

ciberer

Centro de Investigación Biomédica en Red
Enfermedades Raras

LIBRO DE RESÚMENES DE LA XIV REUNIÓN ANUAL CIBERER

29 de junio a 1 de julio de 2021



Contenido

Programa detallado de las presentaciones científicas	9
Listado de resúmenes	13
Ponencia Principal Oral	15
Bases moleculares de la enfermedad	15
O01 - High diagnostic yield of multi-omics in prenatally detected congenital heart defects.	15
O02 - Heterogeneidad molecular e implicaciones clínicas de la deficiencia de FXI: una enfermedad rara como modelo de nuevas terapias antitrombóticas.	15
O03 - Germline and mosaic variants in PRKACA and PRKACB cause a multiple congenital malformation syndrome.	16
O04 - Understanding MAGEL2 truncating mutations associated with Schaaf-Yang syndrome: biomarkers and in vitro models.	17
O05 - Relevance of thrombin in the activation of the fluid contact phase in patients with Hereditary Angioedema carrying the F12 p.Thr309Lys variant.	18
O06 - Relación de GDF15 y la dieta con el CIR y el remodelado cardiovascular asociado.	18
O07 - Functional involvement of actin-binding Gelsolin on mitochondrial OXPHOS dysfunction.	19
O08 - Desarrollo terapéutico para PMM2-CDG mediante Biología Computacional.	20
Nuevos diagnósticos	20
O10 - Relevancia clínica del mosacismo post-cigotico en el Síndrome de Cornelia de Lange.	20
O11 - Translational Diagnostics Program, an innovative hospital approach to genetic diagnosis of rare diseases.	21
O12 - El hipocrecimiento segmentario se asocia a anomalías vasculares.	22
Nuevas terapias	23
O09 - Preclinical pharmacological studies in Lafora Disease: in vivo and ex vivo evaluation for glutamatergic and neuroinflammatory modulation.	23
O15 - GENERATION OF CAR T-CELLS FOR THE TREATMENT OF SQUAMOUS CELL CARCINOMAS IN FANCONI ANEMIA PATIENTS.	23
O16 - A mechanistic approach: Finding new therapeutic targets using Machine Learning modelization of Retinosis Pigmentaria.	24
Nuevas herramientas de investigación	25
O13 - Incremento en el diagnóstico de enfermedades genéticas mediante la implementación de una pipeline bioinformática a medida.	25

O14 - Diagnosis of genetic white matter disorders by singleton whole-exome and whole-genome sequencing using interactome-driven prioritization.	25
Presentación corta pregrabada	26
Bases moleculares de la enfermedad	26
P04 - Most of mitochondrial dGTP is tightly bound to respiratory chain complex I through NDUFA10.	26
P06 - Análisis de los patrones de metilación del ADN en genoma completo en la enfermedad de Hirschsprung: descifrando el epigenoma del desarrollo del Sistema Nervioso Entérico.	27
P10 - Generación de líneas celulares como modelos para seleccionar tratamientos en feocromocitoma y paraganglioma metastásico.	28
P11 - The endothelial landscape and its tumor development role in von Hippel-Lindau disease.	28
P12 - SARS-CoV-2 Infection in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia Patients Suggests Less Clinical Impact Than in the General Population.	29
P14 - Elevada tasa de variantes de novo en pacientes con discapacidad intelectual.	29
P15 - Phenotypic variability of patients with PAX8 variants presenting congenital hypothyroidism and eutopic thyroid.	30
P21 - CERKL, a retinitis pigmentosa gene, is involved in the regulation of mitochondrial dynamics in the mammalian retina and hippocampus.	31
P22 - CERKL, a retinal dystrophy gene, regulates mitochondrial function and dynamics in the mammalian retina.	31
P23 - Distinctive endothelial and angiogenic signature of preeclampsia and SARS-CoV-2 infection in pregnancy.	32
P24 - The 14-3-3 gene family contributes to neurodevelopmental disorders: genetics, functional studies and zebrafish models.	33
P25 - Inflammasome genes expression as biomarkers in ALS and FTD patients.	33
P26 - Efficient application of next-generation sequencing for the diagnosis of neurodevelopmental diseases.	34
P27 - Development and characterization of induced pluripotent stem cells harbouring a mitochondrial DNA deletion.	35
P30 - GEMIN5: La paradoja de la deficiencia secundaria de CoQ10 llama a la puerta.	35
P31 - La estructura del transportador LAT2/CD98hc revela mecanismos moleculares de especificidad de sustratos y de patología debidos a mutaciones en los transportadores HAT.	36
P32 - Players in macrophage iron accumulation in LPI mouse model.	37

P33 - GDAP1–LAMP-1 IS A NEW TETHERING PAIR OF MITOCHONDRIA-LYSOSOME MEMBRANE CONTACT SITES THAT IS DEFECTIVE IN CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE.	37
P35 - Age-related microRNA overexpression in Lafora disease: at the crossroads between inflammation and oxidative stress.	38
P36 - Cannabinoid signaling modulation through JZL184 restores key phenotypes of a mouse model for Williams-Beuren síndrome.	39
P39 - Functional characterization of 105 Factor H variants associated with atypical HUS: lessons for variant classification.	39
P46 - Identification of the GlialCAM interactome: the G protein-coupled receptors GPRC5B and GPR37L1 modulate Megalencephalic leukoencephalopathy proteins.	40
P47 - Complement Factor D (adipsin) levels are elevated in patients with Barraquer-Simons syndrome.	41
P48 - CAG repeats- associated non-ATG translation in C. elegans.	41
P54 - Análisis genético, epigenómico y transcriptómico de los schwannomas vestibulares. Relación con factores implicados en la hipoacusia y el crecimiento tumoral.	42
P56 - Neuropatía hereditaria compleja asociada a mutaciones en el gen TRMT5.	42
P58 - CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA MUTACIÓN QUE CAUSA INTERFERONOPATÍA TIPO I Y DESARROLLO DE MODELOS ANIMALES PARA MEDICINA PERSONALIZADA.	43
Nuevos diagnósticos	44
P02 - Transferrin isoforms, old but new biomarkers in Hereditary Fructose Intolerance.	44
P07 - Desarrollo de una estrategia de análisis de datos de secuenciación de genoma completo para la priorización de variantes en nuevos genes de enfermedad en distrofias hereditarias de retina.	45
P09 - Algoritmos basados en ontologías fenotípicas y secuenciación masiva aumentan el rendimiento diagnóstico en enfermedades retinianas sindrómicas.	45
P34 - Análisis de variantes genéticas en exoma de pacientes con distrofias musculares de cintura (LGMD)	46
P49 - Estudio piloto multicéntrico para la implantación del cribado neonatal de la atrofia muscular espinal.	47
P53 - Biallelic PI4KA variants cause a novel neurodevelopmental syndrome with hypomyelinating leukodystrophy.	48
P57 - Germline and Acquired Variants Co-occurrence Profiles in Early-Onset Myelodysplastic Syndromes in Adults.	48
Nuevas terapias	49

