

XVII REUNIÓN ANUAL

ciber | ER

CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED
Enfermedades Raras

20 al 22 de marzo 2024
San Lorenzo de El Escorial, Madrid

#RACIBERER2024



Web de la
XVII Reunión Anual CIBERER



MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES



Instituto
de Salud
Carlos III



UNIÓN EUROPEA

ciber | **ER**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED
Enfermedades Raras

CONTENIDO

PRESENTACIÓN	5
COMITÉS	6
PROGRAMA DETALLADO	7
NUEVOS GRUPOS	13
TALLERES DE FORMACIÓN	15
VOTACIONES Y ENCUESTA DE SATISFACCIÓN	16
RESÚMENES PRESENTACIONES ORALES	17
SESIONES ORALES 1 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD	17
AUDITORIO 01 - 02 -> JUEVES 21/03/2024 9:00H	
SESIONES ORALES 2 – NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	20
SALA 04 - 05 -> JUEVES 21/03/2024 9:00H	
SESIONES ORALES 3 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD	23
AUDITORIO 01 - 02 -> JUEVES 23/03/2023 14:30H	
SESIONES ORALES 4 – NUEVAS TERAPIAS	27
SALA 04 - 05 -> JUEVES 21/03/2024 14:30H	
SESIONES ORALES 5 – NUEVAS HERRAMIENTAS DE INVESTIGACIÓN	31
AUDITORIO 01 - 02 -> VIERNES 22/03/2024 8:30H	
SESIONES ORALES 6 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD	33
SALA 04 - 05 -> VIERNES 24/03/2024 8:30H	
SESIONES ORALES 7 – BASES MOLECULARES DE LA ENFERMEDAD Y NUEVAS TERAPIAS	37
AUDITORIO 01 - 02 -> VIERNES 22/03/2022 11:30H	
RESÚMENES POSTER	41
NOTAS	66

Presentación

Bienvenidos y bienvenidas a la XVII edición de nuestra Reunión Anual del CIBERER.


Este año, contaremos con tres nuevos grupos que presentarán sus líneas de investigación en enfermedades raras, lo que fortalece aún más nuestra comunidad y nos brinda nuevas oportunidades para la colaboración y el avance científico.

Vuestra participación continua es fundamental para el éxito y el progreso de nuestro trabajo en el ámbito de las enfermedades raras. En esta ocasión, nos complace anunciar la presencia de aproximadamente 240 asistentes, ponentes e invitados, incluidos los representantes de asociaciones de pacientes, entre otros destacados participantes.

Durante la reunión, exploraremos temas de gran relevancia en 2 mesas redondas, incluida la colaboración con otras áreas de investigación del CIBERER y los desafíos en el acceso a medicamentos huérfanos. Además, se presentarán un total de 40 ponencias orales y 46 pósteres, que ofrecerán una visión amplia y diversa de los avances más recientes en el campo de las enfermedades raras. Contaremos con dos talleres de formación: uno de ellos se centrará en la comunicación efectiva de la ciencia a los pacientes, mientras que el otro abordará la transferencia de conocimientos al sector privado.

Gracias por vuestro esfuerzo y dedicación, así como por vuestro compromiso con el trabajo colaborativo que nos permite avanzar en el desarrollo de nuevas terapias y en el diagnóstico de las enfermedades raras.

Pablo



Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER

Comités

Comité Asesor Interno

Javier Corral de la Calle

Jefe de grupo U765

Juan Galcerán Saez

Investigador adscrito en el grupo U769

David Pacheu Grau

Investigador adscrito en el grupo U727

Guillermo Güenechea Amurrio

Investigador adscrito en el grupo U710

Aristides López Márquez

Investigador colaborador en el grupo U703

Alejandro Soriano Sexto

Investigador adscrito en el grupo U746

María Pilar Martí Martínez

Investigadora contratada en el grupo U763

Mireia Moreno Estellés

Investigadora contratada en el grupo U742

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 Nicaragua
Nicaragua

Fernando Vargas

Fundação Oswaldo Cruz
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 detallado

Miércoles 20 de marzo

11:00	Recepción y café de bienvenida	
12:00	Inauguración y presentación general CIBERER. Prof. Marina Pollán, Directora del ISCIII. Representante de la Federación Española de Enfermedades Raras (FEDER). Manuel Rego, Presidente Consejo Asesor de Pacientes (CAP) CIBERER. Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER.	
12:40	Presentación grupos nuevos: U770 Investigación traslacional en miopatías y síndromes neurológicos raros, Rubén Artero Allepuz. U771 Grupo de investigación de Genómica del Institut de Recerca Sant Pau: Ciencia de datos en medicina personalizada, José Manuel Soria Fernández. U772 Estudios moleculares y de reconstitución funcional de variantes de proteínas alteradas por causas genéticas en enfermedades raras, Rafael Pulido Murillo.	
13:55	Foto grupo CIBERER	
14:00	Comida	
15:00	Taller formación "Comunicación a pacientes" Modera: Miquel Calvet (Comunicación, CIBER). Isabel Campos, FEDAES. Mar Fatjo-Vilas Mestre, CIBERSAM. José Antonio Solves, CEU Cardenal Herrera.	Taller formación "Transferencia de tecnología, desarrollo tecnológico y valorización de proyectos" Luzma García (Oficina de Transferencia, CIBER) Juan Luque (Plataforma de Desarrollo Tecnológico, CIBER).
17:00	Flash poster. Presentación oral de una selección de pósteres. Modera: David Pacheu (U727).	Reunión de Jefes de Grupo Gerencia CIBER. Dirección Científica CIBERER.
17:00	Pausa café	
18:00	Reuniones de Programas de Investigación: Programa de Medicina mitocondrial y metabólica hereditaria	Programa de Cáncer hereditario, enfermedades hematológicas y dermatológicas
	Programa de Patología neurosensorial	Programa de Medicina endocrina
	Programa de Enfermedad neurológica	Programa de Medicina pediátrica y del desarrollo
19:00	Tiempo para networking y tiempo libre	
20:30	Cena	
	Auditorios 1 y 2	Salas 4 y 5
	Sala 6	Salas 9 y 10
		Sala 11
		Salas 12 y 13
		Salas 16 y 17

Jueves 21 de marzo

9:00	<p>Sesiones Orales 1 - Bases moleculares de la enfermedad</p> <p>O01 Germline and Vhl mutations interact to modify the clinical manifestations of von Hippel-Lindau syndrome. Virginia Albiñana Diaz, U707.</p>	<p>Sesiones Orales 2 - Nuevos métodos diagnósticos</p> <p>O06 Approach to paediatric asymptomatic hyperCKemia in NGS era. María Pilar Martí Martínez, U763.</p>
9:20	<p>O02 Caracterización molecular de fibroblastos primarios derivados de individuos adultos con síndrome Cornelia de Lange. Feliciano Ramos Fuentes, GCV02.</p>	<p>O07 La transcriptómica y la secuenciación de lecturas largas reducen la brecha diagnóstica en errores innatos del metabolismo. Alejandro Soriano Sexto, U746.</p>
9:40	<p>O03 Estrategias óptimas para la realización de estudios moleculares en pacientes con ELA. Alberto García Redondo, U723.</p>	<p>O08 Caracterización del perfil proteómico plasmático de la enfermedad de Fabry: Biomarcadores potenciales específicos del sexo y del fenotipo clínico. Laura López Valverde, GCV05.</p>
10:00	<p>O04 Characterization of SUMO2/3 expression levels and autophagy process in Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. Laia Rodríguez-Revenga Bodi, U726.</p>	<p>O09 La secuenciación de lecturas largas mejora la caracterización de las distrofias hereditarias de retina. Cristina Rodilla, U704.</p>
10:20	<p>O05 Testing therapeutic approaches in a novel murine model of anti-NMDAR encephalitis. Carlos Sindreu Balet, U764.</p>	<p>O10 Integration of Multi-Omic Data for the Diagnosis of Rett Spectrum Pathologies. Judith Armstrong Morón, U703</p>
10:45	<p>Sesión de poster (pares) y pausa café</p>	
11:45	<p>Mesa redonda. "Challenges in the access to orphan drugs"</p> <p>Moderadora: Juan Antonio Bueren (U710) y Lluís Montoliu (U756). Stefano Benvenuti, Fondazione Telethon. Manel Juan Otero, Hosp. Sant Joan de Déu y Hosp. Clinic. Gloria María Palomo Cairasco, AEMPS. Representante de FEDER.</p>	
13:30	<p>Comida</p>	
14:30	<p>Sesiones Orales 3 - Bases moleculares de la enfermedad</p> <p>O11 Papel del hierro mitocondrial y de la ferroptosis en modelos de Drosophila melanogaster en la Ataxia de Friedreich. Juan Antonio Navarro Langa, U733.</p>	<p>Sesiones Orales 4 - Nuevas terapias</p> <p>O18 Role of the lncRNA NF1-AS in Neurofibromatosis type 1. Santiago Vernia Miralles, U742.</p>
14:50	<p>O12 Genetic variants in novel genes predisposing to pituitary adenomas. Idoia Martínez de Lapiscina Martín, U725A.</p>	<p>O19 Repurposing of tyrosine kinase inhibitors for the treatment of Diamond-Blackfan anemia. Victoriano Mulero Méndez, U768.</p>

Jueves 21 de marzo

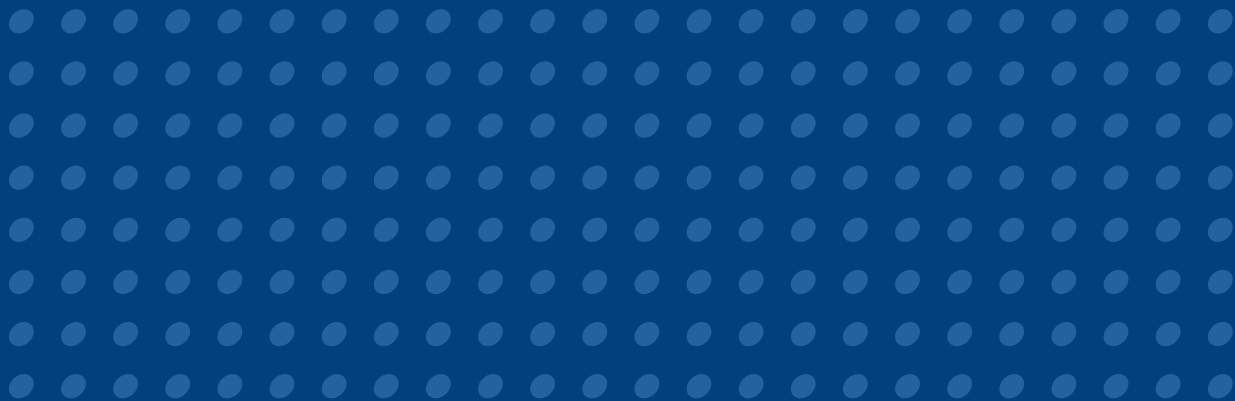
15:10	O13 Primary ciliary dyskinesia and retinitis pigmentosa: novel RPGR variant and modifier gene. Noelia Baz Redón, U712.	O20 Etlrombopag for bone marrow failure in Fanconi Anemia: Results of a clinical trial. Julían Sevilla Navarro, GCV19.
15:30	O14 Molecular characterization of MLC mutants reveals the role of MLC1 and GlialCAM in controlling GPRC5B signaling. Raúl Estévez Povedano, U731.	O21 Protein degraders for treating inherited retinal dystrophies. Ana Pilar Gómez Escribano, U755
15:50	O15 Caracterización funcional de variante hipomórfica en el receptor de la cadena gamma común (IL2RG) con probable reversión del fenotipo en subpoblaciones infocitarias. Lucía del Pino Molina, U767.	O22 Substrate reduction gene therapy rescues glutaric aciduria type I in mice. Eulàlia Segur Ballach, U716.
16:10	O16 Análisis de los mecanismos moleculares que intervienen en la osteogénesis imperfecta causada por mutaciones en KDELR2. Carmen Lisset Flores Mauríz, U760.	O23 Orphanet: nuevas funcionalidades y herramientas. María Elena Mateo Marquina, Orphanet.
16:30	O17 Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in phenylketonuria: impact of early treatment. Francesc J. García García, U722.	O24 CIBERER-Biobank: gestión de muestras y nuevas colecciones. Carmen Aguado Muñoz, CIBERER-Biobank.
17:00	Pausa café	
17:30	Mesa redonda: "Fomentar colaboración interCIBER" Pablo Lapunzina, Director Científico de CIBERER. Anna Bigas Salvans, Directora Científica de CIBERONC. Javier Bermejo, Director Científico de CIBERCY.	
19:00	Tiempo para networking y tiempo libre	Programa de Medicina genómica traslacional
20:30	Cena	



Viernes 22 de marzo

8:30	<p>Sesiones Orales 5 – Nuevas herramientas de investigación</p> <p>O25 Co-occurrence based bioinformatics protocols to improve patient phenotyping and predict disease genes. Juan Antonio García Ranea, U741.</p>	<p>Sesiones Orales 6 – Bases moleculares de la enfermedad</p> <p>O29 Diagnóstico funcional del déficit de acetilglutamato sintasa (NAGS) basado en el uso de enzima humano recombinante estabilizado mediante quimerismo con proteína de unión a la maltosa (MBP). Clara Marco Marín, U739.</p>
8:50	<p>O26 MMP, una nueva herramienta para el análisis clínico y el descubrimiento en datos genómicos. Rosario María Carmona Muñoz, U715.</p>	<p>O30 The contribution of epithelial to mesenchymal transition to heart development: mesocardia and beyond. Jusep Salgado Almarío, U769.</p>
9:10	<p>O27 CRISPR/Cas9 editing in human iPSCs and generation of 3D retinal organoids as retinal disease models. Vasileios Toulis, U718.</p>	<p>O31 Activación no canónica del sistema Caliceína-Cinina en pacientes con Síndrome Hemolítico Urémico atípico. Alberto López Lera, U754.</p>
9:30	<p>O28 Una inteligencia artificial para explorar los contenidos de un libro sobre enfermedades raras. Lluís Montoliu, U756</p>	<p>O32 Prevalencia y repercusión clínica de las mutaciones del gen USP8 en la patogénesis de los tumores silentes de línea corticotropa. Antonio Picó, GCV13.</p>
9:50	<p>Sesión de divulgación: Vídeos divulgativos comentados por nuestros expertos. Modera: Javier del Corral (U765). Panel de expertos: Gemma Marfany (U718), Lluís Montoliu (U756), Isabel Campos (FEDEAS).</p>	<p>O33 GLA- and GLBI-associated early-onset Parkinsonian syndromes: the mimicry between lysosomal diseases and parkinsonisms. Janet Hoenicka, U732.</p> <p>O34 Identification of molecular markers associated with prognosis and vulnerability to targeted therapies in Medullary Thyroid Cancer. Natalia Martínez Puentes, U706.</p>
10:30	<p>Sesión de poster (impares) y pausa café</p>	
11:30	<p>Sesiones Orales 7 Bases moleculares de la enfermedad y nuevas terapias</p> <p>O35 Osteomesopyknosis, a rare bone sclerosing disorder associated with a novel ALOX5 variant that impacts the RANKL pathway. José Antonio Riancho, GCV25.</p>	
11:50	<p>O36 Pleiotropic contribution of rfbx1 to neurodevelopmental and psychiatric phenotypes in two zebrafish models. Noelia Fernández Castillo, U720.</p>	
12:10	<p>O37 Non-immune hydrops fetalis is associated with bi-allelic pathogenic variants in the MYB Binding Protein 1a (MYBBP1A) gene. Jair Tenorio, U753.</p>	
12:30	<p>O38 Hepatoencephalopathy due to GFM1 mutations: preclinical study of an AAV-based gene therapy in a mouse model of the disease. Miguel Molina Berenguer, U701.</p>	
12:50	<p>O39 Uso de LNPs para vehicular terapias génicas en sarcoma de Ewing. María Irazo Martínez, U758.</p>	
13:10	<p>O40 New approaches to non-genotoxic hematopoietic conditioning in gene therapy treatments. Isabel Ojeda Pérez, U710.</p>	
13:30	<p>Entrega de reconocimientos. Clausura</p>	
13:35	<p>Comida despedida</p>	
14:45	<p>Salida</p>	

Listado de resúmenes



Nuevos grupos

INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL EN MIOPATÍAS Y SÍNDROMES NEUROLÓGICOS RAROS

Ruben Artero Allepuz [U770]. Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia.

Contacto: ruben.artero@uv.es

El laboratorio trabaja en distrofia miotónica [DM1], causada por una expansión del triplete CTGs en el gen DMPK, en la que hemos recorrido todo el camino desde la investigación básica hasta el desarrollo preclínico de oligonucleótidos antisentido [ASOs] como terapia y hemos creado la spin-off Arthex Biotech. En DM1 hemos definido un eje patogénico originado por la sobreexpresión de la proteína Musashi2 [Msi2] que sobreactiva rutas catabólicas responsables de la degradación muscular. Para tratar DM1 y miopatías relacionadas estamos desarrollando ASOs que desencadenan corte por RNasaH [gapmers], los cuales pueden servir como terapias en múltiples tipos de cáncer donde esta proteína está aumentada. Más recientemente, estudiamos la distrofia de cinturas LGMDD2, originada por una mutación en la importina TNPO3, para la que hemos generado modelos [Drosophila y ratón] y mediante rastreos de alto rendimiento identificamos fármacos reposicionables, una estrategia que previamente ya abordamos en atrofia muscular espinal. En ambos casos estamos promoviendo su evaluación clínica. Por otro lado, trabajamos en proyectos para caracterizar Drosophila como modelo preclínico para evaluar ASOs terapéuticos y en la mejora de su entrega a músculo mediante la generación de nuevas herramientas de cuantificación y screening. Por último, en el ámbito de las enfermedades por expansiones de microsatélites, estamos modelizando en Drosophila el síndrome neurológico CANVAS. Otros objetivos son explorar paralelismos entre miopatías genéticas y la caquexia muscular originada por cáncer, con un enfoque en la contribución de los miRNAs a estas patologías, el desarrollo de ASOs terapéuticos, y la incorporación de modelos de músculo 3D.

GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE GENÓMICA DEL INSTITUT DE RECERCA SANT PAU: CIENCIA DE DATOS EN MEDICINA PERSONALIZADA

José Manuel Soria, María Sabater-Lleal, Juan Carlos Souto [U771]. Institut de Recerca Sant Pau. Barcelona.

Contacto: jsoria@santpau.cat

Nuestro Grupo es un equipo multidisciplinar con actividad científica transversal en el ámbito de las Omicas y la Ciencia de Datos [Medicina Personalizada]. Desarrollamos proyectos de investigación básica y clínica con un alto grado de innovación y transferencia a la práctica clínica

Las líneas de investigación son:

1. Trombofilia hereditaria y coagulopatías:

- Identificando biomarcadores plasmáticos [coagulación, activación y funcionalidad de las plaquetas, sistema del complemento, metabolismo mitocondrial y procesos inflamatorios], variantes genéticas comunes y raras, perfiles de expresión de mRNA y de miRNAs asociados al riesgo de trombosis.
- Generando modelos predictivos, a partir de los biomarcadores identificados, de riesgo de trombosis en población general, en pacientes oncológicos y en pacientes COVID-19.
- Nuestra actividad asistencial [manejo de pacientes anticoagulados, pacientes con coagulopatías y hemofílicos] nos permite realizar y participar en estudios y ensayos clínicos que nos posiciona como un grupo referente en este ámbito.
- Disponemos de datos clínicos, biológicos y multi-ómicos, así como muestras biológicas, de estudios familiares, cohortes y caso/control.

2. **Medicina Genómica del Deporte:** Analizamos procesos fisiológicos en personas sanas expuestas a condiciones de estrés fisiológico [esfuerzo, hipoxia, hipotermia, entre otras] y su recuperación a estadios normales.

3. Área Transversal de Datos-ómicos y Bioinformática

- **Adquisición y gestión de Datos:** Utilización de metodologías basadas en Machine Learning Operation System (Localizable, Accesible, Interoperable y Reutilizable) siguiendo la recomendación de IMPaCT-Data. Permiten la implementación de operaciones sobre grandes volúmenes de datos y de múltiples fuentes, y el control de versiones para la reproducibilidad de los análisis.
- **Análisis de Datos:** Para un análisis integrado utilizamos, en la medida de lo posible el entorno Galaxy. Cuando es necesario implementar un software específico, se aloja públicamente en el sistema de control de versiones de gitlab. Seguimos los estándares promovidos por GA4GH, ELIXIR y 1+MG/B1MG.
- **Modelos de Causalidad:** Estamos implementado una línea de investigación de modelos causales utilizando Mendelian Randomization y IA (Causal Bayesian Network) para obtener Causal Graphs de datos multi-ómicos.
- **Generación de Datos Sintéticos para obtener pacientes virtuales:** Estamos implementado una línea de investigación en generación de datos sintéticos utilizando IA (Deep Learning Synthetic Data Generation and Domain Adaptation Techniques).

Participamos en el proyecto SCOURGE de CIBERER y somos los coordinadores de IMPaCT-Data en nuestro Instituto.

ESTUDIOS MOLECULARES Y DE RECONSTITUCIÓN FUNCIONAL DE VARIANTES DE PROTEÍNAS ALTERADAS POR CAUSAS GENÉTICAS EN ENFERMEDADES RARAS

Rafael Pulido Murillo [U772]. Instituto de Investigación Sanitaria Biobizkaia, Barakaldo, Bizkaia.

Contacto: rpulidomurillo@gmail.com

El diagnóstico genético es fundamental para la identificación de enfermedades raras asociadas a cuadros clínicos específicos, y constituye el primer paso para la adopción de terapias preventivas o curativas adecuadas. En general, la mayor parte de las mutaciones genéticas encontradas en enfermos generan cambios de aminoácido o introducen codones de terminación prematura en los genes afectados y generan proteínas truncadas, aunque las consecuencias en la actividad biológica de las proteínas codificadas son, en muchos casos, desconocidas (variantes de significado incierto, VUS), y su implicación en la patogenia es insegura. El análisis funcional y de reconstitución de variantes de proteínas causadas por alteraciones genéticas en pacientes, y su relación con la patogenia de enfermedades raras, constituye una actividad de nuestro grupo, centrada principalmente en enfermedades con predisposición al cáncer y alteraciones en el neurodesarrollo. Dicho análisis implica metodologías de alto rendimiento de mutagénesis de cDNA y de expresión ectópica de proteínas recombinantes, acopladas a ensayos funcionales específicos utilizando distintos modelos celulares. Presentaremos ejemplos de nuestro trabajo in vitro de diagnóstico funcional y de reconstitución mediante readthrough traduccional de proteínas alteradas en enfermedades raras. Nuestro trabajo experimental proporciona información funcional útil para un diagnóstico molecular de precisión, así como alternativas terapéuticas potenciales para grupos específicos de pacientes con enfermedades raras.

Talleres de formación

COMUNICACIÓN A PACIENTES

Imparten: Miquel Calvet (Comunicación, CIBER), Isabel Campos (FEDAES), Mar Fatjó-Vilas Mestre (CIBERSAM), José Antonio Solves (CEU Cardenal Herrera).

La comunicación de los resultados de la investigación en Enfermedades Raras a los pacientes es de vital importancia. Los científicos estamos muy habituados a divulgar nuestro conocimiento entre nuestros colegas, pero comunicar efectivamente a la sociedad requiere de habilidades y lenguajes distintos a los que un científico está habituado.

Esto es aún más evidente cuando los destinatarios son los pacientes. En este caso, además de comunicar en un lenguaje comprensible se debe poner un especial hincapié en ser rigurosos, comprensibles y no generar falsas expectativas.

De la mano de un panel de expertos, los participantes en este taller trabajarán con temáticas y formatos concretos cómo desarrollar una comunicación efectiva con los pacientes.

TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA, DESARROLLO TECNOLÓGICO Y VALORIZACIÓN DE PROYECTOS

Imparten: Luzma García (Oficina de Transferencia, CIBER) y Juan Luque (Plataforma de Desarrollo Tecnológico, CIBER).

El taller está dirigido a personal investigador, en cualquier fase de su carrera profesional, que esté embarcado en proyectos de investigación traslacional y quieren lograr el mayor impacto posible de sus resultados de investigación.

El objetivo principal del taller es entender la importancia de la transferencia del conocimiento y sus herramientas en los programas de investigación traslacional, y dar a conocer aspectos clave para abordar estos programas con éxito. Todo ello en un tono distendido, participativo y práctico, para lograr el interés y la comprensión de algunos conceptos clave de transferencia del conocimiento por parte de los asistentes

El taller se divide en una primera parte centrada en introducir distintos conceptos relevantes a la hora de abordar investigación traslacional. Y un segundo bloque en el que, de manera didáctica y amena, se establecen pautas sobre cómo desarrollar un proyecto “de película”. Poniendo de manifiesto errores comunes que se pueden cometer en un proyecto traslacional y ayudándonos de grandes clásicos del cine para contextualizar los diferentes ejemplos.

Votaciones y encuesta de satisfacción

Mejor presentación oral

[se podrá votar el 22 de marzo al finalizar las sesiones Orales 7 y hasta momentos antes de la entrega del reconocimiento]



Mejor presentación tipo poster

[se podrá votar el 22 de marzo a las 11:30h tras las sesiones de poster (impares) hasta el inicio de la entrega de reconocimientos]



Mejor vídeo de divulgación

[se podrá votar el 22 de marzo al finalizar la sesión de divulgación]



Encuesta de satisfacción

[se podrá completar desde el viernes 22 de marzo a las 13:30 hasta el 4 de mayo a las 24h]



Resúmenes presentaciones orales

Sesiones Orales 1 – Bases moleculares de la enfermedad

Auditorio 01 - 02 -> jueves 21/03/2024 9:00h

o01 GERMLINE AND VHL MUTATIONS INTERACT TO MODIFY THE CLINICAL MANIFESTATIONS OF VON HIPPEL-LINDAU SYNDROME

Autores: Virginia Albiñana^{1,2}, Laura Lorente-Herraiz^{1,2}, Jorge Cabrera-Montes³, Daniel T Aguirre³, Lucía Recio-Poveda^{1,2}, Isabel de Rojas⁴, Angel M Cuesta⁵, Luisa M Botella^{1,2}

Filiaciones: ¹ Departamento Biomedicina Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Madrid. ² CIBERER. Unidad 707. ³ Departamento de Neurocirugía, Instituto Investigación Sanitaria - Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid. ⁴ Centro de Investigación del Cáncer, Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer, Salamanca. ⁵ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.

Expone: Virginia Albiñana Díaz - vir_albi_di@yahoo.es

Grupo: U707 - Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas – Madrid.

The rare inherited tumoral disease von Hippel-Lindau (VHL) is caused by a deleterious mutation on the tumor suppressor gene VHL. Therefore, VHL patients develop CNS and retinal HBs, and ccRCC among other symptoms. The natural history of VHL disease shows some variability at the age of onset (mainly adolescence) and symptoms even among relatives, showing a complete penetrance at the age of 60. In the last years the CIBERER U-707 has identified and described some cases where the natural history changes dramatically. We describe here two of them in order to show that rare disease phenotypes may be also affected by other genetic alterations in different genes. The first case shows a 65 y.o. female who bears a VHL mutation but has not developed any of the clinical manifestations of the disease while her son has undergone several surgeries. Deep gene analysis found a germ line mutation at the CLN5 gene, responsible for lipid transport and lipofuscinosis rare disease. As a result of these two mutations, the patient is free of both diseases since they counteract each other. A 21-year-old male exhibits an opposing effect, where an inherited mutation in the tumor suppressor gene CHEK2 accelerates the growth of retinal and CNS Hbs, intensifying the severity of the disease. This work intends to stress the need for personalized medicine in rare diseases in order to find an explanation and further proper treatment for singular clinical case scenarios.

o02 CARACTERIZACIÓN DE FIBROBLASTOS PRIMARIOS DERIVADOS DE INDIVIDUOS ADULTOS CON SÍNDROME CORNELIA DE LANGE

Autores: Cristina Lucia-Campos¹, Ana Latorre-Pellicer¹, Enrique Vázquez², Marta Gil-Salvador¹, Beatriz Puisac¹, María Arnedo¹, Ariadna Ayerza-Casas^{1,3}, Julia Del Rincón¹, Ana Dopazo², Feliciano J. Ramos⁴, Juan Pié¹

Filiación: ¹ Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional, Departamento de Farmacología-Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza, CIBERER-GCV02 e IIS-Aragón, Zaragoza. ² Servicio de Genómica, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid. ³ Unidad de Cardiología Pediátrica, Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. ⁴ Unidad de Genética Clínica, Departamento de Pediatría, Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza, CIBERER-GCV02 e IIS-Aragón, Zaragoza.

Expone: Feliciano Ramos Fuentes - framos@unizar.es

Grupo: GCV02 - Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa – Zaragoza.

El síndrome Cornelia de Lange (SCdL, OMIM #122470, #300590, #300882, #610759 y #614701) es un trastorno multisistémico del desarrollo que se caracteriza principalmente por rasgos faciales distintivos, discapacidad intelectual, retraso variable del crecimiento y anomalías en extremidades superiores. Esta causado por variantes en genes relacionados con el complejo cohesina, siendo las variantes en el gen *NIPBL* las más frecuentes. Aunque la caracterización clínica y molecular del síndrome es cada vez más completa y exhaustiva, hay un desconocimiento profundo de la evolución y de las implicaciones de las variantes patogénicas a nivel sistémico y celular en el individuo adulto, así como durante

procesos fisiológicos como puede ser el envejecimiento. Con el objetivo de comprender y predecir la evolución del síndrome, estamos llevando a cabo una caracterización fenotípica a nivel clínico, celular y molecular de seis pacientes adultos con SCdL. Todos ellos presentan un fenotipo clásico del síndrome y variantes patogénicas *de novo* en el gen *NIPBL*. La evaluación de la proliferación celular, mediante curvas de crecimiento en fibroblastos primarios, muestra diferencias significativas entre controles y pacientes. Estudios de RNA-Seq y qPCR en fibroblastos primarios, confirman la desregulación de genes implicados principalmente en el desarrollo. Además, análisis de GSEA muestran un enriquecimiento significativo de los procesos relacionados con la regulación y mantenimiento del mRNA; lo que proporciona un vínculo entre los procesos moleculares y biológicos. Por último, el estudio específico de genes desregulados durante el proceso de envejecimiento muestra una tendencia de desregulación prematura en los pacientes adultos con SCdL.

003 ESTRATEGIAS ÓPTIMAS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS MOLECULARES EN PACIENTES CON ELA

Autores: Daniel Borrego Hernández¹, Laura Expósito Blázquez¹, Oriol Dols Icardo², Ricard Rojas García², Juan Francisco Vázquez Costa³, Lucía Galán Dávila⁴, José Luis Muñoz Blanco⁵, Jesús Esteban Pérez¹, Alberto García Redondo¹

Filiación: ¹ Servicio de Neurología – Unidad de ELA. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre, Madrid. CIBERER. ² Grupo de Genética en Enfermedades Neurodegenerativas – Unidad de Memoria. IIB Sant Pau, Barcelona. CIBERNED – CIBERER. ³ Servicio de Neurología – Unidad de ELA. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital La Fe, Valencia. CIBERER. ⁴ Unidad Neuromuscular, Servicio de Neurología. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Clínico San Carlos, Madrid. ⁵ Unidad Neuromuscular, Servicio de Neurología. Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

Expone: Alberto García Redondo - ela@h12o.es

Grupo: U723 - Hospital Universitario 12 de Octubre – Madrid.

Antecedentes: El diagnóstico genético en pacientes con ELA ha pasado de realizarse mediante secuenciación Sanger de *SOD1*, *TARDBP* y *FUS*, y triple PCR para *C9orf72* [1] (sólo en ELA Familiar) a la implementación de las tecnologías de secuenciación masiva en, cada vez, mayor número de laboratorios.

Métodos: se han utilizado técnicas de NGS: paneles génicos y WES. Además de los métodos clásicos (Sanger y triple PCR) en un total de 1427 pacientes indexados.

