eva Jiménez Pérez, Rocio Maseda Pedrero, Lucía Martínez-Santamaría, Nora Butta, Sara Herráiz Gil, Nuria Illera Esteban, Lucía Quintana Castanedo, Isabel Rosales Martínez, M<sup>a</sup> Eugenia Fernández Santos, Raúl de Lucas Laguna, Marcela del Río Nechaevsky, Carlos León Canseco, Ángeles Vicente López, M<sup>a</sup> José Escámez Toledano

**Expone:** María José Escámez Toledano - [mescamez@ing.uc3m.es](mailto:mescamez@ing.uc3m.es)

**Grupo:** U714 - Universidad Carlos III, Madrid

La EBDR es una genodermatosis rara con deficiencia de colágeno VII, daño mucocutáneo, inflamación, infecciones bacterianas, picor, dolor y elevada prevalencia de cáncer precoz. En 4 ensayos clínicos (EC) el tratamiento sistémico con MSC-MO resultó seguro, con eficacia temporal y variable. Nuestro objetivo es conocer los eventos involucrados en la respuesta al tratamiento sistémico con MSC-MO y la variabilidad de su eficacia mediante el análisis de PBLs, niveles de citoquinas circulantes y expresión génica cutánea. En el EC-NCT04153630, se estudiaron 8 pacientes con EBDR, mutaciones bialélicas nulas en COL7A1, trastorno grave [EBDASI>107] y perfiles proinflamatorio e inmunosuprimido basales (elevada proteína C reactiva y citoquinas); divididos en altos (variaciones significativas >2 parámetros clínicos) y bajos respondedores. La disminución de MCP1, TNF $\alpha$  y sCD40L correlacionó significativamente entre alta y baja respuesta. Asimismo, se redujeron significativamente las células-T CD8 memoria circulantes (más notable y homogéneamente en la baja respuesta). El significativo descenso del porcentaje de linfocitos-T CD4+ y CD8+ circulantes con tropismo a piel (CLA+) se mantuvo tras el tratamiento. La significativa reducción del porcentaje de monocitos-CLA+ circulantes se recuperó preferentemente en la alta respuesta [80% vs 33%], correlacionando con los niveles de expresión génica de MCP1 en piel. Finalmente, el 87% presentó elevado número de neutrófilos circulantes en condición basal [detectándose una subpoblación compatible con granulocitos inmaduros] que desaparecía a corto/largo plazo. En conclusión, determinar el estatus basal inmunológico en EBDR permitiría diseñar intervenciones terapéuticas personalizadas. La acción terapéutica de las MSC-MO induce una disminución de la inflamación, MCP1, sCD40L y TNF $\alpha$ , acompañada de la recuperación de monocitos con tropismo a piel y de granulocitos inmaduros circulantes; indicando que dichas moléculas podrían considerarse marcadores de respuesta al tratamiento.

**024 Edición Génica del Gen FXN mediante el Sistema CRISPR/Cas9 en Linfocitos de pacientes con Ataxia de Friedreich**

**Autores:** Carmen Aguado, Laura R. Rodríguez, Salvador Martí, Vicent Beltrán, Luis Bataller, Raquel Baviera, Federico Pallardó, Pilar González-Cabo.

**Expone:** M<sup>a</sup> Pilar González Cabo - [Pilar.Gonzalez-Cabo@uv.es](mailto:Pilar.Gonzalez-Cabo@uv.es)

**Grupo:** U733 - Universidad de Valencia, Valencia/València

La ataxia de Friedreich [FRDA] es una enfermedad rara neurodegenerativa causada por la expansión de una repetición de un triplete GAA localizado en el gen FXN que codifica para una proteína denominada frataxina. Existe una relación directa entre el tamaño de la expansión y la edad de inicio de la enfermedad. Cuanto mayor es el tamaño de la expansión menos mRNA se transcribe y por tanto los niveles de frataxina están disminuidos. Pero, además, existen distintas marcas epigenéticas asociadas a los alelos FRDA que intervienen en gran medida en la regulación de la expresión del gen FXN. En nuestro grupo hemos llevado a cabo la edición génica de 26 líneas celulares derivadas de pacientes FRDA mediante la utilización de la tecnología de CRISPR/Cas9 para conseguir la eliminación de la expansión GAA, mutación responsable de la enfermedad. Tras la edición hemos comprobado que no todas las líneas recuperan por igual los niveles de expresión de frataxina. Estos resultados ponen de relieve que no solo es la expansión de la repetición GAA la que regula la expresión de frataxina, sino que existen más factores que intervienen en dicha regulación. Por este motivo, hemos analizado la metilación de una región diferencialmente hipermetilada del ADN [zona DMR] aguas arriba de la repetición, en las líneas de pacientes antes y después de la edición de la expansión de las repeticiones GAA, para determinar cuáles son los mecanismos epigenéticos que se deberían tener en cuenta a la hora de plantear una futura terapia por edición génica.

## Sesión Orales 5 – Bases moleculares de la enfermedad y Nuevos métodos diagnósticos

Auditorio 01 - 02 -> jueves 23/03/2023 17:00h

### o25 The Deubiquitinating Enzyme USP48 Interacts with the Retinal Degeneration-Associated Proteins UNC119a and ARL3

**Autores:** Laura Sánchez-Bellver, Andrea Ferriz-Gordillo, Marc Carrillo-Pz, Laura Rabanal, Francesc R. Garcia-Gonzalo, Gemma Marfany

**Expone:** Laura Sánchez Bellver - [lsanchezbel@ub.edu](mailto:lsanchezbel@ub.edu)

**Grupo:** U718 - Universidad de Barcelona, Barcelona

Ciliopathies are a broad group of heterogeneous inherited rare disorders associated with dysfunction of the cilium, a ubiquitous microtubule-based organelle that translates extracellular stimuli into cellular responses. The retina is one of the most affected organs by mutations in ciliary genes due to the highly specialised neurosensory cilium of photoreceptors, the outer segment, where photoreception and phototransduction occurs. Proteins related to the ubiquitin-proteasome system play an important role during the differentiation and ciliogenesis of photoreceptor cells. Mutations in several genes involved in ubiquitination and proteostasis have been identified as causative of inherited retinal dystrophies and ciliopathies. USP48 is a deubiquitinating enzyme whose role in the retina is still unexplored although previous studies indicate its relevance for neurosensory organs. Here we describe for the first time that a pool of endogenous USP48 localises to the basal body in retinal cell lines and demonstrate that USP48 interacts with ARL3 and UNC119a (both proteins involved in protein ciliary trafficking and causative of inherited retinal dystrophies) and stabilises their protein levels by different mechanisms. Our results suggest that USP48 may act in the regulation of key ciliary proteins for photoreceptor function, in the modulation of intracellular protein transport and ciliary trafficking to the photoreceptor outer segment. To further elucidate the role of USP48 in retinal development and homeostasis, we are currently generating gene-edited isogenic USP48 knockout induced pluripotent stem cells using the CRISPR/Cas9 technology to produce 3D retinal organoids and retinal pigment epithelium as a human retinal disease model.

### o26 Bi-Allelic mutations in SCN1M1 identified as a new cause of orofaciadigital syndrome due to aberrant minor intron splicing

**Autores:** Asier Iturrate, Ana Rivera-Barahona, Carmen-Lisset Flores, Ghada A. Otaify, Rasha Elhossini, Marina L. Perez-Sanz, Julián Nevado, Jair Tenorio-Castano, Juan Carlos Triviño, Francesc R. Garcia-Gonzalo, Francesca Picci-Sparascio, Alessandro De Luca, Leopoldo Martínez, Tugba Kalayci, Pablo Lapunzina, Umut Altunoglu, Mona Aglan, Ebtesam Abdalla, Victor L. Ruiz-Perez

**Expone:** Asier Iturrate Soletto - [aiturrate@iib.uam.es](mailto:aiturrate@iib.uam.es)

**Grupo:** U760 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

**Introduction:** Orofaciigital syndrome (OFD) is a genetically heterogeneous ciliopathy characterized by anomalies of the oral cavity, face and digits.

**Objective:** We studied individuals from three unrelated families with OFD, aiming to identify the genetic cause and the molecular mechanisms underlying their condition.

**Results:** As a result of an international collaborative work, we identified bi-allelic loss-of-function variants in SCN1M1 (sodium channel modifier 1) in all the affected individuals included in this study. SCN1M1 encodes a protein that was shown to be a component of the human activated minor spliceosome, a ribonucleoprotein complex that catalyzes the excision of an atypical class of introns (<1%) termed minor introns or U12 introns. Comparative transcriptome analysis between patient-derived and control fibroblasts revealed a set of genes with altered minor intron processing, some of them related to primary cilia. SCN1M1-/- fibroblasts were also found with abnormally elongated cilia in comparison with control cells. These results were reproduced in both SCN1M1 knockout (engineered by CRISPR-Cas9) and knockdown (siRNA treated) hTERT RPE-1 cellular models. Conversely, defects in splicing and cilia length were restored in SCN1M1-rescued patient fibroblasts. In addition, functional analysis in patient-derived fibroblasts indicated that SCN1M1 is a positive regulator of the Hedgehog signaling pathway.

**Conclusions:** This work demonstrates that defects in minor intron splicing due to loss-of-function mutations in SCN1M1 result in primary cilia defects that lead to a typical ciliopathy such as OFD.

## 027 Rare variants in GJD3 connexin gene involving familial Meniere Disease and tectorial membrane

**Autores:** Alba Escalera-Balseira, Alvaro Gallego-Martinez, Alberto Manuel Parra-Perez, Paula Robles-Bolivar, Lourdes Rodríguez-de la Rosa, Julio Contreras, Silvia Murillo-Cuesta, Isabel Varela-Nieto, Jose Antonio Lopez-Escamez

**Expone:** Álvaro Gallego Martínez - [lvr.gallego@gmail.com](mailto:lvr.gallego@gmail.com)

**Grupo:** GCV22 - Fundación para la Investigación Biosanitaria en Andalucía Oriental, Granada

Meniere Disease [MD] is an inner ear disorder, characterised by episodic vertigo, sensorineural hearing loss [SNHL] and tinnitus. In this work, connexins, proteins forming gap junctions by hemichannels in the sensory epithelia, were studied. Variants in connexin genes cause genetic SNHL. Whole exome sequencing was performed in 94 individuals from 70 different MD families. An enrichment of missense variants in GJD3 gene was found by gene burden analysis when comparing the allelic frequencies in familial MD with Spanish reference population from CSVS [OR=4.22 [2.14-8.30], FDR=5.02x10<sup>-4</sup>]. In GJD3, we identified two missense variants, one synonymous and one downstream in 5 familial cases, segregating in 3 of these families. Moreover, they were found in 7 sporadic MD cases. The protein model predicts the H175Y missense variant may change the interaction between connexons. Furthermore, RT-qPCR and immunofluorescence were done in mice cochleae, these studies reveal that the mouse ortholog Gjd3 is expressed in the organ of Corti, particularly in the tectorial membrane, in the base of hair cells and in the nerve fibres. In conclusion, we found variants in GJD3 that could modify the channel's function. In addition, we have observed for the first time the expression of Gjd3 in mice cochlea, remarkably in the tectorial membrane. Our results support previous findings suggesting that genes encoding for proteins involved in the attachment of tectorial membrane and hair cells stereocilia are related with familial MD.

**Funding:** ISCIII PI20/1126; Andalusian Government EPIVERT PI-0027-2020; Horizon 2020, UNITI 848261.

## Proyecto IMPaCT Genómica

Auditorio 01 - 02 -> jueves 23/03/2023 18:00h

### Programa IMPaCT Genómica

Presenta: Ángel Carracedo [U711]

La Infraestructura de la Medicina de Precisión asociada a la Ciencia y la Tecnología en Medicina Genómica (IMPACT-GENÓMICA) es uno de los tres programas que conforman el proyecto IMPaCT, financiado por el ISCIII al CIBER y coordinado por el Dr. Ángel Carracedo.

IMPACT-GENÓMICA promueve el establecimiento de una infraestructura cooperativa, mediante el establecimiento de redes y flujos para proporcionar servicios genómicos de diagnóstico de alta complejidad de forma equitativa en todo el territorio.

Las capacidades científicas se orientan a contribuir al diagnóstico de enfermedades raras y otras enfermedades que no han conseguido obtener un diagnóstico desde el Sistema Nacional de Salud. Además, atiende las necesidades de análisis genéticos de la cohorte poblacional IMPaCT. Y materializa el compromiso de la iniciativa "1+ Million Genomes".

Para cumplir con los objetivos hay 5 paquetes de trabajo: 1) Coordinación; 2) Red de centros de análisis genómico; 3) Traslación a la práctica clínica: Enfermedades Raras, 4); Traslación a la práctica clínica: cáncer, y; 5) Farmacogenómica y genómica poblacional.

Participan 17 Comunidades Autónomas, 37 entidades asociadas, 3 centros de secuenciación, más de 100 hospitales y más de 300 colaboradores directos.

Se actualizará la información del proyecto, específicamente la relativa al paquete de enfermedades raras, y se informará de la implicación de los grupos de CIBER y específicamente de CIBERER involucrados en el proyecto.



## Sesión Orales 6 – Bases moleculares de la enfermedad

Auditorio 01 - 02 -> jueves 23/03/2023 18:30h

### o28 Slc7a7 knockout mice develop iron overload due to erythropoietic failure

**Autores:** Susanna Bodoy, Judith Giroud-Gerbetant, Cian Lynch, Manuel Serrano, Mayka Sanchez, Aida Ormazabal, Rafael Artuch, Manuel Palacín

**Expone:** Susanna Bodoy Salvans - [susanna.bodoy@irbbarcelona.org](mailto:susanna.bodoy@irbbarcelona.org)

**Grupo:** U731 - Fundación privada Instituto de Recerca Biomèdica (IRB-Barcelona), Barcelona

Lysinuric Protein Intolerance is an inborn error of metabolism resulting from Slc7a7 deficiency that causes diminished plasma concentration of cationic amino acids. The clinical picture is highly heterogeneous among patients, which commonly present intolerance to protein intake and more severe complications such as hematological abnormalities and kidney failure. The therapeutic approaches include a low protein-based diet. Yet, while the therapeutic approach has proven to be effective against the metabolic defects of LPI, these approaches are unsatisfactory when treating the most severe complications. Here, we show that absence of Slc7a7 causes iron overload and erythropoiesis failure. In the context of iron metabolism, we demonstrated that reduced plasma erythropoietin triggers a strong iron overload, as erythropoietin administration restores normal iron levels. Strikingly, we find that human LPI is associated with hyperferritinemia but not iron overload, a trait that might be influenced by the citrulline treatment. We further show that erythropoietin is a key factor in the hematological abnormalities in LPI, as mice show a decrease in plasma erythropoietin concentration. Thereby, our study links the erythropoietin deficiency to iron metabolism and identifies erythropoietin supplementation as a plausible therapeutic strategy for human LPI.

### o29 Characterization of UBTF-MAML3 as a new risk factor of metastatic PPGL: in search of a personalized treatment

**Autores:** Alberto Díaz-Talavera, Bruna Calsina, Sara Mellid, Luis Javier Leandro-García, Rocío Letón, María Monteagudo, Ángel M. Martínez-Montes, Alberto Cascón, Cristina Montero-Conde, Mercedes Robledo

**Expone:** Alberto Díaz Talavera - [adiatz@ext.cnio.es](mailto:adiatz@ext.cnio.es)

**Grupo:** U706 - Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, Madrid

**Introduction:** Pheochromocytomas and paragangliomas (PPGLs) are rare neuroendocrine tumors with the highest heritability rate, as 40% of cases are due to germline mutations in one of the 20 genes described so far. About 20-25% of patients develop metastases (PPGLm). The only curative treatment is surgery, as systemic treatments are ineffective. Risk factors to predict the PPGLm development are scarce. In 2017, the UBTF-MAML3 fusion was associated with PPGLm, although its mechanism of action has not been addressed.

**Objective:** Study the UBTF-MAML3 structure and devise cells with this translocation to characterize their phenotype, and find suitable therapeutic strategies.