P08 - La inhibición alelo-específica por CRISPR/Cas9 de una mutación dominante negativa en COL6A1 restaura la matriz extracelular de colágeno VI de los fibroblastos derivados de pacientes.	49
P17 - Preclinical models for in vivo gene editing of COL7A1 based on delivery of CRISPR/Cas9 to RDEB patient skin by viral vectors.	50
P19 - Innovative Splice Switching Oligonucleotide therapy for Niemann-Pick type C1 disease.	50
P20 - AAV gene therapy improves glutaric aciduria type I phenotype in knockout mice.	51
P41 - Avances en el desarrollo de ácidos salicílicos para el tratamiento de hiperoxalurias primarias.	52
P44 - Functional Characterization of PMM2 missense variants: identification of new potential variants to be rescued using pharmacological chaperones.	52
P45 - Efectos de la terapia de Mindfulness en pacientes con acromegalia.	53
P51 - Caracterización de un modelo de ratón con telómeros cortos para el estudio de telomeropatías.	53
P52 - Potencial terapéutico de la inactivación permanente de EWSR1-FLI1 en sarcoma de Ewing mediante CRISPR/Cas9.	54
Nuevas herramientas de investigación	55
P01 - El CIBERER Biobank como plataforma de servicio para la investigación en el campo de las enfermedades raras.	55
P03 - Why Orphacodes?	55
P05 - Dysfunctional mitochondrial translation and combined oxidative phosphorylation deficiency in a mouse model of the hepatoencephalopathy due to mutations in GFM1.	56
P13 - Loss of Mosmo function causes craniofacial abnormalities in zebrafish.	57
P18 - Análisis mecanístico para la interpretación de la variación genómica en una cohorte de enfermedades mentales ENOD.	57
P28 - Generation of two Knock-in Mouse models to Explore the Pathological Mechanisms of miR-96 Mutations in the Inner Ear.	58
P29 - In vivo analysis of mitochondrial metabolism in a mitochondrial disease.	59
P37 - Utilización de RNAseq para el diagnóstico de enfermedades metabólicas hereditarias no resueltas.	59
P38 - Desarrollo de una estrategia basada en CRISPR/Cas9 para determinar el impacto funcional de variantes genéticas de significado incierto.	60
P40 - Hiperoxaluria Primaria en España – Registro OxalSpain.	61
P42 - Computational analysis of phenotypes, genes and microRNAs in rare-disease.	61

- P43 - Un nuevo modelo de ratón knock-in de la enfermedad de Lafora con una mutación en el gen codificante de laforina. 62
- P50 - El análisis de los nuevos modelos animales de albinismo permite avanzar en el diagnóstico y tratamiento de esta condición genética rara. 63
- P55 - Lipopolysaccharide-induced disruption of the blood-labyrinth barrier: a new model to study hearing loss. 63
- P59 - DC-fish Tool Kit®. Nuevos modelos de Disqueratosis Congénita para la búsqueda de tratamientos personalizados. 64

Programa detallado de las presentaciones científicas

Se indica el identificador por el que se numeran los trabajos en el listado de resúmenes.

Martes 29 de junio de 2021 – Sesión de mañana Sesión cerrada de acceso exclusivo a inscritos

9:30 10:45 Inauguración y presentación general CIBERER

Raquel Yotti	Directora del Instituto de Salud Carlos III
Juan Carrión	Presidente de FEDER
Manuel Rego	Presidente de ASEM y del CAP del CIBERER
Pablo Lapunzina	Director Científico CIBERER

10:45 12:15 Sesión de resultados 1: Bases moleculares de la enfermedad

Modera: Eduardo Ruiz Pesini

O16 - A mechanistic approach: Finding new therapeutic targets using Machine Learning modelization of Retinosis Pigmentaria.

U715 Marina Esteban-Medina

O02 - Heterogeneidad molecular e implicaciones clínicas de la deficiencia de FXI: una enfermedad rara como modelo de nuevas terapias antitrombóticas.

U765 María Eugenia de la Morena Barrio

O03 - Germline and mosaic variants in PRKACA and PRKACB cause a multiple congenital malformation syndrome.

U760 Ana Rivera Barahona

O04 - Understanding MAGEL2 truncating mutations associated with Schaaf-Yang syndrome: biomarkers and in vitro models.

U720 Laura Castilla Vallmanya

12:15 12:30 Descanso

12:30 14:00 Sesión de resultados 2: Bases moleculares de la enfermedad

Modera: Manuel Palacín

O05 - Relevance of thrombin in the activation of the fluid contact phase in patients with Hereditary Angioedema carrying the F12 p.Thr309Lys variant.

U754 Alberto López Lera

006 - Relación de GDF15 y la dieta con el CIR y el remodelado cardiovascular asociado.

U722 Francesc Josep García García

007 - Functional involvement of actin-binding Gelsolin on mitochondrial OXPHOS dysfunction.

U723 María Illescas García

008 - Desarrollo terapéutico para PMM2-CDG mediante Biología Computacional.

U746 Diana Gallego Martínez

Martes 29 de junio de 2021 – Sesión de tarde
Sesión cerrada de acceso exclusivo a inscritos

Tiempo para visualizar las presentaciones cortas pregrabadas a demanda

Ver listado en Anexo

Miércoles 30 de junio de 2021 – Sesión de mañana

Sesión cerrada de acceso exclusivo a inscritos

9:30	11:00	<p>Sesión de resultados 3: Nuevos diagnósticos, terapias y herramientas de investigación</p> <p>Modera: Lidia González Quereda</p> <p>O09 - Preclinical pharmacological studies in Lafora Disease: in vivo and ex vivo evaluation for glutamatergic and neuroinflammatory modulation.</p> <p>U742 Belén Mollá Moliner</p> <p>O10 - Relevancia clínica del mosaicismo post-cigotico en el Síndrome de Cornelia de Lange.</p> <p>GCV02 Ana Latorre Pellicer</p> <p>O11 - Translational Diagnostics Program, an innovative hospital approach to genetic diagnosis of rare diseases.</p> <p>U732 Francesc Palau Martínez</p> <p>O12 - El hipocrecimiento segmentario se asocia a anomalías vasculares.</p> <p>U753 Víctor Martínez-Glez</p>
11:00	11:15	Descanso
11:15	12:45	<p>Sesión de resultados 4: Nuevos diagnósticos, terapias y herramientas de investigación</p> <p>Modera: Eduardo Gallardo</p> <p>O13 - Incremento en el diagnóstico de enfermedades genéticas mediante la implementación de una pipeline bioinformática a medida.</p> <p>U704 Raquel Romero</p> <p>O14 - Diagnosis of genetic white matter disorders by singleton whole-exome and whole-genome sequencing using interactome-driven prioritization.</p> <p>U759 Agustí Rodríguez-Palmero Seuma</p> <p>O15 - GENERATION OF CAR T-CELLS FOR THE TREATMENT OF SQUAMOUS CELL CARCINOMAS IN FANCONI ANEMIA PATIENTS.</p> <p>U710 Andrea López Arranz</p> <p>O01 - High diagnostic yield of multi-omics in prenatally detected congenital heart defects.</p>

U735 Carlos Ruiz Arenas

Miércoles 30 de junio de 2021 – Sesión de tarde Sesión cerrada de acceso exclusivo a inscritos

Tiempo para visualizar las presentaciones cortas pregrabadas a demanda
Ver listado en Anexo

Jueves 1 de julio de 2021 – Sesión de mañana Sesión abierta a inscritos y público externo

10:00	12:00	Mesa redonda: Retos y futuro de la investigación en Enfermedades Raras Modera: Isabel Varela-Nieto, Jefa de Grupo CIBERER - CSIC Belén Pérez Jefa de Grupo CIBERER - UAM Josep Torrent Presidente de SAB CIBERER Ion Arocena Director General de ASEBIO María Cavaller Patient Engagement Manager de EURORDIS Pablo Lapunzina Director Científico CIBERER
12:00	12:15	Premios a mejor ponencia y a mejor presentación corta pregrabada Entregan los premios: Isabel Varela-Nieto y Pablo Lapunzina
12:15	12:30	Cierre a cargo del Director Científico del CIBERER

Listado de resúmenes

Ponencia Principal Oral

Bases moleculares de la enfermedad

O01 - High diagnostic yield of multi-omics in prenatally detected congenital heart defects.