Resultados: Se han realizado 72 estudios mediante paneles génicos y 319 exomas en el Laboratorio de Investigación en ELA del Hospital 12 de Octubre, resultando en 85 *C9orf72* positivos, 53 para *SOD1*, 10 para *TARDBP*, 7 para *FUS*, y otros 20 para genes con menor incidencia. Los positivos detectados en el grupo de comorbilidad ELA-DFT [25,9%] es mayor que en el grupo de ELA sin comorbilidad [10,1%]. El mayor incremento observado en este grupo es en *C9orf72*, *TARDBP*, y *TBK1*, mientras que *SOD1* cuenta tan sólo con un 1,5% de aumento en el grupo ELA-DFT. El diagnóstico molecular en el grupo ELA-DFT [9,5%] utilizando secuenciación masiva es a su vez mayor que el grupo de ELA sin comorbilidad [1,9%].

Conclusión: Ha habido un aumento en el porcentaje de pacientes positivos en genes menores en los últimos años, al tener en cuenta la distinción de un grupo clínico-genético intermedio “ELA-DFT” y siendo más exhaustivos con las historias familiares considerando algunos pacientes como posibles casos de ELA Familiar.

004 CHARACTERIZATION OF SUMO2/3 EXPRESSION LEVELS AND AUTOPHAGY PROCESS IN FRAGILE X-ASSOCIATED TREMOR/ATAXIA SYNDROME

Autores: Laia Rodríguez-Revenga, María Isabel Álvarez-Mora, Glòria Garrabou, Ruben Grillo-Risco, Francisco García-García, Laura Molina-Porcel, Judith Cantó-Santos

Filiación: ¹ Biochemistry and Molecular Genetics Department, Hospital Clinic of Barcelona, Barcelona. ² CIBER of Rare Diseases (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Barcelona. ³ Fundació de Recerca Clínica Barcelona-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (FRCB-IDIBAPS), Barcelona. ⁴ Inherited Metabolic Diseases and Muscle Disorders' Laboratory (U722), Cellex-IDIBAPS, Faculty of Medicine and Health Sciences-University of Barcelona, Internal Medicine Department-Hospital Clinic of Barcelona, Barcelona. ⁵ Bioinformatics and Biostatistics Unit, Príncipe Felipe Research Center (CIPF), Valencia. ⁶ Alzheimer's Disease and Other Cognitive Disorders Unit, Neurology Service, Hospital Clinic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Universitat de Barcelona, Barcelona. ⁷ Neurological Tissue Bank of the Biobanc-Hospital Clinic-FCRB-IDIBAPS, Barcelona.

Expone: Laia Rodríguez-Revenga Bodi - lbodi@clinic.cat.

Grupo: U726 - Hospital Clínico y Provincial de Barcelona – Barcelona.

Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) is a late-onset neurodegenerative disorder that appears in adult FMR1 premutation carriers. The neuropathological hallmark of FXTAS is an intranuclear inclusion in neurons and astrocytes. Nearly 200 different proteins have been identified in FXTAS inclusions, being the small ubiquitin-related modifier 2 (SUMO2), ubiquitin and p62 the most highly abundant. These proteins are components of the protein degradation machinery. The aim of this study was to characterize SUMO2/3 expression levels and autophagy process in human postmortem brain samples and in skin fibroblasts cultures from FXTAS patients. Results revealed that FXTAS postmortem brain samples are positive for SUMO 2/3 conjugates and supported the idea that SUMO 2/3 accumulation is involved in inclusion formation. Insights from RNA-sequencing data indicated that SUMOylation processes are significantly upregulated in FXTAS samples. In addition, the analysis of the autophagy flux showed accumulation of p62 protein levels and autophagosomes in skin fibroblasts from FXTAS patients. Similarly, gene set analysis evidenced a significant downregulation in gene ontology terms related with autophagy in FXTAS samples. Overall, this study provides new evidence supporting a role of the SUMOylation and autophagic processes in the pathogenic mechanisms underlying FXTAS.

o05 TESTING THERAPEUTIC APPROACHES IN A NOVEL MURINE MODEL OF ANTI-NMDAR ENCEPHALITIS

Autores: Carles Sindreu, Estibaliz Maudes, Laura Marmolejo, Jesús Planagumà, Marija Radosevic, Ana Beatriz Serafim, Jon Landa, Marianna Spatola, Lidia Sabater, Josep Dalmau

Filiación: Neuroimmunology Program, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Barcelona. CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Expone: Carlos Sindreu Balet - chasindreu@yahoo.com

Grupo: U764 - Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer – Barcelona.

The pathophysiological mechanisms of human autoimmune encephalitis against NMDA receptors remain poorly understood. We developed a mouse model of active immunization with a GluN1 peptide (a.a.356-385) that contains the main epitope region of NMDAR encephalitis. We found that immunized mice develop antibodies in plasma and CSF that can bind recombinant NMDAR, and co-precipitate with endogenous GluN1 in the brain. Functionally, anti-NMDAR antibodies decreased agonist-induced Ca²⁺ responses in neurons, and the levels of synaptic NMDARs and long-term potentiation in the brain of immunized mice. Analysis of lymphocyte sub-populations revealed increases in B-cells and plasma cells in the brain that persisted > 1 month after immunization. Moreover, immunized mice showed impaired pre-pulse inhibition, object location memory deficits, and a lower threshold for convulsant-induced seizures, together supporting the face and construct value of this model. To assess therapeutic mechanisms, immunized mice were treated with anti-CD20 to deplete B-cells, or with SGE-301 to boost NMDAR function. Anti-CD20 transiently decreased the B-cell lineage, affecting first the B cells and later the plasma cells in the brain, resulting in transient restoration of synaptic plasticity and memory. Chronic SGE-301 treatment largely restored synaptic plasticity and memory, despite sparing the adaptive immune response. Combination of anti-CD20 and SG-301 had a more robust effect on all paradigms, and reversed all synaptic and behavioral alterations. Collectively, our results indicate that directly boosting NMDAR function is a promising avenue to improve long-term cognitive symptoms in anti-NMDR encephalitis.

Sesiones Orales 2 –Nuevos métodos diagnósticos

Sala 04 - 05 -> jueves 21/03/2024 9:00h

006 APPROACH TO PAEDIATRIC ASYMPTOMATIC HYPERCKEMIA IN NGS ERA

Autores: Pilar Martí¹, Inmaculada Pitarch², Nuria Muelas³, Inmaculada Azorín¹, Teresa Sevilla^{1,3}, Juan J. Vilchez¹

Filiación: ¹ CIBERER U763; Neuromuscular Research Group, IIS La Fe, Valencia, Spain. ² Neuromuscular Referral Center ERN-EURO-NMD. Neuropediatric department, UIP La Fe Hospital, Valencia. ³ Neuromuscular Referral Center ERN-EURO-NMD. Neurology department, UIP La Fe Hospital, Valencia.

Expone: María Pilar Martí Martínez - pilar_marti@externos.iislafe.es

Grupo: U763 - Hospital Universitario La Fe – Valencia.

Background and Objectives: Persistent rise of the serum enzyme Creatin-kinase [hyperCKemia] as an isolated manifestation represents a diagnostic challenge because of their multiple aetiologies. Genetic myopathies are frequently involved but systematic studies by NGS in paediatric age are scarce and their significance poorly understood. We carried out a prospective study of paediatric asymptomatic hyperCKemia applying current diagnostic resources.

Methods: Prospective cohort of a paediatric subjects [0-18 years old] with pre-defined criteria for asymptomatic or pauci-symptomatic hyperCKemia in which rearrangement of the DMD gene was excluded by MLPA. NGS Illumina panel, muscle MRI, EMG and muscle biopsy with protein immunolabelling and inflammatory markers were performed following a pre-specified protocol.

Results: The series comprised 65 paediatric subjects [range 1-18 years old; 78% of them males]. Causative mutations were found in 55% of the series. Nearly 70% percent of the genetically solved group involved mutations in seven genes [DMD, CAPN3, ANO5, DYSF, RYR1, GAA and CAV3] heading a longer list of rarer myopathy related genes. The diagnose rate was similar across all age-groups but the causative genes varied significantly between childhood and juvenile age-groups. Muscle biopsy immunolabelling corroborate loss-of-function gene variants in 17 cases and revealed four potential inflammatory myopathies. The diagnoses remained uncertain 16% and unresolved 29% cases. The diagnostic rate of patients whose CK fell below the 3x threshold was 42%.

Conclusions: The use of NGS in the workup to diagnose hyperCKemia in paediatric population as a first tier provide a definite diagnose in a relevant majority but muscle biopsy is necessary to orient more complex studies, define VUS pathogenicity and help to curtain potential immunomediated cases. MRI and EMG may play a substantial role in characterising asymptomatic hyperCKemia and can help the indication of biopsy.

007 LA TRANSCRIPTÓMICA Y LA SECUENCIACIÓN DE LECTURAS LARGAS REDUCEN LA BRECHA DIAGNÓSTICA EN ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO

Autores: Alejandro Soriano Sexto¹, Obdulia Sánchez Lijarcio¹, Fátima Leal¹, Rosa Navarrete¹, Irene Bravo Alonso¹, Belén de la Morena Barrio², Magdalena Ugarte¹, Pilar Rodríguez Pombo¹, Belén Pérez¹

Filiación: ¹ Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CIBERER, IdiPAZ. Universidad Autónoma de Madrid. ² Servicio de Hematología y Oncología Médica, Hospital Universitario Morales Meseguer, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia, IMIB-Arrixaca, CIBERER, Murcia.

Expone: Alejandro Soriano Sexto - asoriano@cbm.csic.es

Grupo: U746 - Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" – Madrid.

El rendimiento diagnóstico de los estudios de exomas oscila entre el 30-70%. La secuenciación del genoma de lecturas cortas [srGS] reduce, en parte, la brecha diagnóstica, aunque es complicada la asociación con la patología de las variantes en región no codificante y no es capaz de identificar variantes estructurales o elementos transponibles. En este trabajo presentamos los resultados del estudio de 8 casos con sospecha de un error congénito del metabolismo [ECM] pero sin confirmación genética. Se han analizado por secuenciación dirigida de lecturas largas [T-IrGS], añadiendo a la capa genómica una capa transcriptómica y una capa metabólica/fenotípica. En

los casos en que se evidenció un perfil transcripcional aberrante o un defecto metabólico/enzimático se procedió al estudio de una región de ~3 Mb del genoma, con una profundidad entre 3-30x incluyendo el gen candidato y las regiones cis reguladoras (CRE) cercanas y alejadas. Los resultados han permitido identificar duplicaciones, inversiones, inserción de retrotrasposones tipo LINE o SVA en región codificante y no codificante (intrones y regiones alejadas del gen), así como variantes intrónicas internas o en promotores. Las variantes no se encuentran en bases de datos poblacionales y se ha evidenciado su efecto teniendo en cuenta los resultados de RNA-Seq, de metabolómica y de los estudios en sistemas de expresión adecuados [minigenes, confirmación PCR o estudios de expresión de luciferasa]. Nuestros resultados sugieren que un estudio ortogonal combinando capas ómicas junto a una validación funcional con ensayos rápidos representa una excelente herramienta para abordar el estudio de casos no resueltos.

008 CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL PROTEÓMICO PLASMÁTICO DE LA ENFERMEDAD DE FABRY: BIOMARCADORES POTENCIALES ESPECÍFICOS DEL SEXO Y DEL FENOTIPO CLÍNICO

Autores: Laura López-Valverde^{1,2}, María E. Vázquez-Mosquera^{1,2}, Cristóbal Colón-Mejeras^{1,2}, Susana B. Bravo^{2,3}, Sofía Barbosa-Gouveia^{1,2}, J. Víctor Álvarez^{1,2}, Rosario Sánchez-Martínez⁴, Manuel López-Mendoza⁵, Mónica López-Rodríguez⁶, Eduardo Villacorta-Argüelles⁷, María A. Goicoechea-Diezhandino⁸, Francisco J. Guerrero-Márquez⁹, Saida Ortolano¹⁰, Elisa Leao-Teles¹¹, Álvaro Hermida-Ameijeiras^{1,2}, María L. Couce^{1,2}

Filiación: ¹ Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Metabólicas Congénitas, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. ² Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. ³ Plataforma de Proteómica, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. ⁴ Departamento de Medicina Interna, Hospital General Universitario de Alicante-Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), Alicante, España. ⁵ Departamento de Nefrología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España. ⁶ Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario Ramón y Cajal, IRYCIS. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Alcalá [UAH], Madrid, España. ⁷ Departamento de Cardiología, Complejo Asistencial Universitario de Salamanca, Salamanca, España. ⁸ Departamento de Nefrología, Hospital Gregorio Marañón, Madrid, España. ⁹ Departamento de Cardiología, Servicio de Medicina Interna, Hospital de la Serranía, Málaga, España. ¹⁰ Grupo de Investigación en Enfermedades Raras y Medicina Pediátrica, Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur-SERGAS-UVIGO, Vigo, España. ¹¹ Centro de Referência de Doenças Hereditárias do Metabolismo, Centro Hospitalar Universitário de São João, Porto, Portugal.

Expone: Laura López Valverde - laura261lv@gmail.com

Grupo: GCV05 - Complejo Hospitalario Universitario de Santiago - Santiago de Compostela.

La enfermedad de Fabry (EF) es un trastorno metabólico raro de depósito lisosomal ligado al cromosoma X causado por una actividad deficiente de la enzima α -galactosidasa A (α -GalA). El principal problema para estos pacientes es el habitual retraso en el diagnóstico debido a la gran heterogeneidad clínica, los frecuentes resultados no concluyentes en pruebas bioquímicas y genéticas y la falta de correlación entre genotipo, actividad enzimática y gravedad clínica. Nuestro objetivo principal fue identificar potenciales biomarcadores de la EF con el fin de mejorar la detección y diagnóstico precoz, definir fenotipos clínicos y facilitar el seguimiento de la enfermedad. Comparamos los proteomas plasmáticos de 50 pacientes con EF y 50 controles sanos emparejados por sexo y edad mediante SWATH-Mass Spectrometry. Las más de 30 proteínas que se expresaron de forma diferencial entre los dos grupos estaban implicadas en procesos como inflamación, metabolismo del hemo y hemoglobina, estrés oxidativo, coagulación, cascada del complemento, metabolismo de glucosa y lípidos y formación del glicocáliz. La estratificación por sexos reveló que determinadas proteínas se expresaban de forma diferencial en función del sexo. Se identificaron potenciales biomarcadores asociados tanto a la presencia de alguna complicación clínica [APOA4, VTNC], como a la presencia específica de enfermedad renal crónica [APOA4, HPTR, DIAC] e hipertrofia ventricular izquierda [FETUA, APOC3, TTHY, IGHG3], fenotipos clínicos más característicos de la EF. La identificación de estos posibles biomarcadores puede ayudar a comprender mejor los procesos fisiopatológicos que subyacen a las heterogéneas manifestaciones clínicas asociadas a la enfermedad de Fabry.

009 LA SECUENCIACIÓN DE LECTURAS LARGAS MEJORA LA CARACTERIZACIÓN DE LAS DISTROFIAS HEREDITARIAS DE RETINA

Autores: Cristina Rodilla¹, Alejandra Damián¹, Gonzalo Núñez Moreno¹, Irene Perea Romero¹, Marta Del Pozo Valero¹, Lidia Fernández-Caballero¹, Marta Rodríguez de Alba¹, Inmaculada Martín Mérida¹, Almudena Ávila Fernández¹, Gema García García², Belén García Bohórquez², Pilar Barberán Martínez², Marc Delépine³, Claire Jubin³, Cédric Fund³, Aurélie Leduc³, Jean-François Deleuze³, Pablo Minguéz¹, José María Millán², Marta Cortón¹, Carmen Ayuso¹

Filiación: ¹ Departamento de Genética, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM), Madrid, España. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España. ² Grupo de Investigación en Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS-La Fe), Valencia, España. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España. ³ Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Université Paris-Saclay, Evry, France.

Expone: Cristina Rodilla - crodilla.ext@quironsalud.es

Grupo: U704 - Fundación Jiménez Díaz – Madrid.

Las tecnologías emergentes de secuenciación de lecturas largas (LRS) presentan un gran potencial para mejorar la detección de variantes estructurales (SVs), y en general la caracterización molecular de enfermedades raras. Se realizó secuenciación de genoma de lecturas largas en 30 pacientes con Distrofias hereditarias de retina (DHR) que tenían secuenciación de lecturas cortas previa no concluyente. Las librerías se prepararon usando ADN de alto peso molecular siguiendo el protocolo de Oxford Nanopore Technologies y secuenciando a 30x en la plataforma PromethION. Se realizó el análisis de SVs utilizando 4 herramientas de llamada de variantes. Se validaron las variantes identificadas usando análisis de secuenciación Sanger, CGH, MLPA y/o cariotipo. Tras el análisis de variantes estructurales, se han identificado SVs causales en 3 pacientes con DHR que implican la detección y refinamiento de los puntos de corte de microdeleciones afectando a uno o múltiples exones en 3 genes asociados con DHR (*EYS*, *KCNV2* y *MYO7A*). En el último paciente, la LRS también permitió identificar una variante patogénica de un solo nucleótido (SNV) que previamente se había pasado por alto, completando por tanto, su caracterización molecular. Además, se han identificado 2 variantes de significado incierto en un mismo paciente que implican una duplicación con reordenamiento en el cromosoma X y una inserción de un retrotransposón en el cromosoma 1. Nuestro estudio corrobora la utilidad de esta tecnología para descifrar y caracterizar SVs involucradas en patologías oftalmogénicas y mejorando el rendimiento diagnóstico de estas enfermedades.

010 INTEGRATION OF MULTI-OMIC DATA FOR THE DIAGNOSIS OF RETT SPECTRUM PATHOLOGIES

Autores: Clara Xiol^{1,2,3}, Guerau Fernández^{2,3}, Roger Prats^{3,4}, Núria Brandí¹, María Heredia¹, Gonzalo Villanueva¹, Paola Pacheco¹, Carlota Ros¹, Àngels García-Cazorla^{3,7,8}, Laura Martí^{1,3}, Dèlia Yubero^{1,3}, Mercè Pineda^{3,4}, Holger Prokisch^{5,6}, Alfonso Oyarzábal^{3,4}, Judith Armstrong^{1,3,8}

Filiación: ¹ Genomic Unit, Molecular and Genetic Medicine Section, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. ² Bioinformatic Unit, Molecular and Genetic Medicine Section, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. ³ Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Spain. ⁴ Fundació per la Recerca Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Spain. ⁵ Institute of Human Genetics, Technical University of Munich, Munich, Germany. ⁶ Institute of Neurogenomics, Helmholtz Zentrum München, Munich, Germany. ⁷ CIBERER [Biomedical Network Research Center for Rare Diseases], Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain. ⁸ Neurology Service, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain.

Expone: Judith Armstrong Morón - judith.armstrong@sjd.es

Grupo: U703 - Hospital Sant Joan de Déu – Barcelona.

Background: Rett syndrome (RTT) is a neurodevelopmental disorder mainly caused by mutations in the methyl-CpG-binding-protein-2 gene (*MECP2*). With the advent of next-generation sequencing, many patients with a clinical diagnosis of RTT have been found to have mutations in genes other than *MECP2*. Understanding the relationships and interactions between these genes may help identifying common pathomechanisms leading to the overlapping phenotypes and pinpoint common therapeutic targets.

Methods: We analysed 8 families with 10 girls clinically diagnosed with RTT by trio-WGS. We combined WGS data with transcriptomic and proteomic data from fibroblast cell cultures of the probands to help prioritise candidate genes and variants using evidence from aberrant expression events. We also used a combination of transcriptomics and proteomics to characterize the expression patterns in fibroblast cell lines from 22 patients with RTT-MECP2, 12 patients with RTT-like phenotypes and 13 healthy controls.

Results: Trio WGS analysis combined with multi-omics profiling in 10 patients produced 2 positive results and 2 candidate variants: CNV prioritization by aberrant gene expression, variant interpretation through aberrant gene expression, detection of a mosaic variant and re-classification of a variant. We identified significant correlation in transcriptomic landscape of some RTT spectrum patients versus typical RTT patients, indicating common molecular footprints in genetically heterogeneous disorders. Interestingly, SRF regulatory targets were also enriched in the common DEGs, indicating a potential connection between the overlapping disorders.

Conclusions: A diagnostic pipeline integrating data from WGS with multi-omics profiling in fibroblasts was useful for prioritising and interpreting variants in RTT-spectrum patients, increasing diagnostic yield.

Sesiones Orales 3 – Bases moleculares de la enfermedad

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

o11 PAPEL DEL HIERRO MITOCONDRIAL Y DE LA FERROPTOSIS EN MODELOS DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* EN LA ATAXIA DE FRIEDREICH

Autores: Juan Antonio Navarro^{1,2,3}, Alexandre Llorens^{1,2}, Sara Pla^{3,4}, Federico V Pallardó^{3,5,6}, María Dolores Moltó^{2,7}

Filiación: ¹ Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA. ² Departamento de Genética, Universidad de Valencia, Valencia. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Valencia. ⁴ Instituto de Biomedicina de Valencia, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia. ⁵ Departamento de Fisiología, Universidad de Valencia, Valencia. ⁶ Unidad Mixta de Enfermedades Raras INCLIVA-CIPF, Valencia. ⁷ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Valencia.

Expone: Juan Antonio Navarro Langa - juan.a.navarro@uv.es

Grupo: U733 - Universidad de Valencia – Valencia.

La ataxia de Friedreich (AF) es una enfermedad neurodegenerativa causada por el déficit de la proteína frataxina. A nivel molecular, la patología presenta una acusada disfunción mitocondrial como resultado de alteraciones en la biogénesis de los centros de Fe-S. Los modelos de *Drosophila melanogaster* reproducen muchas características de la AF a nivel molecular y fisiológico. Sin embargo, aún quedan detalles críticos por demostrar como por ejemplo la acumulación de hierro presente en las mitocondrias de los pacientes. Gracias a la línea de luz Mistral del sincrotrón ALBA, que permite hacer nanotomografías, consiguiendo imágenes en tres dimensiones de células enteras en condiciones próximas a su estado natural, hemos analizado neuronas deficientes en frataxina. Mediante Microscopía de Transmisión de Rayos X en la ventana del agua y en los bordes de absorción del hierro, hemos comprobado, entre otros, que en *Drosophila* las células AF acumulan hierro preferentemente en las mitocondrias. Este efecto junto con el incremento de lípidos peroxidados son características comunes a la ferroptosis. Sin embargo, en la AF la ferroptosis sólo se ha analizado en modelos in vitro, por lo que es necesario estudiarla en organismos complejos como *Drosophila melanogaster*. Nuestros resultados muestran que el uso de inhibidores de la ferroptosis mejora la locomoción, la supervivencia, la actividad mitocondrial y la neurodegeneración en moscas con deficiencia de frataxina y, apoyan la participación de la ferroptosis en la AF. Estos resultados suponen la completa validación de *Drosophila* para el estudio de la AF y el cribado de tratamientos de la enfermedad.

o12 GENETIC VARIANTS IN NOVEL GENES PREDISPOSING TO PITUITARY ADENOMAS

Autores: Idoia Martínez de Lapiscina, Candela Baquero, Itxaso Rica, Nuria Valdes, Luis Castaño

Filiación: Research into the Genetics and Control of Diabetes and Other Endocrine Disorders, Biobizkaia Health Research Institute, Cruces University Hospital, University of the Basque Country (UPV/EHU), CIBERDEM, CIBERER, Endo-ERN.

Expone: Idoia Martínez de Lapiscina Martin - idoia.martinezdelapiscinamartin@bio-bizkaia.eus.

Grupo: U725A - Hospital Universitario de Cruces - Barakaldo (Vizcaya).

Introduction: The vast majority of pituitary adenomas (PA) occur sporadically and only 5% occur in a familial setting, either as isolated or as part of a syndrome. Germline genetic variants include variants in well-established genes, such

as *MEN1*, *PRKARIA*, *AIP*, *CDKN1B* or *GPR101*. Rarely, *CABLES1*, *USP8* and *USP48* are associated with adrenocorticotrophic hormone production and recently, germline variants in *PAM* and *KLLN* were discovered in patients presenting different types of pituitary hypersecretion. To further investigate the relationship between these novel genes and PA, we searched for disease causing variants in a large cohort of individuals with familial and/or sporadic PA.

Patients and methods: We investigated 318 individuals with PA for variants in *CABLES1*, *USP8*, *USP48*, *PAM* and *KLLN* genes using a targeted gene panel.

Results: In germline DNA, we detected 15 different disease-causing variants, either novel or already described, in 31 patients. Five potentially pathogenic variants in *CABLES1* were discovered in ten individuals presenting different types of pituitary hypersecretion. Similarly, we found four variants in *USP48* and one in *USP8* in five patients with other types of PA but ACTH-secreting. Five missense variants in *PAM* were detected amongst 14 cases. All the variants were found in heterozygosis.

Conclusions: Variants in *CABLES1*, *USP8* and *USP48* genes are found not only in corticotropinomas. We validate the high yield of loss-of-function *PAM* variants in our cohort of PA. Elucidating the comprehensive molecular mechanisms of pituitary adenomas will provide a better understanding of their occurrence and lead to the development of novel therapeutic treatments.

013 PRIMARY CILIARY DYSKINESIA AND RETINITIS PIGMENTOSA: NOVEL RPGR VARIANT AND MODIFIER GENE

Autores: Noelia Baz Redón^{1,2}, Laura Sánchez Bellver^{2,3}, Mónica Fernández Cancio^{1,2}, Sandra Rovira Amigo^{1,2,4}, Thomas Burgoyne^{5,6}, Rai Ranjit⁶, Virginia Aquino⁷, Noemí Toro-Barrios⁷, Rosario Carmona^{2,7}, Eva Polverino^{8,9,10}, María Cols11, Antonio Moreno Galdó^{1,2,4,12}, Núria Camats Tarruella^{1,2}, Gemma Marfany^{2,3,13}

Filiación: ¹ Growth and Development Research Group, Vall d'Hebron Research Institute (VHIR), Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. ³ Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. ⁴ Department of Paediatrics, Vall d'Hebron Hospital Universitari, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Barcelona, Spain. ⁵ Royal Brompton Hospital, Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust, London, UK. ⁶ Institute of Ophthalmology, University College London, London, UK. ⁷ Plataforma Andaluza de Medicina Computacional, Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla, Spain. ⁸ Pneumology Research Group, Vall d'Hebron Research Institute (VHIR), Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain. ⁹ Pneumology Department, Vall d'Hebron Hospital Universitari, Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Barcelona, Spain. ¹⁰ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. ¹¹ Paediatric Pulmonology Department and Cystic Fibrosis Unit, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. ¹² Department of Paediatrics, Obstetrics, Gynecology, Preventive Medicine and Public Health, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. ¹³ Institute of Biomedicine (IBUB-IRSJD), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.

Expone: Noelia Baz Redón - noelia.baz@vhir.org.

Grupo: U712 - Hospital Universitario Vall d'Hebron – Barcelona.

Introduction: We report a novel RPGR missense variant co-segregated with a familial X-linked retinitis pigmentosa case. The brothers were hemizygous for this RPGR variant, but only the proband presented with primary ciliary dyskinesia. The varying penetrance of the respiratory phenotype raised doubts about its contribution to this clinical outcome in the proband. Thus, we aimed to elucidate the role of the RPGR variant and other modifier genes in the phenotypic variability observed in the family and its impact on motile cilia.

Methods: The pathogenicity of the variant on the RPGR protein was evaluated by in vitro studies involving transient transfection of the mutated RPGR gene, immunofluorescence analysis and transmission electron microscopy on nasal brushing samples. Whole-exome sequencing was conducted to identify potential modifier variants in other primary ciliary dyskinesia related genes.

Results: In vitro studies showed that the mutated RPGR protein could not localise to the cilium and impaired cilium formation. Accordingly, RPGR was abnormally distributed in the siblings' nasal brushing samples. In addition, a missense variant in *CEP290* was identified. The concurrent RPGR variant influenced ciliary mislocalisation of the protein.

Conclusions: We provide a comprehensive characterisation of motile cilia in a X-linked retinitis pigmentosa family with two brothers hemizygous for a RPGR missense variant, with only the proband presenting primary ciliary dyskinesia symptoms. The variant's pathogenicity was confirmed, although it alone does not explain the respiratory symptoms. Finally, we propose the *CEP290* gene as a potential modifier for respiratory symptoms in patients with RPGR mutations.

o14 MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MLC MUTANTS REVEALS THE ROLE OF MLC1 AND GLIALCAM IN CONTROLLING GPRC5B SIGNALING

Autores: Adrià Pla-Casillan¹, Laura Ferigle¹, Marta Alonso-Gardón¹, Héctor Gaitán-Peñas¹, Xabier Elorza-Vidal¹, Virginia Nunes², Raúl Estévez^{1,3}

Filiación: ¹ Physiology Unit, Department of Physiological Sciences, School of Medicine and Health Sciences, Institute of Neurosciences, University of Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat; Genes, Disease and Therapy Program, Physiology and pathology of the functional relationship between glia and neurons-IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat. ² Genes, Disease and Therapy Program, Molecular Genetics Laboratory-IDIBELL. Genetics Section, Department of Physiological Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Barcelona, Barcelona. ³ Centro de Investigación en red de enfermedades raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Expone: Raúl Estévez Povedano - restevez@ub.edu.

Grupo: U731 - Fundación Privada Instituto de recerca Biomèdica – Barcelona.

Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts (MLC) is a rare type of leukodystrophy mainly caused by mutations in two genes that encode for MLC1, a polytopic membrane protein of unknown function, and GLIALCAM, a cell adhesion molecule of the immunoglobulin superfamily. Recent studies indicated that MLC1 downregulates transduction signals, but the molecular mechanisms are unclear. As the orphan G protein-coupled receptor GPRC5B has been identified as a novel GlialCAM and MLC1 interacting protein, and recent studies found MLC patients containing heterozygous mutations in GPRC5B, it has been suggested that GlialCAM and MLC1 might modulate signaling through GPRC5B. Here we show that GPRC5B activates in a constitutive manner G12/G13, Fyn and beta-arrestin signaling pathways, and MLC1 inhibits GPRC5B-mediated signaling by interfering with GPRC5B oligomerization. In contrast, GlialCAM releases MLC1 inhibition and causes GPRC5B internalization. GPRC5B containing MLC mutations showed increase stability, can activate signaling pathways but are less internalized by GlialCAM. Previously characterized GLIALCAM mutations are also less internalized by GPRC5B due to an increased stability, indicating that reduced GlialCAM internalization by GPRC5B is a common mechanism for several MLC mutations in different genes. Considering the effect of depolarization and hypotonicity in the regulated interaction between MLC1, GlialCAM and GPRC5B, we propose a working model for the functioning of the MLC signaling complex. Importantly, our results suggest that GPRC5B activators could be used as new drugs for MLC disease.

o15 CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE VARIANTE HIPOMÓRFICA EN EL RECEPTOR DE LA CADENA GAMMA COMÚN (IL2RG) CON PROBABLE REVERSIÓN DEL FENOTIPO EN SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

Autores: Lucía del Pino Molina¹, Andrea González Torbay¹, Keren Reche Yebra², Álvaro Clemente Bernal², María Bravo García Morato¹, Rebeca Rodríguez Peña¹, Eduardo López Granados¹

Filiación: ¹ U767 CIBERER, Unidad Inmunología Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ, Madrid. ² Unidad Inmunología Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ, Madrid.

Expone: Lucía del Pino Molina - ldelpinomolina@gmail.com

Grupo: U767 - Hospital La Paz – Madrid.

Introducción: La identificación de nuevas variantes hipomórficas está transformando muchas asociaciones previamente establecidas de gen afecto con impacto inmunológico y clínico en los Errores Congénitos de la Inmunidad (ECI). Un reto actual es por ello la modelización y caracterización de las variaciones de secuencia encontradas. El gen del receptor de la cadena gamma común (*IL2RG*) codifica una subunidad de varios receptores de interleuquinas (IL-2, 4, 7, 9, 15 y 21), implicada en la transducción de la señal a través de la vía de JAK y STAT. Las variantes en este gen se asociaban a una Inmunodeficiencia combinada grave en lactantes, algunas variantes hipomórficas cursan con un cuadro clínico menos severo.