**Results and discussion:** We performed an in silico study of the UBTF-MAML3 structure with AlphaFold and found that it maintains the DNA-binding domains of UBTF although it loses the acidic domain, which confers DNA-binding specificity. Platinum-DNA adducts “trap” UBTF, even without the acidic domain. Therefore, they could have the same effect with UBTF-MAML3. Furthermore, we devised cells with this fusion. We observed that they have a more mesenchymal phenotype and proliferate more rapidly than wild-type cells. On top of that, treatment with carboplatin eliminates this proliferative advantage. Currently, we are characterizing other phenotypic and molecular changes with migration assays and RNA-seq analysis.

**Conclusion:** The UBTF-MAML3 structural model shows that this fusion conserves the UBTF DNA-binding domains, which also bind DNA-platinum adducts. Furthermore, cells with this fusion proliferate faster than wild-type cells, a capability that is lost in the presence of carboplatin. Therefore, platinum anti-cancer drug treatment could be effective for UBTF-MAML3 fusion-related patients.

## Sesión Orales 7 – Nuevos métodos diagnósticos y Nuevas terapias

Sala 04 - 05 -> jueves 23/03/2023 18:30h

### o30 The application of phenomics and transcriptomics to PMM2-CDG to cluster patients and identify its underlying molecular mechanisms

**Autores:** Pedro Seoane-Zonjic, James R. Perkins, José Córdoba, Elena Rojano, Mercedes Serrano, Diana Gallego, Belén Pérez, Juan A. G. Ranea

**Expone:** Juan Antonio García Ranea - [ranea@uma.es](mailto:ranea@uma.es)

**Grupo:** U741 - Universidad de Málaga, Málaga

PMM2-CDG is highly complex in terms of manifested phenotypes, which result from the disruption of multiple underlying molecular pathways. Its study therefore requires both phenotypic and mechanistic approaches. Here we present a thorough investigation of this disease using computational approaches. We extended and completed the deep phenotyping of a cohort of PMM2-CDG patients using a web application from our group. This suggested more specific phenotypes based on the Human Phenotype Ontology and suggests novel phenotypes, based on phenotype comorbidity in OMIM/Orphanet. We then assessed the phenotype information available in the cohort using our tool CohortAnalyzer. This allowed us to perform clustering of the patients based on the semantic similarity of their assigned phenotypes and identify subgroups of patients within the cohort, which can be used to select patients of interest for mechanistic study, for example using RNA-Seq. We thus performed RNA-Seq on samples derived from these patients to identify genes that change compared to control samples, identifying differentially expressed genes and functionally enriched categories related to the formation and composition of basement membranes extracellular matrix and collagen related processes, including impaired collagen IV network formation. We also identify a calcium channel that is underexpressed in PMM2-CDG samples. These results help us better understand the mechanisms involved in this disease and suggest novel targets. Our results show how computational analysis can aid both diagnosis and characterization for PMM2-CDG. The methods and tools used can be applied to other rare diseases.

### o31 Caracterización molecular de la discinesia ciliar primaria

**Autores:** Noelia Baz Redón, Núria Camats Tarruella, Mónica Fernández Cancio, Sandra Rovira Amigo, Alba Torrent Vernetta, Antonio Moreno Galdó

**Expone:** Noelia Baz Redón - [noelia.baz@vhir.org](mailto:noelia.baz@vhir.org)

**Grupo:** U712 - Fundació Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca [VHIR], Barcelona

La discinesia ciliar primaria [DCP] es una enfermedad rara [1/8.000] caracterizada por una alteración en la estructura ciliar que impide el correcto aclaramiento de las secreciones respiratorias. El diagnóstico de DCP es complejo y basado en la combinación de diferentes técnicas. La genética y la inmunofluorescencia se proponen como técnicas para mejorar el conocimiento de los genes causantes de la DCP e incrementar su tasa de diagnóstico. Para caracterizar las alteraciones genéticas en nuestra cohorte, se diseñó un panel de secuenciación de alto rendimiento con 44 genes asociados a DCP. Se analizaron un total de 79 pacientes, obteniendo una sensibilidad del 81,1% y especificidad del 100%. Los genes más frecuentes fueron DNAH5 y CCDC39. Con la inmunofluorescencia detectamos la presencia y localización de las diferentes estructuras ciliares. Se aplicó un panel de cuatro anticuerpos comerciales [DNAH5 [brazos externos de dineína], DNALI1 [brazos internos de dineína], GAS8 [nexina] y RSPH4A o RSPH9 [brazos radiales]] en células del epitelio respiratorio de 74 muestras de cepillado nasal. Treinta y tres muestras [44,6%] presentaron ausencia o localización aberrante de algunas de estas proteínas en el axonema ciliar: DNAH5 [N=18], DNAH5/DNALI1 [N=3], DNALI1/GAS8 [N=7], GAS8 [N=1], RSPH9 [N=3], y RSPH4A [N=1]. La sensibilidad de esta técnica fue del 68,8% y la especificidad del 100%. Los resultados genéticos y de inmunofluorescencia correlacionaron con el fenotipo clínico del paciente y la función ciliar [frecuencia y patrón de batido ciliar]. Ambas técnicas presentaron un alto rendimiento en el diagnóstico de la DCP.

## Sesión Orales 8 – Bases moleculares de la enfermedad

Auditorio 01 - 02 -> viernes 24/03/2023 8:30h

### 032 Is FH desialylation an acquired cause of Complement dysregulation in atypical Haemolytic Uraemic Syndrome?

**Autores:** Laura González-Sánchez, Fernando Corvillo, Irene Gómez Delgado, Bárbara Márquez-Tirado, Elena Goicoechea de Jorge, Pilar Sánchez-Corral

**Expone:** Laura González Sánchez - [laura.gonzalez@ciberer.es](mailto:laura.gonzalez@ciberer.es)

**Grupo:** U754 - Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Factor H (FH) is a plasma glycoprotein that regulates the immune Complement system by binding C3b and allowing its further proteolytic inactivation by Factor I (FI). FH mutations or autoantibodies favour disease conditions such as the rare disease Atypical Haemolytic Uraemic Syndrome [aHUS], where microvascular endothelial cells are damaged by autologous Complement activation. We have reported a transient desialylation of FH in several aHUS patients with *Streptococcus pneumoniae* infections, and suggested that desialylated FH contributes to disease pathogenesis because it cannot provide efficient cellular protection against the host Complement. To further explore this possibility, we generated desialylated FH (dFH) by incubating FH with *C. perfringens* neuraminidase, and compared the capacity of the two molecules to regulate Complement activation on human microvascular endothelial cells (HMEC-1). Immunofluorescence experiments revealed decreased binding of dFH to the endothelial cells, as well as decreased capacity to prevent Complement activation and C3b deposition on the endothelial surface. However, if C3b was previously deposited on the cellular surface, dFH displayed increased binding than FH. A similar finding was observed by flow cytometry when using sheep erythrocytes as the cellular surface. In line with the results observed using HMEC-1 cells, competition experiments suggested that dFH has a higher affinity for the C3b deposited on the surface of the erythrocytes. We conclude that the reduced capacity of dFH to regulate complement activation on endothelial cells does not result from defective C3b binding, and we propose that it is the process of C3b inactivation by FI that is altered by FH desialylation.

### 033 Genotypic and phenotypic features of a series of patients with a genetic diagnosis of hyperekplexia: beyond exaggerated startle response

**Autores:** María Teresa González-Campillo, Víctor Martínez-Glez, Jair Tenorio, Noemí Núñez-Enamorado, Mario Urbano-Martín, Carmen Fons, Mireia del Toro, Pablo Lapunzina, Eduardo López Laso

**Expone:** Eduardo López Laso - [elolaso@gmail.com](mailto:elolaso@gmail.com)

**Grupo:** GCV07 - Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Fundación para la Investigación Biomédica de Córdoba (FIBICO), Córdoba

Hereditary hyperekplexia is caused by mutations which affect glycinergic neurotransmission. It presents from birth with exaggerated startle response to sudden visual, auditory or tactile stimuli, and tends to improve with age.

**Objective:** to describe the genotypic and phenotypic findings from ten patients with a diagnosis of hyperekplexia.

**Methods:** Observational, descriptive, retrospective multicenter study.

**Results:** Ten patients were included, two of them siblings, with symptoms of early onset easy-provoked startle responses to somatosensory and/or acoustic stimuli. Three patients presented apneas. Family history: epilepsy in 4/10 and easy-provoked startle response to stimuli in 6/10. Genetic testing detected likely pathogenic or pathogenic variants in SLC6A5, GLRB and GLRA1. Phenotypes: Patient 10 was excluded from this description because he suffered a cardiorespiratory arrest due to apnea at age 1 month and as consequence a severe spastic-dystonic cerebral palsy; basal hypertonia: 9/9 (transitory in 5); hypokinesia: 2/9; epileptic seizures: 2/9; neurodevelopmental delay: 7/9; motor delay: 4/9; impairment of language development: 7/9; cognitive impairment: 2/9; attention difficulties and/or motor restlessness: 6/9; autism spectrum disorder: 2/9; conduct disorder: 1/9; sleep disorders: 2/9. Severe cognitive impairment with absence of expressive language in adulthood: 1. Seven of 9 patients received treatment with clonazepam with partial or complete response.

**Conclusions:** We highlight the presence of common developmental disorders, including a very severe phenotype with lack of expressive language in adulthood and the finding of epileptic seizures in two patients together with a family history of epilepsy in 40% of the cases. Apneas can be fatal.

## 034 Cellular senescence: a potential therapeutic target in rare vestibular schwannomas

**Autores:** Sandra Franco Caspueñas, Ana María Jiménez Lara, Lourdes Rodríguez-de la Rosa, Silvia Murillo-Cuesta, Isabel Varela-Nieto

**Expone:** Sandra Franco Caspueñas - [sfranco@iib.uam.es](mailto:sfranco@iib.uam.es)

**Grupo:** U761 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Vestibular schwannomas [VS] are rare benign tumors [ORPHA:252175, incidence 1/100.000] originating from the Schwann cells that form the myelin sheath of the cochleovestibular nerve. They can be classified into two groups: sporadic unilateral VS [90-95% of cases] and those associated to neurofibromatosis type 2 [5-10% of cases], an autosomic dominant rare disease associated to mutation in NF2 gene [ORPHA:637]. VS grow slowly but cause symptoms like tinnitus, dizziness and hearing loss, both due to compression of the auditory nerve and the release of ototoxic substances. Little is known about the genetic, epigenetic and environmental factors, or about the cellular pathological processes that contribute to VS progression and clinical heterogeneity. Currently, VS patients undergo periodic MRI, surgery, gamma-radiosurgery or radiotherapy as tumor treatment, but there are no pharmacological FDA-approved therapies to treat these tumors. Here we explore a two-hit combination therapy for VS based on the induction of cellular senescence by DNA damage senogenic drugs, and the subsequent activation of apoptosis on these cells by senolytic drug treatment. We test this strategy in the NF2-VS cell line HEI-193 and also in VS patient-derived primary cell cultures. Our data show that bleomycin, etoposide and gemcitabine induce a senescent phenotype in the VS cell line HEI-193 that made these cells susceptible to be killed by senolytic agents such as navitoclax. These results suggest that the combination of senogenic and senolytic drugs may be a potential pharmacotherapy for VS management.

**Funding:** PID2020-115274RB-I00 MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

## Plataformas CIBERER

### CIBERER-Biobank

**Expone:** Carmen Aguado [Coordinadora del CIBERER-Biobank] - [info-biobank@ciberer.es](mailto:info-biobank@ciberer.es)

El Biobanco CIBERER [CBK] constituye una plataforma indispensable para la investigación biomédica en enfermedades raras, ya que recoge muestras biológicas y su información clínica asociada. Las muestras biológicas humanas son obtenidas, procesadas, almacenadas y gestionadas con criterios de excelencia, y con procedimientos y documentos estandarizados, con el fin último de ponerlas al servicio de la sociedad con el objetivo de promover la investigación biomédica en el área de las enfermedades raras.

Además, tiene un papel transversal fundamental conectando donantes que están interesados en el avance del conocimiento, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades, con los profesionales clínicos que tienen la capacidad de captar donantes, extraer las muestras y recoger la información clínica, hacer registros y con los investigadores que requieren de las muestras y los datos asociados para desarrollar su actividad científica. CBK siempre actúa en beneficio de cada una de estas tres partes protegiendo sus intereses y convirtiéndose en el garante del cumplimiento de todos los requerimientos éticos, legales, técnicos y de calidad.

En este contexto, el CBK ha potenciado las colaboraciones con asociaciones de pacientes y clínicos para obtener colecciones prospectivas de diferentes patologías que permitirán avanzar en el conocimiento de estas enfermedades raras y procesando toda la documentación necesaria para la creación de estas colecciones.

### Genrare - Registros de enfermedades genéticas y de baja prevalencia

**Expone:** Miguel López de Heredia [Gestor de la actividad científica CIBERER] - [genrare@ciberer.es](mailto:genrare@ciberer.es)

La plataforma Registros de enfermedades genéticas y de baja prevalencia [GENRARE] es una iniciativa transversal del CIBERER con la finalidad de colaborar en la creación y mantenimiento a largo plazo de registros clínicos de enfermedades raras. Sus objetivos principales son fomentar la investigación de las enfermedades que engloba e impulsar la colaboración tanto entre los investigadores de los centros donde se puedan encontrar los pacientes como con otros investigadores, todo ello tratando de evitar duplicidades. Nace de la necesidad de que los registros de enfermedades minoritarias tengan una continuidad temporal más allá del marco de un proyecto de investigación y su estructura y funcionamiento se inspira en el exitoso registro de enfermedades neuromusculares

[NMD-ES]. Para solventar los retos de creación de los registros, el proyecto GENRARE que da origen a la plataforma está aprobado por un gran número de centros en España, lo que permite que, en un plazo breve de tiempo, los pacientes de los centros en los que se encuentra aprobado puedan ser reclutados en los registros creados al amparo de la plataforma. Además, dispone de documentos estandarizados de información al paciente y de consentimiento, junto con políticas estandarizadas de acceso a datos y de publicaciones.

## Resultados Grupos de Trabajo CIBERER

### Catálogo de biorecursos

**Expone:** *Silvia Murillo [U761] - [smurillo@ib.uam.es](mailto:smurillo@ib.uam.es) en nombre de los Grupos de Trabajo de MODALT-EERR, Organ-3D, Edición genómica y terapia génica, y Modelos murinos para el estudio de enfermedades raras.*

Cuatro de los seis Grupos de Trabajo subvencionados en la última convocatoria abierta del CIBERER (MODALT-EERR, Organ-3D, Edición genómica y terapia génica y Modelos murinos para el estudio de enfermedades raras), que engloban a más de 30 grupos, tenían como objetivo común la creación de una base de datos que permita recoger y mantener actualizada la información relativa a los biorecursos disponibles en las unidades CIBERER y que tenga el potencial de conectar con iniciativas nacionales e internacionales similares. Estos biorecursos, incluyendo modelos animales, celulares, organoides y cultivos 3D, así como capacidades, recursos técnicos y expertise para su generación y caracterización, son de gran utilidad para el estudio de enfermedades raras, existen en el CIBERER, pero no disponemos de herramientas que nos permitan localizarlos.

Por ello, los cuatro Grupos de Trabajo, en estrecha colaboración con el equipo de gestión del CIBERER, iniciamos un proyecto para generar un catálogo de biorecursos, apoyándonos en el trabajo realizado por grupos que participan en proyectos similares en el entorno ISCIII, con la finalidad de que todas estas iniciativas pudieran compartir experiencias y estuvieran alineadas. En este tiempo, hemos diseñado una base de datos en REDCap que permite recoger los recursos disponibles y la información asociada, y estamos en la actualidad probando su funcionamiento y aplicabilidad. En este trabajo os presentamos esta iniciativa, lo que hemos aprendido hasta el momento y os mostramos algunos resultados del pilotaje que estamos realizando.