Autores: Carlos Ruiz-Arenas, Clara Serra-Juhé, Marcos López-Sánchez, Raquel Flores, Teresa Vendrell, Roser Corominas, Luis A. Pérez-Jurado

Grupo U735, presentado por Carlos Ruiz Arenas (carlos.ruiza@upf.edu)

INTRODUCTION: Congenital heart defects (CHD) are developmental abnormalities during heart embryogenesis affecting 7-15 per 1,000 newborns worldwide, being a major cause of infant death. CHD pathogenesis is multifactorial, comprising genetic variants along with environmental factors. Major genetic or epigenetic causes of CHD are poorly defined in isolated CHDs, with most cases remaining undiagnosed. **OBJECTIVES:** We have applied a multi-omic approach, including genome sequencing, methylome analysis (EPIC microarray), and RNAseq in a subset, to study heart tissue in a cohort of 41 fetuses from terminated pregnancies due to major CHD. Ulterior fetal necropsies did not reveal associated anomalies. CHDs were classified as conotruncal anomalies (21), hypoplastic left heart (13) or complex malformations (7). **RESULTS:** We found likely causative variants in 32 cases (78% diagnostic rate, including novel candidates): 10 cases with monogenic disorders, 10 with structural variants (deletions, duplications or chromosome anomalies); 7 cases showed more than one event indicative of oligogenic etiology. Potentially pathogenic epimutations were identified in 2 cases while singular epismutations differentiated cases with hypoplasia and conotruncal malformations, from cases with complex malformation and from controls. RNAseq identified 2 cases with splicing mutations, validated identified exomic variants and revealed singular transcriptomic effects in 5 additional cases. **CONCLUSIONS:** Our data shows how genome sequencing along with DNA methylation and RNAseq data on the affected tissue, can identify the underlying genetic alteration in almost 4 every 5 cases with isolated major CHD. In addition to improved molecular diagnosis, this approach provides clues into the mechanisms and physiopathology of CHDs.

O02 - Heterogeneidad molecular e implicaciones clínicas de la deficiencia de FXI: una enfermedad rara como modelo de nuevas terapias antitrombóticas.

Autores: María Eugenia de la Morena-Barrio¹, Belén de la Morena-Barrio¹, Carlos Bravo-Pérez¹, Antonia Miñano¹, Oscar Quintana-Bustamante², María García-Bravo², Eugenia Fernández-Mellid³, Emilia Fontanes-Trabazo³, José Carlos Segovia², Vicente Vicente¹, Javier Corral¹

Grupo U765, presentado por María Eugenia de la Morena Barrio (uge2985@hotmail.com)

INTRODUCCIÓN: Aunque la deficiencia de FXI se llama hemofilia C, modelos murinos de esta enfermedad rara no evidencian consecuencias hemorrágicas graves, pero sí una

protección antitrombótica que ha propiciado el desarrollo de inhibidores del FXI como nueva terapia anticoagulante. **OBJETIVO:** Caracterización funcional (incluidos modelos recombinantes), molecular y clínica de 272 pacientes con deficiencia de FXI de 105 familias identificados por TTPA prolongado, y prueba de concepto de un nuevo tratamiento anticoagulante basado en la edición génica del F11 mediante CRISPR-Cas9. **RESULTADOS:** Identificamos 29 variantes genéticas diferentes, 8 nuevas y 5 con efecto funcional. Caracterizamos mediante nanoporos una duplicación parcial y una delección de novo de 7Mb. Demostramos un efecto fundador para p.Cys56Arg, datando su origen hace 5400 años, y estableciendo su distribución geográfica/histórica. La incidencia de sangrado en la cohorte fue del 23,8%, pero los casos graves fueron excepcionales (1,4%). De hecho, 14 pacientes recibieron terapias antitrombóticas durante 945,4 meses, y sólo se registraron dos hemorragias leves que no condicionaron el tratamiento. Sólo 2 casos presentaron trombosis venosa, a pesar de la coexistencia de factores protrombóticos (trombofilia, cáncer, anticuerpos antifosfolípido o COVID-19). Identificamos una sgRNA con alta eficacia de distorsión del gen murino F11 (97%) in vitro. Ésta será empleada in vivo con el fin de conseguir protección antitrombótica permanente, disminuir el riesgo hemorrágico, el control periódico y los problemas de adherencia. **CONCLUSIONES:** La deficiencia de FXI presenta alta heterogeneidad molecular en caucásicos, donde posiblemente esté subestimada, tiene escaso impacto hemorrágico, pero confiere alta protección antitrombótica, abriendo nuevas perspectivas terapéuticas.

003 - Germline and mosaic variants in PRKACA and PRKACB cause a multiple congenital malformation syndrome.

Autores: Ana Rivera-Barahona, Adrian Palencia-Campos, Phillip C. Aoto, Erik M.F. Machal, Patricia Soto-Bielicka, Daniela Bertinetti, Blaine Baker, Lily Vu, Francesca Picci-Sparascio, Isabella Torrente, Eveline Boudin, Silke Peeters, Wim Van Hul, Celine Huber, Dominique Bonneau, Michael S. Hildebrand, Matthew Coleman, Melanie Bahlo, Mark F. Bennett, Amy L. Schneider, Ingrid E. Scheffer, Maria Kibæk, Britta S. Kristiansen, Mennat I Mehrez, Samira Ismail, Jair Tenorio, Gaoyang Li, Bjørn Steen Skålhegg, Ghada A. Otaify, Samia Temtamy, Mona Aglan, Aia Elise Jønch, Alessandro De Luca, Geert Mortier, Valérie Cormier-Daire, Alban Ziegler, Mathew Wallis, Pablo Lapunzina, Friedrich W. Herberg, Susan S. Taylor, Victor L Ruiz-Perez

Grupo U760, presentado por Ana Rivera Barahona (arivera@iib.uam.es)

INTRODUCTION PRKACA and PRKACB code for the catalytic subunits, Ca and C β , of cAMP-dependent protein kinase A (PKA), a pleiotropic holoenzyme essential for the regulation of numerous biological processes including development, memory, metabolism and immune response. **OBJECTIVES** In this work we studied genetically undiagnosed individuals who presented with a plethora of congenital birth defects. We also conducted experiments to elucidate the molecular mechanisms underlying this developmental syndrome. **RESULTS** As a result of an international collaborative work, we identified germline and mosaic heterozygous missense variants in PRKACA and PRKACB as the

genetic cause of a new multiple congenital malformation syndrome. Patients had congenital heart defects, mostly a common atrium or an atrioventricular septal defect, along with postaxial polydactyly as the main shared features. Some patients had additional anomalies, including short limbs, brachydactyly, facial and ectodermal anomalies or cognitive deficit. Analysis of the tertiary structure of PKA catalytic subunits showed that the identified variants affect Ca and C β interaction with regulatory subunits by disrupting interfacial surfaces or ATP binding. Functional analysis involving different experimental approaches confirmed that in comparison to the wild-type proteins, these variants increase the sensitivity of PKA holoenzymes to cAMP activation. Lastly, evaluation of hedgehog signaling in NIH3T3 fibroblasts revealed that the identified PRKACA and PRKACB variants impair the output of this developmental pathway. **CONCLUSIONS** This work represents the first association of a congenital malformation disorder to heterozygous mutations in the catalytic subunits of PKA, which highlights the important role of this protein during development of the human embryo.