Objetivo: La caracterización funcional de la variante p. (Pro58Thr) en *IL2RG* en un adulto con deficiencia de anticuerpos y linfopenia de linfocitos T CD4+ naive.

Resultados: Observamos una expresión en membrana reducida de CD132 (*IL2RG*). La capacidad de proliferación en linfocitos T in vitro está conservada tras distintos estímulos. Sin embargo, la señalización intracelular analizando la fosforilación de STAT3 tras estímulo con IL-21 se encuentra reducida en subpoblaciones B y T CD4+, siendo menos acusada en los linfocitos T CD8+. Los linfocitos T CD4+ también presentan menor fosforilación de STAT5 en respuesta a cantidades crecientes de IL-2, mientras que los linfocitos T CD8+ muestran una fosforilación de STAT5 similar a la de los controles sanos. Se concluye que la variante es hipomórfica, los resultados sugieren una posible reversión de la variante en la subpoblación T CD8+, similar a lo descrito previamente.

o16 ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS MOLECULARES QUE INTERVIENEN EN LA OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA CAUSADA POR MUTACIONES EN KDEL2

Autores: Carmen-Lisset Flores^{1,2}, Juan Andrés Jiménez Estrada^{1,2,3}, Víctor Luis Ruiz Pérez^{1,2}

Filiación: ¹ Instituto de Investigaciones Biomédicas Sols-Morreale (CSIC-UAM), Madrid. ² CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid. ³ Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Madrid.

Expone: Carmen Lisset Flores Mauriz - clflores@iib.uam.es

Grupo: U760 - Instituto de Investigaciones Biomédicas «Alberto Sols» – Madrid.

Mutaciones bi-alélicas en *KDEL2* causan osteogénesis imperfecta; una enfermedad relacionada con la síntesis de colágeno I, caracterizada por fragilidad ósea aumentada, fracturas recurrentes y deformaciones esqueléticas. *KDEL2* pertenece a una familia génica [*KDEL1-3*] que codifica proteínas de membrana situadas en la cara cis del complejo de Golgi donde reconocen proteínas residentes en el retículo endoplásmico (RE) que han sido incorporadas erróneamente a la vía secretora. Estas proteínas portan en su extremo C-terminal una secuencia de aminoácidos similar a KDEL que sirve de señal de reconocimiento para los receptores KDEL. La interacción de *KDEL2* con sus ligandos provoca la devolución del complejo al RE, donde tras ser disociado, el receptor retorna al Golgi. Este funcionamiento de los receptores KDEL es esencial para mantener la homeostasis del RE. Para profundizar en los mecanismos moleculares alterados en ausencia de *KDEL2*, hemos analizado el transcriptoma de fibroblastos embrionarios de ratón *Kdelr2*^{-/-} cultivados en ausencia o presencia de ácido ascórbico, el cual es un potenciador de la secreción y síntesis de colágeno I. En esta comunicación se presentan los resultados de este estudio. Asimismo, dada la función de *KDEL2* en el reciclado de proteínas del ER, también se incluyen datos del análisis por medio de proteómica cuantitativa del secretoma de células *Kdelr2*^{-/-} en presencia y ausencia de ácido ascórbico. Finalmente, puesto que las tres proteínas KDEL realizan funciones similares, hemos realizado experimentos que sugieren que la sobreexpresión de *KDEL1* o *KDEL3* puede rescatar fenotípicamente las células deficientes para *KDEL2*.

o17 OXIDATIVE STRESS AND MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION IN PHENYLKETONURIA: IMPACT OF EARLY TREATMENT

Autores: Francesc Josep García-García¹, Laia Farre-Tarrats¹, Adriana Pané^{2,3,4}, Mariona Guitart-Mampell¹, Rosa María López^{3,5,6,7}, Cristina Montserrat^{2,3}, María de Talló Forga^{2,3}, Roser Ventura¹, Aida Ormazabal Herrero⁸, Jose Manuel González de Aledo-Castillo⁵, Ester Tobias¹, Adrià Vilaseca-Capel¹, Berta Laudo¹, Paula Isern², Dolores García Arenas⁸, Montserrat Ortega¹, Ana Argudo-Ramírez⁵, Silvia Meavilla Olivares⁸, Abraham José Paredes-Fuentes⁵, Judit García-Villoria^{3,5,6,7}, Jaume Campistol Plana⁸, José Cesar Milisenda^{1,3}, Pedro Juan Moreno-Lozano^{1,3}, Josep Maria Grau^{1,3}, Glòria Garrabou^{1,3}, Consortium PKU.CAT

Filiación: ¹ Inherited Metabolic Diseases and Muscle Disorders' Lab, Cellex-IDIBAPS, Faculty of Medicine and Health Sciences - University of Barcelona, Internal Medicine Service - Hospital Clinic Barcelona, CIBERER, Barcelona. ² Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Clínic, Barcelona. ³ Adult Inborn Errors of Metabolism Unit, Hospital Clínic, Barcelona. ⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de la Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid. ⁵ Section of Inborn Errors of Metabolism-IBC, Department of Biochemistry and Molecular Genetics, Hospital Clínic, Barcelona. ⁶ Center for Biomedical Research Network on Rare Diseases (CIBERER). ⁷ Biomedical Research Institute, August Pi i Sunyer (IDIBAPS). ⁸ Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat. CIBERER.

Expone: Francesc J García García - fgarcia@recerca.clinic.cat

Grupo: U722 - Fundación de Investigación Clínic Barcelona-Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer – Barcelona.

Background: Phenylketonuria (PKU) and hyperphenylalaninemia (HPA) are frequent inborn errors of amino acid metabolism associated to severe clinical manifestations, oxidative stress and mitochondrial dysfunction. Early diagnosis (through newborn screening) and treatment (by restricted low-protein diet or adapted nutritional formula+BH4 supplementation [Kuvan[®]]), allows long-term survival. We aim to characterize oxidative status and mitochondrial dysfunction in the first generation of early diagnosed and treated PKU and HPA populations.

Methods: Cross-sectional study including paediatric and adult PKU-subjects treated by diet (n=20/40), PKU individuals treated by diet+Kuvan[®] (n=20/10), and HPA-subjects treated with diet (n=20/14), were compared to healthy controls (n=20/23). Oxidative status was assessed in serum through lipid peroxidation, DNA 8-OHdG, and total antioxidant capacity (TAC). Additionally, GDF15 was evaluated as a marker of mitochondrial dysfunction.

Results: PKU-patients with diet showed decreased oxidative levels in lipids, DNA, and TAC at childhood (18.23%,36.27%, and 17.69%, p-value<0.05) and reduced DNA and TAC in adulthood (21.87% and 9.86%, p-value<0.05), but increased

GDF15 levels in both paediatric and adult cohorts [28.23% and 17.58%]. PKU-subjects treated by diet+Kuvan® did not show oxidative stress, but still presented increased GDF15 levels in childhood [30.55%; p-value<0.05], no longer altered in adulthood. HPA-subjects did not demonstrate any altered parameter.

Conclusions: Early antioxidant-enriched low-protein therapy reduces oxidative stress in PKU diagnosed and treated since birth, despite higher GDF15 expression evidences subclinical mitochondrial dysfunction. Kuvan® improves mitochondrial function by reducing GDF15 levels and HPA-subjects resembled controls, being considered a milder form of PKU. These findings might explain changes on PKU natural history and pathophysiology of accelerated ageing.

Funds: MaratoTV3, Project 202014-30.

Sesiones Orales 4 – Nuevas terapias

Sala 04 - 05 -> jueves 21/03/2024 14:30h

o18 ROLE OF THE LNCRNA NF1-AS IN NEUROFIBROMATOSIS TYPE 1

Autores: Santiago Vernia Miralles

Filiación: Instituto de Biomedicina de Valencia [IBV-CSIC].

Expone: Santiago Vernia Miralles - svernia@ibv.csic.es

Grupo: U742 - Instituto de Biomedicina de Valencia – Valencia.

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is an autosomal dominant disorder [ORPHA 636] caused by mutations in NF1 gene which encodes neurofibromin, a tumour suppressor with RAS-GTPase activity. Affected individuals can have multiple clinical manifestations including benign tumours in the skin (neurofibromas) or in the nerves (plexiform neurofibromas), which in a 10% of patients progress to malignant peripheral nerve sheath tumours (MPNSTs) associated with a very low survival rate. Surgery for cutaneous neurofibromas and large plexiform neurofibromas is still the first option, and when not possible, treatment with selumetinib has shown beneficial effects. However, not all patients respond to this treatments and strong adverse effects have been described. Consequently, there is an urgent need for novel therapeutic options. Long non-coding RNAs (lncRNAs) are emerging as important regulators of the human proteome with potential therapeutic applications. We have identified a previously uncharacterized lncRNA [hereafter NF1-AS] that promotes cell proliferation via multiple mechanisms, including the regulation of the NF1 gene. We have found that RNAi molecules targeting NF1-AS promote neurofibromin expression and lead to decreased proliferation in a number of human tumour cell lines (including breast cancer, glioblastoma and immortalised Schwann cells). The effect on cellular proliferation is still detected in Schwann cells with biallelic inactivation of NF1 (derived from NF1 patients) suggesting that NF1-AS plays role beyond the regulation of NF1 expression.

o19 REPURPOSING OF TYROSINE KINASE INHIBITORS FOR THE TREATMENT OF DIAMOND-BLACKFAN ANEMIA

Autores: Juan Manuel Lozano Gil^{1,2,3}, Lola Rodríguez Ruiz^{1,2,3}, Manuel Palacios Pérez⁴, Jorge Peral Redruejo⁴, Susana Navarro Ordoñez^{3,4}, José L. Fuster^{2,5}, Andrés Jerez^{2,3,6}, Laura Murillo⁷, Cristina Beléndez⁸, María L. Cayuela^{2,3}, Diana García Moreno^{2,3}, Alicia Martínez López^{2,3}, Sylwia D. Tyrkalska^{1,2,3}, Victoriano Mulero^{1,2,3}

Filiación: ¹ Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, Murcia. ² Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB-Pascual Parrilla), Murcia. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBERER), ISCIII, Madrid. ⁴ Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid. ⁵ Sección de Oncohematología Pediátrica, Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia. ⁶ Departamento de Hematología y Oncología Clínica, Centro Regional de Hemodonación, Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia. ⁷ Servicio de Oncología y Hematología Pediátricas. Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona. ⁸ Servicio de Oncohematología, Hospital Gregorio Marañón, Madrid.

Expone: Victoriano Mulero Méndez - vmulero@um.es

Grupo: U768 - Universidad de Murcia – Murcia.

Our recent findings demonstrate that the canonical inflammasome plays a direct role in regulating hematopoiesis by inactivating the master erythropoiesis transcriptional factor GATA1 in hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs). This study identifies the NLRP1 inflammasome as a key regulator of the erythroid-myeloid lineage decision in HSPCs. Genetic inhibition of *Nlrp1* in zebrafish larvae resulted in a decreased neutrophil count and increased erythrocyte number. Mechanistically, erythroid differentiation induced ribosomal stress, activating the ZAK α /P38 kinase axis, leading to NLRP1 inflammasome assembly in both zebrafish and human. Inhibition of ZAK α with FDA/EMA-approved tyrosine kinase inhibitors (TKIs) alleviated neutrophilia in a zebrafish model and promoted erythroid differentiation in K562 cells and primary human HSPCs from healthy donors and DBA patients. In conclusions, our results reveal that the NLRP1 inflammasome regulates hematopoiesis and that several TKIs frequently used in the clinics can be repurposed for the treatment of hematopoietic disorders associated with chronic inflammation and rare diseases, such as DBA.

o20 ELTROMBOPAG FOR BONE MARROW FAILURE IN FANCONI ANEMIA: RESULTS OF A CLINICAL TRIAL

Autores: Josune Zubicaray, June Iriondo, Albert Catalá, Elena Sebastián, Alejandro Sanz, Susana Navarro, Mariya Ivanova, Laura Ugalde, Jesús González de Pablo, Yari Giménez, Ana Gómez, Ana de la Cruz, Nagore García de Andoin, Jose Javier Uriz, Miriam García-Abos, Jonathan D Schwartz, Jean Soulier, Manuel Ramírez, Juan Bueren, Paula Rio, Julián Sevilla

Filiación: Fundación Biomédica Hospital Niño Jesús, Madrid, Spain, CIEMAT/CIBERER/Fund. Jiménez Díaz, Madrid, Spain, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain, Hospital Universitario Donostia, Donostia/San Sebastian, Spain, Rocket Pharmaceuticals Inc., New York, United States, Université de Paris, Institut de Recherche Saint-Louis, Paris, France.

Expone: Julián Sevilla Navarro - julian.sevilla@salud.madrid.org.

Grupo: GCV19 - Hospital Infantil Universitario Niño Jesús – Madrid.

Introduction: Eltrombopag stimulates trilinear hematopoiesis in aplastic anemia, and it has been postulated from preclinical models that it promotes DNA repair in Fanconi Anemia (FA) hematopoietic stem cells. Herein, we report the results of the 8 patients enrolled in the clinical trial FANCREV (NCT06045052) at Hospital Infantil Universitario Niño Jesús in Madrid.

Methods: An age and weight-adjusted daily dose of eltrombopag was administered to pediatric FA patients with ≥ 1 significant cytopenia (platelets $\leq 50 \times 10^9/L$, neutrophils $\leq 0.75 \times 10^9/L$ or hemoglobin $< 9g/dL$). After 6 months, those who achieved at least a partial response (PR) in peripheral blood (PB) continued treatment for up to a year.

Results: Median age was 7 years (4-12), and 2 patients had previously received gene therapy. At 6 months, 3 patients (37.5%) achieved at least a PR, and it was sustained in one patient at 12 months. Interestingly, the 2 patients who had previously received gene therapy showed a significant increase of corrected cells. Regarding toxicity, 3 patients required dose modifications, 1 due to abdominal intolerance and 2 because of grade 3-4 hepatobiliary toxicity. Studies addressing clonal evolution are currently ongoing.

Conclusions: 1. No drug-related serious adverse effects were observed during eltrombopag treatment. 2. Eltrombopag did not clearly mediate clinically relevant responses, though a potential impact of dose reductions and treatment duration must be considered. 3. The increase of gene-corrected cells in the 2 patients previously infused with very low numbers of gene corrected CD34+ cells may suggest a more marked proliferative advantage of those cells.

o21 PROTEIN DEGRADERS FOR TREATING INHERITED RETINAL DYSTROPHIES

Autores: Gómez-Escribano AP^{1,2,3}, Vázquez-Manrique RP^{1,2,3}, García-García G^{1,2,3}, Millán JM^{1,2,3}

Filiación: ¹ Laboratory of Molecular, Cellular and Genomic Biomedicine, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Valencia. ³ Joint Unit for Rare Diseases IIS La Fe-CIPF, Valencia.

Expone: Ana Pilar Gómez Escribano - ana_pilar_gomez@iislafe.es

Grupo: U755 - Hospital Universitario La Fe – Valencia.

Inherited retinal dystrophies (IRDs) are a set of rare genetic diseases caused by, in most cases, progressive photoreceptor cell degeneration and death. IRDs may manifest diverse inheritance patterns, with approximately 20%

attributed to dominant genes. One such gene is CRX for encoding a transcription factor crucial in photoreceptor differentiation. Certain CRX variants exhibit a negative-dominant effect, resulting from a competition phenomenon between mutant and wild-type proteins. To address this issue selectively, we propose the utilization of ubiquibodies, a bifunctional molecule comprising camelid-nanobody for target recognition and Ubiquitin-proteasome system component for degrading. Through Pague Display screening, we have successfully identified ten synthetic nanobodies capable of specifically recognizing the mutant protein in extracellular conditions. The most promising hits are currently undergoing validation in HEK293 model cells expressing both wild-type and mutant proteins fused to EGFP. Our preliminary results indicate varying efficiencies of ubiquibodies in degrading the target. Significantly, one of the identified nanobodies demonstrates a degradation level comparable to the positive control ubiquibody anti-EGFP. Furthermore, our observations reveal a clear translocation of CRX mutant from the nucleus to the cytoplasm, indicating its potential to be degraded. These findings present a novel therapeutic perspective for dominant variants in inherited retinal dystrophies, laying the groundwork for further exploration of this approach. Additionally, the application of ubiquibodies could extend to other rare genetic diseases where the pathogenic effect stems from a toxic protein.

o22 SUBSTRATE REDUCTION GENE THERAPY RESCUES GLUTARIC ACIDURIA TYPE I IN MICE

Autores: Eulàlia Segur-Bailach^{1,2}, Anna Mateu-Bosch^{1,2}, Frederic Tort^{1,2,4}, Antònia Ribes^{1,2,4}, Judit García-Villòria^{1,2,4}, Cristina Fillat^{1,2,3}

Filiación: ¹ Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona. ² CIBER de Enfermedades Raras. ³ Universitat de Barcelona. Departament Medicina. ⁴ Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona.

Expone: Eulàlia Segur Bailach - 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-aminoadipic semialdehyde synthase (AASS), as a common therapeutic approach for GA1 and PDE. We developed an interfering RNA (iRNA)-based therapeutics using adeno-associated viruses (AAV) targeting AASS transcripts (AAV-iAASS). In vivo assays in GA1 mouse models receiving AAV-iAASS at neonatal age, showed good AAV biodistribution and AASS inhibition in striatum, the main brain structure affected in GA1. Our results on the functional impact of this therapy showed a rescued accumulation of neurotoxic metabolites, up to six months post-treatment. Moreover, treated animals presented partial protection from neuropathological alterations induced by exposure to high-lysine diet. Lysine overload triggered a very severe phenotype in GA1 mice compromising the survival in 50% of animals. Interestingly, animals treated with AAV-iAASS gained weight and improved survival. Our results suggest that AAV-iRNA against AASS is a promising therapeutic strategy for GA1 and PDE.

o23 ORPHANET: NUEVAS FUNCIONALIDADES Y HERRAMIENTAS

Autores: María Elena Mateo Marquina, Virginia Corrochano James

Filiación: Orphanet-España. CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER).

Expone: María Elena Mateo Marquina - memateo@ciberer.es

Plataforma: Orphanet.

“If we cannot count rare diseases patients, patients do not count”, Gareth Baynam.

El sistema de codificación ORPHA, desarrollado por el consorcio europeo Orphanet, es la única clasificación específica de enfermedades raras (ER) integrada por más de 7.000 ORPHAcodes o identificadores numéricos únicos. Las directrices europeas recomiendan su adopción a fin de poder contar con datos epidemiológicos a nivel europeo que permitan guiar las políticas sanitarias en ER, y las Redes Europeas de Referencia (ERN) ya han adoptado este sistema de codificación. En los últimos 2 años, Orphanet se ha centrado, en el marco de los proyectos europeos OD4RD

1 y 2, en dar a conocer e impartir cursos de formación sobre codificación y nomenclatura, con especial énfasis en los usuarios vinculados a las ERNs. En esta comunicación nos centraremos en la importancia y logros de este proyecto y presentaremos las últimas novedades y herramientas desarrolladas por Orphanet: >Búsqueda por signos clínicos y síntomas >RDK (Rare Diseases Knowledge) Aplicación web que permite a los profesionales sanitarios acceder al último conocimiento disponible sobre ER y centros expertos con el objetivo de reducir el error diagnóstico. >OrphaID para Discapacidad Intelectual: Plataforma desarrollada por ERN-ITHACA& SysID que recopila todos los genes y trastornos asociados a discapacidad intelectual, con más de 1.500 genes registrados. Incluye la creación de un código ORPHA específico y la publicación de un árbol de decisiones. >Base de datos bibliográfica sobre Cribado Neonatal, indexando los artículos científicos y documentos reglamentarios sobre CN disponibles a nivel mundial.

o24 CIBERER BIOBANK: GESTIÓN DE MUESTRAS Y NUEVAS COLECCIONES

Autores: Aguado Muñoz C.¹, Martí Pérez S.¹, Mollá Moliner, B.¹, Millán Salvador J.M.^{1,2}, Pallardó Calatayud F.V.^{1,3}

Filiación: ¹ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, Valencia. ² Instituto de Investigación Sanitaria-La Fe, Valencia. ³ Departamento Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia-INCLIVA, Valencia.

Expone: Carmen Aguado Muñoz - carmen.aguado@ciberer.es

Plataforma: CIBERER Biobank.

La legislación vigente sobre investigación biomédica con muestras humanas dispone que para realizar cualquier investigación se debe contar con un consentimiento expreso y escrito de obtención y utilización de estas muestras (Ley de Investigación Biomédica 14/2007). Además, en el Real Decreto 1716/2011 se establecen entre otros, los requisitos para la utilización de muestras biológicas y el almacenamiento o la cesión de dichas muestras. Ante esta complejidad legislativa, la participación del CIBERER Biobank en la gestión de muestras permite asegurar una investigación de calidad, garantizada por nuestro Sistema de Gestión de Calidad (ISO 9001:2015), y una cobertura ético-legal para el investigador responsable del proyecto, convirtiendo al biobanco en una plataforma clave de transferencia del conocimiento científico a la salud del individuo, facilitando la labor de los investigadores y de los profesionales sanitarios. Más allá del almacenamiento y gestión de muestras asegurando todos los estándares de calidad, el biobanco es consciente de la importancia de estar al servicio de los pacientes y mantener un contacto estrecho con ellos, con el fin de generar colecciones que puedan servir como pilar para avanzar en la investigación traslacional en torno a las enfermedades raras. Respetando siempre todas las garantías ético-legales de los donantes. En este sentido desde hace dos años se han iniciado 3 colecciones de muestras de enfermedades raras y ultrarraras que ya se están utilizando en el desarrollo de proyectos por investigadores CIBERER y que desde el biobanco ponemos a disposición de la comunidad científica para su potencial utilización por los investigadores interesados.

Sesiones Orales 5 – Nuevas herramientas de investigación

Auditorio 01 - 02 -> viernes 22/03/2024 8:30h

o25 CO-OCCURRENCE BASED BIOINFORMATICS PROTOCOLS TO IMPROVE PATIENT PHENOTYPING AND PREDICT DISEASE GENES

Autores: James Richard Perkins^{1,2}, Jesús Pérez García¹, Pedro Seoane Zonjic¹, Juan Antonio García Ranea^{1,2,3,4}

Filiación: ¹ Department of Molecular Biology and Biochemistry, University of Málaga, Málaga. ² Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA Plataforma BIONAND), Málaga. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, U-741-Málaga. ⁴ Instituto Nacional de Bioinformática (INB/ELIXIR ES), Málaga.

Expone: Juan Antonio García Ranea - ranea@uma.es

Grupo: U741 - Universidad de Málaga – Málaga.

The co-occurrence of phenotypes over multiple disease or patients can indicate comorbidity. Traditional methods for patient phenotyping often rely on expert clinician knowledge and discussion, leading to oversight or limited granularity. We present a novel approach based on comorbidity to enhance the specificity and coverage of Human Phenotype Ontology (HPO) terms, and to predict disease causing genes. We developed a novel workflow to suggest novel phenotypes based on phenotype co-occurrence across diseases, based on the Orphanet and OMIM. The first step was to calculate phenotype co-occurrence based on the hypergeometric index. The phenotype co-occurrence pairs were then used to suggest novel phenotypes, given a list of query phenotypes. We applied it to a list of phenotypes associated with RASopathies and Syngap1 to discover novel phenotypes which are being further investigated as part of the EURAS European project. The co-occurrence pairs were also used to build a network, which was clustered to find groups of potentially comorbid phenotypes. To ensure we were finding disease-related clusters, we used lyrical to show that 97-99% overlapped with known diseases. We obtained all genes associated with the phenotypes in each cluster, and used them to predict novel disease-causing genes, based on systems biology analysis. On average, we predicted known disease-causing genes within the top 0.01%, close to the performance of state-of-the-art algorithms. Our methodology has multiple potential applications. Moreover, it highlights the additional information that can be obtained by including phenotype co-occurrence in protocols for gene prioritization and disease phenotyping.

o26 MMP, UNA NUEVA HERRAMIENTA PARA EL ANÁLISIS CLÍNICO Y EL DESCUBRIMIENTO EN DATOS GENÓMICOS

Autores: Rosario Carmona Muñoz^{1,2,3}, José Luis Fernández Rueda^{1,2}, Gema Roldán González², Javier Pérez Florido^{1,2,3}, Daniel López López^{1,2,3}, Virginia Aquino Quintans², Noemí Toro Barrios², Gerrit Bostelmann², Francisco Manuel Ortuño Guzmán^{2,3,4}, María Peña Chilet^{1,5}, Joaquín Dopazo Blázquez^{1,2,3}

Filiación: ¹ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER-ISCIII). ² Plataforma de Medicina Computacional - Fundación Pública Progreso y Salud, Sevilla. ³ Instituto de Biomedicina de Sevilla - IBIS - Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. ⁴ Departamento de Ingeniería de Computadores, Automática y Robótica - Universidad de Granada, Granada. ⁵ Plataforma Big Data, Inteligencia Artificial, Bioestadística y Bioinformática. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), Valencia

Expone: Rosario María Carmona Muñoz - rosariocarmona@gmail.com

Grupo: U715 - Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud – Sevilla.

Con el abaratamiento de las técnicas de secuenciación, el uso de datos genómicos en investigación ha experimentado un rápido avance, que a su vez ha originado la necesidad del desarrollo de herramientas de software para su análisis. Sin embargo, su uso no se ha trasladado a la práctica clínica a gran escala, debido en parte a que las soluciones existentes están orientadas a investigación, y no resuelven los problemas más limitantes en la clínica. El principal reto es aumentar los diagnósticos que puede realizar cada especialista [escalabilidad], automatizando la mayor parte de los análisis. Otro problema de la práctica clínica es la gobernanza de datos y la incorporación de principios de ética médica, que muchos programas comerciales o instalaciones remotas no pueden garantizar. Otra de las limitaciones de estos sistemas son las anotaciones, incluyendo la adición de nuevas fuentes de datos, la gestión, trazabilidad y reproducibilidad de versiones, y la actualización de las fuentes de forma independiente. Algunas soluciones sufren una degradación del rendimiento con el uso, y no tienen la flexibilidad en cuanto al tipo

y origen de datos [paneles, exomas o genomas], ni permiten la incorporación del conocimiento de cada grupo, tanto de información como de procedimientos. Como respuesta a estos problemas presentamos el Módulo de Medicina Personalizada, una versión avanzada de herramientas previas como BIERapp, basado en arquitectura LAMBDA modular, con orientación clínica, incluyendo dos fuentes de anotación personalizadas: CSVS [Servidor Colaborativo de Variantes Españolas], e IRPVS, [Servidor de Variantes de la Población Romani Ibérica].

o27 CRISPR/CAS9 EDITING IN HUMAN IPSCS AND GENERATION OF 3D RETINAL ORGANIDS AS RETINAL DISEASE MODELS

Autores: Vasileios Toulis^{1,2,3}, Rocío García-Arroyo^{1,2,3}, Laura Sánchez-Bellver^{1,2,3}, Ioannis Axiotis-Zacharias¹, Gemma Marfany^{1,2,3,4}

Filiación: ¹ Department of Genetics, Microbiology and Statistics, Universitat de Barcelona, Barcelona. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras [CIBERER], Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ³ Institut de Biomedicina-Institut de Recerca Sant Joan de Déu [IBUB-IRSJD], Universitat de Barcelona, Barcelona. ⁴ DBGen Ocular Genomics, Barcelona.

Expone: Vasileios Toulis - vtoulis@ub.edu.

Grupo: U718 - Universidad de Barcelona – Barcelona.

Inherited retinal dystrophies (IRDs) are a heterogeneous group of rare neurodegenerative disorders that result in visual impairment, eventually leading to progressive visual loss and blindness. IRDs, estimated to affect around 1 in 2000 people worldwide, are characterised by dysfunction and death of photoreceptor cells due to alterations in developmental and functional photoreceptor-related pathways, among them ciliogenesis. To date, mutations in more than 300 genes have been associated with retinal degeneration and retinal ciliopathies, among them *CERKL* –an IRD causative gene– and *USP48* –a gene encoding a deubiquitinating enzyme that regulates retinal ciliogenesis. To better understand the role of these genes in retinal health and disease, we have generated *CERKL* R257X [the most common *CERKL* mutation] and *USP48* knockout isogenic lines in induced pluripotent stem cells (iPSCs) using CRISPR/Cas9 and subsequently differentiated them into 3D retinal organoids (ROs), as human retinal disease models. ROs were collected and analysed by western blot, RT-PCR and immunofluorescence to characterise and better define the retinal and cilium alterations during different stages of development of the retina. Our results show specific retinal and ciliary phenotypes that permit us to dissect the disease mechanisms and altered pathways, highlighting the importance of retinal organoids as a human model for either retinal syndromic or non-syndromic rare diseases.

o28 UNA INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA EXPLORAR LOS CONTENIDOS DE UN LIBRO SOBRE ENFERMEDADES RARAS

Autores: Lluís Montoliu^{1,2}, Javier Logroño³, Juanjo do Olmo³, Julián Isla³

Filiación: ¹ Centro Nacional de Biotecnología [CNB-CSIC], Madrid. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras [CIBERER-ISCI], Madrid. ³ Fundación 29, Madrid

Expone: Lluís Montoliu José - montoliu@cnb.csic.es

Grupo: U756 - Centro Nacional de Biotecnología – Madrid.

Con ayuda de Julián Isla [ingeniero de Microsoft, experto en inteligencia artificial, miembro del Comité Científico Asesor Externo del CIBERER y promotor de Fundación 29] y su equipo de desarrolladores informáticos en Fundación 29, hemos convertido el libro “¿Por qué mi hijo tiene una enfermedad rara?”, publicado por la editorial NextDoor Publishers en febrero de 2023, escrito por Lluís Montoliu, prologado por Gemma Marfany [UB y CIBERER] y con el epílogo de Pablo Lapunzina [Director Científico del CIBERER] en una inteligencia artificial [IA]. En el libro se responden a las muchas preguntas que asaltan a todas las familias que conviven con alguna enfermedad rara, tales como: ¿Hay algún otro niño con la misma enfermedad en el mundo? ¿Existe alguna terapia disponible? ¿Alguien está investigando sobre ella? ¿Cuál es la evolución que puedo esperar siga la enfermedad en mi hijo? La IA del libro, con una sencilla interfaz incluida en la página web de Fundación 29 [<https://www.foundation29.org/libroenfermedadesraras>], usa internamente el algoritmo, el modelo de lenguaje GPT-4 de la empresa OpenAI y puede responder de forma sucinta, breve, con un par de frases, o extensa, más elaborada, con varios párrafos, a cualquier pregunta de cualquier tema sobre las enfermedades raras que haya sido tratado en el libro. Es importante destacar que no cita ni extrae necesariamente frases que estén en el libro sino que elabora las respuestas a partir de todos los contenidos del libro, incluidas las tablas y las referencias. De alguna manera es como preguntarle al autor del libro.

Sesiones Orales 6 – Bases moleculares de la enfermedad

Sala 04 - 05 -> viernes 24/03/2024 8:30h

o29 DIAGNÓSTICO FUNCIONAL DEL DÉFICIT DE ACETILGLUTAMATO SINTASA (NAGS) BASADO EN EL USO DE ENZIMA HUMANO RECOMBINANTE ESTABILIZADO MEDIANTE QUIMERISMO CON PROTEÍNA DE UNIÓN A LA MALTOSA (MBP)

Autores: Nadine Gougeard^{1,2}, Enea Sancho-Vaello^{1,2,3}, Clara Marco-Marín^{1,2}, Vicente Rubio^{1,2}

Filiación: ¹ Instituto de Biomedicina de Valencia, IBV-CSIC, Valencia. ² Group 739, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, CIBERER- ISCIII, Madrid. ³ [afiliación actual] Departament of Biochemistry and Molecular Biology, Biosciences Faculty, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.