### Diagnóstico de EERR mediante combinación de RNAseq y datos genómicos

**Autores:** *Juan Ramon Tejedor, Natalia Castejón, Alejandro Soriano-Sexto, Gerard Muñoz-Pujol, Frederic Tort, Yolanda Martín Sato Domingo, Sergio Fernández-Peñalver, Marta Cortón, Pablo Minguez, Rosario Carmona, Guerau Fernández, Pedro Seoane, Jose María Millán, Antonia Ribes, Carmen Ayuso, Juan Antonio G Ranea, Beatriz Morte, Ximo Dopazo, Miguel Ángel Moreno-Pelayo, Mario Fraga, Belén Pérez*

**Expone:** *Belén Pérez González [U746] - [bperez@cbm.csic.es](mailto:bperez@cbm.csic.es) - en nombre del Grupo de Trabajo*

En la mayoría de las categorías fenotípicas, entre un 30-50% de los pacientes con una enfermedad rara carecen de un diagnóstico molecular completo. El empleo de diferentes capas -ómicas, como la transcriptómica, permite capturar el efecto de variantes en regiones no secuenciadas, no detectables o de significado clínico incierto complementando los análisis de DNA. El CIBERER ha puesto en marcha un grupo de trabajo multidisciplinar centrado en el análisis de datos de RNAseq y datos genómicos y ha implementado un abordaje integral para estudiar expresión y splicing aberrante y desbalance de expresión alélica. Con este fin se ha secuenciado a una profundidad de ~50M/100M (2x100 PE), una cohorte de 15 fibroblastos control y 7 casos y se han evaluado diferentes flujos de trabajo (**in-house**, Galaxy, DROP). El empleo de estas herramientas fue capaz de diagnosticar 7/7 casos de la cohorte de validación original, y muestra una eficacia variable en otra cohorte adicional que será discutida en detalle. También se ha realizado análisis de RNAseq en muestras de sangre de pacientes NF1 [8] para valorar la capacidad de identificar el efecto de variantes de baja representación y en mosaico. Los resultados sugieren que es determinante para la mejora de la herramienta aumentar progresivamente el número de controles y la homogeneidad en cuanto al proceso de obtención de RNA y secuenciación. Estos resultados ponen en valor el empleo de otras capas -ómicas para la mejora del diagnóstico y sientan las bases para el empleo de dichas herramientas por parte de usuarios del CIBERER.

## Sesión Orales 9 – Nuevas terapias y Bases moleculares de la enfermedad

Sala 04 - 05 -> viernes 24/03/2023 8:30h

### 035 Snail in the control of bone length: new avenues for therapeutic approaches in achondroplasia

**Autores:** Sonia Vega, Cristina López-Blau, M. Angela Nieto

**Expone:** Sonia Vega De Los Reyes - [svega@umh.es](mailto:svega@umh.es)

**Grupo:** U769 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Alicante/Alacant

The epithelial to mesenchymal transition (EMT) was implemented and fixed in evolution for the formation of tissues which cells originate far from their final destination, endowing cells with migratory properties. Interestingly, the EMT is reactivated in several pathologies including the delamination of cancer cells from the primary tumor in their way to form metastasis. EMT also involves the activation of associated programs that contribute to the fitness of the migratory cells. We will present the role of the EMT-TF Snail in developing bones, a context in which cells do not migrate and the main EMT subprogram implemented is the control of cell proliferation and differentiation, with key implications in achondroplasia (ACH), the most common form of disproportionate short stature in humans. ACH is caused by a mutation in the fibroblast growth factor receptor 3 gene (FGFR3) that confers constitutive overactivation. This leads to reduced growth of the long bones and craniofacial abnormalities among other complications that impair the physical capacities of the patients due to their short stature and the associated respiratory, neurological and cardiac conditions. Big efforts searching for pharmaceutical treatments have led to the recent approval of vosoritide (VOXZOGO; Biomarín), which acts inhibiting the MAPK branch of FGFR3 signaling. Unfortunately, the data show that not all patients respond to treatment and treatment is very costly. Thus, the identification of new and relevant compounds targeting the FGFR3 signaling pathway is of broad importance for the treatment of ACH. We have previously shown that Snail1 is the transcriptional effector of both branches (MAPK and Stat1) of Fgfr3 signaling in bone, and that Snail1 inhibition suppresses the pathological signaling of Fgfr3 mutant forms in cultured chondrocytes. We will show in vivo data in Ach mice confirming that Snail1 behaves as a good therapeutic target, opening new avenues in therapeutic approaches for ACH.

### 036 Setting up of an artificial placenta experimental system in fetal sheep: critical issues for successful transition and short-term survival

**Autores:** Elisenda Eixarch, Miriam Illa, Raquel Fucho, Yolanda de Roo, Kambiz Rezaei, Ameth Hawkins, Sara Bobillo, Paula C. Randanne, María del Mar Velilla, Ruth del Río, Miguel Morán, Daniel Sanin, Victor Gomez, Sergio Sánchez, Angela Arranz, Marina Chorda, Maite Mata, Fatima Crispi, Elisenda Bonet, Eduard Gratacos

**Expone:** Elisenda Eixarch Roca - [eixarch@clinic.cat](mailto:eixarch@clinic.cat)

**Grupo:** U719 - Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona

**Objective:** To describe the initial development of an artificial placenta (AP) experimental system in sheep and the main bottlenecks to allow survival up to one week.

**Methods:** 28 fetal sheep were transferred to an AP system at 110-115 days, with umbilical cord cannulation of two arteries and one vein and connection to a pumpless extracorporeal circuit with a low resistance oxygenator. The survival goal in the AP system was increased progressively in three consecutive study groups: 1-3 hours (n=8), 4-24 hours (n=10) and 48-168 hours (n=10). For each group, we recorded the duration of cannulation procedure, technical complications, pH post-cannulation, extracorporeal circuit and fetal hemodynamic features, and compared the outcomes across experiments.

**Results:** There was a progressive reduction in cannulation complications [75%, 50% and 0%, p=0.004], improvement of first pH after connection [7.20<U+F0B1>0.06, 7.31<U+F0B1>0.04 and 7.33<U+F0B1>0.02, p= 0.161] and rate of experiments reaching survival goal [25%, 70% and 80%, p=0.045]. In the first two groups, cannulation accidents, air bubbles in the circuit and thrombotic complications were the most common cause of failure. In the third group, mechanical complications and sepsis were the main complications and made evident the need for a more purpose-designed instrumentation and setting.

**Conclusions:** Achieving a reproducible experimental setting for AP is extremely challenging, time and effort-consuming and requires a highly multidisciplinary team. After a learning curve, it was possible to achieve a reproducible transition and survival up to 7 days. This experimental platform would be a great opportunity to investigate novel therapies for rare diseases.

### 037 Nuevas terapias nutricionales para enfermedades mitocondriales

**Autores:** Borja Fernández García, Joaquín Arenas Barbero, Miguel Ángel Martín Casanueva, María J. Morán, Marcello Bellusci, Jesús González de la Aleja, Montserrat Morales Conejo, Elena Martín Hernández, Pilar Quijada Fraile, Delia Barrios Carrera, María Paz Guerrero Molina

**Expone:** María Jesús Morán Bermejo - [mmoran@h12o.es](mailto:mmoran@h12o.es)

**Grupo:** U723 - Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Las enfermedades mitocondriales (EM) ocurren por fallo del sistema de fosforilación oxidativa, y con frecuencia conducen a fenómenos de compensación metabólica y alteración del funcionamiento del ciclo de Krebs. El objetivo del presente estudio fue analizar si en un modelo de ratón con EM por déficit del complejo I de la cadena respiratoria, ratón **Harlequin (Hq)**, que presenta ataxia cerebelosa, miopatía y riesgo de cardiopatía, la suplementación nutricional con: i) glutamina [Gln], o ii) una dieta especialmente diseñada para las EM [MITODiet] atenúa el proceso neurodegenerativo y la atrofia muscular. Para ello, ratones macho wild type (WT) y **Hq** fueron tratados con Gln al 4%, o MITODiet, desde el destete hasta los 6 meses de edad. Los ratones **Hq** de 6 meses tratados con Gln mostraron menos descoordinación y atrofia cerebral y cerebelosa que los **Hq** no tratados, y talla y fuerza muscular conservadas. Los **Hq** tratados con MITODiet mostraron menos descoordinación y debilidad que los alimentados con pienso estándar, y menos atrofia cerebral y cerebelosa, así como peso corporal y talla más parecidas a las de los WT. Los marcadores de neuronas granulares y de Purkinje en cerebelo, demostraron que MITODiet atenuó levemente la pérdida de neuronas granulares. En conclusión, ambas terapias nutricionales atenuaron el fenotipo del ratón **Hq**, si bien la suplementación con Gln tuvo un efecto más claro sobre la fuerza muscular, y la dieta MITODiet protegió más el peso corporal, y mitigó levemente la pérdida de neuronas granulares.

Estudio financiado por el Instituto de Salud Carlos III [FIS PI20/00147] y cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional [FEDER].

### 038 Patient-named basis of treatment with Elesclomol Copper for a child with Menkes disease

**Autores:** Natalia L. Serrano, Elena Godoy-Molina, Vishal M. Gohil, Michael J. Petris, Nina Horn, Mercè Capdevila, Prachi Trivedi, Joseph Standing, Víctor Mangas-Sanjuan, James Sacchetti, Miquel Villaronga, Rosa Farré, Rafael Artuch, Cristina Jou, Jordi Pijuan, Janet Hoenicka, Francesc Palau

**Expone:** Francesc Palau - [francesc.palau@sjd.es](mailto:francesc.palau@sjd.es)

**Grupo:** U732 - Fundació para la Investigació y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona

**Introduction:** Menkes disease (MD) is a multisystemic disorder of copper metabolism caused by mutations in the X-linked ATP7A gene. Current treatment involves the administration of copper histidine [Cu-His], which often does not prevent neurodegeneration and early childhood lethality. Recent preclinical studies show that Elesclomol-copper [ES-Cu] increases mitochondrial cuproenzyme, and cytochrome c oxidase, preventing neurodegeneration and improving survival in the mottled-brindled mouse model of MD.

**Purpose:** We aim to use ES-Cu to treat a 19-month-old MD boy with a loss-of-function mutation, [p.[Glu1186Serfs-Ter3], in the ATP7A gene, to improve his clinical status and prevent deterioration due to the expected severe course of the disease.

**Methods:** Es-Cu was administrated subcutaneously once a week following a careful dose-escalating scheme at SJD Children's Hospital according to a specific protocol developed by an international committee of experts. Daily Cu-His (250 µg/day) was given as a standard of care on days on which ES-Cu was not delivered. Safety parameters are strictly surveilled. Efficacy is tracked by biochemical and pathological biomarkers, and neurodevelopmental changes are measured on the Bayley-III scale. The AEMPS supports this exceptional treatment.

**Results:** To date, neither systemic adverse effects nor toxic interactions between Cu-His and ES-Cu have been seen after 12 months of treatment. Efficacy and toxicity biomarkers are still being collected and discussed, and the patient has a good evolution.

**Conclusion:** ES-Cu appears to be well tolerated in this boy in the short and medium term. Though a clinical trial is needed, ES-Cu holds promise for the treatment of MD.

### o39 **Mutaciones en el gen DNM1L que generan desórdenes del neurodesarrollo inducen una disfunción mitocondrial y alteraciones extremas de la red mitocondrial en fibroblastos**

**Autores:** Araceli Sama Barroso, Valentina Ortiz, Eduardo López Laso, Ana Sánchez Cuesta, Alejandro Campoy, José María Urbano, Beatriz Morte, María Victoria Cascajo Almenara, Carlos Santos Ocaña

**Expone:** Mariví Cascajo Almenara - [mvcasalm@gmail.com](mailto:mvcasalm@gmail.com)

**Grupo:** U729 - Universidad Pablo de Olavide, Sevilla

Para alcanzar la homeostasis mitocondrial se requiere del equilibrio entre la mitofagia y la biogénesis mitocondrial. Estos procesos deben estar estrictamente regulados para ajustar la producción de ATP a las necesidades celulares. La mitocondria constituye una red dinámica que requiere fases de fisión y fusión mitocondrial reguladas por diversas proteínas. Una de ellas es DRP1, codificada por el gen DNM1L. DRP1 es una dinamina que se localiza en el citosol en forma de dímero. Tras su activación DRP1 es reclutada por proteínas receptoras en la membrana mitocondrial para formar un oligómero que produce la constricción del orgánulo tras la hidrólisis de GTP. Mutaciones dominantes en DNM1L producen un fenotipo con desórdenes del neurodesarrollo, disfunción mitocondrial y una alteración de la red mitocondrial. Desde el programa ENoD recibimos fibroblastos de 6 pacientes de 3 familias que portaban 3 mutaciones dominantes del gen DNM1L. Con diverso grado de gravedad, los pacientes mostraban retraso en el desarrollo, marcha equina, epilepsia, pies cavos, dificultades en la marcha, y neuropatía sensorial y motora. El análisis funcional de los fibroblastos demostró una disfunción mitocondrial caracterizada por una disminución del consumo de oxígeno, incremento de la producción de ROS y un menor crecimiento en galactosa. El análisis cuantitativo de la red mitocondrial de los fibroblastos mediante tinción con anti-Tomm20 mostró un incremento extremo de la red mitocondrial que correlacionaba con la gravedad del paciente. El reto fundamental de este estudio radica en determinar cómo la alteración estructural puede conducir a una disfunción mitocondrial.

## *Presentación Oral –Nuevos Métodos diagnósticos*

**Auditorio 01-02 -> viernes 24/03/2023 11:30h**

### o40 **RNA-seq en 45 pacientes con sospecha de enfermedad metabólica hereditaria: contribución al diagnóstico y a la determinación del impacto funcional de variantes candidatas**

**Autores:** Frederic Tort, Gerard Muñoz-Pujol, Olatz Ugarteburu, Blai Morales, Judit García-Villoria, Vicente A Yopez, Julien Gagneur, Mirjana Gusic, Holger Prokisch, Marc Dabad, Anna Esteve, Antonia Ribes

**Expone:** Frederic Tort Escalé - [ftort@ciberer.es](mailto:ftort@ciberer.es)

**Grupo:** U737 - Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona

Estudios recientes han demostrado el potencial del RNA-seq como herramienta complementaria a la secuenciación del exoma (WES) o genoma (WGS) para el diagnóstico de enfermedades mendelianas. En este estudio hemos analizado una cohorte de 45 pacientes con sospecha de enfermedad metabólica hereditaria utilizando una combinación de WES/WGS y RNA-seq en fibroblastos. Los datos fueron analizados mediante la "pipeline" DROP para detectar genes con expresión aberrante, alteraciones de "splicing" y expresión monoalélica. Los resultados obtenidos han demostrado que la utilización del RNA-seq ha contribuido de manera decisiva al diagnóstico en 11 de los 45 casos (20%). En tres de ellos se han detectado variantes intrónicas profundas no cubiertas por WES asociadas a la retención aberrante de fragmentos intrónicos en el mRNA de genes candidatos. En otros seis pacientes se han identificado alteraciones importantes en la expresión y/o procesamiento del mRNA, incluyendo la demostración del impacto deletéreo de una variante sinónima sobre el proceso de "splicing". En dos de los casos el RNA-seq ha permitido detectar la expresión desbalanceada de alelos con variantes raras en genes candidatos. Estos resultados ponen de manifiesto la utilidad de RNA-seq no solo para priorizar genes candidatos cuando la secuenciación WES/WGS no es concluyente, sino también para determinar la patogenicidad de variantes que afectan la expresión o el procesamiento del mRNA.