O04 - Understanding MAGEL2 truncating mutations associated with Schaaf-Yang syndrome: biomarkers and in vitro models.

Autores: Laura Castilla-Vallmanya, Mónica Centeno-Pla, Héctor Franco-Valls, Aina Prat-Planas, Elena Rojano, Pedro Seoane, Miriam Navarro, Clara Oliva, Aida Ormazabal, Rafael Artuch, Isaac Canals, Raquel Rabionet, Daniel Grinberg, Susanna Balcells, Roser Urreizti

Grupo U720, presentado por Laura Castilla Vallmanya (lcastilla30@gmail.com)

Introduction: Truncating mutations in MAGEL2, a gene mapping in the Prader-Willi region (15q11-q13), are associated with Schaaf-Yang syndrome (#MIM 661554;SYS), a severe ultra-rare neurodevelopmental disease. SYS patients show a clinical phenotype partly overlapping the one typically observed in Prader-Willi syndrome patients (#MIM 176270;PWS). MAGEL2 contributes to the regulation of the retrograde transport and protein recycling pathways, potentially dysregulating APP transport and cleavage. **Materials & Methods:** In fibroblasts from SYS and PWS patients and controls, we analyzed the excretion levels of amyloid- β 1-40 peptide (A β 1-40). We also analyzed targeted metabolomic patterns (by mass spectrometry) and gene expression (by mRNAseq). We reprogrammed fibroblasts from 4 SYS patients and 2 controls to iPSCs and characterized them through immunocytochemistry and qPCR. **Results:** We observed a significant decrease of A β 1-40 levels in the extracellular media of SYS fibroblasts compared to PWS patients and controls. Preliminary results show small but statistically significant metabolomic alterations. We identified 132 DEGs, some of them related to mitotic mechanisms and extracellular matrix formation and organization. We have checked the pluripotency potential of two of the generated iPSC lines. **Conclusions:** A β 1-40 excretion level is a promising biomarker for SYS, and could help to better understand its pathophysiology. The identified DEGs in SYS fibroblasts suggest a potential novel role for MAGEL2 in mitosis and extracellular matrix homeostasis. The obtained iPSC lines open a new window for the establishment of a

relevant in vitro model for SYS, through differentiation to neuronal cell types and generation of brain organoids.

O05 - Relevance of thrombin in the activation of the fluid contact phase in patients with Hereditary Angioedema carrying the F12 p.Thr309Lys variant.

Autores: Raquel López Gálvez, Antonia Miñano, Monika Pathak, Carmen Marcos, Jonas Emsley, Teresa Caballero, Margarita López Trascasa, Vicente Vicente, Javier Corral, María Eugenia de la Morena-Barrio, Alberto López Lera

Grupo U754, presentado por Alberto López Lera (alberto.lopez@ciberer.es)

Background and objectives: An excessive bradykinin production is at the basis of life-threatening edematous episodes in Hereditary Angioedema due to mutations in the coagulation factor XII (HAE-FXII). Recent evidence demonstrates that the founder-effect p.Thr309Lys HAE-FXII variant (FXII309Lys) results in a hypoglycosylated protein which can be activated by plasmin, thrombin and coagulation FXI resulting in extensive contact system activation. In this report, we further investigated the impact of defective O-glycosylation on the proteolytic sensitivity and electrophoretic mobility of FXII309Lys. Materials and methods: We studied 33 HAE-FXII309Lys patients, 25 healthy controls and 46 patients with congenital disorders of glycosylation (CDG). Activation of the plasma contact system was assessed by western blot in basal conditions or after treatment with either artificial or physiological activators. Recombinant wild type and FXII309Lys variants were expressed in S2 insect (*Drosophila*) cells. Amidolytic activity and the generation and spontaneous/tPA-induced degradation of fibrin were evaluated in plasma samples. Results: Plasma FXII309Lys exhibits increased electrophoretic mobility (comparable to N-glycan-deficient FXII from CDG patients and asialo-FXII generated by neuraminidase treatment) and enhanced sensitivity to activation by dextran sulphate and silica, subsequently releasing an aberrant 37kDa heavy chain. Both exogenous and endogenous thrombin cleave the FXII309Lys variant, generating the 37kDa fragment and increased proteolytic activation on the fluid phase. Conclusions: This model supports a sequential proteolytic activation involving thrombin priming of FXII309Lys followed by kallikrein cleavage and generation of β -FXIIa. The current results and the observation that angioedema episodes in HAE-FXIIThr309Lys occur predominantly during hypercoagulable situations suggest a key role for thrombin.

O06 - Relación de GDF15 y la dieta con el CIR y el remodelado cardiovascular asociado.

Autores: Francesc Josep García-García, Mariona Guitart-Mampel, Sara Castro-Barquero, Ana María Ruiz-Leon, Mariona Gallego-Mena, Gemma Malats-Revelles, Elena Escalada-Casellas, Judith Cantó-Santos, Laura Valls-Roca, Lina Youssef, Laura Garcia-Otero, Kilian vellvé, Ana Sandra Hernández, Constanza Moren, Ester Tobias, Josep M. Grau, Rosa Casas, Fàtima Crispi, Eduard Gratacós, Francesc Cardellach, Glòria Garrabou

Grupo U722, presentado por Francesc Josep García García (fjgarcia@clinic.cat)

Background – Intrauterine growth restriction (IUGR, ORPPHA436114) affects 5-10% of newborn. It has been associated with adverse perinatal outcomes like cardiovascular remodelling and dysfunction, in accordance with higher BNP levels. IUGR increases the risks of intrauterine demise, neonatal morbidity, and death. Recent findings suggested that highly-influenced-diet-metabolic sensors, like GDF15, have a potential role as cardiomyokines, involved in oxidative stress and metabolic regulation. However, until date, no studies determined their effect in IUGR. **Aim** – To investigate (i) GDF15 value in early diagnosis and (ii) diet modulation to prevent IUGR. **Methods** – A single-site, cross-sectional and observational study was conducted including 20 IUGR pregnancies and 29 uncomplicated pregnancies (non-IUGR). Maternal serum (first trimester and delivery) and neonatal serum (delivery) were collected to measure GDF15 and BNP levels. Clinical and dietary data were obtained by validated Food Frequency Questionnaires to evaluate maternal dietary intake. Results were analysed through non-parametric tests. **Results** – At delivery, IUGR mothers presented increased GDF15 levels compared to first trimester ($p < 0.05$), not found in non-IUGR. Compared with non-IUGR, IUGR newborns showed increased BNP (162%; $p < 0.05$), validating studied IUGR-population, but also GDF15 (172%; $p < 0.05$) levels. Dietary data revealed that IUGR mothers showed significantly decreased intake of total oil (53%), olive oil (47%), MUFAs (33%) and PUFAs (34%) compared to non-IUGR. **Conclusions** – According to dietary differences of IUGR mothers, a healthy pattern diet including olive oil, might be a potential preventive tool for IUGR. GDF15 emerge as a novel/promising biomarker in IUGR. These outcomes set the path for new strategies to early detect and prevent IUGR.