Expone: Clara Marco Marín - cmarco@ibv.csic.es

Grupo: U739 - Instituto de Biomedicina de Valencia – Valencia.

El déficit de NAGS (NAGSD) es clínicamente indistinguible del de carbamil fosfato sintetasa (CPS1), enzima del que es activador esencial el acetilglutamato. Su diagnóstico es genético, pero encontrar mutaciones “missense” en el gen NAGS no prueba su patogenicidad, siendo deseable para un diagnóstico de seguridad y terapia sustitutiva el análisis funcional, casi inabordable previamente por inestabilidad de la NAGS. Describimos la estabilización de NAGS humana uniéndola a His6-MBP mediante un conector corto escindible por proteasa PreScission. Esta quimera tiene actividad NAGS estable a 4°C y es activable por arginina (activador alostérico de la NAGS), pero al digerir con PreScission aumentan actividad y activabilidad por arginina. Por ello preparamos un stock estable de quimera del que escindimos a voluntad la cantidad necesaria para ensayo inmediato cinético y de estabilidad de la NAGS separada. Así hemos estudiado la forma silvestre y la gran mayoría (22 variantes) de formas mutantes “missense” (más una “nonsense” C-terminal) encontradas en pacientes etiquetados como NAGSD. Para todas las variantes menos una esta aproximación ha establecido la patogenicidad y el mecanismo del déficit, siendo claves la no activabilidad por arginina, la afinidad disminuida por el sustrato glutamato, la tendencia incrementada al “misfolding” y la disminución de estabilidad térmica. Seis formas fueron inactivas, cuatro de ellas por “misfolding”. Nuestros resultados avanzan fuertemente el diagnóstico de seguridad y la comprensión molecular de esta deficiencia, subrayan la necesidad del estudio estructural de esta enzima, y excluyen priorizar la terapia con farmacochaperonas, máxime existiendo terapia sustitutiva.

Ayuda Fundación Ramón Areces CIVP-20A6610.

o30 THE CONTRIBUTION OF EPITHELIAL TO MESENCHYMAL TRANSITION TO HEART DEVELOPMENT: MESOCARDIA AND BEYOND

Autores: Jussep Salgado-Almario^{1,2}, Joan Galcerán¹, M. Angela Nieto¹

Filiación: ¹ CIBERER U769; Instituto de Neurociencias (CSIC-UMH), Sant Joan d'Alacant. ² Facultad de Medicina de Albacete, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete.

Expone: Jussep Salgado Almario - jsalgado@umh.es

Grupo: U769 - Instituto de Neurociencias de Alicante – Alicante.

Mesocardia (ORPHA 95443) is a congenital heart malformation characterized by the abnormal location of the heart. Instead of its natural position, the heart is located in the midline rather than displaced to the left. This rare disease represents 0.2% of congenital heart diseases and has been associated with defects in left-right (L/R) asymmetry. In a previous study, we found that a L/R asymmetric epithelial to mesenchymal transition (EMT) generates more cells in the right lateral plate mesoderm, which migrate towards the midline and incorporate to the posterior pole of the heart in vertebrates. This differential contribution, higher from the right, displaces the posterior pole, initially located in the midline, to its final position on the left. Accordingly, disruption of the L/R differential EMT leads to mesocardia in zebrafish, chick and mouse embryos [a]. We have now characterized the functional and structural cardiac abnormalities in zebrafish embryos displaying mesocardia after downregulation of the EMT inducer prrx1a. In addition

to a developmental delay, 2-day-post-fertilization embryos with mesocardia show bradycardia, smaller atrial and ventricular end-systolic and end-diastolic areas and reduced atrial contractility. After the structural characterization, we have also found that the sinus venosus (inflow tract) and the sinoatrial node (pacemaker) were altered. Thus, the asymmetric EMT of the lateral plate mesoderm not only regulates heart positioning but also the development of the posterior pole of the heart.

[a] Ocana OH, Coskun H, Minguillon C, Murawala P, Tanaka EM, Galceran J, et al. A right-handed signalling pathway drives heart looping in vertebrates. *Nature*. 2017;549(7670):86-90.

031 ACTIVACIÓN NO CANÓNICA DEL SISTEMA CALICREÍNA-CININA EN PACIENTES CON SÍNDROME HEMOLÍTICO URÉMICO ATÍPICO

Autores: Alberto López Lera^{1,2}, Laura González Sánchez^{1,2}, Fernando Corvillo Rodríguez², Pilar Sánchez-Corral^{1,2}

Filiación: ¹ CIBERER U754. ² Instituto de Investigación Hospital La Paz (IdiPAZ), Madrid.

Expone: Alberto López Lera - alberto.lopez@ciberer.es

Grupo: U754 - Hospital La Paz – Madrid.

Introducción: El Síndrome Hemolítico Urémico atípico (SHUa) es una microangiopatía trombótica caracterizada por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y fallo renal agudo, y muchos pacientes tienen mutaciones en Factor H (FH), principal regulador de la Vía Alternativa del sistema del complemento (1). Recientemente, se ha descrito la existencia de complejos circulantes entre FH y el Factor XII de la coagulación (FXIIa), constatando así la conexión fisiológica entre complemento y coagulación/calicreína-cinina (KKS) (2). En este trabajo hemos cuantificado los complejos FH-FXIIa y caracterizado el estado de activación del KKS en muestras de plasma de pacientes SHUa.

Materiales y métodos: Los complejos FH-FXIIa se cuantificaron mediante ELISA en muestras de plasma-EDTA activadas con dextrán sulfato. El estado de activación del FXII (FXII/FXIIa), calicreína (PK/PKa) y cininógeno de alto peso molecular (HK/HKc) se analizó mediante Western-blotting y ensayos colorimétricos.

Resultados y discusión: Los pacientes SHUa presentan una activación significativa del KKS, caracterizada por proteólisis de HK ($p=0.006$) y PK ($p=0.001$) en ausencia de activación de FXII. No detectamos diferencias globales en los niveles de los complejos FH-FXIIa, aunque estos son significativamente más abundantes en los pacientes con hipertensión arterial al diagnóstico y en aquellos con la delección de los genes CFHR1 y CFHR3 (Δ CFHR3-1); puesto que estos genes codifican las proteínas FHR-1 y FHR-3, homólogas al FH, estos resultados sugieren una competición entre estas 3 proteínas por la unión a FXIIa. En resumen, nuestros resultados indican que la activación del KKS independiente del sistema de contacto podría contribuir a la patogénia del SHUa.

032 PREVALENCIA Y REPERCUSIÓN CLÍNICA DE LAS MUTACIONES DEL GEN USP8 EN LA PATOGÉNESIS DE LOS TUMORES SILENTES DE LÍNEA CORTICOTROPA

Autores: Antonio Pico¹, Johana Sottile², Araceli García-Martínez³, María Niveiro⁴, María Eugenia Torregrosa⁵, Javier Abarca⁶, Luis Miguel Valor⁷

Filiación: ¹ Grupo Clínico Vinculado 13, Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL), Universidad Miguel Hernández, Servicio de Endocrinología, Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ² Grupo Clínico Vinculado 13, Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL). ³ Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de (IMIBIC), Córdoba. ⁴ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL), Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ⁵ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL), Servicio de Análisis Clínicos, Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ⁶ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL), Servicio de Neurocirugía, Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ⁷ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL), Alicante.

Expone: Antonio Pico - antonio.pico@umh.es

Grupo: GCV13 - Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante – Alicante.

Es conocida la prevalencia y relevancia de las mutaciones del gen USP8 sobre la patogénia y comportamiento clínico de los tumores funcionantes de la línea corticotropa (TCF) (responsables de la enfermedad de Cushing).

Ambos aspectos son menos conocidos en sus variantes silentes (no asocian enfermedad de Cushing) (TCS). Este estudio pretende aportar información sobre el papel de las mutaciones USP8 sobre la expresión génica y comportamiento clínico de los TCS. Se ha realizado una secuenciación Sanger en 10 TCS procedentes de un Centro de Excelencia en Patología Hipofisaria. Se han recogido parámetros clínicos, bioquímicos y radiológicos y se ha analizado la expresión de genes relacionados con el procesamiento de POMC (*POMC*, *CHRH*, *AVPR1*, *TBX19*, *PCSK1/3*, *PCSK2*, *PAM*, *CPE*), secreción de ACTH (*USP8*, *EGFR*), actividad del receptor de glucocorticoides (GR) [*CABLES1*, *HSP90*, *HSF1*, *AP-1*] y con el ambiente inmune tumoral [*MSH6*, *PDL-1*]. Se han encontrado mutaciones USP8 en 7 TCS (70 %). Los tumores mutados procedían de pacientes más jóvenes y mostraron mayor expresión de los genes relacionados con el procesamiento de POMC y la secreción de ACTH y en el ambiente inmune tumoral, sin diferencias con los no mutados en los genes relacionados con el GR. Conclusiones: Se observa una mayor prevalencia de mutaciones USP8 en TCS de lo descrito. Los tumores mutados presentan un comportamiento intermedio entre los TCS y los TCF, debiendo ser vigilados de forma más estrecha pues son los que pueden evolucionar a TCF.

033 GLA- AND GLB1-ASSOCIATED EARLY-ONSET PARKINSONIAN SYNDROMES: THE MIMICRY BETWEEN LYSOSOMAL DISEASES AND PARKINSONISMS

Autores: Alba Pascual¹, Oriol de Fabregues², Pedro García Ruiz³, Lydia Vela⁴, Marcos Frias^{1,5}, Mónica Roldán^{1,5}, Saida Ortolano⁶, Guerau Fernández^{7,8}, Francesc Palau^{1,7,8}, Janet Hoenicka^{1,8}

Filiación: ¹ Laboratory of Neurogenetics and Molecular Medicine – IPER, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona. ² Vall Hebron Institut de Recerca y Departamento de Neurología, Barcelona. ³ Unidad de Trastornos del Movimiento de la Fundación Jiménez Díaz, Madrid. ⁴ Movement Disorders Unit, Department of Neurology, Hospital Fundación Alcorcón, Madrid. ⁵ Unidad de Microscopía confocal e imagen celular, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona. ⁶ Instituto de Investigación Complejo Hospitalario de Vigo, Vigo. ⁷ Department of Genetic Medicine – IPER, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona. ⁸ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), ISCIII, Madrid.

Expone: Janet Hoenicka - janet.hoenicka@sjd.es

Grupo: U732 - Hospital Sant Joan de Déu – Barcelona.

Genome sequencing is allowing the identification of new genes associated with early onset Parkinsonian syndromes (EOPS). However, the yields of genetic diagnosis in both rare or very rare EOPS and Parkinson's disease (PD) remain very low. The genetic architecture of Parkinsonian syndromes (PS) includes Mendelian genes and risk factors with incomplete penetrance that could act as facilitators of disease expression. The finding that mutations in the *GBA1* gene of autosomal recessive Gaucher disease are an important risk factor for PD has allowed an understanding of PS pathophysiology focused on the alteration of the lysosomal pathway. Here, we used whole-exome sequencing to identify new variants potentially associated with EOPS in 49 patients. A custom bioinformatic pipeline was used for variant filtering and prioritization. We found that 2 EOPS patients carried p.Asp313Tyr in the X-linked *GLA* gene (α -galactosidase A, *GALA*) typically associated with Fabry disease (FD). One patient was a carrier of p.Arg419Gln in the *GLB1* gene (β -galactosidase, β -GAL) associated with GM1 gangliosidosis types I-IV and mucopolysaccharidosis type IVB. To evaluate the functional impact of the genetic variants, proteins, and organelles we studied patients' fibroblasts using immunofluorescence and confocal microscopy techniques. The results showed a significant decrease in *GALA*, which was retained in the trans-Golgi. β -GAL study revealed no significant differences. However, STED super-resolution showed defects in the lysosome morphology in all patients. These results highlight the genetic diversity linked to EOPD and the need to discover genetic and cellular phenotype factors underlying the pathomechanisms of this heterogeneous group of disorders.

034 IDENTIFICATION OF MOLECULAR MARKERS ASSOCIATED WITH PROGNOSIS AND VULNERABILITY TO TARGETED THERAPIES IN MEDULLARY THYROID CANCER

Autores: Natalia Martínez Puente^{1,2}, Ángel M. Martínez Montes¹, Cristina Álvarez Escolá³, Rita M. Regojo Zapata⁴, Guillermo Pita⁵, Eduardo Gil¹, Rocío Letón¹, Sergio Ruiz Llorente⁶, Patricia González García⁷, Luis Javier Leandro García¹, Roberta G. Radu¹, María Monteagudo¹, Sara Mellid¹, Alberto Díaz Talavera^{1,2}, Javier Lanillos¹, Carlos Valdivia¹, Javier de Nicolás Hernández¹, María Calatayud⁸, Luis Robles Díaz⁹, Beatriz Febrero¹⁰, Claudia Toledo Pacheco¹¹, Visitación Álvarez de Frutos¹², Javier Aller¹³, Cristina Rodríguez Antona^{1,2}, Alberto Cascón^{1,2}, Anna González Neira^{1,2}, Eduardo Caleiras¹, Mercedes Robledo^{1,2#}, Cristina Montero Conde^{1,2#}

Filiación: ¹ Grupo de Cáncer Endocrino Hereditario, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ³ Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario La Paz, Madrid. ⁴ Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario La Paz, Madrid. ⁵ Unidad

de Genotipado Humano-CEGEN, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid. ⁶ Departamento de Biomedicina y Biotecnología, Universidad de Alcalá (UAH), Alcalá de Henares. ⁷ Unidad de Histopatología, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid. ⁸ Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid. ⁹ Servicio de Oncología Médica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid. ¹⁰ Servicio de Cirugía General, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Instituto Murciano de Investigaciones Biosanitarias IMIB-Arrixaca, Murcia. ¹¹ Servicio de Genética, Hospital Virgen de la Salud, Toledo. ¹² Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario de Guadalajara, Guadalajara. ¹³ Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda. #Autores de correspondencia.

Expone: Natalia Martínez Puente - nmartinezp@ext.cnio.es

Grupo: U706 - Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas – Madrid.

Introduction: Medullary thyroid carcinoma (MTC) is a rare neuroendocrine malignancy (<5% of thyroid cancers) that accounts for nearly 15% of thyroid cancer-related deaths. RET and (H-, K-) RAS oncogenes drive approximately 85% of MTC, but beyond that, the molecular knowledge of MTC is limited. There is a clinical need to characterize MTC molecular landscape to find therapeutic alternatives for patients with advanced disease.

Objective: To identify novel events functionally relevant to MTC pathogenesis and response to EMA-approved inhibitors for advanced MTC through comprehensive analysis of 57 primary tumors and metastases by somatic copy number alteration (sCNA) profiling, transcriptome analysis, and next-generation sequencing.

Results: We identified 1024 genes with significant correlation between gene expression and CNA pattern (adjusted $p \leq 0.15$) that were significantly enriched (adjusted $p \leq 0.05$) for the functional terms: Myc target v1, E2F target, mTORC signaling and G2-M checkpoint. CN gain of MYC-N, a hallmark of functional enrichment analysis, was associated with advanced MTC and further validated by FISH. We also identified allelic imbalance events favoring RET and HRAS mutant alleles in metastatic MTCs driven by these oncogenes and found that RETM918T copy gain was associated with dominant expression of the mutant allele and increased transcriptional output of the RET downstream-related cascades MAPK and STAT3. We generated an in vitro model that mimics RETM918T CN gain to explore the RET signaling cascade and response to the RET inhibitor selpercatinib. Overall, we performed a systemic analysis of CNA in MTC and found functional events related to prognosis and response to EMA-approved inhibitors.

Sesiones Orales 7 – Bases moleculares de la enfermedad y nuevas terapias

Auditorio 01 - 02 -> viernes 22/03/2022 11:30h

035 OSTEOMESOPYKNOSIS, A RARE BONE SCLEROSING DISORDER ASSOCIATED WITH A NOVEL ALOX5 VARIANT THAT IMPACTS THE RANKL PATHWAY

Autores: José L. Fernández-Luna^{1,2,4}, José L. Hernández^{1,2,3}, Soraya Curiel-Olmo¹, Nestor A. Martínez-Amador¹, Ana I. Vega¹, Remedios Quirce^{1,2,3}, Santiago Montes-Moreno^{1,2,3}, Alvaro del Real^{2,3,4}, Nuria Puente^{1,2,4}, José A. Riancho^{1,2,3,4}

Filiación: ¹ Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander. ² Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla, Santander. ³ Universidad de Cantabria, Santander. ⁴ CIBERER, GCV-25

Expone: José Antonio Riancho Moral - rianchoj@unican.es

Grupo: GCV25 - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla – Santander.

Bone tissue homeostasis depends on the activity of the bone-forming osteoblasts and bone-resorbing osteoclasts. Osteomesopyknosis is a rare bone sclerosing disorder of unelucidated pathophysiology. Patients show multiple foci of bone sclerosis, mainly affected the trabecular bone regions of the spine and pelvis, and occasionally the proximal femora or humeri. Reports in a few families suggested an autosomal dominant transmission. However, the causal genes are unknown. Here we report two new cases of osteomesopyknosis. First case was a 49-year old woman with hip pain. CT, MR and isotopic scans showed multiple sclerotic lesions at the spine and the pelvic bones. Bone biopsies showed increased trabecular thickness, without neoplastic cells. An exome analysis revealed a missense *ALOX5* variant that was not present in a normal sibling. *In silico* models predicted that the variant altered protein conformation. Transfection experiments demonstrated that it was associated with reduced protein levels that were restored by proteasomal inhibition with bortezomib. Likewise, gene expression analysis in osteoblast-like cell lines showed that it was associated with a decreased RANKL/OPG ratio. RANKL is a critical driver of osteoclast differentiation, whereas OPG (osteoprotegerin) is a soluble decoy receptor that prevents the binding of RANKL to their receptors RANK expressed in the cell membrane of osteoclast precursors. Consequently, a decrease in the RANKL/OPG ratio is predicted to inhibit osteoclast differentiation. Our data suggest that impaired bone resorption is the underlying mechanism of this rare osteosclerosis and points to *ALOX5* variants as putative pathogenic drivers in some cases.

036 PLEIOTROPIC CONTRIBUTION OF RBFOX1 TO NEURODEVELOPMENTAL AND PSYCHIATRIC PHENOTYPES IN TWO ZEBRAFISH MODELS

Autores: Noèlia Fernández-Castillo^{1,2,3,4*}, Ester Antón-Galindo^{1,2,3,4}, Maja R. Adel^{5,6}, Judit García-Gonzalez^{7,8}, Adele Leggieri⁷, Laura López-Blanch⁹, Manuel Irimia^{9,10,11}, William HJ Norton¹², Caroline H Brennan⁷, Bru Cormand^{1,2,3,4*}

Filiación: ¹ Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades raras [CIBERER], Spain. ³ Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. ⁴ Institut de recerca Sant Joan de Déu, Espluges de Llobregat, Spain. ⁵ Department of Psychiatry, Psychosomatic Medicine and Psychotherapy, University Hospital Frankfurt, Goethe University, Frankfurt am Main, Germany. ⁶ Faculty of Biological Sciences, Goethe University Frankfurt, Frankfurt am Main, Germany. ⁷ School of Biological and Behavioural Sciences, Queen Mary University of London, London, UK. ⁸ Icahn School of Medicine, Mount Sinai, NYC, USA. ⁹ Centre for Genomic Regulation, Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona, Spain. ¹⁰ Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain. ¹¹ ICREA, Barcelona, Spain. ¹² Department of Genetics and Genome Biology, College of Life Sciences, University of Leicester, Leicester, United Kingdom. *equally supervised this work.

Expone: Noelia Fernández Castillo - noe.genetica@gmail.com

Grupo: U720 - Universidad de Barcelona – Barcelona.

RBFOX1 is a highly pleiotropic gene that contributes to several psychiatric and neurodevelopmental disorders. Both rare and common variants in *RBFOX1* have been associated with autism and several psychiatric conditions, but the mechanisms underlying the pleiotropic effects of *RBFOX1* are not yet understood. Here we found that, in zebrafish, *rbfox1* is expressed in spinal cord, mid- and hindbrain during developmental stages. In adults, expression is restricted

to specific areas of the brain, including telencephalic and diencephalic regions with an important role in receiving and processing sensory information and in directing behaviour. To investigate the effect of *rbfox1* on behaviour, we used *rbfox1sa15940*, a zebrafish mutant line with TL background. We found that *rbfox1sa15940* mutants present hyperactivity, thigmotaxis, decreased freezing behaviour and altered social behaviour. We repeated these behavioural tests in a second *rbfox1* mutant line with a different genetic background (TU), *rbfox1del19*, and found that *rbfox1* deficiency affects behaviour similarly in this line, although there were some differences. *rbfox1del19* mutants present similar thigmotaxis, but stronger alterations in social behaviour and lower levels of hyperactivity than *rbfox1sa15940* fish. Taken together, these results suggest that mutations in *rbfox1* lead to multiple behavioural changes in zebrafish that might be modulated by environmental, epigenetic and genetic background effects, and that resemble phenotypic alterations present in *Rbfox1*-deficient mice and in patients with different psychiatric conditions. Our study thus highlights the evolutionary conservation of *rbfox1* function in behaviour and paves the way to further investigate the mechanisms underlying *rbfox1* pleiotropy on the onset of neurodevelopmental and psychiatric disorders.

037 NON-IMMUNE HYDROPS FETALIS IS ASSOCIATED WITH BI-ALLELIC PATHOGENIC VARIANTS IN THE MYB BINDING PROTEIN 1A (MYBBP1A) GENE

Autores: *Jair Tenorio-Castano*^{1,2,3}, *Elena Mansilla Aparicio*^{1,2,3}, *Fe Amalia García Santiago*^{1,2,3}, *Cherise M Klotz*⁷, *Rita María Regojo*⁴, *Estefanía Anguita*^{1,6}, *Erin Ryan*⁸, *Jane Juusola*⁸, *Beatriz Herrero*⁵, *Pedro Arias*^{1,2,3}, *Alejandro Parra*^{1,2,3}, *Patricia Pascual*^{1,2,3}, *Natalia Gallego*^{1,2,3}, *Mario Caza-Illa*^{1,2,3}, *Roberto Rodríguez-González*⁵, *Eugenia Antolín*⁵, *Julián Nevado*^{1,2,3}, *Víctor L. Ruiz Pérez*^{1,2,3,6}, *Pablo Lapunzina*^{1,2,3}

Filiación: ¹ CIBERER, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, Madrid, Spain. ² INGEMM-Idipaz, Institute of Medical and Molecular Genetics, Madrid, Spain. ³ ITHACA, European Reference Network, Brussels, Belgium. ⁴ Department of Pathology, La Paz University Hospital, Madrid, Spain. ⁵ Division of Maternal and Fetal Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Universitario La Paz. IdiPAZ, Madrid, Spain. ⁶ Instituto de Investigaciones Biomedicas Sols-Morreale (IIBM), CSIC-UAM, Madrid, Spain. ⁷ Swedish Medical Center, Seattle WA, USA. ⁸ GeneDx, Gaithersburg, Maryland, USA.

Expone: *Jair Tenorio* - jairantonio.tenorio@gmail.com

Grupo: U753 - Hospital La Paz – Madrid.

La hidropesía fetal no inmune (NIHF) es una entidad poco frecuente caracterizada por la acumulación excesiva de líquido en los compartimentos extravasculares fetales y las cavidades corporales. Aquí presentamos dos fetos con NIHF que presentaban oligohidramnios, higroma quístico, derrame pleural e hidropesía generalizada con predominio de edema subcutáneo. Los fetos también presentaban ascitis, IUGR grave y precoz y anomalías esqueléticas. Se aplicó la secuenciación completa del exoma para detectar una posible causa genética. Los resultados identificaron variantes bialélicas en el gen *MYBBP1A* en ambos fetos. En un artículo anterior se describía otro caso con un fenotipo similar que presentaba variantes heterocigotas compuestas en el mismo gen. La proteína codificada por *MYBBP1A* interviene en varios procesos celulares, como la síntesis de ADN ribosómico, la respuesta al estrés nucleolar y la supresión tumoral. Nuestro análisis funcional de proteínas mediante inmunohistoquímica indica que *MYBBP1A* es un gen que se expresa durante las etapas fetales y cuya proteína parece estar deslocalizada en pacientes con NIHF. En conjunto, concluimos que *MYBBP1A* es un nuevo gen asociado por primera vez al desarrollo de hidropesía fetal mediante un patrón autosómico recesivo. Son necesarios más casos y más estudios para comprender el papel de este gen y el mecanismo asociado a la NIHF.

038 HEPATOENCEPHALOPATHY DUE TO GFM1 MUTATIONS: PRECLINICAL STUDY OF AN AAV-BASED GENE THERAPY IN A MOUSE MODEL OF THE DISEASE

Autores: *Miguel Molina Berenguer*^{1,2,3}, *Diego Herrero Martínez*^{4,5}, *Ferran Vila Juliá*^{1,2}, *Yolanda Cámara Navarro*^{1,2}, *África Vales Arangueren*^{4,5}, *Gloria González Aseguinolaza*^{4,5}, *Javier Torres Torronteras*^{1,2}, *Ramon Martí Seves*^{1,2}

Filiación: ¹ Research Group on Neuromuscular and Mitochondrial Diseases, Vall d'Hebron Research Institute, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona. ² Biomedical Network Research Centre on Rare Diseases (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ³ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona. ⁴ Programa de Terapia Génica y Regulación de la Expresión Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra, Pamplona. ⁵ Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra, IdiSNA, Pamplona.

Expone: *Miguel Molina Berenguer* - miguel.molina@vhir.org.

Grupo: U701 - Hospital Universitario Vall d'Hebron – Barcelona.

The hepatoencephalopathy due to mutations in *GFM1*, also known as combined oxidative phosphorylation deficiency type I [COXPD1] is a mitochondrial disease caused by recessive mutations the nuclear gene encoding the mitochondrial translation elongation factor G1 (EFG1), with no currently available cure. Patients with COXPD1 develop a severe encephalopathy, sometimes combined with liver failure, with neonatal onset and rapid progression that normally leads to death during the first weeks or years of life. We previously generated a genetically modified murine model of COXPD1 carrying a knockout allele and the p.R671C mutation in the other allele [Gfm1R671C/-] [Molina-Berenguer et al, FASEB J 2021]. These mice show dysfunctional molecular phenotype in liver and brain with drastic EFG1 reduction causing impaired mitochondrial translation and combined OXPHOS deficiency. We performed gene therapy using two liver- and brain-targeted adeno-associated viral vectors [rAAV] to introduce the human *GFM1* gene into Gfm1R671C/- mice. Each rAAV was administered intravenously on 6-week-old Gfm1R671C/- mice and their efficacy was analyzed four weeks after treatment. Both strategies resulted in substantial recovery of EFG1 in mitochondria of target tissues. In addition, OXPHOS dysfunction was corrected, demonstrating that transgenic human EFG1 is functional. In conclusion, our studies support the notion that AAV-mediated gene therapy could be a promising strategy for the treatment of COXPD1 liver and brain alterations.

039 USO DE LNPS PARA VEHICULIZAR TERAPIAS GÉNICAS EN SARCOMA DE EWING

Autores: M. Iranzo Martínez^{1,2}, Javier Martínez-Latorre^{3,4,5}, Vicente Candela-Noguera^{3,4,5}, S.T. Cervera Mayor^{1,2}, S. Martínez-Rodríguez¹, R. Melero-Fernández de Mera^{1,2}, R. Martínez-Mañez^{3,4,5}, J. Alonso^{1,2}

Filiación: ¹ Unidad de Tumores Sólidos Infantiles, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III (CB06/07/009; CIBERER-ISCIII), Madrid. ³ Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), Universitat Politècnica de València, Universitat de València, Valencia. ⁴ Unidad Mixta UPV-CIPF de Investigación en Mecanismos de Enfermedades y Nanomedicina, Valencia. ⁵ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CB07/01/2012, CIBER-BBN-ISCIII), Madrid.

Expone: Maria Iranzo Martinez - m.iranzo@isciii.es

Grupo: U758 - Instituto de investigación en Enfermedades Raras – Madrid.

Recientemente, nuestro grupo ha demostrado que la inactivación génica de EWSR1::FLI1, el oncogén característico del sarcoma de Ewing [ORPHA:319], mediante CRISPR-Cas9, puede ser una alternativa terapéutica para el tratamiento de este cáncer. Sin embargo, la vehiculización de este sistema tiene todavía importantes limitaciones para su uso in vivo. En colaboración con el laboratorio de nanomedicina de Ramón Martínez Máñez, adscrito al CIBERBBN, estamos evaluando la idoneidad de las nanopartículas lipídicas [LNPs] para vehiculizar la maquinaria de edición génica. Como prueba de concepto, hemos producido LNPs que transportan en su interior un DNA plasmídico que codifica para luciferasa bajo el control de un promotor activo solo en las células de sarcoma de Ewing, lo que le otorga al sistema una elevada especificidad. Estas LNPs son capaces de transfectar las células de sarcoma de Ewing A673 y SK-N-MC con una elevada eficiencia y con poca reducción de la viabilidad celular. Además, gracias al uso del promotor Ewing-específico, se consigue expresar el gen reportero en las células de sarcoma de Ewing pero no en otros tipos celulares. En resumen, el uso de LNPs como sistema de vehiculización de DNA plasmídico a células de sarcoma de Ewing es eficiente y poco tóxico. Además, cuando el sistema se combina con el uso de un promotor Ewing-específico, es posible expresar una proteína de interés específicamente en las células de sarcoma de Ewing. Por lo tanto, este sistema puede ser utilizado para inactivar genéticamente el oncogén EWSR1::FLI1 con tecnología CRISPR/Cas9 o expresar otras proteínas con potencial terapéutico.

o40 NEW APPROACHES TO NON-GENOTOXIC HEMATOPOIETIC CONDITIONING IN GENE THERAPY TREATMENTS

Autores: Isabel Ojeda-Perez^{1,2}, Omaira Alberquilla-Fernandez^{1,2}, Aida García-Torralba^{1,2}, Rebeca Sánchez-Domínguez^{1,2}, Jose-Carlos Segovia^{1,2}

Filiación: ¹ Cell Technology Division, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) and Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid. ² Unidad Mixta de Terapias Avanzadas. Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD, UAM), Madrid.

Expone: Isabel Ojeda Pérez - isabel.ojeda@externos.ciemat.es

Grupo: U710 - Centro de Investigaciones Energéticas, medioambientales y Tecnológicas – Madrid.

Hematopoietic gene therapy is a promising therapeutic approach for various hematological disorders, such as Pyruvate kinase Deficiency (PKD), a rare genetic condition impacting red blood cell function and leading to chronic hemolytic anemia. However, current chemotherapy-based conditioning treatments required for the engraftment of corrected hematopoietic stem cells (HSC) are highly toxic, leading to significant adverse effects in patients. To establish gene therapy as a primary treatment for such disorders, less toxic conditioning regimens are crucial, specifically targeting HSCs without affecting other tissues. We have explored the synergistic approach of combining monoclonal antibody (mAb) treatment specific for eliminating diseased HSCs with drugs to facilitate the access of the mAbs to them. With this novel combination approach we demonstrated the specific depletion of endogenous HSCs in PKD and WT mice. Our results showed a remarkable threefold increase in exogenous long term engraftment with therapeutic efficacy and reduced risk of engraftment failure while maintaining similar kinetics of hematopoietic recovery. Comparing this approach with the conventional total body irradiation conditioning treatment in mice we observed that in PKD mice, the percentage of healthy cells required to reverse the disease phenotype was half of what was needed with the standard treatment. This finding suggests a notably reduced toxicity using our novel treatment approach. These results constitute a preclinical proof of concept for a conditioning that, without chemotherapy, allows for a functionally effective, stable long-term and therapeutic hematopoietic graft.