**Financiación:** CIBERER. ISCIII (PI16/01048, PI19/01310) y cofinanciado por la Unión Europea.



## Resúmenes Póster

### p01 Distrofias hereditarias de retina en España: tres décadas de estudio epidemiológico, clínico y genético

**Autores:** Lidia Fernández-Caballero, Irene Perea-Romero, Ionut F. Iancu, Cristina Rodilla, Inmaculada Martín-Mérida, Almudena Ávila-Fernández, Berta Almoguera, Rosa Riveiro-Álvarez, María José Trujillo-Tiebas, Isabel Lorda-Sánchez, Saoud Tahsin-Swafiri, Fermina López-Grondona, Ana Isabel Sánchez, Fiona Blanco-Kelly, Marta del Pozo-Valero, Pablo Mínguez, José María Millán, Pilar Martín-Gutiérrez, Belén Jiménez-Rolando, Ester Carreño, Blanca García-Sandoval, Marta Cortón, Carmen Ayuso

**Expone:** Lidia Fernández-Caballero Palomeque - [lidia.fernandezc@quironosalud.es](mailto:lidia.fernandezc@quironosalud.es)

**Grupo:** U704 - Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Las distrofias hereditarias de retina [DHR] son un grupo de enfermedades raras con una prevalencia de 1:3000-4000 personas. Afectan a los fotorreceptores de la retina y a las células epiteliales pigmentarias, conduciendo a su neurodegeneración. En 2021, publicamos los resultados de la caracterización genética de la cohorte del H.U.-FJD [1991-agosto 2019]. Hemos actualizamos estos resultados hasta agosto de 2022, realizando un estudio transversal retrospectivo de base hospitalaria en 4794 familias no emparentadas. Las familias se clasificaron en "RP" (retinosis pigmentaria) y "NO-RP", con afectación primaria de bastones o de conos, respectivamente; y "DHR-sindrómicas", con afectación visual y extraocular. Los estudios moleculares incluyeron aproximaciones clásicas y NGS. Se caracterizó genéticamente el 62% de las familias, identificándose 1997 variantes [5064 alelos] en 188 de los 281 genes actualmente implicados. El fenotipo más común fue RP [59%]. En cuanto al tipo de alelos, encontramos 51% de tipo missense, 44% truncantes y 2% de variaciones del número de copias. Los genes más frecuentemente implicados fueron PRPH2, ABCA4 y RS1 en familias "NO-RP" autosómicas dominantes [AD], autosómicas recesivas [AR] y ligadas al X [XL], respectivamente; RHO, USH2A y RPGR en "RP" AD, AR y XL; y MYO7A, USH2A y BBS1 en "DHR-sindrómicas". Las variantes patogénicas más frecuentes fueron ABCA4:p.Arg1129Leu y USH2A:p.Cys759Phe. Nuestro estudio actualiza el sustrato genético y las características de las DHR en España, informando de la mayor cohorte presentada hasta ahora, y de su elevada heterogeneidad genética. Además, nuestros hallazgos tienen importantes implicaciones en el diagnóstico, consejo genético y posibles opciones terapéuticas.

### p02 DYRK1A kinase is necessary to sustain neurogenesis in the developing dorsal and ventral telencephalon

**Autores:** Alejandro Trujillano, María José Barallobre, Chiara di Vona, Susana de la Luna, Mariona Arbonés

**Expone:** Mariona Arbonés De Rafael - [marbmc@ibmb.csic.es](mailto:marbmc@ibmb.csic.es)

**Grupo:** U716 - Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Barcelona

DYRK1A kinase encoded by a chromosome 21 gene, is involved in the neurological alterations associated to Down syndrome. Mutations in one allele of DYRK1A causes a well-recognizable syndromic form of intellectual disability and autism. Heterozygous Dyrk1a mutant [Dyrk1a+/-] mice recapitulate the main features of the DYRK1A syndrome, which include microcephaly, developmental delay, autistic behaviours and epilepsy. Dyrk1a-/- mutants die in mid-gestation, coinciding with the onset of neurogenesis. To assess the role of DYRK1A in brain development, we have used the mouse conditional mutant Nestin-Cre:Dyrk1a<sup>fl/fl</sup> [cDyrk1a-KO] in which DYRK1A expression is abrogated in all neural progenitors by the onset of neurogenesis. This mutant presents a severe loss of ventral brain neurons and dies around birth. cDyrk1a-KO neocortices also present neuron deficits and an altered laminar organization. Neuron deficits in cDyrk1a-KO brains are caused by defects in the differentiation of apical progenitors and by an exacerbated DNA damage response leading to p53-dependent apoptosis. A similar phenotype, although milder, is observed in embryos with the cDyrk1a mutation in heterozygosity. Early in neurogenesis, apical dorsal progenitors in cDyrk1a-KO mutants display increased levels of cyclin D1, consistent with the reported function of DYRK1A in cyclin D1 degradation. However, cDyrk1a-KO progenitors have longer cell cycles and longer S phases than the wild-types, a phenotype that is consistent with the transcriptome profile of dorsal cDyrk1a-KO progenitors. These results indicate that DYRK1A regulates different cell cycle functions in neurogenic progenitors and that defects in cortical and subcortical neuron development may contribute to the neurological alterations in DYRK1A syndrome.

**p03 Translational diagnostics and therapeutics program (TDTP), an innovative intramural approach for undiagnosed and rare diseases**

**Autores:** Jordi Pijuan, Lara Cantarero, Janet Hoenicka, Francesc Palau

**Expone:** Jordi Pijuan Marquilles - [jordi.pijuan@sjd.es](mailto:jordi.pijuan@sjd.es)

**Grupo:** U732 - *Fundación para la Investigación y Docencia Sant Joan de Deu, Barcelona*

**Introduction:** There are more than 300 million people worldwide with rare diseases (RD) and there are no approved therapies for over 90% of these disorders. For the best management of RD patients it is necessary to innovate in the diagnostic process and develop novel therapies. We developed the Translational Diagnostics and Therapeutics Program (TDTP) to validate genetic variants as part of the diagnostic process and develop novel therapies with the close intramural collaboration between physicians, clinical scientists and researchers.

**Objectives:** Validate variants of uncertain significance, incongruence or novel phenotype-genotype correlation using the holistic approach “precision phenotyping – clinical and functional genomics – team decision-making” and develop novel therapeutic strategies.

**Results:** Since 2018, we have evaluated 142 patients. Ninety-two patients have been included in the program for biological validation of the candidate genetic variant/s and 50 patients included in the personalized therapeutic program. The TDTP is divided in two units: [1] the diagnostic precision unit which its pipeline comprises four steps: [i] comprehensive evaluation of the phenotype, [ii] in silico biology studies, [iii] experimental functional validation of variants, and [iv] diagnostic decision making, and [2] the personalized therapeutic unit focused in experimental biological studies for novel treatments and clinical assays.

**Conclusion:** The diagnosis and treatment improvement in RD patients requires the implementation of functional and personalized programs to support and resolve clinical doubts. Moreover is necessary to develop effective therapies for this class of diseases. The TDTP is a strong in-house tool to solving clinical doubts and develop successful therapies through experimental biology.

**p04 Caracterización de la patogenicidad de mutaciones en el gen KDELR2 causantes de osteogénesis imperfecta**

**Autores:** Juan Andrés Jiménez-Estrada, Carmen-Lisset Flores, Almudena Fernandez, Lluís Montoliu, Víctor Luis Ruiz-Pérez

**Expone:** Juan Jimenez Estrada - [jjimenez@iib.uam.es](mailto:jjimenez@iib.uam.es)

**Grupo:** U760 - *Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid*

KDELR2 codifica un receptor cuya función consiste en reciclar proteínas residentes del retículo endoplasmático que portan una etiqueta KDEL-like desde el Golgi, evitando así su incorporación a la vía secretora. Como resultado de una colaboración internacional con participación de nuestro grupo se reportó que mutaciones en KDELR2 causan osteogénesis imperfecta (OI), una enfermedad del tejido conectivo caracterizada por un incremento en la fragilidad ósea y deformaciones esqueléticas. Este trabajo también demostró que los niveles intracelulares de HSP47 y FKBP65, dos chaperonas necesarias para la biosíntesis del colágeno tipo-I, estaban reducidos en fibroblastos primarios derivados de pacientes con mutaciones en KDELR2. Aquí presentamos la caracterización de la patogenicidad asociada a mutaciones en este gen utilizando el ratón como organismo modelo. Los ratones knockout para *Kdelr2* presentan letalidad neonatal y a estadios embrionarios más tempranos exhiben menor tamaño corporal y menor osificación de los huesos largos y craneales comparados con ratones de genotipo normal de la misma camada. El análisis de fibroblastos embrionarios derivados de ratones *Kdelr2*<sup>-/-</sup> mostró reducción de los niveles intracelulares de colágeno tipo-I, secreción al medio extracelular de diferentes chaperonas portadoras de la etiqueta KDEL-like y activación de distintas vías de señalización de estrés de retículo endoplasmático. La identificación de los mecanismos moleculares que causan la patogenicidad de las mutaciones KDELR2 abre nuevas vías de búsqueda de terapias para tratar esta enfermedad.

## p05 CCDC186: nuevo gen asociado a atrofia cerebral, epilepsia refractaria, alteraciones gastrointestinales y anomalías del sistema endocrino

**Autores:** Gerard Muñoz-Pujol, Luisa Arrabal, Inma Medina, Judit García-Villoria, Susana Roldán, Laura Gort, Frederic Tort, Antonia Ribes

**Expone:** Gerard Muñoz-Pujol - [gemunoz@recerca.clinic.cat](mailto:gemunoz@recerca.clinic.cat)

**Grupo:** U737 - Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona

Presentamos 3 pacientes pertenecientes a dos familias consanguíneas no relacionadas entre sí. Todos ellos tuvieron un debut neonatal y fallecieron entre los 7 meses y los 4 años de edad. Clínicamente presentaron convulsiones refractarias, atrofia frontotemporal, hipomielinización, alteraciones gastrointestinales, infecciones recurrentes y alteraciones endocrinas tales como deficiencias de cortisol, insulina y hormona del crecimiento junto a hipoglucemia hipocetósica severa. El estudio WES identificó en todos los pacientes una variante en homocigosis en el gen CCDC186 [c.2215C>T, p.Arg739Ter]. Se confirmó que los padres de ambas familias eran heterocigotos para dicha mutación. Los estudios de expresión proteica, realizados mediante western blot, demostraron que la proteína CCDC186 era prácticamente indetectable en fibroblastos y en tejido muscular. Estas observaciones se correlacionaban perfectamente con el análisis transcriptómico realizado en uno de los pacientes, que mostró una reducción significativa de los niveles de mRNA de CCDC186. En conjunto, nuestros resultados demuestran la patogenicidad de la variante c.2215C>T. Previamente se había descrito un único paciente con variantes en CCDC186, pero sin evidencias funcionales de patogenicidad. Nuestro estudio proporciona la primera evidencia funcional de que las mutaciones en este gen tienen un efecto patogénico sobre la proteína y establecemos CCDC186 como un nuevo gen asociado a enfermedad. CCDC186 es una proteína involucrada en la maduración de vesículas de núcleo denso en la red trans-Golgi en neuronas y células endocrinas. Así, las características fenotípicas de nuestros pacientes explicarían que mutaciones en CCDC186 pudieran cursar con las alteraciones clínicas detectadas.

**Financiación:** CIBERER, ISCIII (PI16/01048, PI19/01310) y cofinanciado por la Unión Europea.

## p06 Light-induced stress response is impaired in the Retinitis Pigmentosa mouse model CerklKD/KO

**Autores:** Rocío García-Arroyo, Elena B. Domènech, Carlos Herrera-Úbeda, Jordi Garcia-Fernàndez, Serena Mirra, Gemma Marfany

**Expone:** Rocío García Arroyo - [rociogarciaarroyo@ub.edu](mailto:rociogarciaarroyo@ub.edu)

**Grupo:** U718 - Universidad de Barcelona, Barcelona

The retina, the specialized region of the central nervous system that transduces light into neural signals, is endowed with an active metabolism. Therefore, the retina is particularly vulnerable to genetic and environmental alterations that generate reactive oxygen species (ROS), which eventually leads photoreceptors and retinal neurons to cell death. CERKL [CERamide Kinase-Like] mutations cause Retinitis Pigmentosa, a rare visual disorder characterized by photoreceptor degeneration and progressive vision loss. CERKL has been described as a resilience gene against oxidative stress, as its overexpression protects cells against oxidative stress-induced apoptosis. Moreover, preliminary evidence indicates that CERKL contributes to the formation of RNA stress granules in the retina. Using CerklKD/KO mouse models, we aimed to study the impact of Cerkl depletion on stress response and photoreceptor death mechanisms in response to luminic oxidative stress. To this end, we assessed the alteration of retinas from CerklKD/KO albino mice to acute light stress, as an immediate [early] or after two weeks [late] response using RNA-Seq, immunostaining and Western blot. Our results show that the depletion of Cerkl causes an aberrant early response to stress and increased levels of ROS. In addition, we found activation of cell death mechanisms in light exposed CerklKD/KO retinas. Overall, our studies indicate that Cerkl is a novel player in regulating light-challenged retinal homeostasis, by controlling multiple molecular pathways in the retina.

**p07** Identificación de mutaciones intrónicas profundas y reversión in vitro de su efecto deletéreo mediante el uso de AONs

**Autores:** Belén García-Bohórquez, Pilar Barberán, Elena Aller, Teresa Jaijo, Cinta Navarro-Moreno, Mar Balanzá, Lidia Fernández-Caballero, Inmaculada Martín-Mérida, Carmen Ayuso, Gema García-García, José María Millán Salvador

**Expone:** Gema García García - [gema\\_garcia@iislafe.es](mailto:gema_garcia@iislafe.es)

**Grupo:** U755 - Fundación para la Investigación del Hospital Universitario y Politécnico la Fe de la Comunidad Valenciana, Valencia/València

El síndrome de Usher (USH) es una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por asociar retinosis pigmentaria, sordera de tipo neurosensorial y, a veces, alteración de la función vestibular. En los últimos años se han descrito varias mutaciones intrónicas profundas que alteran el splicing dando lugar a la inclusión de un pseudoexón (PE) en algunos de los genes implicados (USH2A y CLRN1). Por ello, quisimos estudiar las regiones no codificantes de los genes USH en pacientes portadores de una mutación en heterocigosis en alguno de ellos (15-20%). Primero, analizamos las mutaciones intrónicas previamente descritas mediante Sanger en pacientes con una mutación en el gen USH2A o CLRN1. Posteriormente, se diseñó un panel incluyendo los genes USH completos. Las variantes identificadas se analizaron con predictores bioinformáticos y aquellas clasificadas como potencialmente candidatas se estudiaron mediante ensayos funcionales con minigenes debido a la baja expresión de algunos de los genes USH en sangre. Entre los 67 pacientes estudiados por Sanger, en 15 de ellos se identificó una variante intrónica profunda descrita previamente. Por otro lado, en los 34 pacientes que se analizaron mediante el panel USH diseñado, se identificaron dos nuevas variantes en regiones no codificantes en el gen USH2A. Mediante ensayos funcionales con minigenes se demostró que ambas variantes alteraban el splicing debido a la inclusión de un PE en la región codificante. Posteriormente, se diseñaron oligonucleótidos antisentido (AONs) específicos para estas dos variantes patogénicas y en estudios in vitro conseguimos redirigir el splicing para volver a obtener la secuencia codificante salvaje.

**p08** IF1/ATP synthase axis as regulator of metabolism and function of innate and adaptative immune system

**Autores:** Inés Romero-Carramiñana, Sonia Domínguez-Zorita, Cristina Nuñez de Arenas, Helena Vázquez-Gámez, José M. Cuezva

**Expone:** Sonia Domínguez - [sonia.dominguez@cbm.csic.es](mailto:sonia.dominguez@cbm.csic.es)

**Grupo:** U713 - Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

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, al inhibir 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+. 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. Para ahondar en el estudio de IF1 en dichos tipos celulares, se han generado y se están fenotipando modelos murinos de pérdida de función de IF1 en macrófagos y linfocitos CD4+ para comprender su función en la estructura y función mitocondrial, y por ende, su repercusión a nivel tisular. 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.

MINECO, PID2019-108674RB-I00 y CIBERER-ISCI, CB06/07/0017.