007 - Functional involvement of actin-binding Gelsolin on mitochondrial OXPHOS dysfunction.

Autores: María Illescas, Ana Peñas, Miguel A. Martín, Cristina Ugalde

Grupo U723, presentado por María Illescas García (maria.illescas@hotmail.com)

The regulatory role of actin cytoskeleton on mitochondrial metabolism is a growing research field, but the molecular mechanisms behind this process remain poorly understood. Recent studies suggested the functional involvement of actin-binding Gelsolin (GSN) in the pathophysiology of mitochondrial OXPHOS disorders (MD). In human cellular models of MD, cytosolic GSN translocated to the mitochondrial outer membrane as a general response to OXPHOS deficiency, where it interacts with the voltage-dependent anion channel protein 1 (VDAC1) to promote cell survival responses. Interestingly, functional depletion of GSN in human cell lines (GSN-KO) by CRISPR-Cas9-based genome editing showed a direct impact of GSN loss on mitochondrial function. GSN loss resulted in aberrant mitochondrial ultrastructure associated with increased mitochondria-endoplasmic reticulum contact sites, and OXPHOS system defects as revealed by a specific decrease of complex III (CIII) enzyme activity. Phenotypic rescue of GSN-KO cells with over-expressed wild-type GSN restored CIII activity to normal levels, thus confirming a regulatory role for GSN on CIII biogenesis and function. Stable isotope labelling by amino acids in cell culture (SILAC) and

quantitative mass spectrometry (Q-MS) further revealed differential changes in the steady-state levels of mitochondrial proteins in the GSN-KO cell lines, allowing us to unravel the molecular mechanisms potentially underlying the functional involvement of GSN on mitochondrial function in health and disease.

O08 - Desarrollo terapéutico para PMM2-CDG mediante Biología Computacional.

Autores: Diana Gallego, Pedro Seoane, James R. Perkins, Teresa Sardón, Juan Antonio Ranea, Mercedes Serrano, Belén Pérez

Grupo U746, presentado por Diana Gallego Martínez (dgallego@cbm.csic.es)

INTRODUCCIÓN: PMM2-CDG, el defecto de glicosilación más frecuente, está causado por la deficiencia de fosfomanomutasa 2 (PMM2). Es una enfermedad multisistémica, de gravedad variable, con especial afectación del sistema nervioso. Actualmente carece de tratamiento efectivo. **OBJETIVOS:** En nuestro grupo estamos realizando el estudio de la patofisiología de la enfermedad desde un enfoque holístico por biología de sistemas con el objetivo de comprender los mecanismos moleculares asociados a los fenotipos clínicos, así como hallar nuevos biomarcadores, dianas terapéuticas y posibles tratamientos (chaperonas y fármacos reposicionados). **RESULTADOS:** En este trabajo hemos partido de datos de RNAseq de 12 líneas de fibroblastos de pacientes PMM2-CDG estratificados con términos HPO según la gravedad de su fenotipo. El enriquecimiento funcional de los genes diferencialmente expresados, obtenido a partir de GO, KEGG y Reactome, se utilizó para alimentar un modelo computacional de la enfermedad generado utilizando la tecnología TPMS (Therapeutic Performance Mapping System). Este modelo ha permitido identificar proteínas clave, agrupadas en motivos celulares potencialmente relevantes en la patofisiología, como Adhesión Celular, Senescencia, Regulación Ósea y Atrofia Cerebelosa, entre otros. Los ensayos de validación funcional en los fibroblastos confirmaron un posible defecto en la proliferación y la migración celular. Además, el modelo ha servido como base en la búsqueda de fármacos candidatos únicos o en combinaciones sinérgicas mediante un reposicionamiento virtual. **CONCLUSIONES:** Estos resultados han ampliado sustancialmente el conocimiento de las vías celulares afectadas en PMM2-CDG, proponiendo nuevas dianas terapéuticas y nuevos fármacos que serán evaluados en el futuro en el modelo murino de la enfermedad.

Nuevos diagnósticos

O10 - Relevancia clínica del mosaicismo post-cigótico en el Síndrome de Cornelia de Lange.

Autores: Ana Latorre-Pellicer, Marta Gil-Salvador, Ilaria Parenti, Cristina Lucia-Campos, Laura Trujillano, Iñigo Marcos-Alcalde, María Arnedo, Ángela Ascaso, Ariadna Ayerza-Casas, Rebeca Antoñanzas-Pérez, Cristina Gervasini, Maria Piccione, Milena Mariani, Axel Weber, Deniz Kanber, Alma Kuchler, Martin Munteanu, Katharina Khuller, Gloria Bueno-

Lozano, Beatriz Puisac, Paulino Gómez-Puertas, Angelo Selicorni, Frank J. Kaiser, Feliciano J. Ramos, Juan Pié

Grupo GCV02, presentado por Ana Latorre Pellicer (alatorre@unizar.es)

Cada vez son más frecuentes los casos descritos de mosaicismo post-cigótico (PZM) en el gen NIPBL en individuos con el Síndrome de Cornelia de Lange (SCdL). Sin embargo, la descripción de las correlaciones genotipo-fenotipo, así como las características moleculares de las variantes mosaico no han sido descritas en detalle. A través de una colaboración internacional, se ha realizado una detallada caracterización clínica y molecular de 11 nuevos individuos portadores de variantes mosaico en el gen NIPBL. La combinación de estos nuevos datos con los publicados anteriormente, revelan que la presentación clínica de la enfermedad no parece estar condicionada por la condición de mosaicismo. Tampoco se observan diferencias entre las características moleculares de las variantes mosaico y las constitutivas. Sin embargo, es de gran relevancia que todos los eventos descritos de PZM se han detectado en ADN procedente de saliva, orina, fibroblastos y/o músculo y, en menor medida (a veces indetectable) en el ADN de las células sanguíneas. Todo ello parece indicar la existencia de una selección “purificadora” en sangre de las variantes patogénicas de NIPBL. Por último, un estudio retrospectivo de una cohorte española de individuos con SCdL y su combinación con otros datos publicados, demuestran una prevalencia inusualmente alta de mosaicismo en el SCdL, llegando a suponer el 13% de los individuos diagnosticados molecularmente. En conclusión, la alta prevalencia del mosaicismo, así como la selección negativa en sangre de las variantes patogénicas de NIPBL, deben tenerse en cuenta en el asesoramiento genético de las familias con SCdL.

O11 - Translational Diagnostics Program, an innovative hospital approach to genetic diagnosis of rare diseases.