Resúmenes Poster

p01 IDENTIFICACIÓN DE TRASTORNOS CONGÉNITOS DE GLICOSILACIÓN ENTRE PACIENTES CON DEFICIENCIA DE ANTITROMBINA: IMPLICACIONES DIAGNÓSTICAS Y TERAPÉUTICAS

Autores: María Eugenia de la Morena-Barrio¹, María Llamas-López¹, Antonia Miñano¹, Javier Pagán², Trinidad Hernández³, Ewa Wypasek⁴, Blai Signes⁵, Mar Gutierrez-Albariño⁶, Irene Martínez-Martínez¹, Belén de la Morena-Barrio¹, Pedro Garrido-Rodríguez¹, Belén Pérez⁶, Vicente Vicente¹, Aneta Undas⁴, María Luisa Lozano¹, Javier Corral¹

Filiación: ¹ -Servicio de Hematología, Hospital General Universitario Morales Messeguer, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia, Universidad de Murcia, IMIB-Pascual Parrilla, CIBERER-ISCIII. Murcia, España. ² Servicio de Medicina Interna Hospital General Universitario Morales Messeguer. Murcia, España. ³ Department of Biochemistry and Molecular Biology [B] and Immunology, Universidad de Murcia, IMIB-Pascual Parrilla, Murcia, España. ⁴ The John Paul II Hospital, Kraków, Polonia. ⁵ Servicio de Hematología, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, España. ⁶ Servicio de Hematología, Hospital la Paz. Madrid, España. ⁷ Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares, Universidad Autónoma de Madrid, IdiPAZ, CIBERER, Madrid, España.

Expone: María Eugenia de la Morena Barrio - uge2985@hotmail.com

Grupo: U765 - Hospital José María Morales Meseguer – Murcia.

La deficiencia de antitrombina [DAT], una N-glicoproteína con función anticoagulante, es la principal trombofilia causada por alteraciones en el gen codificante. Sin embargo, el 25% de casos no presentan defectos en SERPINC1. Como los pacientes con trastornos congénitos de glicosilación (CDG) presentan DAT, nuestro objetivo fue identificar y caracterizar CDGs en pacientes con DAT. En 424 pacientes no relacionados con DAT, se analizaron SERPINC1 y 72 genes de glicosilación, y la hipoglicosilación de AT y otras proteínas hepáticas. 34/84 casos con DAT sin alteraciones en SERPINC1 presentaban formas hipoglicosiladas. Siete, con eventos trombóticos y sin o moderado retraso psicomotor, portaban mutaciones bialélicas patogénicas o probablemente patogénicas en genes CDG: *PMM2*, *MPI*, *ALG12*, *ALG13*, *GALT* (2 casos) y *PGM1*. En los casos *MPI* y *GALT*, la suplementación oral con manosa o la retirada de galactosa, incrementó los niveles de AT y redujo la hipoglicosilación, lo que permitió retirar el tratamiento anticoagulante. Además, identificamos un posible nuevo CDG, portador bialélico de 2 mutaciones en *HK3*. Finalmente, 24 casos, todos bebedores, presentaban una mutación CDG. La eliminación del alcohol en 2 casos restauró niveles normales de AT y redujo la hipoglicosilación. El 8% de los pacientes con DAT (40% en casos sin defecto en SERPINC1) son CDG con manifestaciones clínicas atípicas, confirmando que esta patología está subestimada y sugiriendo que la AT es un excelente marcador para la búsqueda de nuevos casos. La mayoría de estos CDGs tienen un tratamiento sencillo para reducir los defectos de glicosilación y restaurar los niveles de AT.

PI21/00174 [ISCIII&FEDER]; 21886/PI/22 [Fundación Séneca]

p02 DISTROFIA MACULAR DOMINANTE ASOCIADA AL GEN *THRB*: IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS FAMILIAS Y VARIANTES

Autores: Lidia Fernández-Caballero^{1,2}, Fiona Blanco-Kelly^{1,2}, Inmaculada Martín-Mérida^{1,2}, Pablo Minguéz^{1,2,3}, Saoud Tahsin Swafiri^{1,2}, Ester Carreño⁴, María Pilar Martín-Gutiérrez⁴, Blanca García-Sandoval⁴, Marta Cortón^{*1,2}, Carmen Ayuso^{*1,2}

Filiación: ¹ Departamento de Genética, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid [IIS-FJD, UAM], Madrid. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras [CIBERER], Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ³ Unidad de Bioinformática, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid [IIS-FJD, UAM], Madrid. ⁴ Departamento de Oftalmología, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma de Madrid [IIS-FJD, UAM], Madrid.

Expone: Marta Corton - mcorton@quironsalud.es

Grupo: U704 - Fundación Jiménez Díaz – Madrid.

Las distrofias hereditarias de retina son un grupo de enfermedades raras que afectan a los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentario de la retina, produciendo discapacidad visual. Actualmente se conocen más de 280 genes asociados, que explicarían alrededor del 60% de los casos. El gen *THRB* codifica el receptor de la hormona tiroidea β que, mediante splicing alternativo, produce dos isoformas en humanos (TR β 1 y TR β 2). Además de otras localizaciones, ambas se expresan en la retina y, concretamente, TR β 1 regula la expresión de *CYP27C1*, que controla el balance de vitamina A1 y A2 en el ojo. Recientemente, se han descrito 3 familias españolas con la primera varian-

te en *THRB* asociada a distrofia macular autosómica dominante, c.283+1G>A, que afecta al splicing de la isoforma TRβ1, dejando intacta TRβ2. El objetivo de este trabajo es refinar el fenotipo retiniano asociado a *THRB*. Presentamos 12 pacientes de 3 familias adicionales portadores de variantes en este gen, confirmando su implicación en la patología. Dos de ellas presentan la variante previamente descrita, c.283+1G>A, lo que podría indicar un efecto fundador en España. En una tercera familia se identificó una nueva variante, c.283G>A (p.Gly95Arg), que ejercería un mecanismo similar sobre el splicing. Los pacientes han sido clínicamente diagnosticados con distrofia macular o distrofia de conos/conos-bastones. En el inicio de la patología presentan pérdida de agudeza visual o discromatopsia; pero el comienzo de los síntomas subjetivos varía desde la primera a la séptima década, existiendo una alta variabilidad intra-familiar en la severidad de la enfermedad.

p03 IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES MODIFICADORAS DEL DÉFICIT DE ALFA-1 ANTITRIPSINA MEDIANTE ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE EXOMA COMPLETO

Autores: Sara Gil Martín^{1,2}, Nerea Matamala¹, Guillermo Pita³, Anna Gonzalez Neira³, Myriam Calle Rubio⁴, Juan Luis Rodriguez Hermosa⁴, Otto Hagen¹, Gema Gomez-Mariano¹, Javier Alonso^{2,5}, Beatriz Martínez-Delgado¹

Filiación: ¹ Genética Molecular, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III (CIBERER-ISCIIII), Madrid. ³ Unidad de Genotipado Humano - CEGEN. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas CNIO, Madrid. ⁴ Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España. ⁵ Unidad de Tumores Sólidos Infantiles, Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid.

Expone: Sara Gil Martín - sara.gil@externos.isciii.es

Grupo: U758 - Instituto de investigación en Enfermedades Raras – Madrid.

Los individuos con Déficit de Alfa-1 Antitripsina (DAAT) incluso con el mismo genotipo PiZZ pueden desarrollar enfermedad pulmonar y/o hepática. Esta heterogeneidad sugiere la presencia de variantes genéticas modificadoras de enfermedad que favorecen fenotipos específicos. Hemos realizado un estudio de asociación genética con datos de secuenciación de exoma completo de 72 pacientes con genotipo PiZZ, 13 de ellos presentaban daño hepático (ZZ-HIG) mientras que 59 desarrollaron enfermedad pulmonar (ZZ-PUL). Las variantes significativamente asociadas a casos ZZ-HIG o ZZ-PUL se anotaron funcionalmente para investigar la posible relación de los genes implicados con el desarrollo de la enfermedad. Se han identificado 537 genes con variantes significativamente asociadas a alguno de los grupos, 664 variantes en 412 genes presentaban mayor frecuencia en casos ZZ-HIG y 270 variantes en 125 genes aparecían con más frecuencia en los casos ZZ-PUL. Un 14% de las variantes significativas son codificantes, mientras que el 86% son variantes intrónicas que podrían tener un efecto sobre la regulación de los genes. Las funciones de los genes asociados a enfermedad hepática (ZZ-HIG) revelan implicación en vías de transporte y metabolismo lipídico principalmente. En el caso de variantes asociadas con enfermedad pulmonar (ZZ-PUL), se relacionan con funciones específicas como reclutamiento de neutrófilos, producción de surfactante y función pulmonar. Los resultados sugieren que estas variantes podrían ser biomarcadores útiles para la estratificación de pacientes con DAAT, proporcionando información sobre el riesgo de desarrollar enfermedad pulmonar o hepática. No obstante, es necesario validar estas variantes en una muestra más extensa de pacientes con DAAT.

p04 MAGEL2 TRUNCADA Y SU NUEVA LOCALIZACIÓN SUBCELULAR EN EL SÍNDROME DE SCHAAF-YANG

Autores: Mónica Centeno-Pla^{1,2,3}, Estefanía Alcaide-Consuegra^{1,2}, Sophie Gibson¹, Aina Prat-Planas^{1,2}, Juan Diego Gutiérrez-Ávila^{1,2}, Daniel Grinberg^{1,2}, Raquel Rabionet^{1,2}, Roser Urreizti^{2,3}, Susanna Balcells^{1,2}

Filiación: ¹ Departamento de Genética, Microbiología y Estadística, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona, IBUB, IRSJD, 08028, Barcelona. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) - Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ³ Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital Sant Joan de Déu, 08950, Esplugues de Llobregat.

Expone: Mónica Centeno Pla - monicacentpla7@gmail.com

Grupo: U720 - Universidad de Barcelona – Barcelona.

El síndrome de Schaaf-Yang (SYS) es un trastorno ultra raro del neurodesarrollo causado por mutaciones truncantes en *MAGEL2*. Los pacientes con SYS muestran un fenotipo clínico que incluye discapacidad intelectual, hipotonía neonatal, trastornos del sueño, contracturas articulares y dismorfia facial, entre otros. La proteína *MAGEL2* contribuye a la regulación del transporte retrógrado, el ritmo circadiano y el metabolismo del ARNm. En un estudio publicado recientemente, transfectamos líneas celulares con vectores que codifican para *MAGEL2* salvaje (WT) o

truncado para evaluar la localización subcelular de la proteína mutada. Ensayos de inmunocitoquímica mostraron que en las células transfectadas con la construcción WT (MAGEL2-HA), MAGEL2 localizaba principalmente en el citoplasma, mientras que había un desplazamiento hacia el núcleo de la proteína truncada [MAGEL2-Gln638*-HA]. Ahora ampliamos este análisis a seis mutaciones SYS adicionales transfectando MAGEL2 etiquetado con FLAG a N-terminal. Nuestros resultados replican y amplían los hallazgos anteriores, mostrando que todas las proteínas MAGEL2 truncadas presentan consistentemente una localización nuclear. Además, variantes asociadas con artrogriposis múltiple congénita (AMC) muestran un fenotipo de retención nuclear más pronunciado, lo que sugiere una correlación entre la gravedad clínica y el grado de localización nuclear. Si bien la falta de un anticuerpo que funcione correctamente contra MAGEL2 obstaculiza la validación de estos hallazgos en MAGEL2 endógena, estos resultados apuntan a un efecto neomórfico de la proteína truncada, que podría contribuir a la patogénesis del SYS.

p05 DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE DISTROFIAS HEREDITARIAS DE LA RETINA MEDIANTE LA SECUENCIACIÓN DEL EXOMA COMPLETO

Autores: Pilar Barberán-Martínez^{1,2}, Belén García-Bohórquez^{1,2,3}, Cinta Navarro-Moreno^{1,2,3}, Teresa Jaijo^{1,2,3,4}, Elena Aller^{1,2,3,4}, Gema García-García^{1,2,3}, José María Millán^{1,2,3,4}

Filiación: ¹ Laboratorio de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia. ² Unidad Mixta de Enfermedades Raras IIS La Fe-CIPF, Valencia. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Valencia. ⁴ Hospital Universitario y Politécnico de La Fe, Valencia.

Expone: Gema García García - gema_garcia@iislafe.es

Grupo: U755 - Hospital Universitario La Fe – Valencia.

Las distrofias hereditarias de la retina (DHR) son un grupo de enfermedades raras en las cuales se produce pérdida visual. Estas, se caracterizan por una alta heterogeneidad genética. Por ello, el objetivo de este trabajo es mejorar su diagnóstico genético mediante diferentes estrategias basadas en secuenciación masiva. Se analizaron genéticamente 267 pacientes con DHR usando paneles de genes: 224 se analizaron con un panel de 117 genes y 43 con un panel actualizado de 114 genes. Posteriormente, se amplió el estudio de 59 familias negativas para el panel mediante la secuenciación del exoma completo. El análisis bioinformático se realizó con los programas Alissa (Agilent), SOPHiA DDM[®] o GPAP (CNAG). Se evaluó la patogenicidad de las variantes siguiendo las guías del American College of Medical Genetics and Genomics. De los 267 pacientes, se identificó la causa genética en 173 [64.8%]. En 63 [23.6%] no se hallaron mutaciones y en 31 [11.6%] solo se detectó una variante en heterocigosis en genes de herencia recesiva. De estos 94 pacientes no resueltos, realizamos el exoma completo de 59 familias y pudimos diagnosticar genéticamente 12 familias [20,3%]. Algunas se resolvieron con genes asociados recientemente a las DHR, mientras que otras, presentaron enfermedades sindrómicas en las que la pérdida visual era uno de los signos clínicos. Los paneles de genes son una buena aproximación para el diagnóstico genético. No obstante, necesitan una actualización periódica debido a la asociación continua de nuevos genes con las DHR. Por ello, concluimos que los exomas son una buena estrategia para el diagnóstico genético de enfermedades heterogéneas genéticamente, como son las DHR.

p06 NUEVOS GENES CANDIDATOS IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL PULMONAR

Autores: Lucía Miranda Alcaraz^{1,2,3}, Natalia Gallego-Zazo^{1,2,3}, Mónica Mora Gómez^{1,2,3}, Alejandro Cruz-Utrilla^{4,5}, María Jesús del Cerro Marín⁶, Manuel López Meseguer⁷, Amparo Moya Bonora⁸, Nuria Ochoa Parra^{4,5}, Alejandro Parra^{1,2,3}, Patricia Pascual^{1,2,3}, Mario Cazalla^{1,2,3}, Cristina Silván^{1,2,3}, Pedro Arias^{1,2,3}, Pablo Lapunzina^{1,2,3}, Pilar Escribano-Subías^{4,5}, Jair Tenorio-Castaño^{1,2,3}

Filiación: ¹ Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM), Instituto de Investigación del Hospital Universitario La Paz (IdiPaz), Hospital Universitario La Paz, Madrid, España. ² CIBERER, Centro de Investigación Biomédica de Enfermedades Raras en Red, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España. ³ ERN-ITHACA, European Reference Network on Rare Malformations Syndromes, Intellectual and other Neuro-developmental Disorders, París, Francia. ⁴ Unidad multidisciplinar de Hipertensión Pulmonar, Servicio de Cardiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España. ERN-LUNG, European Reference Network on rare lung diseases (pulmonary hypertension). ⁵ CIBERCIV, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España. ⁶ Unidad de Hipertensión Pulmonar Pediátrica, Servicio de Cardiología Pediátrica, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España. ⁷ Instituto de Investigación Biomédica del Hospital Universitario Ramón y Cajal (Irycis). ⁸ Departamento de Pneumología, ERN-Lung, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona, España. ⁹ Unidad de Cardiología Pediátrica, Departamento de Pediatría, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España.

Expone: Natalia Gallego Zazo - nataliagallegozazo@gmail.com

Grupo: U753 - Hospital La Paz – Madrid.

La Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) es una enfermedad poco frecuente caracterizada por la elevación de la presión sanguínea en las arterias pulmonares causando insuficiencia cardiaca progresiva y conduciendo a una muerte prematura. En este estudio se pretende seleccionar y validar variantes patogénicas en genes previamente asociados a HAP e investigar nuevos genes y variantes potencialmente implicados en el desarrollo de la enfermedad. Se han analizado 55 pacientes diagnosticados clínicamente con HAP y 21 familiares no afectados mediante el uso de la secuenciación del exoma completo (WES). El análisis de los resultados se llevó a cabo mediante un algoritmo bioinformático de priorización de variantes. El análisis genético ha permitido detectar variantes patogénicas o de significado incierto (VUS) en el 30'9% en genes previamente relacionados con HAP, además de tres VUS en cuatro nuevos genes candidatos: *ATF2*, *HDAC5*, *VASH1* y *UACA*. Variantes en *ATF2*, *VASH1* y *UACA* pueden influir en la hiperproliferación y resistencia a la apoptosis de células vasculares pulmonares y contribuir al desarrollo de HAP. Además, un incorrecto funcionamiento de los mecanismos reguladores de acetilación de proteínas postraduccionales en los que participa el gen *HDAC5* también contribuyen en el desarrollo de HAP al producir una firma epigenética aberrante que agrava el proceso de remodelación vascular característico. La secuenciación completa del exoma permite ampliar el estudio en aquellos casos no concluyentes para identificar variantes en nuevos genes potencialmente implicados en la enfermedad, aunque se necesitan más estudios para describir la implicación de estos genes en la HAP.

p07 TARGETING UBTF::MAML3 FUSION VARIANTS, A NOVEL RISK FACTOR FOR METASTATIC PHEOCHROMOCYTOMA AND PARAGANGLIOMA

Autores: Alberto Díaz-Talavera^{1,2}, Clara Reglero², Javier Coloma², Ana Pilar Gómez-Escribano^{1,3,4}, Nayim Gonzalez-Rodriguez², Oscar Llorca², Rafael Fernandez-Leiro², Rafael Pascual Vázquez-Manrique^{1,3,4}, Alberto Marina^{1,5}, José María Millán^{1,3,4}, Santiago Ramón-Maiques^{1,5}, Mercedes Robledo^{1,2}

Filiación: ¹ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid. ² Spanish National Cancer Research Centre (CNIO), Madrid. ³ Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia. ⁴ Joint Unit for Rare Diseases IIS La Fe-CIPF, Valencia. ⁵ Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV), CSIC, Valencia.

Expone: Alberto Díaz Talavera - albertodt13@gmail.com

Grupo: U706 - Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas – Madrid.

Pheochromocytomas and paragangliomas (PPGL) are rare neuroendocrine tumours with the highest heritability rate described among human neoplasias, as 40% of cases are caused by germline mutations in one of the 20 genes described so far. Currently, surgery remains the only curative treatment, as systemic therapies prove ineffective. To complicate matters, about 20-25% of patients develop metastatic PPGL (mPPGL) for which there are scarce predictive risk factors. Our research focuses on the UBTF::MAML3 fusion associated with mPPGL, with four different variants depending on the UBTF exons involved: 15,17,18 and 19. By using AlphaFold, we predicted the structure of these UBTF::MAML3 chimeric proteins. Our analysis indicates that the fusion proteins retain the DNA-binding domains of UBTF and lose the acidic domain that confer DNA-binding specificity. The analysis also suggests that the fusions generate unique protein regions that are potentially relevant for designing advanced specific therapies. In this regard, we have generated a battery of constructs encompassing the fusion regions. Currently, we have successfully expressed in soluble form the most common chimeric region involving UBTF exon 17. The purification of the recombinant fusion fragment and the study of its stability will indicate its suitability for further use in the design of advanced therapies. This study is a starting point for the development of tools with far-reaching implications in the treatment of PPGL and potentially other malignancies marked by genomic translocations.

p08 SIGNIFICANT ASSOCIATION BETWEEN CASP8 GENE AND SIZE OF CONGENITAL MELANOCYTIC NEVI

Autores: Teresa Torres Moral^{1,2}, Francesca Crespi Payeras^{1,2}, Neus Calbet-Llopart^{1,2}, Judit Mateu², Josep Malvehy^{1,2}, Susana Puig^{1,2}, Heather Etchevers³, Cristina Carrera^{1,2}, Joan Antón Puig-Butille^{1,2}

Filiación: ¹ CIBER de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Barcelona, Spain. ² Institut d' Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain. ³ Aix-Marseille Université, INSERM, MMG, U1251, Marseille, France

Expone: Teresa Torres Moral - tetorres@recerca.clinic.cat.

Grupo: U726 - Hospital Clínico y Provincial de Barcelona – Barcelona.

Large and Giant congenital melanocytic nevi (CMN) are rare benign skin lesions affecting 1% to 6% of neonates (ORPHA:626). The lesions are caused by a postzygotic mosaicism and involving predominantly NRAS and BRAF oncogenes. However, a previous study suggest that germline variants in MC1R gene may be involved in the size of CMN, but this connection has not been revalidated in specific studies, including one conducted by our group. The study aimed to assess the role of germline variants involved in nevogenesis and/or melanoma risk in CMN development. The study encompassed 63 Spanish CMN patients and a cohort of 42 patients from France, Norway, Canada, and the U.S., along with 86 Spanish control patients. We designed a custom Next-Generation Sequencing (NGS) panel to interrogate 62 SNPs across thirty-nine genes previously involved in melanoma and nevogenesis. We found a significant association between rs7582362 [CASP8 gene] and nevus size [giant vs. medium-and-large] for all the samples [adjusted p-value= 0,0081] and for Spanish cohort [adjusted p-value= 0.0002 for Spanish cohort]. A germline variant in CASP8 gene is associated with the size of CMN supporting the hypothesis that germline variants may be involved in the development of these lesions. Further studies are required to evaluate these findings.

p09 ZEBRAFISH MODELS OF KBG SYNDROME ILLUMINATE THE PATHOGENIC MECHANISMS OF ANKRD11 VARIANTS

Autores: Haleh Nikzamir^{1,2,3}, Alicia Martínez-López^{2,3}, María L. Cayuela^{2,3,4}, Victoriano Mulero^{1,2,3}, Diana García-Moreno^{2,3}

Filiación: ¹ Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, Murcia. ² Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB-Arrixaca), Murcia. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ⁴ Grupo Telomerasa, Cáncer y Envejecimiento, Departamento de Cirugía. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB-Arrixaca), Murcia.

Expone: Haleh Nikzamir - haleh.nikzamir@um.es

Grupo: U768 - Universidad de Murcia – Murcia.

KBG syndrome is an autosomal dominant genetic disorder characterized by a variety of symptoms like skeletal anomalies, short stature, and intellectual disability. The genetic causes of this disease are attributed to a range of heterozygous mutations in ANKRD11 gene resulting in truncated forms of the proteins or deletion of the whole gene. ANKRD11 regulates transcription of several genes via interacting with the epigenetic modifiers and orchestrating their activities during developmental and cell cycle stages. In this study, we have used CRISPR-Cas9 technology to generate heterozygous and homozygous zebrafish model of KBGS that expressed the first domain of Ankrd11 protein, which is important for protein-protein interaction. Larvae carrying a homozygous mutation in ankrd11 showed severe developmental alterations, such as skin lesion, skeletal abnormalities, and pericardial edema, which resulted in high mortality rate. Transcriptomic analysis of ankrd11 mutant larvae revealed altered expression of genes involved in developmental processes, inflammatory responses, and cell cycle regulation in both homo- and heterozygous larvae. Behavioral study using Danio Vision also showed reduced movement in both homo and heterozygous mutants. Owing to the important role of Ankrd11 protein in modulation of chromatin accessibility and regulation of gene expression, we are currently analyzing the pathogenic mechanism of this mutation and performing drug screening to find the potential treatments to alleviate KBGS patients' symptoms.

p10 IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A NEW PATHOLOGIC MUTATION IN A LARGE LEBER HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY PEDIGREE

Autores: Emperador S^{1,2,3}, Habbane M^{1,4}, López-Gallardo E^{1,2,3}, del Rio A1, Llobet L^{1,2,5}, Urreizti R^{3,10}, Artuch R^{3,10}, Pacheu-Grau D^{1,2,3}, Bayona-Bafaluy P^{1,2,3,11}, Montoya J^{1,2,3}, Ruiz-Pesini E^{2,3}

Filiación: ¹ Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. ² Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) de Aragón. Zaragoza. ³ Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. ¹⁰ Departament de Bioquímica Clínica. Institut de Recerca Sant Joan de Déu. Barcelona. ¹¹ Instituto de Biocomputación y Física de Sistemas Complejos (BIFI). Universidad de Zaragoza. Zaragoza.

Expone: Sonia Emperador Ortiz - seortiz@unizar.es

Grupo: U727 - Universidad de Zaragoza – Zaragoza.

Most patients suffering from Leber hereditary optic neuropathy carry one of the three classic pathologic mutations, but not all patients with these genetic alterations develop the disease. There are different risk factors that modify the penetrance of these mutations. The remaining patients carry one of a set of very rare genetic variants and it appears that some of the risk factors that modify the penetrance of the classical pathologic mutations may also affect the phenotype of these other rare mutations. In this manuscript, we describe a large family including 95 maternally related individuals, showing 30 patients with Leber hereditary optic neuropathy. The mutation responsible for the phenotype is a novel transition, m.3734A>G, in a mitochondrial deoxyribonucleic acid gene encoding the ND1 subunit of respiratory complex I. Molecular-genetic, biochemical and cellular studies corroborate the pathogenicity of this genetic change. The family study confirms that, also for these very rare mutations, sex and age are important factors modifying penetrance and offers an excellent opportunity to search for other nuclear genetic or environmental factors that additionally contribute to modify penetrance.

p11 BEYOND GENETICS: REVEALING THE IMPACT OF MISSENSE VARIANTS IN CAD DEFICIENCY

Autores: Francisco del Caño-Ochoa¹, Bobby G. Ng², Sonal Mahajan², Hudson H. Freeze², Saskia B. Wortmann^{3,4}, Santiago Ramón-Maiques^{1,5}

Filiación: ¹ Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV), CSIC. Eduardo Primo Yúfera, 3, 46012-Valencia. Spain. ²Human Genetics Program, Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute, La Jolla, California, USA. ³University Children's Hospital, Paracelsus Medical University (PMU), Salzburg, Austria. ⁴Amalia Children's Hospital, Radboudumc, Nijmegen, The Netherlands. ⁵Group 739 at the IBV-CSIC, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER-ISCI11), Valencia & Madrid, Spain

Expone: Santiago Ramón Maiques - sramon@ibv.csic.es

Grupo: U739 - Instituto de Biomedicina de Valencia – Valencia.

Introduction: Defects in CAD, the multienzyme protein initiating the de novo biosynthesis of pyrimidine nucleotides, cause severe epileptic encephalopathy in children (OMIM #616457). The disease is often fatal, but patients respond effectively to uridine supplements. The challenge of genetic diagnosis is to find which of the >1.000 missense CAD variants identified among the population are pathogenic. Our interest in the structure and mechanisms of CAD led us to help diagnose children potentially affected by the disease and explain the damaging effect of pathogenic mutations.

Materials and methods: We developed a cellular assay to assess the pathogenicity of CAD variants and combined protein engineering with biochemical, structural, and in silico analyses to understand their harmful effect.

Results: We validated 63 missense variants, confirming the deleterious effect for 33, and classified 30 as likely benign. To explain the pathogenicity of 19 mutations mapping in the DHO and ATC domains of CAD, we produced the isolated domains bearing the point mutations and determined their enzymatic activity, oligomeric state, thermal stability, and crystal structure.

Conclusions: This functional validation proved crucial for diagnosing and treating children affected by this rare neurometabolic disease. The molecular characterization of the variants allowed us to explain their damaging effect, improving our understanding of this complex protein. Further knowledge of how CAD domains assemble and function in a coordinated, timely, and precise manner will help to assess the disease-causing potential of new variants and could open the way for new therapeutic strategies.

Funded by MCIN/AEI (PID2021-128468NB-I00), and Fundación Ramón Areces.

p12 ¿SON DIFERENTES LAS VÍAS PATOGENICAS IMPLICADAS EN EL FUNCIONAMIENTO Y PROLIFERACIÓN DE LOS TUMORES FUNCIONANTES Y SILENTES DE LA LÍNEA CORTICOTROPA?

Autores: Antonio Picó¹, Araceli García-Martínez², Johana Sottile³, María Niveiro⁴, María Eugenia Torregrosa⁵, Ana Flores⁶, Luis Miguel Valor⁷

Filiación: ¹ Grupo Clínico Vinculado 13; Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL); Universidad Miguel Hernández; Servicio de Endocrinología; Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ² Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Córdoba. ³ Grupo Clínico Vinculado 13; Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL), Alicante. ⁴ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL); Servicio de Anatomía Patológica; Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ⁵ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL); Servicio de Análisis Clínicos; Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ⁶ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL); Servicio de Neurocirugía; Hospital General Universitario Dr. Balmis, Alicante. ⁷ Instituto de Investigación Biomédica y Sanitaria de Alicante (ISABIAL), Alicante.

Expone: Antonio Pico - antonio.pico@umh.es

Grupo: GCV13 - Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante – Alicante.

Introducción: Los tumores silentes corticotropos (TCS) suponen cerca del 30 % de todos los tumores de hipofisarios de línea corticotropa. Los mecanismos patogénicos involucrados en su silenciamiento (no expresan enfermedad de Cushing a diferencia de los tumores corticotropos funcionantes [TCF]) no son bien conocidos.

Métodos: Hemos estudiado 2 cohortes de tumores de línea corticotropa: 18 TCF y 20 TCS. Se han recogido variables demográficas, clínicas, bioquímicas (hormonales) y radiológicas (tamaño y grado de invasión en la MRI). Se ha estudiado la expresión (qPCR) de genes relacionados con el procesamiento/degradación de ACTH (*POMC*, *CHRH*, *AVPR1*, *TBX19*, *PCSK173*, *PCSK 2*, *PAM*, *CPE*), secreción de ACTH (*USP8*, *EGFR*), con la actividad del receptor de glucocorticoides (GR) [*CABLES1*, *HSP90*, *HSF1*, *AP-1*] y con el ambiente tumoral inmune [*MSH6*, *PDL-1*].

Resultados: No se han encontrado diferencias significativas ni en la edad [46.8 vs 43.4 años (TCS vs TCF) ni en el sexo 50 % vs 61 %] entre ambas cohortes. Los TCS fueron más grandes (DTM 23 vs 10 mm, respectivamente; $p=0.02$), más invasivos [68 vs 37 %], pero no más proliferativos [Ki67 2.06 vs 1.67; $p=0.59$] que los TCF. Los TCS mostraron una menor expresión en los genes implicados en el procesamiento y secreción de ACTH [*POMC*, *CHRH*, *AVPR1*, *TBX19*, *PCSK 1/3*, *USP8*, *CABLES 1*, *EGFR*] y mayor expresión en los genes implicados en la degradación de ACTH [*PCSK2*, *PAM*, *CPE*], que los TCF, sin diferencias en la expresión de los genes implicados en la actividad del GR ni en el ambiente inmune tumoral.

Conclusiones: Una menor producción y mayor degradación de ACTH puede ser la responsable, al menos en parte, de la ausencia de manifestaciones endocrinológicas de los TCS.

p13 LYSINE IN TRANSMEMBRANE HELIX 5: THE WIND HOOK IN THE INNER GATE OF L-AMINO ACID TRANSPORTERS

Autores: Joana Fort^{1,2,3}, Adria Nicolas-Arago^{1,2,3}, Luca Maggi¹, Maria Martinez Molledo⁴, Oscar Llorca⁴, Modesto Orozco^{1,2}, Thorben Cordes⁵, Manuel Palacin^{1,2,3}

Filiación: ¹ Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona, Barcelona, Spain. ² Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, Madrid Spain. ⁴ Structural Biology Programme, Spanish National Cancer Research Centre, Madrid, Spain. ⁵ Ludwig-Maximilians Universität München, Planegg-Martinsried, Germany.

Expone: Joana Fort Baixeras - joana.fort@irbbarcelona.org.

Grupo: U731 - Fundación Privada Instituto de Recerca Biomédica – Barcelona.