## p09 Perfil genético asociado a pacientes con síndrome aórtico agudo complicado: el estudio GEN-AOR

**Autores:** Cristina Méndez-Vidal, Nereida Bravo-Gil, Antonio M. Puppo-Moreno, Alejandro Adsuar Gómez, F. Tadeo Gómez-Ruiz, Carlos Jiménez de Juan, Raquel M. Fernández-García, Rafael Martín Bermúdez, José María López Sánchez, Sara Martín Sastre, Manuel Fernández Caro, Pastora Gallego, Salud Borrego

**Expone:** Nereida Bravo Gil - [cristina.mendez@juntadeandalucia.es](mailto:cristina.mendez@juntadeandalucia.es)

**Grupo:** U702 - Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud de Sevilla, Sevilla

**Introducción y Objetivos:** El papel de la genética en el diagnóstico y la personalización de los tratamientos de las aortopatías, es cada vez mayor. En este estudio se analizó la prevalencia de variantes genéticas en pacientes con síndrome aórtico agudo (SAA) admitidos consecutivamente en una unidad de cuidados intensivos y se evaluó su utilidad clínica.

**Métodos:** Mediante secuenciación masiva, se analizó 42 genes asociados a aortopatías en pacientes con SAA no sintomático. Las variantes identificadas se segregaron mediante secuenciación Sanger en los familiares disponibles. Además, se estudió la relación entre los resultados genéticos y algunas características clínicas mediante la aplicación de los test exactos de Fisher y de Fisher-Freeman-Halton.

**Resultados:** El análisis de los datos genómicos de 73 pacientes de SAA dio como resultado la identificación de 34 variantes candidatas en 32 individuos, localizadas en 14 genes diferentes. La segregación familiar se realizó en 31 individuos pertenecientes a 9 familias, donde se encontraron 13 portadores de los que 10 mostraron un genotipo compatible con SAA. El estudio estadístico indicó que la ausencia de hipertensión, una menor edad, una historia familiar de SAA y la ausencia de dolor están asociadas con un estudio genético positivo.

**Conclusiones:** Se amplió el espectro mutacional asociado a SAA. Además, tanto los pacientes índice como los familiares estudiados se han visto beneficiados por estos resultados, por lo que se puede establecer el protocolo de seguimiento adecuado para cada uno de ellos. Por último, es importante destacar la posibilidad de utilizar variables clínicas estadísticamente significativas como factores predictores del carácter hereditario del SAA.

## p10 Posibilidades y perspectivas de la secuenciación de 4ª generación por nanoporos en el estudio molecular de enfermedades raras

**Autores:** Pedro Garrido Rodríguez, María Eugenia de la Morena-Barrío, Carlos Bravo-Pérez, María Luisa Lozano, Javier Corral, Belén de la Morena-Barrío

**Expone:** Belen De La Morena Barrío - [belendelamorenabarrío@gmail.com](mailto:belendelamorenabarrío@gmail.com)

**Grupo:** U765 - Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia

**Introducción:** La secuenciación NGS ha revolucionado el diagnóstico genético, aunque muestra limitaciones. La secuenciación por lecturas largas supera estas, facilitando la caracterización de variantes estructurales (VEs), resolver grandes haplotipos, estudiar epigenética o epitranscriptómica y enriquecer regiones de interés.

**Objetivo:** Explorar las posibilidades de secuenciación por nanoporos en deficiencia de antitrombina (DAT) como modelo de enfermedad rara. **Métodos.** Se seleccionaron pacientes con DAT: 14 portadores de p.Thr147Ala en SERPINC1; 28 con VEs identificadas mediante MLPA; y 30 sin base molecular detectada. Empleando MinION, se secuenció ARNm de 15 hígados humanos. Se estudiaron haplotipos en una única librería de dos long-range PCR solapantes. El enriquecimiento utilizó adaptive sampling.

**Resultados:** Identificamos un haplotipo común de 13 SNPs ligados al alelo mutado p.Thr147Ala, definiendo efecto fundador (Figura 1). La secuenciación del ARNm generó lecturas de 789pb de media, identificando 4,570 transcritos ausentes en GENCODE (Figura 2), incluyendo 6 nuevos para SERPINC1, uno validado mediante RT-PCR (Figura 3). Estudiamos enriquecimiento, mostrando que seleccionar lecturas >1000 pb, incluir pseudogenes y secuenciar >20 horas consiguen una cobertura media de hasta 13x vs 2x del genoma completo (Figura 4). Esto permitió caracterizar VEs en SERPINC1 y detectar nuevas, como la inserción de retrotransposones en 4 casos sin base molecular conocida.

**Conclusión:** La secuenciación con nanoporos abre nuevas perspectivas en el diagnóstico genético de enfermedades. Permite 1) resolver grandes haplotipos, 2) ampliar la diversidad transcripcional de tejidos, 3) aumentar la cobertura de regiones concretas para identificar y caracterizar VEs. Además, permite estudios epigenéticos y epitranscriptómicos

**p11 STED microscopy to characterize synaptopathies: Human CASPR2 Antibodies Reversibly Alter memory and CASPR2 Protein Complex**

**Autores:** Mar Petit-Pedrol, Francesco Mannara, Marija Radosevic, Maria Marsal, Estibaliz Maudes, Anna García-Serra, Esther Aguilar, Alba Andrés-Bilbé, Xavier Gasull, Pablo Loza-Alvarez, Lidia Sabater, Myrna R Rosenfeld, Josep Dalmau, Jesús Planagumà#, Bastien Joubert

**Expone:** Jesús Planagumà | Valls - [jesus.planaguma@gmail.com](mailto:jesus.planaguma@gmail.com)

**Grupo:** U764 - Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Barcelona

The encephalitis associated with antibodies against contactin-associated protein-like 2 (CASPR2) is presumably antibody-mediated<sup>1, 2</sup> but the antibody effects and whether they cause behavioral alterations are not well-known<sup>3</sup>. Here, we used a mouse model of patients' IgG transfer and super-resolution microscopy to demonstrate the antibody pathogenicity.

**Methods:** IgG from patients with anti-CASPR2 encephalitis or healthy controls were infused into the cerebroventricular system of mice. The levels and colocalization of CASPR2 with transient axonal glycoprotein-1 (TAG1) were determined with Stimulated Emission Depletion (STED) microscopy (40-70 nm lateral resolution). Hippocampal clusters of Kv1.1 voltage-gated potassium channels (VGKC) and GluA1-containing AMPA receptors were quantified with confocal microscopy. Behavioral alterations were assessed with standard behavioral paradigms. Cultured neurons were used to determine the levels of intracellular CASPR2 and TAG1 after exposure to patients' IgG.

**Results:** Infusion of patients' IgG, but not control IgG, caused memory impairment along with hippocampal reduction of surface CASPR2 clusters and decreased CASPR2/TAG1 colocalization. In cultured neurons, patients' IgG led to an increase of intracellular CASPR2 without affecting TAG1, suggesting selective CASPR2 internalization. Additionally, mice infused with patients' IgG showed decreased levels of Kv1.1 and GluA1 [two CASPR2 regulated proteins]. All these alterations and the memory deficit reverted to normal after removing patients' IgG.

**Conclusions:** IgG from patients with anti-CASPR2 encephalitis cause reversible memory impairment, inhibit the interaction of CASPR2/TAG1, and decrease the levels of CASPR2 and related proteins (VGKC, AMPAR). These findings demonstrate that patients CASPR2 antibodies are pathogenic and provide support to the use of antibody-removing treatment approaches.

[1] M. Saint-Martin, B. Joubert, V. Pillier-Monnin, et al. Contactin-associated protein-like 2, a protein of the neurexin family involved in several human diseases, *Eur J Neurosci*, 48, 1906-1923 [2018].

[2] O. Varea, MD. Martin-de-Saavedra, KJ. Kopeikina, et al. Synaptic abnormalities and cytoplasmic glutamate receptor aggregates in contactin associated protein-like 2/Caspr2 knockout neurons, *Proc Natl Acad Sci USA*, 112, 6176-81 [2015].

[3] B. Joubert, M. Saint-Martin, N. Noraz, et al. Characterization of a Subtype of Autoimmune Encephalitis With Anti-Contactin-Associated Protein-like 2 Antibodies in the Cerebrospinal Fluid, Prominent Limbic Symptoms, and Seizures, *JAMA Neurol*, 73, 1115-24 [2016].

# contributed equally

**p12 Actualizaciones y nuevas funcionalidades de las bases de datos CSVS y SPACNACS**

**Autores:** Rosario Carmona, Daniel López-López, Javier Pérez-Florido, Virginia Aquino, Noemí Toro, Gema Roldán, Gerrit Bostelmann, José Luis Fernández, Francisco Ortuño, María Peña-Chilet, Anna González-Neira, Rocío Núñez-Torres, Guillermo Pita, Joaquín Dopazo

**Expone:** Rosario Carmona Muñoz - [rosariom.carmona@juntadeandalucia.es](mailto:rosariom.carmona@juntadeandalucia.es)

**Grupo:** U715 - Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla

Nuestro grupo (U715) es el responsable del desarrollo, mantenimiento y actualización de las plataformas CSVS (<http://csvs.clinbioinfospa.es/>) y SPACNACS (<http://csvs.clinbioinfospa.es/spacnacs/>): - CSVS (Collaborative Spanish Variant Server) proporciona información sobre la variabilidad genómica de la población española, muy útil para filtrar polimorfismos y variaciones locales durante el proceso de priorización de genes candidatos a explicar una enfermedad. Actualmente contiene información procedente de exomas y genomas de 2105 individuos españoles no relacionados entre sí. - SPACNACS (Copy Number Alteration Collaborative Server) que proporciona información sobre variantes en el número de copias (CNVs) en 448 individuos no relacionados de población española. Ambas bases de datos siguen creciendo año tras año gracias a la incorporación de muestras procedentes de diversos centros y proyectos de investigación, mejorando con ello la representatividad y capturando la diver-

sidad de la población española. Igualmente se van incorporando nuevas utilidades y herramientas que aumentan su potencial como herramientas de consulta y ayuda para el diagnóstico y la investigación de enfermedades hereditarias, raras o cáncer. Así, como novedad importante, CSVS ha incorporado recientemente un apartado de farmacogenómica que muestra a nivel de variante, los haplotipos en los que puede estar involucrada, con enlaces a la base de datos PHARMGKB (<https://www.pharmgkb.org/>). Esta información añadida resulta tremendamente útil para conocer las variantes genéticas más prevalentes en población española que condicionan la respuesta a fármacos y que podrán ser utilizadas por ejemplo para la selección de fármacos en base a la identificación de dianas terapéuticas o como biomarcadores para la predicción de respuestas a medicamentos.

### **p13 Cooperation between epithelial-mesenchymal transition transcription factors provides genetic robustness to zebrafish heart laterality**

**Autores:** Juan Galceran, Noemi Castroviejo, Ismael Moreno-Sánchez, Miguel A. Moreno-Mateos, Nitin Narwade, M. Ángela Nieto

**Expone:** Joan Galcerán - [j.galceran@umh.es](mailto:j.galceran@umh.es)

**Grupo:** U769 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Alicante/Alacant

Mesocardia [ORPHA:95443] is a rare disease in which the heart is located in the midline, with its longitudinal axis in the mid-sagittal plane. We have previously described that the downregulation of transcription factor PRRX1, associated with the Agnathia-Otocephaly Complex, leads to mesocardia in animal models. In zebrafish, *prrx1a* acute loss-of-function [LOF] leads to mesocardia due to the failure in the left-right [L/R] asymmetric contribution of cells that drives the leftward position of the posterior pole of the heart. However, different allelic mutants for this epithelial-mesenchymal transition transcription factor [EMT-TF] show a normal position of the heart albeit CRISPR-Cas9-mediated LOF strategies to edit the genome confirmed the specificity of the mesocardia phenotype. We have also confirmed the mesocardia phenotype after targeting *prrx1a* mRNA using the CRISPR-RfxCas13d system and investigate how normal heart laterality occurs in the *prrx1a* mutant background. We show that additional EMT-TFs, namely *Prrx1b*, *Twist1a* and *Snail1b*, cooperate with *Prrx1a* in the process of heart laterality and that *prrx1a* and *snail1b* genetically interact. All of this indicates that other EMT-TFs can compensate for the loss of *Prrx1a*, and reveals the intrinsic robustness of the process, securing the proper position and, therefore, function of the heart.

### **p14 El papel del metabolismo lipídico y la leptina en la fisiopatología de la Epidermolisis Bullosa Distrófica Recesiva [EBDR]**

**Autores:** Sara Herráiz Gil, María del Carmen Arriba Pérez, Lucía Martínez Santamaría, Rocío Maseda Pedrero, Nuria Illera Esteban, Jordi Capellades, Óscar Yanes Torrado, Su Lwin, John McGrath, Rosa Sacedón Ayuso, Raúl de Lucas Laguna, Judit Mateu, Teresa Torres, Miriam Potrony, Joan A. Puig-Butillé, Susana Puig, Marcela del Río, María José Escámez Toledano, Carlos León Canseco

**Expone:** Sara Herráiz Gil - [sherraz@ing.uc3m.es](mailto:sherraz@ing.uc3m.es)

**Grupo:** U714 - Universidad Carlos III, Madrid

La EBDR es un trastorno raro de fragilidad mucocutánea e incurable caracterizado por una adhesión dermoepidérmica deficiente causada por mutaciones en el gen COL7A1. Los pacientes con EBDR presentan daños en la superficie orofaríngea y gastrointestinal, que dificultan la absorción de alimentos, lo que conduce a un compromiso nutricional asociado con hipolipidemia. Este estudio tiene como objetivo explorar los mecanismos moleculares que subyacen a las alteraciones lipídicas encontradas en una cohorte homogénea de 8 pacientes pediátricos con EBDR reclutados en el ensayo clínico Mesensistem-EB [NCT04153630], cuyos análisis clínicos muestran una baja concentración de colesterol y HDL en sangre. Se realizaron análisis transcriptómicos y lipídómicos comparativos en la piel y el suero de los pacientes. La lipídómica confirmó la hipolipidemia mediante la disminución de 124 lípidos circulantes en pacientes con EBDR, principalmente en carnitinas, ácidos grasos, esteroides y glicerofosfolípidos. La transcriptómica reveló la desregulación de 255 genes, incluida una inhibición significativa del gen de la leptina en la piel de los pacientes. Más allá de su papel central regulando la alimentación y el gasto energético, la leptina estimula la proliferación de queratinocitos y fibroblastos, la epitelización y la síntesis de colágeno. Estos mecanismos conducen a una mejora en la regeneración y cicatrización de la piel, procesos clave en la fisiopatología de la EBDR. Este estudio ayuda a comprender el papel de la leptina en la piel y su mediación entre inflamación y metabolismo lipídico sistémico en EBDR, lo que podría ser relevante para el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos.

## p15 Evaluation of AQP4 functional variants and its association with FXTAS

**Autores:** Teresa Torres Moral, Andrea Elías-Mas, Míriam Potrony, Jaume Bagué, David J Cutler, Maria Isabel Alvarez-Mora, Tamara Barcos, Joan Anton Puig-Butillé, Marta Rubio, Irene Madrigal, Susana Puig, Emily G Allen, Laia Rodríguez-Revenga

**Expone:** Teresa Torres Moral - [teresa.torres@ciberer.es](mailto:teresa.torres@ciberer.es)

**Grupo:** U726 - Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, Barcelona

Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) is a late-onset neurodegenerative disorder with reduced penetrance that appears in adult FMR1 premutation carriers. Clinical symptoms in FXTAS patients usually begin with an action tremor, and after ataxia, loss of sensation in the distal lower extremities or autonomic dysfunction may occur, and gradually progress. Cognitive deficits are also observed, with a gradual progression to dementia in some individuals. Aquaporin 4 (AQP4) is a commonly distributed water channel in astrocytes of the central nervous system. Changes in AQP4 activity have been implicated in several central nervous system disorders. Previous studies have suggested the associations of AQP4 single nucleotide polymorphisms (SNPs) with brain-water homeostasis, and neurodegeneration disease. To date, this association has not been studied in FXTAS. To investigate the association of AQP4 SNPs with the risk of presenting FXTAS, a total of seven common AQP4 SNPs were selected and genotyped in 95 FMR1 premutation carriers with FXTAS and in 65 FMR1 premutation carriers without FXTAS. The frequency of AQP4-haplotype was compared between groups, denoting 26 heterozygous individuals and 5 homozygotes as carriers of the minor allele in the FXATS group and 25 heterozygous and 2 homozygotes in the no-FXATS group. Statistical analyses showed no significant associations between AQP4 SNPs/haplotypes and development of FXTAS. Although AQP4 has been implicated in a wide range of brain disorders, its involvement in FXTAS remains unclear. The identification of novel genetic markers predisposing to FXTAS or able to modulate disease progression is critical for future research involving predictors and treatments.