Autores: Jordi Pijuan, María Rodríguez-Sanz, Mònica Roldán, Anna Altisent, Dídac Casas, Mar Borregan, Janet Hoenicka, Francesc Palau

Grupo U732, presentado por Francesc Palau Martínez (fpalau@sjdhospitalbarcelona.org)

INTRODUCTION: There is a need to find the etiological diagnosis for managing and treating patients with undiagnosed and rare diseases (URDs). Genome sequencing has increased the rate of diagnosis of URDs, but it also detects genetic variants of unknown clinical significance (VUS) or inconsistent with the phenotype in a significant number of patients (17% of 4149 patients in our pediatric series). To assist clinicians in the variant classification in relation to patient's phenotype we have developed the in-house Translational Diagnostic Program (TDP) [[doi:10.1016/j.jmoldx.2020.10.006](https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.10.006)]. **OBJECTIVES:** To delineate the potential causality of VUS or phenotype-genotype correlation using a holistic approach “precision phenotyping - clinical genomics - functional genomics”. **RESULTS:** The TDP includes four steps: (1) comprehensive phenotype evaluation, including HPOs; (2) in silico analysis of the candidate genetic variant/s; (3) functional validation of the variant by molecular and cellular assays, and comparative computational analysis of confocal

microscopy images; (4) diagnostic decision-making with the referring physicians. Currently, the TDP has accepted 76 patients with neuromuscular, syndromic neurodevelopmental, or epileptic phenotypes. Fifty-one patients were considered for biological validation of the candidate genetic variant/s. We confirmed in 27 out of 51 patients a deleterious impact of the VUS upon the location/function of the encoded protein. Of the remaining patients, in 5 the variant had no impact on the coded product, and 19 are now under study. **CONCLUSIONS:** The genetic diagnosis of URD patients requires intramural functional genomics/diagnostics programs to support and resolve medical problems when the patient's variant is uncertain or inconsistent with the phenotype.

012 - El hipocrecimiento segmentario se asocia a anomalías vasculares.

Autores: Victor Martinez-Glez¹, Lara Rodriguez-Laguna, Vanesa Viana-Huete, Carolina García Torrijos, Begoña Hurtado, Paloma Triana, Juan Carlos López-Gutiérrez, Pablo Lapunzina

Grupo U753, presentado por Víctor Martínez-Glez (v.martz.glez@gmail.com)

Introducción: El sobrecrecimiento segmentario es frecuente en pacientes con anomalías vasculares congénitas (PROS, Proteus, Parkes-Weber). Sin embargo, el hipocrecimiento segmentario, erróneamente asociado al epónimo Servelle-Martorell, ha sido pobremente caracterizado. **Objetivo:** Con el objetivo de estudiar la asociación clínica y molecular del hipocrecimiento segmentarios asociado a malformaciones vasculares, se revisaron las características clínicas y moleculares de 35 pacientes con malformaciones vasculares e hipocrecimiento segmentario. Solamente consideramos hipocrecimiento segmentario verdadero cuando hay compromiso musculoesquelético. Se realizó NGS en 14 muestras de tejido utilizando un panel personalizado de anomalías vasculares. **Resultados:** Identificamos tres grupos clínicos: hipocrecimiento asociado a 1) malformaciones venosas, 2) capilares-venosas y 3) linfático-capilares-venosas. El hipocrecimiento, siempre congénito o de aparición temprana, puede presentarse con o sin sobrecrecimiento asociado. Se detectaron diferentes variantes patogénicas en 6 de 14 (43%) muestras de tejido en los genes PIK3CA, TEK y GNAQ. No se pudo establecer correlación entre grupos clínicos y genes alterados, aunque la presencia de malformaciones linfáticas orienta hacia variantes en PIK3CA. Destacamos uno de los pacientes con la variante PIK3CA:p.His1047Tyr que presentaba tanto hipocrecimiento musculoesquelético en pierna derecha como macrodactilia ipsilateral. **Conclusión:** El “fenómeno” Servelle-Martorell no debe utilizarse como sinónimo de hipocrecimiento. Aunque se desconoce su mecanismo fisiopatológico, el hipocrecimiento segmentario debe considerarse una característica asociada a las malformaciones vasculares. Los pacientes con variantes de PIK3CA muestran todas las diferentes combinaciones de sobrecrecimiento (PROS, PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum) e hipocrecimiento (PRUS?). Por tanto, el término PROS no cubre todo el espectro.

Nuevas terapias

O09 - Preclinical pharmacological studies in Lafora Disease: in vivo and ex vivo evaluation for glutamatergic and neuroinflammatory modulation.

Autores: Belén Mollá, Miguel Heredia Pérez, Ángela Campos and Pascual Sanz

Grupo U742, presentado por Belén Mollá Moliner (bmolla@ibv.csic.es)

Lafora disease (LD; OMIM# 274780) is a fatal rare neurodegenerative disorder that affects young adolescents and has no therapeutic treatment. The clinical course involves a progressive myoclonus epilepsy with decline in mental and neurologic functions which turns in a 10 years of survival prognostic from the onset. LD is caused by mutations in either EPM2A or EPM2B genes, which respectively encode laforin, a dual specificity phosphatase, and malin, a E3-ubiquitin ligase. LD knockout mouse models (Epm2b^{-/-} and Epm2a^{-/-}) recapitulates polyglucosan body accumulation as the hallmark of the human pathology and they have been useful to unravel alterations in glutamatergic transmission and neuroinflammatory pathways in the brains of LD mice. In this work, we show four preclinical studies based on glutamatergic and anti-neuroinflammatory interventions as therapeutical strategies in an Epm2b^{-/-} mouse model. Drugs were administered in mice from 3 to 5 months of age, and we evaluated the beneficial effect of the drugs by in vivo behavioral phenotyping and ex vivo histopathological brain analysis. For behavioral assessment, a battery of anxiety, memory, depression and neurodegeneration tests was performed including open-field, y-maze, object location memory (OLM), TST (Tail Suspension Test) and hindlimb claspings. For histopathological analysis, an extensive panel of markers regarding polyglucosan accumulation, astrogliosis, microgliosis and neuronal mass was measured. Overall, we present the results of ameliorating the excessive glutamatergic neurotransmission present in Epm2b^{-/-} mice and also the effects of two additional drugs with a recognized anti-inflammatory effect.

O15 - GENERATION OF CAR T-CELLS FOR THE TREATMENT OF SQUAMOUS CELL CARCINOMAS IN FANCONI ANEMIA PATIENTS.

Autores: Andrea López Arranz, Paula Vela Cristóbal, Begoña Díaz Cabezas, John Maher, Juan A. Bueren Roncero, Jose A. Casado Olea

Grupo U710, presentado por Andrea López Arranz (andrea.lopez@externos.ciemat.es)

Introduction Fanconi anemia (FA) is an inherited disease associated with bone marrow failure and cancer predisposition. Studies have shown that FA patients have a 600-fold increased incidence of head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC) compared to non FA patients, and it is even higher in FA patients transplanted with allogeneic hematopoietic stem cells. Current therapies for FA-SCCs are inefficient and toxic due to the hypersensitivity of FA patients to radio-chemotherapy. For these reason, immunotherapy approaches based on the use of anti-SCC CAR T-cells constitute a promising therapeutic approach for FA-HNSCC. Objectives To generate FA CAR T-cells with cytotoxic activity

against FA-SCCs. PB T-lymphocytes from healthy donors (HD) and FA patients were transduced with a retroviral vector developed by Maher, and already used for the treatment of HNSCCs in non-FA patients. This vector facilitates the generation of CAR T-cells recognizing the EGF receptor (EGFR), highly expressed in FA-HNSCCs. Results As happened in samples from HDs, PB T-cells from FA patients generated CAR T-cells that expressed the EGFR-recognizing ligand. Although the ex vivo expansion of FA-CARs was not as high as HD CAR T-cells, a similar percentage of CAR T-cells was obtained from HDs and FA samples (60-75% in FA vs 35-70% in HD). FA CAR T-cells induced a strong cytotoxic effect in FA-HNSCC cells (FANCA-/- CAL27 cells); similar to the one induced by HD CAR T-cells. Conclusions Our results show for the first time the possibility of generating CAR T-cells from FA patients as a new therapeutic approach to eradicate FA-HNSCCs.