The cytoplasmic gating mechanism of the bacterial LAT transporter BasC was investigated using single-molecule Fluorescence Resonance Energy Transfer (smFRET) measurements. Under apo conditions, BasC displayed an inner gate in equilibrium between open and closed states. Upon substrate incubation, there was a shift in the equilibrium towards a more closed state. This substrate-induced movement was hindered by nanobodies interacting with transmembrane helix (TM) 1a, as revealed by cryo-EM. Molecular dynamics and functional analysis supported the crucial role of a fully conserved lysine in transmembrane helix 5 (TM5) for the stability of TM1 and the closure of the cytoplasmic gate. Notably, this fully conserved lysine was identified as being mutated in the γ -LAT1 gene associated with Lysinuric Protein Intolerance (LPI) in patients. In summary, the study sheds light on the transport mechanism of BasC, emphasizing the significance of the conserved lysine in TM5 for the cytosolic gating of LAT transporters. This insight is further linked to the pathological condition of Lysinuric Protein Intolerance in humans.

p14 MOLECULAR INVOLVEMENT IN A SEVERE PAEDIATRIC SYNDROME OF MULTIPLE DIFFUSE PULMONARY FISTULAS

Autores: Laura M^a Lorente Herraiz^{1,2}, Lucía Recio Poveda^{1,2}, Ángel Cuesta^{2,3}, Virginia Albiñana Díaz^{1,2}, Luisa M^a Botella Cubells^{1,2}

Filiación: ¹ Rare Diseases Networking Biomedical Research Centre (CIBERER), Unit, 707, Madrid. ² Department of Molecular Biomedicine, Centre for Biological Research Margarita Salas, CIB-CSIC, Madrid. ³ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Pharmacy, Complutense University of Madrid, Madrid.

Expone: Laura María Lorente Herraiz - lauralorente31@gmail.com

Grupo: U707 - Centro de Investigaciones Biológicas – Madrid.

Pulmonary arteriovenous malformations (PAVMs) are vascular anomalies, in which there is an abnormal connection between pulmonary arteries and veins. In 80% of cases, PAVMs are present from birth, but clinical manifestations are rarely seen before adulthood. These congenital malformations are typically associated with Hereditary Haemorrhagic Telangiectasia (HHT). HHT is one of the rare diseases, affecting 1 in 5,000/8,000 individuals. Most of those affected with HHT are due to mutations in genes involved in the TGF- β pathway. However, around 15% of patients do not have a genetic diagnosis and this is a real problem when making a clinical diagnosis in the paediatric age group. Molecular and functional analysis has been performed in a severe case of multiple diffuse fistulas in a child in which the mutation causing this phenotype could not be found. The results obtained in the present study indicate that the joint action of two mutated genes, MMP-3 and PIK4, may be involved in the appearance of a rare syndrome of multiple diffuse pulmonary fistulas, whose presence would be related to a variant of HHT of greater aggressiveness and with onset in early childhood.

p15 ROLE OF TRANSCRIPTION FACTORS, NEGATIVE REGULATORS OF MITOCHONDRIAL BIOGENESIS, IN OXPHOS DISEASE

Autores: Laura Gallego Ramírez, Eduardo Ruiz Pesini, Patricia Meade, Nuria Garrido Pérez

Filiación: Department of Biochemistry and Molecular and Cellular Biology, University of Zaragoza. Rare Diseases Networking Biomedical Research Center (CIBERER). Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Expone: Laura Gallego Ramírez - lauragallegoramirez@gmail.com

Grupo: U727 - Universidad de Zaragoza – Zaragoza.

Dysfunction of the oxidative phosphorylation system [OXPHOS] may lead to impaired neuronal differentiation capacity. Different transcription factors, such as BACH1, DYRK1A, NRIP1, PKNOX1, and RCAN1, behave as negative regulators of mitochondrial biogenesis. Therefore, their overexpression could decrease mitochondrial density and OXPHOS function.

The aim of this work is to study the effect of overexpression of these transcription factors on OXPHOS function and neuronal differentiation, in order to search for compounds that reduce the activity or levels of the proteins encoded by them. The genes of interest were cloned into lentiviral transfer vectors to transduce SH-SY5Y cells, a human neuroblastoma cell line that can differentiate into neurons, with lentiviral particles. Gene overexpression was confirmed in SH-SY5Y cells and in a model of human induced pluripotent stem cells (iPSCs) to study their effect on OXPHOS function and differentiation to neurons. In the search for possible targeted therapies at the fetal level, cells overexpressing these proteins that repress mitochondrial biogenesis were treated with specific inhibitors to analyze their effect on OXPHOS function and neuronal differentiation capacity.

To date, the correct overexpression of the genes under study has been obtained in the SH-SY5Y cell line. These cells have been able to differentiate into neurons. Moreover, it has been shown that specific inhibitors decrease BACH1 levels in cells overexpressing this transcription factor. In addition, iPSCs have been observed to have altered mitochondrial activity with a decrease in mitochondrial respiratory chain complexes.

p16 DIMERIZATION OF GDAP1 IS INVOLVED IN MITOCHONDRIA-LYSOSOME CONTACTS

Autores: Jordi Pijuan^{1,2}, Lara Cantarero¹, Rosario A. Gómez¹, Francisca Gallego del Sol^{2,3}, Alberto Marina^{2,3}, Janet Hoenicka^{1,2}, Francesc Palau^{1,2,4,5}

Filiación: ¹ Laboratory of Neurogenetics and Molecular Medicine – IPER, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid. ³ Macromolecular Crystallography Unit, Institute of Biomedicine of Valencia (CSIC), Valencia. ⁴ Department of Genetic Medicine – IPER, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona. ⁵ Division of Pediatrics, Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Barcelona, Barcelona.

Expone: Jordi Pijuan Marquilles - jordi.pijuan@sjd.es

Grupo: U732 - Hospital Sant Joan de Déu – Barcelona.

Pathogenic variants of *GDAP1*, an atypical glutathione S-transferase (GST), cause Charcot-Marie-Tooth (CMT) neuropathy. CMT-GDAP1 can be axonal or demyelinating, with autosomal dominant or recessive inheritance, leading to high phenotypic heterogeneity. GDAP1 is located in the outer mitochondrial membrane, regulating mitochondrial fission and contact sites of the mitochondrial membrane with the endoplasmic reticulum, plasma membrane, and lysosomes. However, how GDAP1 performs these functions remains unclear at the molecular level. The crystal structure of human GDAP1 reveals a previously unseen dimerization mode that could be linked to a unique activity of this protein and cellular redox sensor function. In contrast to canonical GSTs, the dimer interface of GDAP1 forms between the GST-N domains of both monomers, including a disulfide bond between the cysteine 88 residues. Furthermore, arginine 161 and aspartate 200 residues located outside the dimer interface could also be relevant. Here, we aimed to elucidate the impact of the variants p.Cys88Ala, p.Cys88Asp, p.Arg161Leu, p.Asp200Leu, and p.Asp200Pro in GDAP1 dimerization and function. Our comprehensive analysis consistently revealed a reduction in mitochondria-lysosome contacts. Notably, the most significant decline was observed in cases involving the p.Cys88Asp mutation, underscoring the critical importance of this particular residue in influencing these interactions. While no differences have been found at the lysosomal level, an exhaustive analysis of the mitochondrial network morphology is currently being carried out. These findings bolster our assertion that dysfunction within the mitochondria-lysosome axis constitutes a primary trigger in CMT pathophysiology, which becomes a therapeutic target towards ameliorate the axonopathy of neurogenetic diseases.

p17 CILIARY TARGETING AND FUNCTION OF INPP5E, A LIPID PHOSPHATASE IMPLICATED IN JOUBERT SYNDROME

Autores: Raquel Martín-Morales, Pablo Barbeito, Víctor L. Ruiz-Pérez, Francesc R. Garcia-Gonzalo

Filiación: Instituto de Investigaciones Biomédicas Sols-Morreal CSIC-UAM. Departamento de Bioquímica, Universidad Autónoma de Madrid. CIBERER U760.

Expone: Francesc García Gonzalo - francesc.garcia@uam.es

Grupo: U760 - Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" – Madrid.

Microtubules are essential components of the eukaryotic cytoskeleton. The last eukaryotic common ancestor already used them to form plasma membrane protrusions known as cilia, and so do many of our human cell types today. Cilia have two main functions, propulsion and sensation, and their dysfunction causes diseases known as ciliopathies, most of which are rare syndromes. One of these is Joubert syndrome (JBTS), whose manifestations may include brain and cerebellar malformations [such as the pathognomonic molar tooth sign, MTS], hypotonia, ataxia, oculomotor apraxia, intellectual disability, polydactyly, kidney cysts, and retinal degeneration. JBTS can be caused by mutations in at least 40 different genes, all involved in ciliary function. One of the most common JBTS genes, and the first to be discovered, is *INPP5E*, encoding a ciliary phosphoinositide 5-phosphatase. Most other JBTS genes appear to function either by controlling *INPP5E* ciliary targeting, or by affecting *INPP5E*-regulated ciliary signaling. In our laboratory, we study the molecular mechanisms of *INPP5E* ciliary targeting and signaling functions.

p18 PRE-EXERCISE CARBOHYDRATES, BUT NOT ACUTE KETONE SUPPLEMENTATION, IMPROVES EXERCISE CAPACITY IN MCARDLE DISEASE PATIENTS IN A DOSE-DEPENDENT MANNER

Autores: Tomàs Pinós¹, Pedro L. Valenzuela², Alfredo Santalla³, Lidia B. Alejo⁴, Andrea Merlo⁵, Asunción Bustos⁴, Nicola A. Maffiuletti⁶, David Barranco-Gil⁴, Alejandro Lucia⁴

Filiación: ¹ Biomedical Research Networking Center on Rare Disorders (CIBERER) and Mitochondrial and Neuromuscular Disorders Unit, Vall d'Hebron Institut de Recerca, Barcelona, Spain. ² Physical Activity and Health Research Group ("PaHerg"), Research Institute of Hospital "12 de Octubre" ("imas12"), Madrid, Spain. ³ Department of Sport and Computer Science, Section of Physical Education and Sports, Faculty of Sport, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, Spain. ⁴ Universidad Europea de Madrid, Faculty of Sport Sciences, Madrid, Spain. ⁵ Gait & Motion Analysis Laboratory, Sol et Salus Hospital, Torre Pedrera di Rimini (RN), Italy. ⁶ Human Performance Lab, Schulthess Clinic, Zurich, Switzerland.

Expone: Tomàs Pinós - tomas.pinos@vhir.org.

Grupo: U701 - Hospital Universitario Vall d'Hebron – Barcelona.

McArdle disease is an autosomal recessive condition caused by a total inherited deficiency of the muscle isoform of glycogen phosphorylase, encoded by the *PYGM* gene. Given that myophosphorylase catalyzes the breakdown of glycogen into glucose 1-phosphate in muscle fibers, patients with this disorder are unable to obtain energy from muscle glycogen stores. In this regard, McArdle disease is the paradigm of "exercise intolerance" with affected patients showing very low levels of VO₂peak. However, patients can use blood glucose as the metabolic block occurs upstream of the uptake of this substrate in muscle fibers. Indeed, endurance exercise capacity relies on the ability to oxidize circulating glucose as well as free fatty acids. CHO ingestion (up to a maximum of 75 g) prior to exercise represents an effective strategy to alleviate exercise intolerance in patients and is currently considered best clinical practice for them before strenuous exercise. However, whether a dose response benefit exists with larger (>75 g) CHO intakes remains unclear. Additionally, although acute ketone supplementation is gaining popularity, the effects on exercise performance under complete muscle glycogen unavailability remain to be determined. In the present study we have shown that different doses of pre-exercise CHO (75 g and 150 g) exerted beneficial physiological effects in patients. In particular, overall larger benefits were observed with the highest CHO dose (150 g). On the other hand, ketone supplementation (30 g of D-beta hydroxybutyrate/ D 1,3 butanediol monoester) resulted in a further impairment on exercise capacity in McArdle disease patients.

p19 MULTI-ORGAN CHARACTERIZATION OF INFLAMMATION AND FIBROSIS IN A HYPOMORPHIC RDEB MOUSE MODEL

Autores: Estela Méndez-Jiménez^{1,2,3}, Esteban Chacón-Solano^{1,2,3,4}, Almudena Holguín^{2,3}, Alexander Nystrom⁵, Fernando Larche^{2,3,4}, Marcela del Río^{1,2,3,4}

Filiación: ¹ Bioengineering Department, University Carlos III of Madrid (UC3M), Madrid, Spain. ² Epithelial Biomedicine Division, Research Centre for Energy, Environment and Technology (CIEMAT), Madrid, Spain. ³ Regenerative Medicine and Tissue Engineering Group, Biomedical Research Institute Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain. ⁴ Rare Diseases Networking Biomedical Research Centre (CIBERER), CB06/07/0019, ISCIII, Madrid, Spain. ⁵ Department of Dermatology, Medical-Center, University of Freiburg, Freiburg, Germany. * E.M.J and E.C.S contributed equally.

Expone: Estela Méndez Jiménez - esmendez@ing.uc3m.es

Grupo: U714 - Universidad Carlos III – Madrid.

Recessive dystrophic epidermolysis bullosa (RDEB) is a devastating skin fragility disorder caused by mutations in the gene coding for type VII collagen. Patients with RDEB have a partial or complete absence of the anchoring fibrils that attach the epidermis to the dermis, leading to spontaneous blistering and systemic complications triggered by chronic-injury-driven fibrosis and inflammation. Besides skin wounds, extracutaneous manifestations encompass esophageal stenosis, corneal erosions, pseudosyndactyly, and ulcerations of the gastrointestinal tract, among others. This constellation of symptoms severely diminishes the quality of life and elevates morbidity and mortality rate in RDEB. Currently, there exists no cure for the disease, but one of the therapeutic priorities is the development of symptom-relieving therapies to halt the progression of associated complications. To this pursuit, it is essential to use reliable animal models to assess, pre-clinically, the efficacy and safety of novel therapeutic approaches. The Col7a1 hypomorphic mouse model, which produces approximately 10% of wild-type collagen VII levels, faithfully mirrors the human disease phenotype. Despite their relevance, extracutaneous manifestations associated with inflammation and fibrosis have been only partially studied in this model. In this work, we profoundly characterized

the differential expression of fibrosis markers (e.g. TNC, POSTN, α -SMA, Wnt-5, among others) and inflammation (e.g. TNF α , IL-10) in skin from different locations and other organs frequently affected in RDEB (e.g. eye, esophagus, intestine, tongue). This characterization of the basal state of the hypomorphic mice versus their healthy counterparts will be useful for monitoring future therapeutic strategies as those currently conducted in our laboratory.

* Acknowledgement: This study was funded by DEBRA Austria, co-funded by DEBRA Sweden, EB-LOPPET and supported by EB Research Network (León-1).

p20 ESTUDIO DE BIOMARCADORES Y PATRÓN DE EXPRESIÓN GÉNICA EN PACIENTES CON SÍNDROME DE RASMUSSEN

Autores: Verónica Cantarín-Extremera^{1,2}, María Ballarà-Petitbó¹, Beatriz Morte^{3,4}, Nelmar-Valentina Ortiz-Cabrera^{5,2}, María Peña-Chilet^{6,7}, María-Rosario Carmona-Muñoz^{8,9,10}, Ana Castillo¹, Aurora Pujol Onofre^{4,12,13}, Stephane Fourcade^{4,12}, Isabel Colmenero-Blanco¹⁴, Luis Blasco-Santana¹⁴, Jana Domínguez-Carral¹⁵, Cristina Jou¹⁶, Rosa Guerrero-López^{4,17}

Filiación: ¹ Sección de Neuropediatría. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras [CIBERER (GCV14/ER/6)], ISCIII, Madrid. ³ Enfermedades Raras No Diagnosticadas (ENOD). ⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras [CIBERER], ISCIII, Madrid. ⁵ Genética Clínica. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. ⁶ Plataforma de Big Data, Inteligencia Artificial y Bioinformática. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe [IISLAFE]. Valencia. ⁷ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras [CIBERER (U755)], ISCIII, Madrid. ⁸ Plataforma de Medicina Computacional - Fundación Pública Progreso y Salud, Sevilla. ⁹ Instituto de Biomedicina de Sevilla - IBIS - Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. ¹⁰ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras [CIBERER (U715)], ISCIII, Madrid. ¹¹ Análisis clínicos. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. ¹² Neurometabolic Diseases Laboratory, Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL), Hospital Duran i Reynals, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. ¹³ Catalan Institution of Research and Advanced Studies (ICREA), Barcelona. ¹⁴ Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. ¹⁵ Unidad de Epilepsia, Servicio de Neurología Pediátrica. Hospital Sant Joan de Deu, Barcelona. ¹⁶ Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Sant Joan de Deu, Barcelona. ¹⁷ Instituto de Investigaciones Biomédicas Sols-Morreale, Madrid.

Expone: Veronica Cantarín Extremera - verocantarin@hotmail.com

Grupo: GCV06 - Hospital Infantil Universitario Niño Jesús – Madrid.

El Síndrome de Rasmussen [SR] es una enfermedad rara autoinmune-inflamatoria afectando un hemisferio cerebral, causando epilepsia refractaria, hemiatrofia cerebral, hemiplejía, deterioro cognitivo y afasia. La etiología es desconocida y no existen marcadores moleculares ni genéticos. Se analizaron 20 pacientes con SR obteniendo muestras de sangre periférica y tejido cerebral. Se realizó análisis inmunofenotípico, determinación de neurofilamentos (NFL) y proteína glifibrilar ácida (GFAP) en plasma y estudios de secuenciación de ARN. La media de edad de inicio del SR fue 7 años-6 meses. El debut clínico fue con crisis focales motoras (20/20), 19 mostraron deterioro cognitivo y 15 hemiparesia. A nivel terapéutico todos recibieron inmunoterapia con respuesta mantenida solo en uno. A nivel de biomarcadores, NFL/GFAP evidenciaron valores medios de 19.2/299 pg/ml en el grupo SR frente población control [3.37/59.29 pg/ml] [$p \leq 0,0001$], con datos estadísticamente significativos para ambos biomarcadores en relación con persistencia de crisis o deterioro cognitivo, siendo los NFL más sensibles a cualquiera de estos ($p=0.0061$). Se observó discreta disminución ratio CD4/CD8, aumento CD8, disminución NK y aumento T doble negativos ab en 17 pacientes. El análisis de la expresión génica mostró, una expresión diferencial de genes relacionados con las vías de señalización de quimiocinas y proteínas G, con mantenimiento de la integridad de la matriz extracelular y con la regulación de actividad endopeptidasa. El reconocimiento de marcadores genéticos o inmunológicos llevará a un mejor entendimiento de la fisiopatología del SR, una detección más precoz, así como quizá plantear un tratamiento personalizado, contribuyendo a una mejora en el pronóstico.

p21 PROTEOMIC AND FUNCTIONAL CHARACTERISATION OF EXTRACELLULAR VESICLES FROM COLLAGEN VI DEFICIENT HUMAN FIBROBLASTS REVEALS A ROLE IN CELL MOTILITY

Autores: Carmen Badosa¹, Mónica Roldán², Joaquín Fernández-Irigoyen³, Enrique Santamaria³, Cecilia Jimenez-Mallebrera^{1,4,5}

Filiación: ¹ Hospital Sant Joan de Déu, PCCB, Barcelona. ² Confocal Microscopy and Cellular Imaging Unit, IPER, Department of Genetic and Molecular Medicine, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona. ³ Proteomics Platform, Proteored-ISCIII, Clinical Neuroproteomics Unit, Navarrabiomed (CHN-UPNA-idiSNA), Pamplona. ⁴ Center for Biomedical Research on Rare Diseases [CIBERER], Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ⁵ Department of Genetics, Microbiology and Statistics, University of Barcelona, Barcelona.

Expone: Cecilia Jimenez Mallebrera - cecilia.jimenez@sjd.es

Grupo: U703 - Hospital Sant Joan de Déu – Barcelona.

Extracellular vesicles (EVs) are key mediators of cell-to-cell communication. Their content reflects the state of diseased cells representing a window into disease progression. Collagen-VI Related Muscular Dystrophy (COL6-RD) is a multi-systemic disease involving different cell types. The role of EVs in this disease has not been explored. We compared by quantitative proteomics the protein cargo of EVs released from fibroblasts from patients with COL6-RD and controls. Isolated EVs contained a significant proportion of the most frequently reported proteins in EVs according to Exocarta and Vesiclepedia. We identified 67 differentially abundant proteins associated with vesicle transport and exocytosis, actin remodelling and the cytoskeleton, hemostasis and oxidative stress. Treatment of control fibroblasts with EVs from either patient or healthy fibroblasts altered significantly the motility of cells on a cell migration assay highlighting the functional relevance of EVs. In parallel, we analysed the secretome from the same cells and found a distinctly different set of 48 differentially abundant proteins related to extracellular matrix organisation and remodelling, growth factor response, RNA metabolism and the proteasome. The EVs and secretome sets of proteins only shared two identifiers indicating that the sorting of proteins towards EVs or the secretory pathway is tightly regulated for different functions.

p22 **TFRC BI-ALLELIC VARIANTS LEAD TO MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION AND ARE ASSOCIATED TO DISTINCT CLINICAL PHENOTYPES**

Autores: Gerard Muñoz-Pujol¹, Elise J Huisman², Marieke Joosten³, Juan Francisco Mesa⁴, Miguel Fernandez-Burriel⁵, Olatz Ugarteburu¹, Eulàlia Segur-Bailach¹, Laura Villarreal⁶, Gianluca Arauz-Garofalo⁶, Marina Gay⁶, Marta Vilaseca⁶, Neus Villamor⁷, Gemma Martín⁸, Maria Calvo⁹, Laia Farré-Tarrats^{1,9}, Sonia Moliner¹, Laura Gort¹, Judit García-Villoria¹, Mariona Guitart-Mampel⁹, Gloria Garrabou⁹, Maria J Macías⁶, Sabrina Gea-Sorlí¹⁰, Cristina Fillat¹⁰, Frederic Tort Escalé^{1,*}, Antonia Ribes^{1,*}

Filiación: ¹ Secció d'Errors Congènits del Metabolisme-IBC, Servei de Bioquímica i Genètica Molecular, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, CIBERER, Barcelona, Spain. ² Department of Pediatric Hematology, Erasmus MC Sophia Children's Hospital, University Medical Center Rotterdam, The Netherlands. ³ Department of Clinical Genetics, Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands. ⁴ Servicio de Pediatría, Hospital de Mérida, Mérida, Spain. ⁵ Unidad de Investigación y Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital de Mérida, Mérida, Spain. ⁶ Institute for Research in Biomedicine [IRB Barcelona], The Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona, Spain. ⁷ Hematopathology Section, Pathology Department, Hospital Clínic Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain. ⁸ Advanced Optical Microscopy Facility, Scientific and Technological Centers. School of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain. ⁹ Faculty of Medicine and Health Sciences - University of Barcelona, Internal Medicine Service - Hospital Clínic Barcelona, IDIBAPS, CIBERER, Barcelona, Spain. ¹⁰ IDIBAPS, CIBERER, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. *equal contribution.

Expone: Frederic Tort Escalé - ftort@ciberer.es

Grupo: U737 - Fundació de Investigació Clínic Barcelona-Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer – Barcelona.

TFRC encodes the transferrin receptor (TfR1) responsible for cellular iron uptake. To date, *TFRC* mutations have only been described as a cause of combined immunodeficiency (CID, MIM #616740) associated to homozygosity for the c.58T>C [p.Tyr20His] variant in Kuwaiti and Saudi patients. Here, we report three new patients from two unrelated families with *TFRC* variants, that present with fatal hypertrophic cardiomyopathy (HC) and severe microcytic anemia (MA), respectively. We aimed to understand the underlying pathophysiology of the three phenotypes. Exome sequencing identified homozygous *TFRC* [c.1361G>A; p.Ser454Asn] variants in family 1 (P1, HC) and compound heterozygous variants [c.713G>A; p.Gly238Asp, and c.941C>T; p.Pro314Leu] in family 2 (P2.1 and P.2, MA). The impact of these new variants was analyzed by functional studies in patients' tissues. In addition, knock-in (KI) cell models were generated using CRISPR/Cas9 to study the effect of c.58T>C (CID), c.1361G>A (HC), and c.713G>A (MA) variants. Molecular studies in patients' tissues showed variable alterations of TfR1 levels, decreased expression of mitochondrial complexes I-IV and defective protein lipoylation. Additionally, P2.1 had reduced oxygen consumption rates (OCR) in PMBCs. KI models recapitulated patients' findings, displaying impaired transferrin uptake, mitochondrial respiratory chain defects, increased apoptosis, autophagy imbalance, and impaired Fe-S cluster biogenesis. Proteomics confirmed all these observations. Nicotinamide riboside treatment in KIs partially rescued OCR defects and apoptotic cell death. In summary, our findings expand the genetic, phenotypic, and functional spectrum of *TFRC* deficiency and demonstrate that *TFRC* mutations cause mitochondrial dysfunction. Our functional data enhances the understanding of *TFRC*-related disorders and highlights potential therapeutic interventions.

Funding: CIBER, ISCIII (PI19/01310, PI22/00856), and co-funded by the European Union-ERDF.

p23 A “ONE-TWO PUNCH” STRATEGY FOR VESTIBULAR SCHWANNOMA TREATMENT

Autores: Sandra Franco Caspueñas^{1,2,4}, Carmen García Montoya^{1,2}, Carmen Ruiz García^{1,3,4}, Miryam Calvino Fernández^{2,3,4}, José Manuel Morales Puebla^{2,3,4}, Luis Lassaletta Atienza^{2,3,4}, Isabel Varela Nieto^{1,2,4}, Ana María Jiménez Lara^{1,4}

Filiación: ¹ Neuropathology of Hearing and Myelinopathies Group. Rare Diseases Department. Institute for Biomedical Research “Sols-Morreale” (IIBM), Spanish National Research Council-Autonomous University of Madrid (CSIC-UAM), Madrid. ² Rare Diseases Networking Biomedical Research Centre (CIBERER), CIBER, Carlos III Institute of Health, Madrid. ³ Hospital La Paz, Madrid. ⁴ Hospital La Paz Institute for Health Research (IdiPAZ), Madrid.

Expone: Sandra Franco Caspueñas - sfranco@iib.uam.es

Grupo: U761 - Instituto de Investigaciones Biomédicas “Alberto Sols” – Madrid.

Vestibular schwannomas (VS) are benign tumors that arise from the Schwann cells of the cochleovestibular nerve. They can be classified into two groups: sporadic VS and those associated to the rare syndrome neurofibromatosis type 2 (NF2). VS grow slowly and can cause hearing loss both due to compression of the auditory nerve and the release of ototoxic substances. Currently, patients undergo surgery, gamma-radiosurgery or radiotherapy as tumor treatment but there are no pharmacological FDA-approved therapies to treat these tumors. Cellular senescence is a crucial response against cancer development. It has been demonstrated that this cellular state is a defining feature of benign tumors that could be important in cancer suppression. Here, we explore a two-hit combination therapy for VS based on the induction of cellular senescence by DNA damage agents and the subsequent activation of apoptosis by senolytic drugs treatment in two different cellular models: patient derived primary cells and the immortalized VS cell line HEI-193 derived from a NF2 patient. Our data show that the treatment with bleomycin induces several senescent markers in our two models: the senescence-associated β -galactosidase [SA- β -GAL] activity, the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 and the expression of SASP components. Our results also show that treatment with navitoclax, a senolytic agent, decreases the viability of the bleomycin-induced senescent cells by activating the extrinsic and intrinsic apoptosis pathways. These results suggest that a one- two-punch strategy based in the combination of senogenic and senolytic agents could constitute a potential alternative for the treatment of VS.

Funding: Research in the authors’ laboratories was supported by the following grants: PID2020-115274RB-I00 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

p24 DYSREGULATED MIRNAS AND ASTROGLIOSIS IN HUMAN IPSC-DERIVED ASTROCYTES FROM PROPIONIC ACIDEMIA PATIENTS

Autores: Irene González-Garnacho¹, Mar Álvarez¹, Francisco Zafra¹, Pilar Rodríguez-Pombo^{1,2,3,4}, Lourdes R. Desviat^{1,2,3,4}, Eva Richard^{1,2,3,4}

Filiación: ¹ Centro de Biología Molecular Severo Ochoa UAM-CSIC, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. ² Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CEDEM), Madrid. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), ISCIII, Madrid. ⁴ Instituto de Investigación Sanitaria Hospital La Paz (IdiPAZ), ISCIII, Madrid.

Expone: Eva María Richard Rodríguez - erichard@cbm.csic.es

Grupo: U746 - Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa” – Madrid.

Propionic acidemia [PA] is an inherited neurometabolic disease caused by propionyl-CoA carboxylase deficiency, leading to the accumulation of propionic acid and its toxic metabolites which have been implicated in the pathogenesis of brain damage. Severe neurological symptoms, cerebral edema, and atrophy are common features; however, the precise pathomechanisms involved in the neuropathology of this disease remain unclear. In this study, induced pluripotent stem cell-derived astrocytes (iAs) were generated from two PA patients with defects in PCCA and PCCB genes, offering an opportunity to investigate the contribution of astrocytes to PA disease. Our model provides a homogeneous population of human astrocytes within 35 days of differentiation from neural progenitor cells. Both control and PA patients-derived iAs expressed functional markers, including glial fibrillary acidic protein (GFAP), glutamate aspartate transporter (GLAST) and S100 β , and demonstrated similar functionality in glutamate transport. iAs from PA patients exhibited significantly higher levels of GFAP expression compared to controls indicating astrogliosis, and showed decreased mitochondrial respiration. In addition, the study of different brain-expressed miRNAs revealed a deregulation of miR-124-3p, miR125b-5p and miR-9-5p which are involved in neuroinflammation and apoptosis. The expression of target genes of these dysregulated miRNAs, including NFKB1, IL6 and BCL2, was found to be increased in the PA patients-derived iAs. This work not only presents a novel model to elucidate the neurological pathomechanisms, but also provides an ideal platform for identifying new therapeutic targets in the treatment of PA disease.

p25 PREDISPOSICIÓN GENÉTICA Y PAPEL DE LA INFLAMACIÓN EN NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS [NMP]: IMPLICACIONES DIAGNÓSTICAS Y TERAPÉUTICAS

Autores: Francisca Ferrer Marin^{1,2,3}, Ernesto José Cuenca-Zamora^{1,2,4}, María Luz Morales¹, Pedro J Guijarro-Carrillo¹, María J López-Poveda⁵, Javier Corral^{1,2,4}, Rocío González-Conejero^{1,4}, Constantino Martínez¹, Raúl Teruel Montoya^{1,2}

Filiación: ¹ Hematology Department, Hospital Universitario Morales-Meseguer, Centro Regional de Hemodonación, IMIB-Pascual Parrilla, Murcia. ² CIBERER CB15/00055 (U765). ³ Universidad Católica San Antonio (UCAM), Murcia. ⁴ Universidad de Murcia, Murcia. ⁵ Servicio de Anatomía Patológica. H.U. Morales Meseguer, Murcia.

Expone: Francisca Ferrer Marin - fferrermarin@gmail.com

Grupo: U765 - Hospital José María Morales Meseguer – Murcia.