## p16 Medicina personalizada en acromegalia

**Autores:** Joan Gil, Montserrat Marques-Pamies, Elena Valasi, Jennifer Marcos, Guillermo Serra, Monica Marazuela, Antonio Picó, Betina Biagetti, Mireia Jordà, Susan Webb, Manel Puig-Domingo

**Expone:** Joan Gil Ortega - [jgil@igtp.cat](mailto:jgil@igtp.cat)

**Grupo:** U747 - Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, Barcelona

La acromegalia es una enfermedad crónica rara provocada por un tumor hipofisario secretor de hormona del crecimiento. Esta hipersecreción produce una desfiguración progresiva y otras afectaciones sistémicas, tanto osteoarticulares, musculares, cardiovasculares y endocrinas. La primera línea de tratamiento suele ser la intervención quirúrgica, pero en buena parte de los pacientes la resección completa no es posible debido a su delicada localización. En estos casos, se dispone de terapia médica con varios medicamentos disponibles. La primera línea farmacológica son los ligandos del receptor de la somatostatina de primera generación (LRS), lamentablemente estos sólo permiten controlar bioquímicamente al 30% de los pacientes. El actual algoritmo de tratamiento se basa en la estrategia de ensayo-error, lo cual desencadena un retraso de hasta 1 año en pacientes que no responden a LRS. Nuestro objetivo es desarrollar un algoritmo predictivo basado en la expresión génica en el tumor después de la primera cirugía para descartar el uso de LRS en pacientes que no responderán. Para ello realizamos un análisis diferencial de expresión mediante RNA-seq entre 45 pacientes del proyecto REMAH, respondedores y no respondedores a LRS caracterizando los genes y vías alteradas en pacientes no respondedores a LRS. Identificamos También construimos mediante métodos de data mining construimos diversos modelos predictivos y, en algunos, logramos una validación técnica por RT-qPCR. En una cohorte de 24 pacientes, realizamos por RT-qPCR la validación biológica. En conclusión, creemos que este estudio puede ser el primer paso en la medicina de precisión en acromegalia.



## p17 Nuevas mutaciones en ZFP57 en pacientes con diabetes neonatal transitoria por pérdida de metilación en la región 6q24

**Autores:** Laura Saso Jiménez, Rosa Martínez Salazar, Inés Urrutia Etxebarria, June Corcuera Tejada, Itxaso Rica Echevarría, Anibal Aguayo Cálceña, Luis Castaño González, Grupo Español de Diabetes Monogénica Neonatal

**Expone:** Laura Saso Jimenez - [laura.sasojimenez@osakidetza.eus](mailto:laura.sasojimenez@osakidetza.eus)

**Grupo:** U725A - Asociación Instituto de Investigación Sanitaria de Biocruces Bizkaia, Bizkaia

**Introducción:** La diabetes neonatal transitoria relacionada con el locus 6q24 (TNDM-6q24) es un trastorno de impronta caracterizado por hiperglucemia durante los primeros 6 meses de vida. Una de las causas moleculares es la pérdida materna de metilación en 6q24 y sobreexpresión de los genes PLAGL1/HYMAI paternos. Recientemente se ha descrito que alrededor del 50% de estos casos presentan defectos de metilación en otras regiones del genoma, lo que se ha asociado a mutaciones recesivas en el gen ZFP57, necesario para el mantenimiento de la metilación durante el desarrollo embrionario.

**Objetivo:** Búsqueda de mutaciones en ZFP57 y alteraciones de la impronta en pacientes diagnosticados con TNDM-6q24.

**Materiales y Métodos:** Se ha estudiado en 6 casos diagnosticados previamente de TNDM y pérdida de metilación en 6q24 (mediante PCR de PLAG1), el gen ZFP57 mediante un panel de NGS. Se ha estudiado la pérdida de metilación en otras regiones mediante MS-MLPA [SALSA Probemix ME034].

**Resultados:** Se han identificado variantes en ZFP57 en 2 casos (2/6, 33.3%). El primer paciente, diagnosticado a los 7 días de vida presentó una nueva variante probablemente patogénica en homocigosis (p.Glu123AspfsTer9). El segundo paciente con debut en el segundo día de vida presentó dos variantes en heterocigosis compuesta: una variante de novo patogénica previamente asociada a 6q24-TNDM (p.Arg248His) y una nueva variante probablemente patogénica (p.Arg257Trp). Todos los pacientes presentaban pérdida total de metilación en PLAG1 y algunos de ellos pérdida parcial de metilación en otras regiones como GRB10, PEG3 y GNAS.

**Conclusiones:** Sería necesario incluir en el diagnóstico genético de TNDM el estudio del gen ZFP57.

## p18 Papel de las variantes genéticas del gen IL6R en la predicción de toxicidad a tocilizumab en pacientes con artritis reumatoide

**Autores:** P Riera, L Sainz, L González-Quereda, P Moya, Segarra-Casas, J Casademont, C Díaz-Torné, AM Park, A Lasa, H Corominas, P Gallano, S Bernal

**Expone:** Pia Gallano Petit - [pgallano@santpau.cat](mailto:pgallano@santpau.cat)

**Grupo:** U705 - Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, Barcelona

**Introducción:** El tocilizumab es un fármaco antirreumático modificador de la enfermedad biológico de primera línea (FAME-b) que inhibe la vía de la interleucina-6 (IL-6) al antagonizar su receptor (IL-6R). El tocilizumab se usa ampliamente para tratar la artritis reumatoide (AR), una enfermedad autoinmune prevalente que puede causar discapacidad y daño articular irreversible. Se han desarrollado muchos FAME-b para la AR, sin embargo todavía faltan biomarcadores validados que puedan guiar una estrategia de medicina personalizada.

El objetivo de este estudio fue evaluar si los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en el gen IL6R podían predecir la toxicidad de tocilizumab en pacientes con AR.

**Material y Métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo en una cohorte de 88 pacientes tratados con tocilizumab. Se genotiparon seis SNPs descritos previamente en el gen IL6R (rs12083537, rs11265618, rs4329505, rs2228145, rs4537545 y rs4845625). Mediante pruebas paramétricas, se estudió la asociación entre los SNPs y los efectos adversos (EA) de hepatotoxicidad, infección, hipersensibilidad, gastrointestinales, hematológicos y dislipidemia.

**Resultados:** Se hallaron asociaciones entre la dislipidemia y el rs4845625 y entre EA hematológicos y los rs11265618 y rs4329505. No se encontraron más asociaciones para los demás SNPs y otros EA.

**Conclusiones:** Nuestros hallazgos respaldan el valor clínico potencial de los SNPs en el gen IL6R como biomarcadores predictivos de toxicidad por tocilizumab en pacientes con AR.

**p19 Bases estructurales de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) asociada a mutaciones en el gen GDAP1**

**Autores:** Francisca Gallego del Sol, Luis M Polo, Vicente Rubio, Alberto Marina

**Expone:** Alberto Marina Moreno - [amarina@ibv.csic.es](mailto:amarina@ibv.csic.es)

**Grupo:** U739 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia/València

Mutaciones dominantes y recesivas en el gen para la proteína asociada a la diferenciación inducida por gangliósidos (GDAP1) son causa importante de CMT, desconociéndose la base molecular de esta dualidad de formas de herencia e incluso de la función exacta de la proteína GDAP1. GDAP1 pertenece a la familia glutatión S-transferasa, GST, se ancla en membrana mitocondrial externa, y está implicada en fisión/fusión mitocondrial, en interacciones mitocondria-otras membranas, y en homeostasis/señalización por Ca<sup>2+</sup>. Para comprender sus funcionalidades, la dualidad de formas de herencia, y para racionalizar los efectos de las mutaciones clínicas en CMT hemos producido la mayor parte (residuos 26-283) de la porción extramembranaria de GDAP1 humana, corroborando que carece de actividad GST canónica (conjugación de glutatión a xenobióticos), y determinando su estructura cristalina a resolución 2.3Å. La cadena presenta arquitectura bidominio canónica de GSTs: dominio tiorredoxina o G, y H. Específica de GDAP1 es una horquilla a con un bucle central largo, flexible y parcialmente desordenado, que se proyecta desde el dominio H sobre el sitio G. GDAP1 es un homodímero entrecruzado por un puente disulfuro Cys88-Cys88, radicalmente distinto del dímero GST canónico, con hebras beta enterradas en la interfaz y con a-6 (de la horquilla a) proyectada hacia la otra subunidad, tomando el dímero el aspecto de V abierta. Esta visión integrada señala potencialidades funcionales sometibles a prueba e hipótesis plausibles sobre ambos modos de herencia y sobre mecanismos patogénicos de las mutaciones clínicas.

Grupo 739/CB06/07/0077 [Instituto de Biomedicina de Valencia-CSIC], como parte de la actividad del ACCI "TRANSLATIONAL DIAGNOSTICS PROGRAM FOR UNDIAGNOSED AND RARE DISEASES: BRINGING TOGETHER CLINICAL PHENOTYPE, GENOME, AND BIOLOGICAL FUNCTION AND STRUCTURE" Coordinador Francesc Palau, grupo CB06/07/0001, Hospital Sant Joan de Deu, Barcelona (y en dicho grupo también focalizados en CMT, Lara Cantarero y Janet Hoenicka, y en el grupo CB06/05/0091, Teresa Sevilla).

**p20 Identificación de eventos de desequilibrio alélico asociados a enfermedad avanzada en cáncer medular de tiroides (CMT)**

**Autores:** Natalia Martínez-Puente, Ángel M. Martínez-Montes, Cristina Álvarez-Escolá, Rita M. Regojo-Zapata, Guillermo Pita, Eduardo Gil, Rocío Letón, Sergio Ruiz-Llorente, Patricia González-García, Luis Javier Leandro-García, Roberta G. Radu, María Monteagudo, Sara Mellid, Alberto Díaz-Talavera, Javier Lanillos, Carlos Valdivia, Javier de Nicolás-Hernández, María Calatayud, Luis Robles-Díaz, Claudia Toledo Pacheco, Visitación Álvarez de Frutos, Javier Aller, Cristina Rodríguez-Antona, Alberto Cascón, Anna González-Neira, Eduardo Caleiras, Mercedes Robledo, Cristina Montero-Conde

**Expone:** Natalia Martínez Puente - [natamar16@gmail.com](mailto:natamar16@gmail.com)

**Grupo:** U706 - Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, Madrid

**Introducción:** El carcinoma medular de tiroides (CMT) es un tumor raro (prevalencia estimada: 1/14.300) de origen neuroendocrino que se asocia a mutaciones puntuales en los oncogenes RET y (H-, K-)RAS. Estas mutaciones son mutuamente excluyentes y activan constitutivamente la vía de señalización MAPquinasas (MAPK). Sin embargo, se desconocen las alteraciones moleculares asociadas a enfermedad avanzada y a variabilidad de la respuesta a inhibidores selectivos de esta vía. Estudios recientes han destacado la utilidad terapéutica del análisis de alteraciones genómicas de número de copia [CNAs] en cáncer, identificando eventos que determinan la dependencia del tumor a ejes de señalización específicos y la sensibilidad a inhibidores selectivos.

**Objetivos:** Caracterizar el mapa de CNAs y el transcriptoma de una serie de 61 tumores pertenecientes a 48 pacientes, para identificar CNAs funcionales que modulen el comportamiento clínico del CMT y, potencialmente, su sensibilidad a inhibidores selectivos.

**Resultados:** El análisis de CNAs reveló eventos de desequilibrio alélico en favor del alelo mutado en los loci de RET y HRAS en CMTs metastásicos con mutaciones en estos oncogenes. Actualmente, estamos validando la funcionalidad de estos CNAs mediante 1- análisis por PCR digital del desbalance de los alelos mutante/nativo en expresión génica [RNA], y 2- analizando una firma transcripcional que cuantifica la intensidad de activación de la vía MAPK.

**Conclusión:** Los resultados preliminares apuntan a que los CNAs de RET y RAS intensifican la actividad de la vía MAPK, lo que podría representar un marcador predictivo de respuesta a tratamiento.

## p21 **Modulación mitocondrial como tratamiento potencial del síndrome de RETT**

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

**Expone:** Alfonso Oyarzabal Sanz - [alfonsoluis.oyarzabal@sjd.es](mailto:alfonsoluis.oyarzabal@sjd.es)

**Grupo:** U703 - Fundació para la Investigació i Docència Sant Joan de Deu, Barcelona

**Objetivos:** El síndrome de Rett es una enfermedad del neurodesarrollo intratable que afecta a 1:10.000 niñas, generalmente debida a mutaciones en *MeCP2*. Se caracteriza por una regresión en el desarrollo neuronal tras un crecimiento postnatal normal, lo que da lugar a la pérdida de capacidades adquiridas como el habla, el uso intencionado de las manos y la aparición de crisis epilépticas. Las alteraciones en la homeostasis mitocondrial forman parte de una fisiopatología compleja, configurándose como una diana atractiva para el tratamiento de la enfermedad. Hemos estudiado el efecto de un medicamento designado como huérfano por la FDA y la EMA, en la modulación del funcionamiento mitocondrial en el contexto del síndrome de Rett y su potencial uso para modificar el fenotipo de la enfermedad.

**Métodos:** En primer lugar demostramos que la disfunción mitocondrial en fibroblastos de pacientes con Rett se corregía potencialmente con el fármaco. Definimos las alteraciones en la homeostasis mitocondrial mediante la medición de la forma mitocondrial [tanto la ultraestructura como la parametrización de la red mediante microscopía electrónica y confocal], la dinámica [mediante la medición de las proteínas de fisión-fusión] y la función del metabolismo energético [evaluando la producción de ATP mediante un ensayo de luciferina-luciferasa, la producción de especies reactivas de oxígeno y el metabolismo]. A continuación, tratamos modelos de ratones Rett y evaluamos el efecto del fármaco sobre la homeostasis mitocondrial cerebral, tanto en términos de función mitocondrial como de corrección fenotípica.

**Resultados:** Comprobamos que el tratamiento de las células con fármaco producía la corrección de las alteraciones del metabolismo energético y del estrés oxidativo. Basándonos en estos resultados positivos, avanzamos en el estudio de un modelo murino femenino de Rett. Confirmamos que la función mitocondrial era área-dependiente, y especialmente relevante en hipocampo y cerebelo. El tratamiento prolongado de los ratones Rett produjo una corrección del rendimiento mitocondrial, tanto en la producción de ATP como en el estrés oxidativo. También ejerció un efecto antiinflamatorio, medido tanto en la presencia de microglía en el córtex como a través de un panel multiplex de citoquinas. Además, derivó en una mejora del fenotipo de los ratones, particularmente evidente en su coordinación motora, actividad exploratoria y salud general, sin que se observaran efectos adversos.

**Conclusiones:** Nuestros estudios confirman la modulación mitocondrial a través de la Leriglitazona como un tratamiento potencial para el síndrome de Rett junto con otras enfermedades con implicación mitocondrial, constituyendo la evidencia preclínica introductoria a un ensayo clínico que comenzará en los próximos meses.