O16 - A mechanistic approach: Finding new therapeutic targets using Machine Learning modelization of Retinosis Pigmentaria.

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

Grupo U715, presentado por Marina Esteban-Medina
(marina.esteban@juntadeandalucia.es)

Introducción: La retinosis pigmentaria (RP) constituye la principal causa genética de ceguera en el mundo desarrollado, además actualmente no existen tratamientos efectivos que prevengan su progresión. La integración del conocimiento sobre mecanismos celulares y el efecto de fármacos junto con metodologías de machine learning (ML) está impulsando el descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas facilitando el reposicionamiento de fármacos en nuevas enfermedades. **Objetivos/Material y Métodos:** Partiendo de los genes asociados a RP según ORPHANET/OMIM y ampliando con genes que comparten HPO implicados en RP, seleccionamos los circuitos de señalización de KEGG que contienen los genes identificados, obteniendo el "Mapa funcional de RP". Utilizando datos transcriptómicos de GTEx y el algoritmo HiPathia, obtuvimos los perfiles de actividad de los circuitos. Mediante ML inferimos el efecto de los genes diana de fármacos aprobados (DA) de DRUGBANK sobre los circuitos. Se validó el efecto de los genes más relevantes mediante qRT-PCR en modelos murinos de RP. **Resultados:** El modelo mecanístico del Mapa funcional de RP nos ha permitido inferir el impacto de genes DA en RP. Hemos detectado 106 genes relevantes, de los cuales se seleccionaron 7 relacionados con Apoptosis, Necrosis, Respuesta a estrés, Respuesta sensorial, Inflamación, Metabolismo de ácidos grasos y Reparación del ADN para su validación experimental. **Conclusiones:** Hemos desarrollado un modelo mecanístico que describe el Mapa funcional de RP y evalúa el impacto que tienen los genes DA, identificando aquellos candidatos más prometedores para el reposicionamiento de fármacos y proponiendo nuevas vías de estudio en la enfermedad.

Nuevas herramientas de investigación

O13 - Incremento en el diagnóstico de enfermedades genéticas mediante la implementación de una pipeline bioinformática a medida.

Autores: Raquel Romero, Lorena de la Fuente, Marta del Pozo, Irene Perea-Romero, Rosa Riveiro, María José Trujillo, Inmaculada Martín-Mérida, Almudena Ávila-Fernández, Ionut-Florin Iancu, Gonzalo Núñez-Moreno, Berta Almoguera, Marta Cortón, Pablo Minguez, Carmen Ayuso

Grupo U704, presentado por Raquel Romero (raquel.romerof@quironsalud.es)

El exoma clínico (CES) se ha consolidado como una primera prueba diagnóstica para enfermedades genéticas por su versatilidad, cubre la mayoría de los genes conocidos causantes de enfermedades mendelianas. El rendimiento diagnóstico del CES es del 30%, sin embargo, aunque la variante causal se encuentra a menudo en el material secuenciado puede no ser detectada por diversos motivos como limitaciones en métodos analíticos o vacíos en bases de datos. Un reanálisis sistemático de casos negativos utilizando algoritmos de análisis actualizados podría aumentar el rendimiento diagnóstico. Hemos utilizado 3 cohortes: General (n=4212), Cáncer (n=614) y Cardio-genética (n=128), para comparar la eficiencia de un protocolo bioinformático propio (FJD-pipeline) con los protocolos comerciales (Illumina y Sophia Genetics). Se ha evaluado la eficacia de la FJD-pipeline para detectar las variantes causales de casos positivos. Finalmente, se han reanalizado una selección de casos negativos utilizando Priorr, un programa gráfico propio de filtrado y priorización. La FJD-pipeline demuestra un rendimiento superior en la detección de INDELS y de variantes no exónicas. Nuestra pipeline además detecta la variante causal en el 99.84% de los casos analizados. El incremento diagnóstico para las cohortes de Cáncer y Cardiogenética resultó ser un 2.5% y un 3.5%, respectivamente, y un 4.4% para la cohorte general. En este estudio, se ha conseguido un aumento en el rendimiento diagnóstico de enfermedades mendelianas gracias al reanálisis sistemático de casos negativos. Estos resultados abren la puerta a la implementación del reanálisis de casos negativos como una herramienta diagnóstica más en los servicios de genética.

O14 - Diagnosis of genetic white matter disorders by singleton whole-exome and whole-genome sequencing using interactome-driven prioritization.

Autores: Agustí Rodríguez-Palmero, Agatha Schlüter, Edgard Verdura, Valentina Vélez-Santamaría, Montserrat Ruiz, Stéphane Fourcade, Laura Planas-Serra, Juan José Martínez, Cristina Guilera, Marisa Girós, Rafael Artuch, Maria Eugenia Yoldi, Mar O'Callaghan, Angels García-Cazorla, Judith Armstrong, Claire Redin, Jean Louis Mandel, David Conejo, Concepción Sierra-Córcoles, Sergi Beltran, Marta Gut, Elida Vázquez, Mireia del Toro, Mónica Troncoso, Hugo A. Arroyo, Andrés Barrios, Andrea Campo, Tamara Castillo, Rosario Cazorla, María Asunción García, Ainhoa García, Antonio Hedrera, Juan Hernández, Nathalie Launay, Maria Lorenzo, José Félix Martí, Concepción Miranda, Elisabet Mondragón, Fermín Moreno, Amaia Muñoz, Juan Narbona, M^a Socorro Pérez,

Maria Antonia Ramos, Miquel Raspall-Chaure, Manel Roig-Quilis, Miguel Ángel Urtasun, María Esther Vázquez, Juan Francisco Vázquez. Luis A. Pérez-Jurado, Luis Gutiérrez-Solana, Adolfo López de Munain, Carlos Casasnovas, Sergio Aguilera-Albesa, Alfons Macaya, Aurora Pujol

Grupo U759, presentado por Agustí Rodríguez-Palmero Seuma (arodriguezpalmtero.germanstria@gencat.cat)

Background: Genetic white matter disorders (GWMDs) are of heterogeneous origin, with more than a hundred causal genes identified to date. Classical targeted approaches achieve a molecular diagnosis in only half of all patients. Objectives: Here we aim to determine the clinical utility of singleton whole-exome sequencing and whole-genome sequencing (sWES-WGS) interpreted with a phenotype- and interactome-driven prioritization algorithm in a case series of patients of all ages with undiagnosed GWMD despite extensive standard-of-care paraclinical studies. The patients were recruited between April 2017 and December 2019 in a collaborative study at the Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL) and neurology units of tertiary Spanish hospitals. Results: We received 126 patients (101 children and 26 adults), with ages ranging from 1 month to 74 years. We obtained a first molecular diagnosis by singleton WES in 59% of cases, which increased to 68% after annual reanalysis and reached 72% after WGS was performed in 16 of the remaining negative cases. We identified variants in 57 different genes among 91 diagnosed cases, with the most frequent being RNASEH2B, EIF2B5, POLR3A and PLP1. We discovered 9 candidate genes causing novel diseases, and propose additional putative novel candidate genes for yet-to-be discovered GWMD. Discussion: Our strategy enables a high diagnostic yield and is a good alternative to trio WES/WGS for GWMD. It shortens the time to diagnosis compared to the classical targeted approach, thus optimizing appropriate management. Furthermore, the interactome-driven prioritization pipeline enables the discovery of novel disease-causing genes and phenotypes, and predicts novel putative candidate genes.