Las NMP son enfermedades raras de células progenitoras hematopoyéticas causadas por activación de la vía JAK-STAT debido a mutaciones somáticas en genes “driver” [JAK2/CAL/MPL]. Otros factores como la predisposición genética o la inflamación podrían cooperar en su inicio y progresión, y tener impacto terapéutico. La predisposición genética se evaluó mediante WES en 5 familias. Observamos un enriquecimiento de las variantes rs6336 y rs6339 [“LD”] de NTRK1 [codifica TrkA, el receptor del NGF] [OR=4,38; p<0,0001]. La validación funcional en células HEK293T mostró disminución significativa de la expresión de NTRK1 y TrkA en células transfectadas con rs6336 y con la doble variante. Estas últimas, basalmente o tras NGF, presentaban disminución de TrkA, fosfo-TrkA, y p-ERK [mediador aguas abajo], y tenían un fenotipo pro-apoptótico, apoyando su patogenicidad como factor predisponente. El papel de la inflamación crónica se analizó en ratones miR-146a-/- (represor de NF-κB), pues desarrollan un fenotipo Mielofibrosis-like con la edad. Evaluamos si inhibidores farmacológicos de las vías JAK/STAT y/o NF-κB pudieran revertir dicho fenotipo. Todos los tratamientos disminuyeron el tamaño, y recuperaron la arquitectura, del bazo. Sólo la inhibición sinérgica de ambas vías (como terapia combinada o dual con un solo fármaco), redujo la hematopoyesis extramedular y la fibrosis medular, paralela a una atenuación del estado inflamatorio vía IL-1β y TNFα. El inhibidor dual mejoró la anemia y revirtió la trombocitopenia, pero la terapia combinada empeoró la anemia al inducir hipoplasia medular. Ambas opciones redujeron la señalización NF-κB and JAK/STAT en células humanas JAK2-mutadas. Interesantemente, sólo los inhibidores NF-κB redujeron la producción de COL1A1 e IL-6 en un modelo in vitro que mimetiza la fibrosis conducida por JAK2. En conclusión, la inhibición dual JAK/NF-κB reduce in vivo la carga de enfermedad y la fibrosis medular, abriendo nuevas oportunidades terapéuticas.

p26 ANÁLISIS FUNCIONAL DE 10 MUTACIONES EN LOS GENES ACTG1 Y ACTGB ASOCIADAS AL SÍNDROME DE BARAITSER-WINTER

Autores: Matías Morín¹; Miguel Angel Moreno-Pelayo¹

Filiación: ¹ Servicio de Genética, Hospital Universitario Ramón y Cajal, IRYCIS and Biomedical Network Research Centre on Rare Diseases [CIBERER] Madrid.

Expone: Matías Morín Rodríguez - matmorinro@yahoo.es

Grupo: U728 - Hospital Ramón y Cajal – Madrid.

El síndrome de Baraitser-Winter es una enfermedad rara caracterizada por la presencia de distintos rasgos craneofaciales, coloboma ocular, defectos de migración neural y pérdida auditiva. Nuestros experimentos in vivo mostraron que la mayoría de los mutantes tenían un efecto muy leve en levaduras. Sin embargo, el mutante S155F de ACTG1 mostró un defecto de crecimiento y un aumento significativo en el tamaño celular. Los mutantes S155F [ACTG] y R196H [ACTB] tenían una capacidad muy comprometida para crecer en glicerol, lo que indica un defecto mitocondrial. Los mutantes en ACTB, N12D y L65V, mostraron depósitos gruesos de haces de actina en levaduras. También examinamos la sensibilidad de los mutantes a la latrunculina A y observamos que la mayoría de los mutantes, excepto T120I, mostraron una sensibilidad elevada al fármaco. En las células NIH3T3 transfectadas transitoriamente, todas las actinas mutantes normalmente se incorporaron a las estructuras del citoesqueleto, aunque se observaron agregados citoplasmáticos en la mayoría de los mutantes ACTG1. La mutación T203K también provocó el depósito de gruesos haces de actina en la célula. Nuestros resultados proporcionan una imagen más completa de las consecuencias biológicas de los mutantes de actina beta y gamma asociados al síndrome de Baraitser-Winter y proporcionan pistas interesantes sobre el mecanismo patogénico subyacente a este trastorno.

p27 ROLE OF THE RETINAL PIGMENTED EPITHELIUM IN ZEBRAFISH EYE MORPHOGENESIS: INVOLVEMENT OF THE PRIMARY CILIA AND YAP PATHWAY

Autores: Elena Sánchez-Bustamante, Adrián Pérez Ramos, Noemi Tabanera Anguita, Paola Bovolenta

Filiación: Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-UAM, Madrid.

Expone: María Elena Sánchez Bustamante - elena.sanchez@cbm.csic.es

Grupo: U709 - Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" – Madrid.

The retinal pigmented epithelium [RPE] plays a pivotal role in eye development and maintenance throughout an individual's life. Deficiencies in RPE formation/function, lead to diverse pathologies such as retinitis pigmentosa, compromising vision. Our previous research on zebrafish optic cup morphogenesis revealed the critical process of RPE enlargement through pronounced cell flattening, essential for proper folding of optic vesicles [OV] into an optic cup. The tension generated by the RPE during OV folding not only guides morphogenesis but also sustains the shape and function of the eye. We hypothesize that this process involves the Yes-associated protein [Yap] signalling pathway, a prominent mechanotransducer. Yap exhibits a multifaceted response to mechanical cues, orchestrating cytoskeletal remodeling but also translocating into the nucleus, in which it regulates genes associated with fundamental cellular processes such as proliferation, apoptosis, and differentiation. Yap has been related to the formation of the primary cilium in epithelial cells. The primary cilium mediates signal transduction and cellular communications, both indispensable for RPE maturation and function. In this context, we seek to understand the interplay between Yap-mediated mechanotransduction and primary cilia in the stretching of the zebrafish RPE. Hence, we generated various transgenic lines to observe primary ciliogenesis with expansion microscopy during RPE development, in the presence or absence of yap. The emergence of primary cilia coincides with RPE flattening, suggesting a link between the two events. These studies should help define retinal degeneration-associated disorders in which the function of the primary cilium is involved.

p28 EXPLAINABLE MACHINE LEARNING TO REVEAL MITOCHONDRIAL NETWORK ALTERATIONS IN FIBROBLASTS FROM PATIENTS WITH NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS

Autores: Alejandro Campoy López^{1*}, Mariví Cascajo Almenara^{1,2*}, Carlos Santos Ocaña^{1,2}

Filiación: ¹ Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, CABD-CIBERER-UPO, Sevilla. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras-CIBERER-ISCIII, Madrid. *Contributed equally

Expone: María Victoria Cascajo Almenara - mvcasalm@upo.es

Grupo: U729 - Universidad Pablo de Olavide – Sevilla.

Mitochondria are in continuous fusion, fission, transport, biogenesis, and mitophagy cycles, forming dynamic networks. Disequilibrium of these events causes alterations in the structure and morphology of these organelles. Consequently, the mitochondrial function is damaged, causing severe mitochondrial diseases and neurological disorders. DRP1 is an essential GTPase in mitochondrial fission. The pathogenic variants described in *DNM1L* are related to the defect in mitochondrial fission resulting from alterations in the DRP1 protein. Patients with mutations in *DNM1L* show a variable and complex phenotype, ranging from hypotonia, cognitive development, developmental delay, and epilepsy to lethal encephalopathy in neonates. Due to the complex symptoms observed in these patients, it is essential to characterize how *DNM1L* mutations can alter mitochondrial structure and morphology physiology. Traditionally, the analysis of mitochondrial networks has been limited to manual classification of certain structural states by measuring a few morphological parameters, which lack precise assessment of physiologically relevant mitochondrial structural characteristics. We characterize mitochondrial network using tens of parameters of physical relevance plus graph parameters. Since the number of features describing a mitochondrial network exceeds the manageable by an experimenter, we make use of methods of Explainable Artificial intelligence [XAI], aiming that the XAI system learns to discern between mitochondrial conditions while we obtain insight into the relevant features that can be biologically interpretable. By leveraging the characteristics of XAI and the rich set of features, we want to develop a robust, systematic, and human-free bias method capable of unveiling the subtle mitochondrial structure and morphology differences from patients-derived fibroblasts with mutations in DRP1. This pipeline could be extrapolated to other model of imbalance of mitochondrial dynamic.

p29 CRIBAJE DE NUEVOS AUTOANTICUERPOS EN PACIENTES CON POLIRRADICULONEUROPATÍA INFLAMATORIA DESMIELINIZANTE CRÓNICA MEDIANTE UN MICROARRAY CELULAR

Autores: Cinta Lleixà^{1,2}, Marta Caballero Ávila¹, Elba Pascual Goñi¹, Lorena Martín Aguilar¹, Nuria Vidal¹, Clara Tejada Illa¹, Roger Collet¹, Ricard Rojas García^{1,2}, Montse Olivé^{1,2}, Eduard Gallardo^{1,2}, Laura Martínez Martínez³, Anthony Shock⁴, Louis Christodoulou⁴, Benjamin Dizier⁴, Jim Freeth⁵, Sarah Dawson⁵, Luis Querol^{1,2}

Filiación: ¹ Unidad de Enfermedades Neuromusculares, Servicio de Neurología. Institut de Recerca Sant Pau (IR Sant Pau), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. ² Centro para la Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER). ³ Servicio de Inmunología. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. ⁴ UCB Pharma, 208 Bath Road, Slough, Berkshire, UK. ⁵ Retrogenix (Charles Rivers company), High Peak Business Park, Chinley, High Peak, UK.

Expone: Eduard Gallardo - egallardo@santpau.cat.

Grupo: U762 - Instituto de Investigación Sant Pau – Barcelona.

Introducción: Evaluamos la utilidad de un microarray celular (Retrogenix) para detectar nuevos autoanticuerpos en suero de pacientes con polirradiculoneuropatía inflamatoria desmielinizante crónica (CIDP).

Métodos: El estudio consta de dos fases: 1) Validación de la tecnología de microarray celular (HEK293) con expresión de más de 5000 proteínas, mediante incubación de 4 sueros de neuropatías autoinmunes (NA). 2) Descubrimiento de nuevos autoanticuerpos IgG mediante incubación de 8 sueros de CIDPs seronegativas en el mismo microarray. Los autoanticuerpos detectados se validaron con ELISA, inmunocitoquímica en células HEK293 transfectadas y/o tejido; y los confirmados se analizaron en 96 sueros de CIDP/NA y 100 controles.

Resultados: Los anticuerpos anti-contactina-1 y anti-neurofascina-155 fueron detectados en los experimentos de validación, mientras los anti-neurofascina-140/486 y anti-CASPR1 no. Se confirmaron 6/9 potenciales antígenos detectados en la fase de descubrimiento: ATP4A/4B, EPHA7, LIF, e interferón lambda 1,2 y 3 (IFNL). Anti-ATP4/AB y anti-EPHA7 se encontraron en pacientes y controles, considerándose inespecíficos. Los anti-ATP4A/4B se relacionaron con positividad para anticuerpos anti-mucosa gástrica. Se detectaron anti-LIF en 2 pacientes (2/96, 1 CIDP 1 NA), siendo los mismos positivos para anti-IFNL3; mientras ningún control fue positivo para estos anticuerpos. Los dos pacientes anti-LIF+ presentaron el mismo patrón de marcaje contra la mielina en nervio periférico y en co-cultivos de neuronas mielizadas y células de Schwann.

Conclusiones: Nuestro trabajo demuestra la utilidad del microarray celular para detectar autoanticuerpos en suero. Se han detectado dos potenciales antígenos en relación con la CIDP (anti-LIF y anti-IFNL), pero su relevancia clínica y patogénica requiere más estudio.

p30 MULTILAYER NETWORK APPROACH TO IDENTIFY COMPENSATORY GENES IN RARE DISEASES

Autores: Federico García Criado¹, Pedro Seoane Zonjic¹, Juan Antonio García Ranea^{1,2,3,4}

Filiación: ¹ Department of Molecular Biology and Biochemistry, University of Málaga, Málaga. ² Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA Plataforma BIONAND), Málaga. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid. ⁴ Instituto Nacional de Bioinformática (INB/ELIXIR ES), Málaga.

Expone: Juan Antonio García Ranea - ranea@uma.es

Grupo: U741 - Universidad de Málaga – Málaga.

Clarifying relations between genetic and phenotypes processes is key for discovering therapeutic targets. A promising approach is to search for genes that could compensate the disruption/loss of function caused by alterations in other genes. However, finding these interacting pairs experimentally requires an immense gene screening effort. As a consequence, studies are mainly constrained to performing paralog comparisons based on premature termination codon (PTC)-nonsense decay (NMD), the only compensatory process currently characterized. There is a need for novel in-silico prioritization to identify additional candidates. In this study we present a compensatory (backup) gene prioritization algorithm. It uses a multilayer network approach to overcome the complexity posed by the integration of different biological data. Based on a guilt-by-association hypothesis, compensatory genes are prioritized based on similarity at different biological levels, from molecular to phenotypic. The algorithm uses a multilayer similarity network built from multiple databases: Human Phenotype Ontology, Gene Ontology, HGNC Gene Family, Textmining and Coexpression String channels. Due to limited information related to previous cases of

gene compensation, we have divided the study into two stages. The first one is a general gene functional similarity analysis performed across diseases. Finally, to assess the identification of compensatory genes we used a gold standard based on the scientific literature. Results show that our state of the art gene disease prioritization algorithm presents high accuracy in compensatory gene prediction.

p31 IMPLEMENTACIÓN DE HERRAMIENTAS DE EDICIÓN GÉNICA EN ERRORES CONGÉNITOS DE LA INMUNIDAD, PRUEBA DE CONCEPTO MUTACIÓN EN GEN TIROSÍN KINASA DE BRUTON (BTK)

Autores: Andrea González Torbay¹, Inés Arroba², Keren Reche³, Carla Gianelli³, Rebeca Rodríguez Pena¹, Lluís Montoliu², Eduardo López Granados¹, Almudena Fernández^{2,4}, Lucía del Pino Molina^{1,4}

Filiación: ¹ U767 CIBERER, Unidad Inmunología Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ, Madrid. ² U756 CIBERER, CNB-CSIC, Madrid. ³ Unidad Inmunología Hospital Universitario La Paz-IdiPAZ, Madrid. ⁴ Igual contribución.

Expone: Lucía del Pino Molina - ldelpinomolina@gmail.com

Grupo: U767 - Hospital La Paz – Madrid.

Introducción: La inmensa mayoría de los errores congénitos de la inmunidad [ECI] se deben a variantes genéticas que condicionan alteraciones en células de origen hematopoyético, lo que facilita su accesibilidad para estrategias de edición y corrección génica con potencial aplicabilidad clínica. La agammaglobulinemia ligada al cromosoma al X, se produce por mutaciones en el gen de la BTK, que puede producir desde ausencia completa de linfocitos B en sangre periférica, a números reducidos de linfocitos B, o defectos en la funcionalidad de la actividad kinasa en la proteína Btk.

Objetivo: Implementar herramientas de edición génica para reproducir variantes asociadas a diversos ECI en sistema celulares. Como prueba de concepto pre-clínico queremos reproducir la mutación en el gen de la BTK (c.1420A >G, p. Lys430Glu) que in vivo permite la diferenciación de linfocitos B, aunque en números reducidos, pero con funcionalidad alterada.

Resultados: Estamos trabajando en la optimización de este ensayo. Hemos introducido la mutación puntual en el gen de la BTK mediante transfección de la línea celular B Ramos con el editor de base ABE8e. Hemos seleccionado los clones que producen el cambio de A>G, para posteriormente testar la funcionalidad de la Btk, mediante la detección de la fosforilación de Btk por citometría de flujo.

p32 DREXML: UNA HERRAMIENTA PARA EL DESCUBRIMIENTO DE DIANAS TERAPÉUTICAS EN ENFERMEDADES RARAS

Autores: Carlos Loucera^{1,2,8}, Marina Esteban-Medina^{1,2}, Víctor Manuel de la Oliva Roque^{1,2}, Sara Herráiz-Gil^{3,4,5,6}, María Peña-Chilet⁷, Joaquín Dopazo^{1,2,8,9}

Filiación: ¹ Plataforma de Medicina Computacional, Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud, Sevilla. ² Medicina Computacional de Sistemas, Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), Hospital Virgen del Rocío, Sevilla. ³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER-ISCIII), U714, Madrid. ⁴ Departamento de Bioingeniería, Universidad Carlos III de Madrid (UC3M), Madrid. ⁵ Grupo de Medicina Regenerativa y Bioingeniería de Tejidos, Instituto de Investigación Sanitaria-Fundación Jiménez Díaz University Hospital (IIS-FJD), Madrid. ⁶ División de Biomedicina Epitelial, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid. ⁷ Plataforma Big Data, Inteligencia Artificial, Bioestadística y Bioinformática. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), Valencia. ⁸ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER-ISCIII), U715, Sevilla. ⁹ FPS/ELIXIR-es, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla.

Expone: Carlos Loucera Muñecas - carlos.loucera@juntadeandalucia.es

Grupo: U715 - Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud – Sevilla.

Presentamos drexml, una herramienta de línea de comandos y un paquete de Python para el descubrimiento de dianas terapéuticas basado en datos. El paquete utiliza aprendizaje automático y modelado transducción de la señal para identificar objetivos de fármacos capaces de regular una enfermedad en particular. Además, emplea herramientas de explicabilidad para contextualizar los posibles objetivos de fármacos dentro del esquema funcional de la enfermedad. La metodología se ha validado en la anemia de Fanconi y Retinitis Pigmentaria, dos enfermedades raras distintas en las que existe una necesidad urgente de soluciones. En el caso de la anemia de Fanconi, el modelo predice con éxito fármacos reutilizados previamente validados, mientras que en el caso del Retinitis Pigmentaria, identifica un conjunto prometedor de dianas validadas experimentalmente.

p33 PRESENTACIÓN DE LA RED DE ENFERMEDADES RARAS DEL CSIC

Autores: Pascual Sanz¹, Víctor Pérez², Pilar López²

Filiación: ¹ Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia. ² Instituto de Investigaciones Biomédicas Sols-Moreale, CSIC, Madrid.

Expone: Pascual Sanz Bigorra - sanz@ibv.csic.es

Grupo: U742 - Instituto de Biomedicina de Valencia – Valencia.

El éxito de estructuras colaborativas dedicadas al estudio de ER alrededor del mundo ha puesto de manifiesto el enorme beneficio que supone la convergencia de esfuerzos y conocimiento para la investigación de este tipo de enfermedades. La amplia experiencia, interdisciplinaridad, multidisciplinaridad y excelencia científica de los grupos de investigación del CSIC, indican que tenemos el potencial para marcar una diferencia significativa en la comprensión y el abordaje de las ER en nuestro país; así como en el desarrollo de herramientas para contribuir a la implementación de la medicina de precisión. Por estas razones, el CSIC ha promocionado la creación de una Red de ER-CSIC, cuyos principales objetivos son: 1. Identificar los grupos de investigación científico-técnica del CSIC que trabajan en áreas relacionadas directamente con ER. 2. Desarrollar un catálogo CSIC de los grupos, líneas de investigación y tecnologías disponibles en cualquiera de los posibles abordajes destinados al estudio de las ER. 3. Establecer un puente de unión real entre el CSIC, el CIBERER y los afectados con estas enfermedades, a través de las asociaciones de pacientes de ER, así como otros agentes de la sociedad. 4. Emplear procedimientos de inteligencia artificial para crear protocolos de diagnóstico y clasificación de pacientes basados en metodologías de Deep o Machine Learning. 5. Conseguir financiación a partir de organismos internacionales e inversores privados para mejorar la situación actual de la investigación en el campo de las ER la cual, en última instancia, repercutirá en el beneficio de los afectados con ER y sus familias.

p35 CARACTERIZACIÓN Y RETOS DE UN MODELO MURINO DE LGMDD2

Autores: Javier Poyatos-García^{1,2,3}, Alicia Novella^{1,2,3}, Marta Casado^{4,5}, Carme Cucurella^{4,5}, Juan J Vílchez^{6,7}, Ariadna Bargiela⁶, Rubén Artero^{1,2,3}

Filiación: ¹ Laboratorio de Genómica Traslacional, Instituto Universitario de Biotecnología y Biomedicina (BIOTECMED), Valencia. ² IN-CLIVA Instituto de Investigación Sanitaria, Valencia. ³ U772, Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Raras (CIBERER). ⁴ Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV), CSIC, Valencia. ⁵ Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). ⁶ Laboratorio de Patología Neuromuscular y Ataxias, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia. ⁷ U763 Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Raras (CIBERER).

Expone: Javier Poyatos García - javier.poyatos@uv.es

Grupo: U772 - Fundación para la investigación del Hospital Clínico de la Comunidad Valenciana – Valencia.

La distrofia de cinturas de tipo D2 [LGMDD2] es una miopatía autosómica dominante sin tratamiento efectivo que afecta a menos de 100 pacientes en el mundo, la mayoría españoles. Está causada por una delección en el codón de parada del gen TNPO3, que expresa una transportina-3 mutante con 15 aminoácidos extra en la región C terminal. Previamente desarrollamos un modelo en *Drosophila* expresando la versión mutante de *TNPO3* humana que sirvió para realizar un rastreo de fármacos potencialmente reposicionables. Por otro lado, en colaboración con el grupo CIBERER U763 [Patología Neuromuscular, Hospital La Fe, Valencia], desarrollamos y caracterizamos un modelo celular de la enfermedad que ha servido para el testado de fármacos, así como para evaluar la edición génica de la mutación. El siguiente paso para avanzar en terapias para esta enfermedad fue desarrollar un modelo murino de LGMDD2. Para ello, introdujimos la mutación presente en los pacientes en el genoma del ratón y se estableció una colonia estable. Sin embargo, los análisis funcionales en animales heterocigotos no muestran fenotipos claros de debilidad o fatiga muscular ni siquiera en animales envejecidos [11 meses], lo que dificulta la validación de terapias. Los análisis histopatológicos sugieren un aumento en el porcentaje de fibras musculares tipo 1, pero descartan procesos distróficos claros. También hemos realizado los análisis comentados en animales homocigotos para la mutación pero, su esperanza de vida parece normal y tampoco presentan fenotipos funcionales claros. No obstante, estamos estudiando con más detalle estos animales a nivel molecular, histológico y funcional.

p36 THERAPEUTIC EFFICACY OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS OVEREXPRESSING CXCR4 AND IL10 IN A COLLAGEN VII HYPOMORPHIC MOUSE MODEL OF DYSTROPHIC EPIDERMOLYSIS BULLOSA

Autores: Manuel Mataix¹, Nuria Illera¹, Miriam Hernando², María Fernández-García³, Alexander Nystrom⁴, Fernando Larcher⁵, Marcela del Río⁶, Rosa Yáñez², Marta Carretero⁵

Filiación: ¹ Epithelial Biomedicine Division, Centre for Energy, Environment and Technology Research (CIEMAT), Madrid, Spain and Biomedical Research Institute Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain. ² Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Biomedical Innovation Unit. Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas and Centre for Biomedical Network Research on Rare Diseases (CIBERER), CB06/07/0014, ISCIII, Madrid, Spain and Advanced Therapies Unit, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD, UAM), Madrid, Spain. Red de Terapias Avanzadas (TERAV) RD21/0017/0027. ³ Kiji Therapeutics, Madrid, Spain. Red de Terapias Avanzadas (TERAV) RD21/0017/0027. ⁴ Department of Dermatology, Faculty of Medicine and Medical Center, University of Freiburg, Freiburg, Germany. ⁵ Epithelial Biomedicine Division, Centre for Energy, Environment and Technology Research (CIEMAT), Madrid, Spain; Centre for Biomedical Network Research on Rare Diseases (CIBERER), CB06/07/0019, ISCIII, Madrid, Spain and Biomedical Research Institute Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain; Red de Terapias Avanzadas (TERAV) RD21/0017/0001. ⁶ Department of Bioengineering and Aerospace, University Carlos III of Madrid, Madrid, Spain; Centre for Biomedical Network Research on Rare Diseases (CIBERER), CB06/07/0019, ISCIII, Madrid, Spain and Biomedical Research Institute Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain. Red de Terapias Avanzadas (TERAV) RD21/0017/0001.

Expone: Manuel Mataix Rodriguez - manuel.mataix@ciemat.es

Grupo: U714 - Universidad Carlos III – Madrid.

EPIDERMOLYSIS BULLOSA [EB, OMIM: 120120] comprises a clinically and genetically heterogeneous group of genodermatoses characterized by spontaneous blistering and blistering caused after minor trauma. Four types of EB are defined according to the cleavage level of the blister: EB simplex, junctional EB, dystrophic EB (DEB) and Kindler syndrome. DEB is caused by mutations in *COL7A1* gene coding for collagen VII [C7], the main component of anchoring fibrils involved in maintaining dermo-epidermal adhesion. Patients with severe recessive DEB [RDEB], null for C7, present lifelong generalized erosions, blisters and chronic wounds. Perpetual cycles of wounding and exaggerated scarring lead to fibrotic webbing and pseudosyndactyly, joint contractures, tissue fibrosis and the development of aggressive squamous cell carcinomas. These clinical manifestations are associated to chronic proinflammatory cytokine imbalance, autoimmunity and inflammation as described by our group and others. RDEB has no cure and current therapies are palliative and of marginal efficacy. MSCs have been considered promising therapeutic candidates to reduce inflammation and fibrosis in RDEB mainly due to their immunomodulating properties. We have previously demonstrated that systemically administered MSCs overexpressing CXCR4 and IL10 presented increased homing into sites of local injury and potent anti-inflammatory activities in preclinical models of inflammatory disease. Using the C7 hypomorphic mouse model of RDEB we have now tested the preclinical efficacy of MSC ectopically overexpressing CXCR4 and IL10. This therapeutic strategy might be beneficial in order to prevent/delay inflammation/fibrosis related manifestations in RDEB patients. Successful MSCs skin-homing might also contribute to restore C7 expression and dermo-epidermal junction adhesion.

p37 DESARROLLO PRECLÍNICO DE OLIGONUCLEÓTIDOS SILENCIADORES DE MSI2 EN DISTROFIA MIOTÓNICA

Autores: Ariadna Bargiela^{1,2}, Natalia Riedel^{3,4}, Jorge Espinosa Espinosa^{2,5}, Dulce Peris Moreno^{3,4}, Manuel Pérez Alonso^{2,3,4}, Rubén Artero^{2,3,4}

Filiación: ¹ Grupo de Patología neuromuscular y ataxias. Instituto de investigación sanitaria la Fe, Valencia, España. ² Grupo de Genómica Traslacional Humana. Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras. ³ Grupo de Genómica Traslacional Humana. Instituto de Biotecnología y Biomedicina [Biotecmed] de la Universidad de Valencia, Valencia, España. ⁴ Grupo de Genómica Traslacional Humana. Instituto de Investigación Sanitaria Incliva, Valencia, España. ⁵ Grupo de Enfermedades Emergentes y Desatendidas, Ecoepidemiología y Biodiversidad, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Internacional SEK, Quito, Ecuador.

Expone: Rubén Artero Allepuz - ruben.artero@uv.es

Grupo: U772 - Fundación para la investigación del Hospital Clínico de la Comunidad Valenciana – Valencia.

La sobreexpresión de Musashi2 [MSI2], una proteína de unión al RNA con papeles en el mantenimiento de células madre e implicado en oncogénesis, contribuye a los síntomas musculares característicos en la Distrofia Miotónica tipo 1 [DM1]. Considerando a MSI2 como una nueva diana terapéutica, seleccionamos in silico 127 secuencias de oligonucleótidos antisentido que desencadenan corte por RNasa H (gapmers) en mRNAs diana. Realizamos un cribado in vitro en miotubos DM1 transdiferenciados a partir de fibroblastos evaluando toxicidad y actividad para obtener el índice terapéutico de cada gapmer, lo que identificó las secuencias más sensibles a su actividad silenciadora. Los análisis transcriptómicos

de las células tratadas con dos de ellos confirman la especificidad del tratamiento. Los cuatro con mejores resultados in vitro fueron evaluados para actividad en ratones HSA[LR]. Tres dosis subcutáneas de gapmers fueron suficientes para reducir significativamente la expresión de Msi2 en el hígado. Sin embargo, la expresión de Msi2 en el músculo esquelético se mantuvo estable. Los datos de tejidos extramusculares demuestran que los oligonucleótidos son suficientemente potentes para silenciar los niveles de Msi2 de forma específica y robusta, pero también indican que la musculatura esquelética no incorpora gapmers eficientemente. Actualmente estamos trabajando en la optimización química de estos candidatos para mejorar la entrega muscular y en la cuantificación de los gapmers en distintos tejidos y órganos mediante ELISAs basados en hibridación con sondas. Los gapmers contra MSI2 pueden tener aplicaciones terapéuticas en otras enfermedades raras en las que la sobreexpresión de esta proteína contribuya a la patogénesis.

p38 DEVELOPMENT OF A CAR-T IMMUNOTHERAPY AGAINST HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMAS FOR PATIENTS WITH FANCONI ANEMIA

Autores: Andrea López^{1,2}, Paula Vela^{1,2}, Rebeca Sanchez^{1,2}, Omaira Alberquilla^{1,2}, Paula Río^{1,2}, John Maher³, Begoña Díez^{1,2}, Ricardo Errazquin^{4,5,6}, Ramón García-Escudero^{4,5}, Juan Bueren^{1,2}, Jose Antonio Casado^{1,2}

Filiación: ¹ Division of Hematopoietic Innovative Therapies, CIEMAT and IIS Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD, UAM), Madrid, Spain. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, Spain. ³ Department of Clinical Immunology and Allergy, King's College Hospital NHS, London, UK. ⁴ Research Institute Hospital 12 de Octubre (imas12), University Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain. ⁵ Biomedical Oncology Unit, CIEMAT (Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas), Madrid, Spain. ⁶ Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Expone: Andrea López Arranz - andrea.lopez@ciemat.es

Grupo: U710 - Centro de Investigaciones Energéticas, medioambientales y Tecnológicas – Madrid.

Fanconi anemia (FA) patients have a high risk of developing head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). HNSCC incidence progressively increases due to the longer life expectancy of FA patients because of improved allogeneic hematopoietic stem cell transplants (HSCT). Treatments for these tumors are challenging due to the hypersensitivity of FA patients to radio-chemotherapy, revealing that new therapies against HNSCCs are needed. Immunotherapy approaches based on the generation of CAR-T cells constitute a novel strategy for eradicating these tumors in FA patients. In this work we aimed at the generation of CAR-T cells against FA-HNSCCs using a ligand that recognizes all members of the ErbB family. We evaluated the efficacy of healthy donor (HD) and FA patient anti-ErbB CAR-T cells against different FA-HNSCCs cells lines. Anti-ErbB CAR-T cells were generated by the transduction of PB T-cells with a lentiviral vector that facilitates the expression of the CAR that engages the different ErbB dimers. CAR-T cells were expanded for 14 days and the cytotoxicity of HD and FA CAR-T cells against FA HNSCC cell lines was evaluated. Our data show the efficient generation of anti-ErbB CAR-T cells both from HD and FA individuals. Consistent with the high expression of ErbB family members in FA-HNSCC, either HD or FA CAR-T cells mediated a marked cytotoxicity in these cancer cells. Our study shows the feasibility of generating anti-HNSCC CAR-T from HDs and FA patients, suggesting the possibility of using these CAR-T cells for the treatment of HNSCCs in untransplanted and transplanted FA patients.

p39 EFECTO DEL DIMETILFUMARATO ADMINISTRADO A PACIENTES CON ADRENOMIELONEUROPATÍA: ENSAYO CLÍNICO MULTICÉNTRICO, CONTROLADO CON PLACEBO, DE FASE IIB/III

Autores: Montserrat Ruiz^{1,2}, Carlos Casasnovas^{1,2,3}, Aurora Pujol^{1,2,4}

Filiación: ¹ Neurometabolic Diseases Laboratory (IDIBELL), Barcelona. ² CIBERER, Madrid. ³ Neuromuscular Unit, Department of Neurology, Bellvitge University Hospital, Barcelona. ⁴ Catalan Institution of Research and Advanced Studies (ICREA), Barcelona.

Expone: Montserrat Ruiz Sales - mruiz@idibell.cat.

Grupo: U759 - Fundación Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge – Barcelona.