## p22 **Cofilina 2 como biomarcador de alteraciones cardíacas en ataxia de Friedreich**

**Autores:** Tamara Lapeña, Laura R. Rodríguez, Noelia Benetó, Victor Revert, Pilar González-Cabo, Federico Pallardó

**Expone:** M<sup>a</sup> Pilar González Cabo - [Pilar.Gonzalez-Cabo@uv.es](mailto:Pilar.Gonzalez-Cabo@uv.es)

**Grupo:** U733 - Universidad de Valencia, Valencia/València

La ataxia de Friedreich [FRDA] es una enfermedad rara neurodegenerativa causada por la expansión de una repetición de un triplete GAA localizado en el gen FXN que codifica para una proteína denominada frataxina. Existe una relación directa entre el tamaño de la expansión y la edad de inicio de la enfermedad. Cuanto mayor es el tamaño de la expansión menos mRNA se transcribe y por tanto los niveles de frataxina están disminuidos. Pero además, existen distintas marcas epigenéticas asociadas a los alelos FRDA que intervienen en gran medida en la regulación de la expresión del gen FXN. En nuestro grupo hemos llevado a cabo la edición génica de 26 líneas celulares derivadas de pacientes FRDA mediante la utilización de la tecnología de CRISPR/Cas9 para conseguir la eliminación de la expansión GAA, mutación responsable de la enfermedad. Tras la edición hemos comprobado que no todas las líneas recuperan por igual los niveles de expresión de frataxina. Estos resultados ponen de relieve que no solo es la expansión de la repetición GAA la que regula la expresión de frataxina, sino que existen más factores que intervienen en dicha regulación. Por este motivo, hemos analizado la metilación de una región diferencialmente

hipermetilada del ADN [zona DMR] aguas arriba de la repetición, en las líneas de pacientes antes y después de la edición de la expansión de las repeticiones GAA, para determinar cuáles son los mecanismos epigenéticos que se deberían tener en cuenta a la hora de plantear una futura terapia por edición génica.

## p23 Delving into the phenotypic heterogeneity of CoQ biosynthesis defects using zebrafish models

**Autores:** Ariadna Crespo-González, Carmine Staiano, María del Mar Blanquer-Rosselló, Laura García-Corzo, María Chacón, Ana Belén Cortés-Rodríguez, Estefanía Sanabria-Reinoso, María Almuedo-Castillo, Miguel Ángel Moreno-Mateos, Gloria Brea-Calvo

**Expone:** Ariadna Crespo González - [acregon1@upo.es](mailto:acregon1@upo.es)

**Grupo:** U729 - Universidad Pablo de Olavide, Sevilla

Coenzyme Q (CoQ) is a redox-active lipid with a prominent role in the mitochondrial respiratory chain but is also involved in other redox processes being electron acceptor for specific dehydrogenases. Primary CoQ deficiencies are rare mitochondrial conditions, clinically highly heterogeneous and biochemically characterised by a reduction in CoQ, caused by biallelic mutations in any of the -at least- 11 COQ genes participating in its biosynthesis. Remarkably, patients show a broad spectrum of manifestations, severity, and age of onset, but a clear genotype-phenotype correlation is still lacking. We hypothesize that the disease unfolding due to defects in specific COQ genes could be different during development and would determine severity, the age of onset and the affected tissues. Modelling rare diseases is a promising approach to overcoming the lack of epidemiological studies. That is why we have generated CRISPR-RfxCas13d knockdown and CRISPR-Cas9 loss-of-function Danio rerio [zebrafish] mutant models defective in coq4 and coq6 genes as a paradigm of genes showing a different clinical set of manifestations and severity. Our work will contribute to closing the gap in the knowledge of the regulation of CoQ biosynthesis during development and its coordination with mitochondrial biogenesis. The functional and physiological characterisation of the animals will help to better understand the disease triggered by coq4 and coq6 defects. Furthermore, the models have eventually the potential to serve as drug screening platforms for preclinical assays.

## p24 Estudios genómicos en pacientes con enfermedades raras: estrategias de priorización de variantes y reanálisis

**Autores:** Yolanda Benítez, Rosario Carmona, Virginia Aquino, Pablo Mínguez, Beatriz Morte

**Expone:** Yolanda Benítez Quesada - [yolanda.benitez@ciberer.es](mailto:yolanda.benitez@ciberer.es)

**Grupo:** IMPaCT Genómica - Madrid

La secuenciación del genoma completo [WGS] tiene un gran impacto en el diagnóstico de pacientes con enfermedades raras. Sin embargo, muchos casos siguen sin resolverse por el gran número de variantes generado y la dificultad en la priorización y correlación con el fenotipo. Por ello es importante implementar estrategias bioinformáticas alternativas para la mejora de los estudios genómicos y resolución de los casos no diagnosticados en programas como EnoD e IMPaCT. Algunas de las estrategias son:

- Genes candidatos en función del fenotipado, mediante términos HPO ["Human Phenotype Ontology"]. Hemos trabajado en la incorporación de información de los términos HPO que se integrará con la información genómica: "signos guía" que orientan hacia el diagnóstico principal y los términos HPO "negativos", es decir, aquellos que el paciente no presente y que se consideren importantes para el diagnóstico diferencial.

- Reanálisis. En la experiencia de ENoD aproximadamente un 22% de los casos son diagnosticados al reanalizarlos. Estamos trabajando en la automatización de un reanálisis periódico a partir de cambios de anotación en las actualizaciones de las bases de datos de OMIM y ClinVar, para detectar variantes que hayan sufrido cambios en estas anotaciones tras su análisis más reciente.

- Búsqueda de nuevos genes candidatos mediante biología de sistemas. Hemos incorporado en el sistema de priorización información reportada por la herramienta GLOWgenes ([www.glowgenes.org](http://www.glowgenes.org)) que utiliza redes de asociación funcional entre genes para predecir nuevos genes candidatos en función a una lista dada.

Las mejoras en los análisis y estrategias bioinformáticas aumentarán la eficiencia diagnóstica de casos complejos de enfermedades raras.

## p25 Microbiota dysbiosis in X-linked adrenoleukodystrophy

**Autores:** Lorenzo Torreni, Agatha Schlüter, Montserrat Ruiz, Valentina Vélez-Santamaria, Agustí Rodríguez-Palmero, Cristina Guilera, Juan José Martínez, Veronica Cantarin, Sergio Aguilera-Albesa, Carlos Casasnovas, Luis G. Gutierrez-Solana, Wolfgang Köhler, Aurora Pujol, Stéphane Fourcade

**Expone:** Lorenzo Torreni - [ltorreni@idibell.cat](mailto:ltorreni@idibell.cat)

**Grupo:** U759 - Fundació IDIBELL, Barcelona

X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD) is a rare, fatal and incurable disease characterized by inflammatory demyelination of the brain and/or axonal degeneration in spinal cord, caused by loss of function of peroxisomal transporter ABCD1. As a result, very long-chain fatty acids accumulate in brain and plasma, a pathognomonic sign for the disease. X-ALD occurs as two main phenotypes: childhood inflammatory cerebral ALD (cALD) and chronic progressive adrenomyeloneuropathy (AMN). These phenotypes can manifest in the same family, indicating that genetic, environmental or stochastic factors governing the variable disease expressivity ought to exist. Through shotgun metagenomic analysis on fecal samples and metabolomic analysis in brain, we have characterized the taxonomic composition, the functional potential of the gut as well as the metabolites altered in cALD and AMN patients. Thereby, this microbiota dysbiosis associated to gut-derived metabolite alteration in AMN and cALD patients could be involved in the physiopathology and/or in the progression of the disease in both phenotypes.

## p26 Genetic and functional studies of patients with congenital hypothyroidism associated with defects in the TSH receptor (TSHR)

**Autores:** Núria Camats Tarruella, Noelia Baz Redón, Mónica Fernández Cancio, María Antolín Mate, Elena Garcia Arumí, Eduard Mogas Viñals, Ariadna Campos Martorell, Anna Fàbregas Martori, Núria González Llorens, Laura Soler Colomer, María Clemente León, Antonio Moreno Galdó, Diego Yeste Fernández

**Expone:** Núria Camats Tarruella - [nuria.camats@vhir.org](mailto:nuria.camats@vhir.org)

**Grupo:** U712 - Fundació Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca (VHIR), Barcelona

**Introduction:** The thyrotropin receptor (TSHR) has a key role in the thyroid gland. Its genetic defects can cause poor differentiation (thyroid dysgenesis) and/or thyroid malfunction (thyroid dysmorphogenesis, TD). Patient's phenotypes include: congenital hypothyroidism (CH), hyperthyrotropinemia, or non-autoimmune-subclinical hypothyroidism (SH). Over 200 TSHR variants have been published, many of them still uncharacterised in vitro. **OBJECTIVES:** [1] To genetically characterise patients diagnosed with TD or SH associated with TSHR defects; [2] to study the effect of those genetic variants by in vitro functional and expression studies.

**Patients and methods:** Children with TD (N=114, Catalan-CH-neonatal-screening program, confirmation-TSH-range: 18.4-100mIU/L) and SH (N=47) were analysed by an HTS-14-gene panel. In vitro functional studies were performed using a CRE-reporter vector and luciferase tests. Immunofluorescence studies for membrane expression were undertaken.

**Results:** Twelve patients diagnosed with severe/mild TD (N=7) or SH (N=5) presented TSHR candidate variants. The patients had variable genotypes and eleven variants were detected: four of them novel. In vitro studies show a different functional profile for each variant (completely/partially deleterious, or non-deleterious). Some variants have a mild (heterozygous) or totally deleterious (homozygous) effect; whereas others show partial deficiency in both heterozygosis and homozygosis. All variants except one are expressed in the cell membrane.

**Conclusions:** 7.4% of our patients (10.6% of SH, 6.1% of mild/severe TD) present TSHR candidate variants. Our in vitro functional and expression studies have contributed to the molecular diagnosis of these patients. In addition, we highlight the importance of studying the effect of the patient's genotype for a correct diagnostic confirmation.

**p27 Gestational Hypothyroidism in Dehal1KO mice leads to autistic-like phenotypes in the euthyroid adult F1 progeny**

**Autores:** Pouya Alikhani, Andrea Bertolini, Belinda Domínguez de Pablo, María Fuentes-Andión, Mario Them Alvarez, Eva González, Abraham García López, Nerea Díaz Gamero, Elsa Cortés Montero, María de la Fuente Fernández, Alessandro Saba, José Luis Trejo4, Manuela García López, Riccardo Zucchi, José C. Moreno

**Expone:** Pouya Alikhani - [pouya.alikhani2022@gmail.com](mailto:pouya.alikhani2022@gmail.com)

**Grupo:** U753 - Servicio Madrileño de Salud, Madrid

**Introduction:** Human neurodevelopmental disorders (NDDs) frequently present as a mixture of phenotypes like ADHD, autism and mental disability, with predominance of some traits. Rodent models for NDDs are usually generated by inactivation of individual genes with known roles in brain development or maturation, not necessarily reflecting the clinical complexity in patients. Neurodevelopment is importantly regulated by thyroid hormone (TH). Furthermore, T3 was reported to modulate gene expression through epigenetic changes. AIM: We generated a mouse model for gestational hypothyroidism of environmental-genetic origin, to investigate whether maternal low-T4 leads to a wider range of neurobehavioral abnormalities in the progeny, and to study the molecular correlates in the adult brain.

**Methods:** Dehal1 knockout mice were generated by gene-trapping. Four experimental groups were established: [A] Wild type [WT] dams, fed iodine-sufficient diet [ISD] during gestation and lactation, [B] WT dams fed mild iodine deficient diets [MID], [C] Dehal1KO mice fed ISD, and [D] Dehal1KO mice fed MID. Serum T4 was determined by LC/MS-MS in the PND1 dams, and in the adult F1 progeny. From weaning, F1 mice received ISD. Behavioural tests for Social interaction and memory [Three-chamber], obsessive-compulsive activity [Marble burying] and anxiety [Elevated-Plus Maze -E+M- and Open field tests -OF-] were implemented. Mice were sacrificed and brain cortices and hippocampi dissected for qRT-PCR of genes involved in T3-signaling and neurodevelopment.

**Results:** Dams in group D developed hypothyroxinemia [A:  $42.9 \pm 0.9$  ng/ml, D:  $24.36 \pm 0.4$  ng/ml,  $p < 0.001$ ]. F1 mice were euthyroid as adults. Despite this, D-F1 mice showed decreased social interaction and memory [sociability index: A: 0.65%, D: 0.13% ( $p < 0.01$ )] and increased compulsive behaviour [A:  $8.29 \pm 1.5$ , D:  $17 \pm 0.8$  ( $p < 0.001$ )] and anxiety, both at E+M and OF tests ( $p < 0.01$ ). Thyroid hormone receptor-alpha (THRA), main transducer of brain T3-signalling, and Reln [neural migration, spike formation] were 2-fold downregulated in hippocampus and cortex, while Nrgn [synaptogenesis], Prox1 [neurogenesis] and Mag [myelination] were 2-6-fold upregulated.

**Conclusions:** The hypothyroid gestational milieu induces autistic-like and other neurobehavioral features in F1-progeny mice, which are euthyroid as adults. These findings may have implications for the current genetic approach to diagnose NDDs. Multiple T3-dependent RNAs can be deregulated in the brain of NDD patients in the absence of mutations in typical neurodevelopmental genes, suggesting permanent epigenetic modifications induced by local T3-shortage in the embryonic brain.

**p28 Caracterización de dos modelos knock-in del gen Epm2b de la enfermedad de Lafora**

**Autores:** Nerea Iglesias-Cabeza, Luis Zafra-Puerta, Carolyn Worby, Daniel F. Burgos, Gema Sánchez-Martin, José M. Serratosa, Marina P. Sánchez

**Expone:** Nerea Iglesias Cabeza - [nerea.iglesiasc@quironsalud.es](mailto:nerea.iglesiasc@quironsalud.es)

**Grupo:** U744 - Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, Madrid

**Introducción:** Mutaciones en los genes EPM2A o EPM2B, que codifican las proteínas laforina y malina, causan la enfermedad de Lafora, una forma rara y letal de epilepsia mioclónica progresiva. Aparece durante la adolescencia con mioclonías, crisis epilépticas y deterioro cognitivo y motor. También aparecen agregados de poliglucosanos, conocidos como cuerpos de Lafora. Dos de las mutaciones más frecuentes en el gen EPM2B en pacientes son P69A y D146N. Los modelos murinos nulos para la expresión de laforina y malina no muestran con precisión todas las características de los pacientes. Por ello, generamos dos modelos que portan estas mutaciones en el gen Epm2b, que podrían reflejar la patología con mayor fidelidad.

**Objetivos:** Caracterizar el fenotipo epiléptico y neurológico, la histopatología y el perfil metabólico de los modelos knock-in Epm2bP71A y Epm2bD148N, con el fin de obtener nuevas herramientas más ventajosas para estudiar aspectos específicos de la enfermedad de Lafora y evaluar posibles tratamientos.

**Métodos.** Se evaluaron las alteraciones motoras y cognitivas y la actividad epiléptica de estos dos modelos knock-in. También se analizó la presencia de cuerpos de Lafora, neurodegeneración y neuroinflamación, y se estudiaron las alteraciones metabólicas en cerebro mediante espectroscopía por HRMAS *ex vivo*.

**Resultados:** En los estudios preliminares, ambos modelos muestran alteraciones motoras, cognitivas y susceptibilidad al agente epileptógeno PTZ, además de alteraciones metabólicas en distintas regiones cerebrales.

**Conclusiones.** Los modelos knock-in del gen Epm2b presentan rasgos específicos muy representativos de la enfermedad de Lafora. Así, estos modelos murinos se podrán emplear para ensayar y desarrollar nuevas terapias.

## p29 **Developing an antisense therapy for the frequent PKU splicing variant c.1066-11G>A**

**Autores:** Ainhoa Martínez-Pizarro, Maja Dembic, Sara Picó, Elena Montalvo, Margarita Castro, Belén Pérez, José J Lucas, Eva Richard, Brage S Andresen, Lourdes R Desviat

**Expone:** Ainhoa Martínez Pizarro - [ainhoa.martinez@cbm.csic.es](mailto:ainhoa.martinez@cbm.csic.es)

**Grupo:** U746 - Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Phenylketonuria (PKU) is caused by mutations in the PAH gene coding for the hepatic enzyme phenylalanine hydroxylase (PAH), leading to high blood Phe levels that cause alterations in brain development and function. In this study, we aimed to develop a therapy with splice switching antisense oligonucleotides (SSOs) for the prevalent intronic variant c.1066-11G>A, that creates a splice acceptor site leading to the aberrant insertion of 9 nucleotides in the mRNA resulting in a non-functional protein. Our results using minigenes showed a small increase in the use of the natural 3' splice site with SSO targeting predicted branchpoint sequences at -39 and at -45. The hit SSOs also cover a predicted silencer at -55, which could contribute to the positive effect observed. To complete the preclinical studies, we gene edited using CRISPR/Cas9 HepG2 cells and a mouse with humanized Pah intron 11 carrying the mutation. We confirmed the altered Pah splicing profile in liver of the mouse model, that exhibited null hepatic PAH activity, elevated blood and brain L-Phe levels, decreased L-Tyr and L-Trp levels, lower brain and body weight and hypopigmentation. We confirmed decreased levels of brain dopamine, serotonin, 5-HIAA, HVA and DOPAC. These PKU mice present behavioural deficits, mainly hypoactivity and diminished social interaction, as well as locomotor deficiencies. Abnormal hind-limb clasping reflex and microphthalmia were observed. This humanized model representative of a classical PKU phenotype is ideal for preclinical research and development of RNA or pharmacological therapies targeting the splicing variant or the mutant protein defects.