La adrenomieloneuropatía (AMN) es el fenotipo más frecuente de la adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X (X-ALD) [60% en varones], de inicio entre la tercera y cuarta década. Los pacientes desarrollan rigidez progresiva y debilidad en las piernas, ataxia sensorial, trastornos de esfínteres e impotencia. Aproximadamente el 65% de las mujeres heterocigotas presentan síntomas a los 60 años, similares a los observados en varones. La prueba de concepto se basa en los resultados bioquímicos, neuropatológicos y motores del dimetilfumarato (DMF) obtenidos en dos modelos de ratón AMN. El DMF es un activador de la vía Nrf2 [disminuida en X-ALD] y subsiguiente inducción de la

respuesta antioxidante, aprobado y comercializado en España para esclerosis múltiple y psoriasis. En 2020 obtuvimos la Orphan Designation para el uso de DMF en X-ALD [EU/3/19/2236]. Características del ensayo: - Nº EUDRACT: 2021-003826-65- Promotor: Idbell- Coordinador: Aurora Pujol- Diseño del estudio: multicéntrico, dos brazos, aleatorizado, controlado con placebo. Grupo 1: DMF oral, 480 mg/día 36 meses. Grupo 2: placebo 24 meses, seguido de DMF oral, 480 mg/día 12 meses.- Centros participantes: H.U. Bellvitge, H.U. Donostia, H. 12 de Octubre. - Población en estudio: 40 varones o mujeres portadoras sintomáticas con AMN, entre 18 y 65 años, EDSS entre 2 y 6.5, sin la forma desmielinizante cerebral de la enfermedad. - Variable principal: cambios de amplitud en el test de balanceo postural.- Fechas estimadas: inicio en el primer trimestre de 2024, reclutamiento 6 meses, seguimiento 3 meses. Finalización en 2028.

El ensayo está financiado por el ISCiii [ICI21/00085].

p40 EFECTOS DE TERAPIAS NUTRICIONALES PARA ENFERMEDADES MITOCONDRIALES EN EL METABOLOMA CEREBELOSO DEL RATÓN "HARLEQUIN"

Autores: Borja Fernández García¹, Marcello Bellusci^{1,2,3,4}, Joaquín Arenas^{1,2}, Miguel A. Martín^{1,2,5}, María Morán^{1,2}

Filiación: ¹ Laboratorio de enfermedades raras, mitocondriales y neuromusculares. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid. ² CIBERER, Unidad 723, Madrid. ³ Unidad Pediátrica de Enfermedades Raras, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid. ⁴ Centro Nacional de Referencia para Errores Congénitos del Metabolismo [CSUR] y Centro Europeo de Referencia para Enfermedades Metabólicas Hereditarias [MetabERN], Madrid. ⁵ Servicio de Genética, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Expone: María Jesús Morán Bermejo - mmoran@h12o.es

Grupo: U723 - Hospital Universitario 12 de Octubre – Madrid.

Las enfermedades mitocondriales (EM) son un grupo heterogéneo de enfermedades de origen genético en las que ocurre un fallo del sistema de fosforilación oxidativa. En el presente trabajo se estudiaron los efectos de la suplementación con glutamina [Gln] y de una variante de la dieta cetogénica denominada MITODiet, en el modelo de déficit del complejo I de la cadena respiratoria del ratón Harlequin [Hq], que experimenta neurodegeneración y ataxia cerebelosa. Para ello, se utilizaron ratones macho wild type [WT] y ratones Hq sin tratar y tratados con Gln o MITODiet desde el destete hasta los 6 meses de edad. En los cerebelos obtenidos se realizó un estudio metabólico diferencial mediante UHPLC-Q/TOF MS HILIC, con ionización positiva y negativa. El análisis combinando de ambos tipos de ionización permitió identificar 231 metabolitos. El análisis multivariante de los datos demostró que el gliceraldehído era el metabolito que mejor diferenciaba los cuatro grupos experimentales, seguido de la glucosa, y varias fosfatidil serinas y aminoácidos. Mediante un ANOVA se detectaron diferencias significativas en 78 metabolitos, de los cuales 65 eran significativamente más abundantes en los ratones Hq que en los WT. El tratamiento con Gln normalizó 21 metabolitos y MITODiet 5, de los cuales ambos normalizaron la N6-acetil-L-lisina y la 3-metilbutil-6-metil-heptano-2-alanina. Asimismo, ambos tratamientos atenuaron la acumulación de 33 metabolitos que estaban elevados en el grupo Hq no tratado. En conclusión, los tratamientos nutricionales de larga duración con Gln y MITODiet son capaces de modificar el metaboloma cerebeloso del ratón Hq.

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

p41 IN VITRO NEURODEVELOPMENTAL EFFECTS OF NEUROPROTECTIVE THERAPIES IN A NEUROSPHERE FGR ANIMAL MODEL

Autores: Miriam Illa^{1,2}, Britta Anna Kühne^{1,3}, Mercè Fuentes-Amell³, Paula Vázquez-Aristizabal³, Teresa Puig⁴, Marta Planas⁵, Lidia Feliu⁵, Laura Pla¹, Jesús Gómez-Catalán³, Eduard Gratacós^{1,6}, Ellen Fritsche⁷, Marta Barenys³

Filiación: ¹ BCNatal - Fetal Medicine Research Center (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Déu, University of Barcelona) Barcelona, Spain. ² Institut de Recerca Sant Joan de Déu (IRSJD), Fundació Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. ³ Department of Pharmacology, Toxicology and Therapeutic Chemistry, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, University of Barcelona, Spain. ⁴ New Therapeutic Targets Laboratory (TargetsLab), Department of Medical Sciences, University of Girona, Girona Institute for Biomedical Research, Girona, Spain. ⁵ LIPPSO, Department of Chemistry, University of Girona, Girona, Spain. ⁶ Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain and Centre for Biomedical Research on Rare Diseases [CIBERER], Barcelona, Spain. ⁷ IUF-Leibniz Research Institute for Environmental Medicine, Düsseldorf, Germany.

Expone: Miriam Illa Armengol - miriam.illa@sjd.es

Grupo: U719 - Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer – Barcelona.

Objectives: To study in a neurosphere (NSPH) model the effect of Melatonin, Epigallocatechin gallate -EGCG-, Lactoferrin or Docosahexaenoic acid - DHA- in the prevention of neurodevelopmental impairments due to Fetal growth restriction (FGR).

Methodology: FGR was surgically induced in one uterine horn of pregnant rabbits, while the contralateral horn served as a control. 5 days after, a cesarean section was performed and neural progenitor cells growing as neurospheres (NSPH) were obtained from rabbit pups' brains. Administration of MEL, DHA, LF or EGCG were administrated in the FGR and controls. Migration distance, oligodendrocyte differentiation (OL) and neurite length of neurons were then evaluated.

Results: FGR-NSPH presented a decreased OL (%) [4.4 ± 0.4 vs. 7.3 ± 0.9 , $p=0.012$], and a significant increase in neurite length (μm) [36.03 ± 3.46 vs. 29.82 ± 2.84 , $p=0.011$] compared to NSPH-controls. Administration of MEL and DHA significantly increased the OL (MEL: 7.8 ± 1.3 ; and DHA: 9.7 ± 5.4), whereas Lactoferrin decreased neurite length to control levels [21.03 ± 0.75]. Regarding EGCG, a migration distance (%) was reduced only in control-NSPH [62.4 ± 4.9 vs 100 $p=0.002$]. As EGCG has been suggested to interact with Integrin- $\alpha 1$ cell adhesion molecule, significant 10-fold increase of Integrin- $\alpha 1$ in FGR-NSPH was observed in comparison to NSPH-controls [10.2 vs. 1.1 , $p=0.048$].

Conclusions: DHA, MEL and LF may be considered as a promising therapy for neuroprotection in FGR. Additionally, FGR is related with an overexpression of Integrin- $\beta 1$ which in turn may explain the increase neuronal arborization detected.

p42

LA SECUENCIACIÓN DE LECTURAS LARGAS REVELA LA INSERCIÓN DE UN ELEMENTO ALU EN LA SECUENCIA CODIFICANTE DEL GEN EYS COMO CAUSA DE RETINOSIS PIGMENTARIA

Autores: Elena Fernández-Suárez^{1,2,†}, María González-del Pozo^{1,2,†}, Cristina Méndez-Vidal^{1,2}, Marta Martín-Sánchez^{1,2}, Belén de la Morena-Barrio³, Javier Corral³, Salud Borrego^{1,2,*}, Guillermo Antiñolo^{1,2,*}

Filiación: ¹ UGC de Medicina Materno-Fetal, Genética y Reproducción, Instituto de Biomedicina de Sevilla, IBiS/Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, Sevilla. ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Sevilla. ³ Servicio de Hematología, Hospital General Universitario Morales Messeguer, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia, Universidad de Murcia, IMIB-Pascual Parrilla, CIBERER-ISCIII. Murcia. †Co-first authorship. *Corresponding authors.

Expone: María González del Pozo - maria.gonzalez@ciberer.es

Grupo: U702 - Hospital Virgen del Rocío – Sevilla.

Las variantes bialélicas en el gen *EYS* son una causa prevalente en familias españolas de retinosis pigmentaria autosómica recesiva (RPar), una enfermedad clínica y genéticamente heterogénea que conduce a ceguera hereditaria. Entre ellas, las variantes estructurales son particularmente frecuentes, sin embargo, su identificación mediante secuenciación de lecturas cortas (short-read sequencing, SRS) no siempre es posible. En este trabajo aplicamos la secuenciación de lecturas largas (long-read sequencing, LRS) mediante nanoporos para mejorar el diagnóstico genético de una familia RPar parcialmente diagnosticada (Familia A), en cuyos individuos afectados se había identificado la delección heterocigota de los exones 32-33 de *EYS* mediante SRS. Igualmente, se pretendía caracterizar la delección conocida a nivel nucleotídico, ya que se trataba de una variante recurrente identificada en tres familias RPar adicionales. La LRS en la familia A reveló la inserción del retrotransposón AluYa5 en la región codificante del exón 43 de *EYS* [chr6[GRCh37]:g.64430524_64430525ins352], la cual, junto con la delección de los exones 32-33, co-segregaba con la enfermedad en heterocigosis compuesta. Asimismo, la LRS permitió caracterizar los puntos de corte de la delección [chr6[GRCh37]:g.64764235_64820592del], permitiendo demostrar posteriormente que coincidían en los portadores de las familias adicionales, lo que podría ser consistente con una variante fundadora. Además, hemos desarrollado un comando para la detección de la inserción del AluYa5 de *EYS* usando datos de SRS. Nuestro estudio refuerza la utilidad de la LRS para la detección y caracterización de variantes estructurales complejas, como la inserción de retrotransposones, cuya contribución a la etiopatogenia de las enfermedades raras podría estar subestimada.

p43 CONSIDERACIONES ÉTICO-LEGALES SOBRE EL TRATAMIENTO DE HALLAZGOS SECUNDARIOS Y HALLAZGOS INCIDENTALES DERIVADOS DEL ANÁLISIS GENÉTICO: DESDE EL ÁMBITO ASISTENCIAL HASTA LOS USOS SECUNDARIOS DE DATOS CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Autores: Guillermo Lazcoz Moratinos¹, Pilar Nicolás Jiménez², Carmen Ayuso García³

Filiación: ¹ CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER, ISCIII), e Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jimenez Diaz (IIS-FJD), Madrid. ² Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa. ³ Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jimenez Diaz (IIS-FJD, UAM), y CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER, ISCIII), Madrid.

Expone: Guillermo Lazcoz - guillelazcoz@gmail.com

Grupo: Grupo de aspectos éticos y legales de IMPaCT-Genómica.

La extensión del uso de tecnologías ómicas de alto rendimiento, aumenta la probabilidad de identificar un hallazgo genético, potencialmente relevante desde el punto de vista clínico, pero que no esté relacionado con la indicación principal de la prueba. Dicho hallazgo puede buscarse de forma deliberada (hallazgos secundarios), o bien encontrarse fortuitamente (hallazgos incidentales). Partiendo de un análisis legislativo y de los documentos y guías éticas de referencia internacional, este trabajo aborda la complejidad en el tratamiento de hallazgos secundarios e incidentales en tres escenarios distintos: en el ámbito asistencial, en el ámbito de la investigación y, dentro de este, en el uso secundario de datos con fines de investigación científica. Como resultado de dicho análisis, elaboramos algunas recomendaciones para (1) la elaboración previa de un procedimiento o plan para la gestión del tratamiento y comunicación de los hallazgos; (2) el cumplimiento del deber de información previo a la toma libre de decisiones; (3) la expresión del consentimiento y del subsecuente derecho a no ser informado; (4) la evaluación de la idoneidad de un hallazgo para ser comunicado desde los planos técnico, clínico y ético; (5) la provisión de un asesoramiento genético que incluya -y trascienda- el momento de prestar el consentimiento y de comunicar un hallazgo, así como (6) asegurar el seguimiento clínico posterior.

p44 GENOME AND RNA SEQUENCING IDENTIFY NOVEL PATHOGENIC CRYPTIC INTRONIC VARIANTS IN THREE ATP6AP1-CDG PATIENTS

Autores: Blai Morales-Romero¹, Gerard Muñoz-Pujol¹, Rafa Artuch², Àngels García-Cazorla³, Mar O'Callaghan³, Jolanta Sykut-Cegielska⁴, Jaume Campistol⁵, Pedro Juan Moreno⁵, Machteld M Oud⁶, Ron A Wevers⁷, Anna Esteve⁸, Vicente A Yepe^{9,10}, Saskia B. Wortmann^{11,12}, Holger Prokisch^{9,13}, Antonia Ribes¹, Judit García-Villoria¹, Frederic Tort¹

Filiación: ¹ Section of Inborn Errors of Metabolism-IBC, Biochemistry and Molecular Genetics Department, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, CIBERER, Barcelona, Spain. ² Clinical Biochemistry Department, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Hospital Sant Joan de Déu, CIBERER, Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain. ³ Neurology Department, Hospital Sant Joan de Déu, Institut de Recerca Hospital Sant Joan de Déu, Hospital Sant Joan de Déu, CIBERER and MetabERN, Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain. ⁴ Department of Inborn Errors of Metabolism and Paediatrics, Institute of Mother and Child, Warsaw, Poland. ⁵ Inherited Metabolic Diseases and Muscle Disorders' Research Group, Department of Internal Medicine, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain. ⁶ Department of Human Genetics, Donders Institute for Brain, Cognition and Behaviour, Radboud University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands and United for Metabolic Diseases, The Netherlands. ⁷ Department of Human Genetics, Translational Metabolic Laboratory (TML), Radboud University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands. ⁸ Centro Nacional de Análisis Genómico (CNAG), Parc Científic de Barcelona, Barcelona, Spain. ⁹ Institute of Human Genetics, School of Medicine, Technical University of Munich, Munich, Germany. ¹⁰ TUM School of Computation, Information and Technology, Technical University of Munich, Garching, Germany. ¹¹ University Children's Hospital Salzburg, Paracelsus Medical University, Salzburg, Austria. ¹² Amalia Children's Hospital, Department of Pediatrics, Radboudumc, Nijmegen, The Netherlands. ¹³ Institute of Neurogenomics, Helmholtz Zentrum München, Neuherberg, Germany.

Expone: Blai Morales Romero - bmorales@clinic.cat.

Grupo: U737 - Fundación de Investigación Clínic Barcelona-Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer – Barcelona.

The diagnosis of Mendelian disorders has notably advanced with integration of whole exome (WES) and genome sequencing (WGS) in clinical practice. However, challenges in variant interpretation and uncovered variants by WES still leave many patients undiagnosed. RNA sequencing (RNA-seq) has become crucial, particularly for WES negative cases, increasing sensitivity by 8-36%. Additionally, functional studies are often necessary to elucidate the impact of prioritized variants on gene expression and protein function. Our study focused on three unrelated ATP6AP1-CDG male patients (P1-P3) with intellectual disability, glycosylation abnormalities, and initially inconclusive by WES. RNA-seq was pivotal in identifying the underlying genetic causes in P1 and P2, detecting ATP6AP1 underexpression and aberrant splicing. Studies in cDNA confirmed these findings and identified the rare intronic variants

c.289-233C>T and c.289-289G>A in P1 and P2, respectively. Trio-WGS revealed the variant c.289-289G>A in P3. Functional assays expressing the mutant alleles in HAP1 cells demonstrated the pathogenic impact of these variants by reproducing splicing alterations observed in patients. These results underscore the role of RNA-seq and WGS in enhancing diagnostic rates for congenital disorders of glycosylation (CDG) and other genetic diseases. Moreover, our study provides new insights into the molecular bases of ATP6AP1-CDG by reporting the first two deep intronic variants in this X-linked gene. Additionally, our study highlights the importance of integrating RNA-seq and WGS, followed by functional validation, into routine diagnostics for a comprehensive evaluation of patients with an unidentified molecular etiology.

Funding: CIBER, ISCIII (PI19/01310, PI22/00856), and co-funded by the European Union-European Regional Development Fund.

p45 SOLVING COMPLEX NEURODEVELOPMENTAL DISORDERS THROUGH DETAILED PHENOTYPING AND OMICS INTEGRATION: A FAMILY WITH TWO CO-OCCURRING X-LINKED DISEASES

Autores: Carla Dies Curià¹, Marta Sevilla Porras¹, Gemma Aznar², Laura Balagué³, Gemma Bullich⁴, Asunción Díaz², Sergi Beltrán⁴, Juan Ramón González³, Luis A- Pérez Jurado¹

Filiación: ¹ Universitat Pompeu Fabra [UPF]/ CIBERER, Barcelona. ² Hospital del Mar, Barcelona. ³ ISGlobal, Barcelona. ⁴ Centro Nacional de Análisis Genómicos [CNAG], Barcelona.

Expone: Carla Dies Curià - carla.dies.curia@psmar.cat.

Grupo: U735 - Universidad Pompeu Fabra – Barcelona.

Many patients with genetic diseases remain undiagnosed despite undergoing an exhaustive clinical and genetic evaluation. Causes of diagnostic failure include technical limitations of available tools, inconsistent correlations, still undefined diseases, or complex blended phenotypes with atypical presentations. Around 5% of undiagnosed patients have more than one monogenic disorder, resulting in those complex phenotypes that need to be further explored. Deep phenotyping and integration of different -omics techniques is boosting the diagnosis of some unsolved cases. We report a non-consanguineous family with 3 affected males, two brothers and the maternal uncle, with intellectual disability, autistic traits, microcephaly and dysmorphic features. Initial analysis of exome data from the proband revealed two candidate genetic variants of unknown significance (hemizygous missense mutations, absent in controls and with high prediction of potential pathogenicity) in the X-linked *KDM5C* and *PTCHD1* genes, associated with Claes-Jensen syndrome (CJS) and Autism Spectrum Disorder (ASD), respectively. Unaffected mother was a heterozygous carrier for both variants, the brother was hemizygous for the *PTCHD1* mutation and the maternal uncle was hemizygous for the *KDM5C* variant. Detailed clinical re-evaluation combined with omics data integration (exome, genome & methylome) allowed to classify the two different X-linked conditions. As CLS exhibits a specific methylation profile in peripheral blood DNA, methylome data was used to define epi-signature profiles in hemizygous males and heterozygous carriers, confirming the pathogenicity of the *KDM5C* variant and clarifying the overlapping phenotypes. Our data further support the utility integrating family-based complementary -omics techniques and re-phenotyping, to increase the diagnostic rate in complex cases.

p46 UNRAVELLING THE EPIGENOMIC AND TRANSCRIPTOMIC LANDSCAPE OF MSUD: A COMPREHENSIVE MULTI-OMIC APPROACH TO DIAGNOSIS AND THE STUDY OF UNDERLYING MOLECULAR VULNERABILITIES

Autores: Juan Ramón Tejedor^{1,2,3,4,†}, Alejandro Soriano-Sexto^{4,5,6,7,†}, Natalia Castejón-Fernández^{4,5,6,7}, Lidia Sainz-Ledo^{1,2,4}, Juan José Alba-Linares^{1,2,4}, Rocío G. Urdinguio^{1,2,3,4}, Agustín F. Fernández^{1,2,3,4}, Pilar Rodríguez-Pombo^{4,5,6,7}, Mario F. Fraga^{1,2,3,4,*}, Belén Pérez^{4,5,6,7*}

Filiación: ¹ Nanomaterials and Nanotechnology Research Centre [CINN-CSIC], Spanish National Research Council [CSIC], Principality of Asturias. ² Health Research Institute of Asturias [ISPA], Foundation for Biomedical Research and Innovation in Asturias [FINBA], Principality of Asturias. ³ University Institute of Oncology of Asturias [IUOPA], Principality of Asturias. ⁴ Centre for Biomedical Network Research on Rare Diseases [CIBERER], Madrid. ⁵ Molecular Disease Diagnostic Center [CEDEM], Autonomous University of Madrid [UAM], Department of Molecular Biology, Madrid. ⁶ Centre for Molecular Biology [CBMSO], Spanish National Research Council [CSIC], Madrid. ⁷ La Paz Research Institute [IdiPaz], Madrid. †These authors contributed equally to this work. *Corresponding authors.

Expone: Juan Ramón Tejedor Vaquero - juanramon.tejedor@gmail.com

Grupo: U766 - Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias – Oviedo.

Maple syrup urine disease (MSUD) is a rare inherited metabolic disorder characterised by deficient activity of the branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex, required to metabolise the amino acids leucine, isoleucine and valine. Despite its profound metabolic implications, the molecular alterations underlying this metabolic impairment had not yet been elucidated. Here we performed a comprehensive multi-omics integration analysis, including genomic, epigenomic and transcriptomic data from 10 fibroblasts derived from a cohort of MSUD patients and 5 unaffected controls. MSUD patients exhibit a defined episignature that reshapes the global DNA methylation landscape, resulting in the stimulation of HOX cluster genes and the restriction of cell cycle gene-related signatures. Subsequent data integration revealed the impact of AP1-related and CEBPB transcription factors on the observed molecular reorganisation, with MEIS1 emerging as a potential downstream candidate affected by robust epigenetic repression in MSUD patients. Moreover, the integration of multiple -omic layers facilitated the identification of a strong epigenetic repression in the DBT promoter in a patient wherein no BCKDH pathogenic variant was detected, thereby unveiling alternative modes of disease inheritance. Integration of multi-omics data unveiled underlying molecular networks rewired in MSUD patients and represents a powerful approach with diagnostic potential for rare genetic disorders with unknown genetic bases.

p47 ANÁLISIS DEL SESGO DE SUPERVIVENCIA PARA LA DETERMINACIÓN DE DOMINIOS FUNCIONALES EN COQ4 Y SU APLICACIÓN COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA

Autores: María Alcázar Fabra¹, Juan Manuel Tavira-Chapela¹, María Victoria Cascajo-Almenara², Laura García Corzo², Ana Sánchez-Cuesta², Carlos Santos-Ocaña², Gloria Brea-Calvo²

Filiación: ¹ Centro Andaluz de Biología de Desarrollo [CSIC / Univ. Pablo Olavide], Sevilla. ² Centro Andaluz de Biología de Desarrollo [CSIC / Univ. Pablo Olavide] y CIBERER [ISCIII], Sevilla.

Expone: Gloria Brea Calvo - gbrecal@upo.es

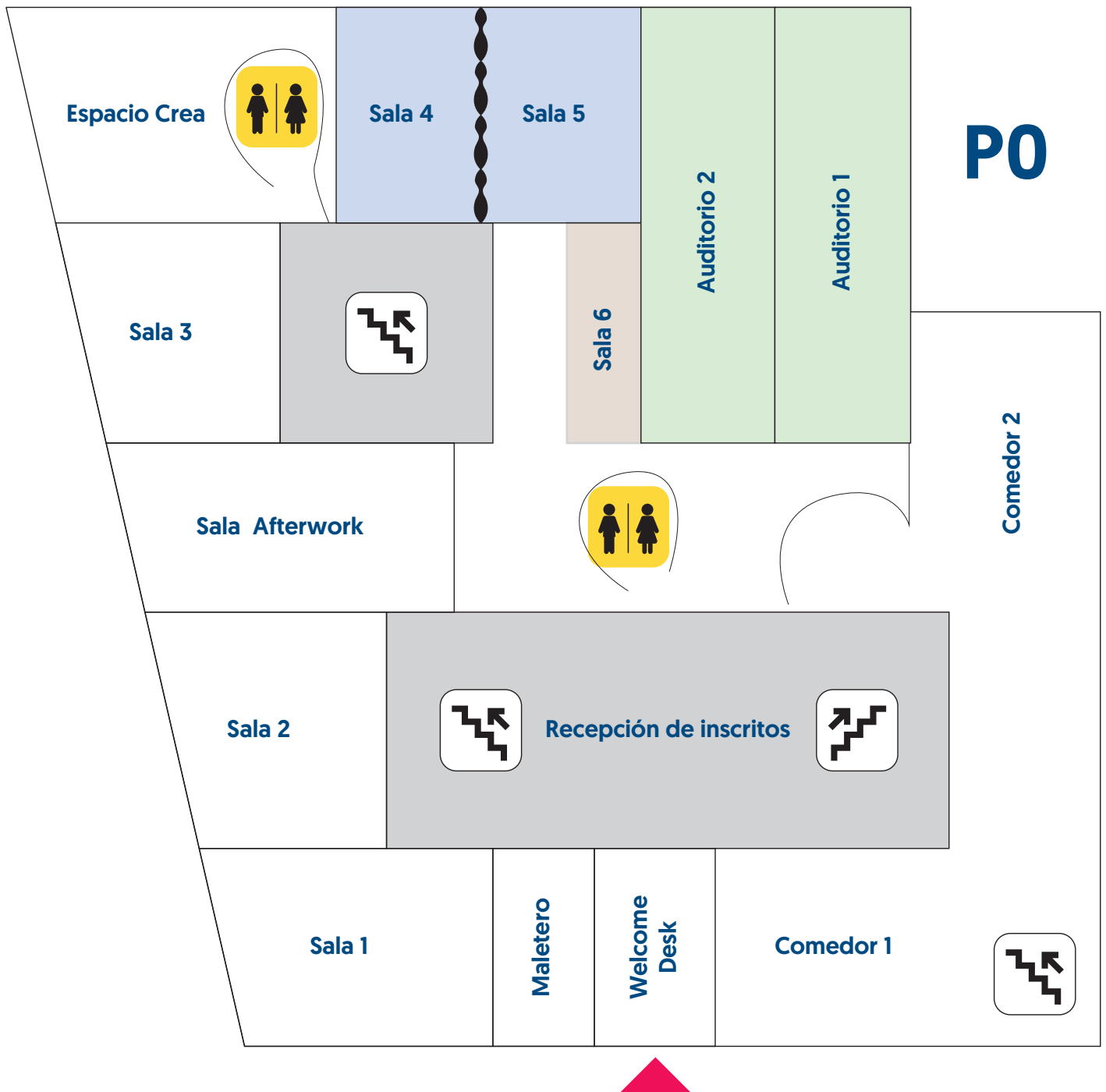
Grupo: U729 - Univesidad Pablo de Olavide – Sevilla.

Las deficiencias primarias de coenzima Q (CoQ) son condiciones autosómicas recesivas clínicamente muy heterogéneas causadas por defectos en cualquiera de los genes implicados en la biosíntesis de CoQ, un lípido con propiedades redox bioenergéticamente importantes y con funciones determinantes para la homeostasis celular. Los defectos en COQ4 son una de las causas más comunes de deficiencia primaria de CoQ. Aunque COQ4 se ha considerado tradicionalmente un componente estructural del Complejo Q (en el que se ensamblan la mayoría de las proteínas COQ), recientemente hemos demostrado que también ejerce un papel enzimático crítico en la biosíntesis de CoQ mediante el uso de complementación heteróloga de COQ4 en *E. coli* y *C. glutamicum*, resolviendo el viejo enigma de la identidad de la/s enzima/s encargadas de dos pasos importantes en esta ruta biosintética. Hemos mapeado las variantes de COQ4 descritas en pacientes y las hemos comparado con aquellas potencialmente patogénicas que sólo se encuentran en bases de datos, asumiendo que generan alteraciones tan severas de la función de la proteína que resultan nocivas en homocigosis. Nuestro análisis bioinformático revela regiones vulnerables cuyas mutaciones son perjudiciales para la función de la proteína, evidenciando dominios funcionales críticos. Esta información nos permite proponer un modelo de diagnóstico predictivo que ayude a acelerar la detección y grado de severidad de la deficiencia primaria de CoQ causada por defectos no solo en COQ4, sino en otros genes COQ.

EUROFORUM

Palacio de los Infantes

Planta Baja

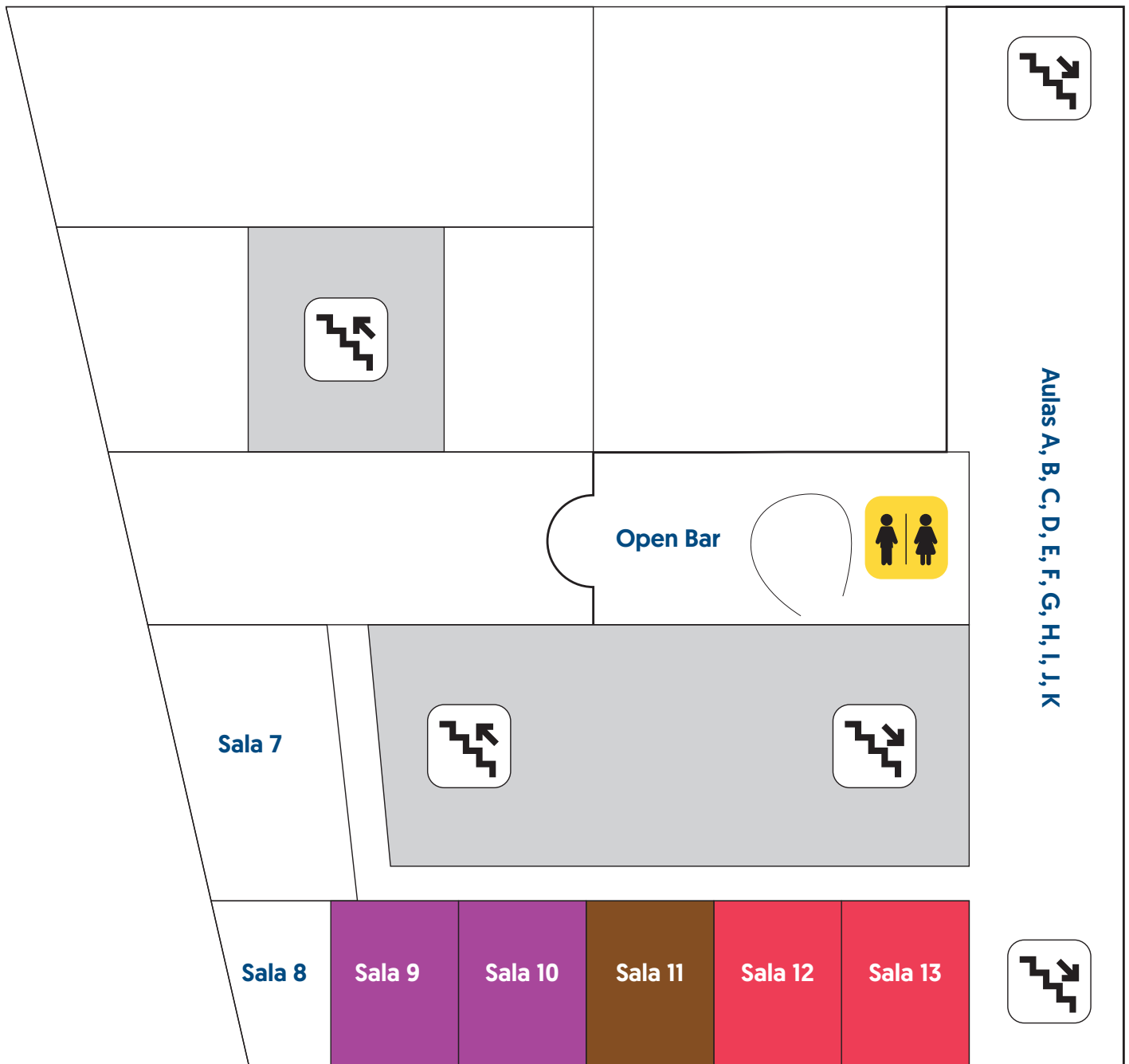


EUROFORUM

Palacio de los Infantes

1ª Planta

P01



EUROFORUM

Palacio de los Infantes

2ª Planta

P02



ciber | **ER**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED
Enfermedades Raras