## p30 **Lentiviral vector gene therapy for the treatment of Primary Hyperoxaluria Type 1. Preclinical development and efficacy improvement**

**Autores:** Andrea Molinos Vicente, Aída García Torralba, Virginia Nieto Romero, Saray Rodríguez Díaz, Alessio Cantore, Juan Roberto Rodríguez Madoz, Eduardo Salido, José Carlos Segovia, María García Bravo

**Expone:** María García Bravo - [maria.garciabravo@ciemat.es](mailto:maria.garciabravo@ciemat.es)

**Grupo:** U710 - Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid

Primary Hyperoxaluria Type 1 (PH1) is a rare genetic disorder caused by mutations in the AGXT gene which encodes for the liver enzyme alanine-glyoxylate aminotransferase. PH1 patients suffer from oxalate overproduction that can result in end-stage renal disease and life-threatening oxalosis. Thirty percent of patients show infantile onset. The only permanent curative treatment is liver and kidney double-transplant. *In vivo* lentiviral vector (LV) gene therapy has emerged as a promising therapy for liver monogenic diseases, especially in pediatric patients, taking advantage of its integrative capacity. A preclinical study of *in vivo* LV gene therapy in a PH1 mouse model has been conducted. Adult Agxt1 KO mice were intravenously injected with a hepatocyte-specific LV expressing an AGXT cDNA. Three weeks later mice were subjected to an ethylene glycol challenge to induce overload in oxalate production and PH1 phenotype was analyzed. Treated mice showed a significant reduction in urine oxalate overproduction, prevention of weight loss, and no signs of nephrocalcinosis, achieving a partial pathological phenotype reversion of the PH1 pathology with an estimated percentage of transduced cells up to 10%. In order to improve the therapeutic efficacy of this strategy we explored the use of immunosuppressors as transduction enhancers. C57BL/6 mice were intravenously injected with a reporter lentiviral vector expressing eGFP in combination with dexamethasone, a well-known immunosuppressor, which tripled the percentage of transduced hepatocytes. Overall, the partial phenotypic reversion in the PH1 mouse model together with efficacy improvements move the use of LV closer to the treatment of PH1 patients.

**p31 Morbilidad debida a fiebre mediterránea familiar en España: Una aproximación de base poblacional a través de un sistema de información sanitaria**

**Autores:** Elisa Gallego Ruiz de Elvira, Greta Arias Merino, Germán Sánchez Díaz, Ana Villaverde Hueso, Javier Alonso, Manuel Posada, Verónica Alonso Ferreira

**Expone:** German Sanchez Diaz - [g.sanchez@isciii.es](mailto:g.sanchez@isciii.es)

**Grupo:** U758 - Instituto de Salud Carlos III, Madrid

**Introducción:** La Fiebre Mediterránea Familiar (FMF) es una enfermedad rara hereditaria y autoinflamatoria. El objetivo de este estudio es conocer su morbilidad y analizar su tendencia temporal y distribución geográfica en España.

**Métodos:** A partir del Conjunto Mínimo de Datos Básicos (CMBD) se identificaron las hospitalizaciones con FMF mediante el código 277.21 (CIE10-MC). Se calcularon las tasas de morbilidad específicas y ajustadas por edad. Se analizó la tendencia temporal y el porcentaje de cambio anual mediante regresión Joinpoint. Se calcularon las razones de morbilidad estandarizadas (RME) por provincia y se representaron cartográficamente.

**Resultados:** Se identificaron 960 hospitalizaciones relacionadas con la FMF (52% hombres) de 2008 a 2015. Se detectó un incremento anual en las hospitalizaciones del 4.9% ( $p < 0.001$ ). El riesgo de hospitalización fue superior al esperado para el total nacional ( $SMR > 1$ ) en 13 provincias (5 de ellas en el área mediterránea) e inferior ( $SMR < 1$ ) en 14 (3 en el área mediterránea).

**Conclusión:** Se ha detectado un ascenso en la morbilidad debida a la FMF en España a lo largo del periodo estudiado. Existen diferencias geográficas, encontrándose riesgos más altos en provincias mediterráneas aunque no exclusivamente. Estos hallazgos contribuyen a la visibilidad de la FMF y aportan información útil para la planificación sanitaria. Será necesario disponer de nueva información de base poblacional para continuar monitorizando esta enfermedad.

**p32 Toxic and nutritional factors trigger Leber hereditary optic neuropathy due to a mitochondrial tRNA mutation**

**Autores:** David Pacheu-Grau, Ana Vela-Sebastián, Ester López-Gallardo, Sonia Emperador, Carmen Hernández-Ainsa, Ignacio Blanco, Andrea Ros, Ester Pascual-Benito, Neus Rabaneda-Lombarte, Silvia Presas-Rodríguez, Pilar García-Robles, Julio Montoya, Eduardo Ruiz-Pesini

**Expone:** David Pacheu Grau - [dpacheu@unizar.es](mailto:dpacheu@unizar.es)

**Grupo:** U727 - Universidad de Zaragoza, Zaragoza

Leber hereditary optic neuropathy is a mitochondrial disease mainly due to pathologic mutations in mitochondrial genes related to the respiratory complex I of the oxidative phosphorylation system. Genetic, physiological, and environmental factors modulate the penetrance of these mutations. We report two patients suffering from this disease and harboring a m.15950G > A mutation in the mitochondrial DNA-encoded gene for the threonine transfer RNA. We also provide evidences supporting the pathogenicity of this mutation.

**p33 A patient-derived fibroblast model resembles Inclusion Body Myositis hallmarks**

**Autores:** Judith Cantó Santos, Laura Valls Roca, Ester Tobías, Francesc Josep García García, Mariona Guitart Mampel, Félix Andújar Sánchez, Laia Farré Tarrats, Joan Padrosa, Raquel Aránega, Pedro J. Moreno Lozano, José César Milisenda, Josep M. Grau Junyent, Glòria Garrabou

**Expone:** Judith Cantó Santos - [jcanto@clinic.cat](mailto:jcanto@clinic.cat)

**Grupo:** U722 - Universidad de Barcelona, Barcelona

**Introduction:** Inclusion body myositis (IBM) is a rare disease (ORPHA 611) classified as an inflammatory myopathy. It is clinically characterized by proximal and distal muscle weakness, with inflammatory infiltrates, rimmed vacuoles and mitochondrial changes in muscle histopathology. IBM aetiology is still unknown, there is a lack of biomarkers and effective treatments, partially due to the absence of validated disease models.

**Aim:** Perform a gene expression and functional assessment of IBM vs control fibroblasts to characterize them as a promising model for IBM.



**Results:** The mRNA-seq displayed 778 differentially expressed genes related to inflammation, mitochondria, cell cycle regulation and metabolism. At inflammatory level, we found a 3-fold increased supernatant cytokine expression in IBM fibroblasts. In autophagy, basal protein mediators and time-course autophagosome formation were 18.4% and 47.13% reduced, respectively. Mitochondria revealed a 33.9% lower genetic content and reduced function (by 30.2%-decrease in respiration, 45.6%-decline in enzymatic activity, 14.3%-higher oxidative stress, 135.2%-increased antioxidant defense, 11.6%-reduced mitochondrial membrane potential) and 42.8%-reduced mitochondrial elongation. Considering metabolites, organic acids displayed a 1.8-fold change increase, while amino acids were conserved. Focusing on prognosis, oxidative stress and inflammation arise as potential markers of disease evolution.

**Conclusions:** The presence of IBM muscle hallmarks in fibroblasts prompts them as a potential disease model, which could be exported to other neuromuscular disorders. We additionally identify new molecular players in IBM associated with disease progression, which could aid in understanding disease aetiology, in the identification of biomarkers or in the assay of new therapeutic strategies.

**Funding:** FIS PI1800498, PI2100935, ACCI2022

### **p34 Analysis of the EnoD database using the phenotyping platform PhenoClinWare and patient stratification with the CohortAnalyzer tool**

**Autores:** Pedro Seoane, James R. Perkins, Elena Rojano, Beatriz Morte, Juan A. Garcia-Ranea

**Expone:** Pedro Seoane Zonjic - [seoanezonjic@uma.es](mailto:seoanezonjic@uma.es)

**Grupo:** U741 - Universidad de Málaga, Málaga

We have developed PhenoClinWare (<https://clinsysbiolab.es>), a webserver for the deep phenotyping of patients using the Human Phenotype Ontology (HPO) and the initial analysis of this data. The tool helps explore the comorbid relationships between the pathological phenotypes suffered by patients and their relation with known diseases. PhenoClinWare allows the user to create records to store phenotype data, as well as quantifiable external features and descriptive data. They can also create study groups to share patient data with others. It includes a phenotypic term search engine and system to visualize the HPO structure to help the user select ontology terms when characterizing the patient. This avoids information redundancy and terminology errors. It also offers phenotype suggestions based on co-occurrence across hundreds of OMIM and Orphanet diseases to help ensure full characterization. Finally, PhenoClinWare includes Phenogrid from the Monarch Initiative to suggest related human diseases and genes from animal models, helping to infer potential diseases for the patient and potentially related genes.

We introduced 379 patients from the EnoD initiative into the system and expanded their HPO profiles. These expanded profiles were then analyzed using CohortAnalyzer, performing a semantic similarity calculation to cluster the cohort into patient groups based on related phenotypes. This grouping allows the EnoD initiative to identify and perform comparative analysis using closely related patients, helping identify the molecular basis of the patients' diseases.

### **p35 Helppare Biotech una empresa de base tecnológica para enfermedades raras vasculares**

**Autores:** Rebeca Andradás, Virginia Albiñana, Lucía Recio-Poveda, Eunatè Gallardo-Vara, Martín Jiménez, Ángel M. Cuesta, Luisa-M Botella

**Expone:** Luisa María Botella Cubells - [cibluisa@cib.csic.es](mailto:cibluisa@cib.csic.es)

**Grupo:** U707 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Helppare es una EBT recién creada, planteada como servicio a una necesidad social: la población afectada por enfermedades raras. La idea se sustenta en la coordinación entre médicos de referencia, pacientes (familiares y asociaciones), e investigadores. Los pacientes necesitan un diagnóstico temprano, así como encontrar médicos de referencia para su enfermedad rápidamente, y un tratamiento paliativo/terapéutico. Los médicos precisan tener información precisa y actualizada de la clínica de los pacientes y una comunicación con los pacientes y los investigadores. Los investigadores mejoramos con un contacto directo con médicos de referencia y con los pacientes/asociaciones. Ante las necesidades expuestas, proponemos:

1. La asistencia personalizada a los pacientes. Lo primero es escuchar al paciente y encontrar un diagnóstico genético rápido. El diagnóstico resultante será comunicado en un lenguaje adaptado, al paciente y también al médico del paciente.

2. El establecimiento de comunicación entre paciente y el médico de referencia más cercano.
3. La oferta de modelos celulares y animales para el estudio de la enfermedad y la búsqueda de terapias.

Así, Helprare puede establecer modelos celulares personalizados de enfermedades vasculares a partir de muestras de sangre o de excedentes quirúrgicos de los pacientes. Estos modelos se usarán para el cribado de medicamentos ya existentes para mejoría o tratamientos paliativo/terapéutico. Helprare es capaz de realizar diagnóstico genético, de poner pacientes en contacto con médicos de referencia y de buscar nuevas terapias; estando en la base el triángulo paciente-médico-investigador en enfermedades raras vasculares.

### **p36 Del acuario a la cama del paciente: Escrutinios fenotípicos o de diana terapéutica para descubrimiento de fármaco**

**Autores:** Isabel Cabas Sánchez, Francisca Álaraz Pérez, Jesús García Castillo, Beatriz Bernal Bémudez, Miriam Fernández Lajarín, Haleh Nikzami, Elena Naranjo Sánchez, Alicia Martínez López, Alba Jiménez Blaya, Diana García Moreno, Victoriano Mulero Méndez, María Luisa Cayuela Fuentes

**Expone:** María Luisa Cayuela Fuentes - [marial.cayuela@carm.es](mailto:marial.cayuela@carm.es)

**Grupo:** U768 - Universidad de Murcia, Murcia

Durante el desarrollo clínico de fármacos se produce una alta tasa de fracasos. La baja eficacia es especialmente importante en situaciones de emergencia como lo son las enfermedades raras [EERR], donde una actuación temprana puede evitar el progreso o la evolución desfavorable de la enfermedad. Las larvas de pez cebra constituyen un modelo vertebrado único para el escrutinio in vivo de gran cantidad de fármacos o compuestos. Los principales procesos biológicos y las respuestas farmacológicas están muy conservadas entre el ser humano y el pez cebra. Los escrutinios pueden basarse en i) el cribado fenotípico de fármacos o ii) en el cribado basado en dianas terapéuticas. En el primer caso, los fármacos se identifican en función del rescate del fenotipo de una enfermedad en organismos completos, mientras que en el segundo se basa en las propiedades de unión a dianas moleculares específicas. Aquí presentamos las estrategias desarrolladas en varias EERR y los resultados obtenidos, así como las librerías utilizadas en los escrutinios. Los modelos de EERR en larvas de pez cebra proporcionan herramientas muy poderosas para el descubrimiento o desarrollo de fármacos, cuyos límites reside en el conocimiento sobre la enfermedad y la creatividad del investigador.

### **p37 Identificación de biomarcadores epigenéticos funcionales de pronóstico postquirúrgico en pacientes con macroadenomas hipofisarios no funcionantes**

**Autores:** Rocío González Urdinguio, Juan Ramón Tejedor, Agustín Fernández Fernández, Mario Fernández Fraga

**Expone:** Rocío González Urdinguio - [rgurdinguio@gmail.com](mailto:rgurdinguio@gmail.com)

**Grupo:** U766 - Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Asturias

Los adenomas hipofisarios son tumores intracraneales generalmente benignos. Aquellos que no producen un cuadro clínico secundario a hipersecreción hormonal se denominan adenomas no funcionantes. Estos adenomas afuncionantes generalmente se diagnostican cuando su tamaño es mayor de 1 cm (Macroadenomas) y producen ya síntomas secundarios a afectación de estructuras vecinas, por lo que requieren extirpación quirúrgica. La evolución postquirúrgica de pacientes con macroadenomas hipofisarios es muy heterogénea debido a posibles recurrencias o recidivas tumorales, lo que hace necesario establecer programas de seguimiento clínicos y mediante técnicas de resonancia magnética nuclear. En este proyecto planteamos comparar, de forma retrospectiva, los metilomas de ADN de pacientes que presentaron recurrencias o recidivas tumorales con pacientes que mostraron una evolución postquirúrgica favorable para tratar de identificar marcadores epigenéticos que permita modular el seguimiento de los pacientes e identificar aquellos que presentan peor pronóstico y, por tanto, deberían recibir tratamientos adyuvantes como la radioterapia. Actualmente estamos en fase de recolección de las muestras y la información clínica de pacientes con y sin recidiva/recurrencias, procedentes del biobanco del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante con sede en Hospital General Universitario Dr. Balmis de Alicante, y del biobanco HUVR-IBIS con sede en el Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla. Estamos procesando las muestras para realizar un análisis inicial de metiloma de una pequeña cohorte mediante la plataforma del Infinium Methylation EPIC BeadChip Kit (850K) (Illumina Inc.). Realizaremos un análisis integral siguiendo los pipelines establecidos en el laboratorio donde incluiremos los datos moleculares y clínicos para identificar una firma epigenética que nos facilite un pronóstico personalizado y mejore el manejo clínico de los casos.