Presentación corta pregrabada

Bases moleculares de la enfermedad

P04 - Most of mitochondrial dGTP is tightly bound to respiratory chain complex I through NDUFA10.

Autores: Yolanda Cámara, David Molina-Granada, Emiliano González-Vioque, Marris G. Dibley, Raquel Cabrera-Pérez, Antoni Vallbona-Garcia, Javier Torres-Torronteras, Michael T. Ryan and Ramon Martí

Grupo U701, presentado por Yolanda Cámara Navarro (yolicamara@gmail.com)

Introduction: A balanced mitochondrial dNTP pool is critical to maintain sufficient and accurate DNA replication. However, we have found that dGTP is largely overrepresented over the other dNTPs in mitochondria. Although dNTPs are thought to be mostly dissolved in the mitochondrial matrix, a large proportion of dGTP appears bound to the protein fraction

both in mouse tissues and human cells mitochondria. Objectives: To identify the protein/s responsible for dGTP binding and to further characterize the interaction. Methods and Results: We found that most mitochondrial dGTP co-immunoprecipitates or co-migrates on discontinuous sucrose gradients with native respiratory chain complex I in mouse tissues. By affinity-purification with dGTP immobilized on agarose beads and subsequent LC-ESI-MS/MS we have identified the NDUFA10 subunit as the responsible for the complex I-dGTP interaction. NDUFA10 is a supernumerary subunit essential for the complex assembly. It has no described enzyme activity though it shares a deoxynucleoside kinase (dNK) domain with kinases participating in dNTP synthesis. Photoaffinity labeling and pull-down assays on purified protein demonstrated that NDUFA10 selectively binds to dGTP. We have mutated dNK domain of NDUFA10 in human 293HEK cells without altering complex I activity or assembly. NDUFA10dNK mutant protein shows reduced dGTP binding capacity in vitro whilst NDUFA10dNK mutant cells show a 50% reduction in endogenous mitochondrial dGTP. Conclusions: Our results demonstrate that a vast majority of mitochondrial dGTP is tightly bound to the dNK domain of NDUFA10. This interaction may represent a novel mechanism regulating mitochondrial dNTP availability and linking mitochondrial oxidative metabolism to DNA maintenance.

P06 - Análisis de los patrones de metilación del ADN en genoma completo en la enfermedad de Hirschsprung: descifrando el epigenoma del desarrollo del Sistema Nervioso Entérico.

Autores: Leticia Villalba-Benito, Daniel López-López, Ana Torroglosa, Carlos S. Casimiro-Soriguer, Raquel María Fernández, María José Moya-Jiménez, Guillermo Antiñolo, Joaquín Dopazo y Salud Borrego

Grupo U702, presentado por Leticia Villalba Benito (leticia.villalba.benito@gmail.com)

INTRODUCCIÓN: La enfermedad de Hirschsprung (HSCR, OMIM 142623) es una neurocristopatía originada por la incapacidad de las células precursoras entéricas (CPE) para colonizar el intestino por completo durante el desarrollo del Sistema Nervioso Entérico (SNE), debido a alteraciones en los procesos de migración, proliferación, diferenciación y/o supervivencia de estas células. El desarrollo del SNE es un proceso complejo regulado por una extensa red de vías de señalización exhaustivamente controlada por factores genéticos y epigenéticos, por tanto, alteraciones a este nivel dan lugar a HSCR. **OBJETIVOS:** Esclarecer el papel de la metilación del ADN en la aparición de HSCR. Para lo cual llevamos a cabo el primer estudio de metilación de ADN de genoma completo en CPE de pacientes HSCR. **RESULTADOS:** Detectamos un descenso global de la metilación del ADN en los sitios CpG en pacientes HSCR, lo cual se correlaciona con una mayor hipometilación de las regiones diferencialmente metiladas (RDM) detectadas. A través del análisis comparativo de las RDM entre pacientes y controles, hemos identificado un grupo de nuevos genes como posibles factores de susceptibilidad para la enfermedad, además de detectar genes previamente relacionados con HSCR, lo cual valida la aproximación llevada a cabo en este trabajo. **CONCLUSIONES:** Este estudio pone de manifiesto la importancia de un adecuado

patrón de metilación para un correcto desarrollo del SNE, reafirmando el interés de ampliar el paradigma establecido para HSCR con el análisis desde un punto de vista epigenético, lo que llevaría a un conocimiento de la etiopatogenia de dicha enfermedad más completo.

P10 - Generación de líneas celulares como modelos para seleccionar tratamientos en feocromocitoma y paraganglioma metastásico.

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

Grupo U706, presentado por Alberto Díaz Talavera (adiast@ext.cnio.es)

Los feocromocitomas y paragangliomas (PPGLs) son tumores neuroendocrinos raros (incidencia de 3-8 por millón de habitantes). Además, es el tumor humano con mayor tasa de heredabilidad: el 40% de los PPGLs se desarrollan como consecuencia de mutaciones germinales en alguno de los 20 genes conocidos relacionados con su desarrollo. En torno a un 20-25% de los pacientes de PPGLs desarrollan metástasis (PPGLm), y de éstos, la supervivencia a 5 años es muy heterogénea (40-70%). Actualmente, el único tratamiento curativo es la cirugía, ya que los tratamientos sistémicos tienen una tasa de respuesta muy variable, y han mostrado en general falta de eficacia. Por lo tanto, es un tumor muy raro con una extraordinaria heterogeneidad genética, y variabilidad clínica en la evolución de los pacientes. En la actualidad, los factores de riesgo para predecir desarrollo de metástasis son escasos e imprecisos. Por tanto, hemos realizado una búsqueda de nuevos marcadores en los datos genómicos de la amplia serie de tumores de PPGL que disponemos en el grupo U706. Nuestro análisis, junto con otros ya publicados, han permitido describir y validar como marcador la fusión UBTF-MAML3 como un evento genético asociado al desarrollo de metástasis. Además, los análisis indican que diferentes rutas de reparación de DNA se ven alteradas en pacientes con PPGLm. Actualmente, estamos generando líneas celulares que recapitulen los eventos genómicos encontrados para caracterizar los cambios fenotípicos y moleculares y buscar posibles tratamientos.

P11 - The endothelial landscape and its tumor development role in von Hippel-Lindau disease.

Autores: de Rojas-P Isabel , Albiñana Virginia, Recio-Poveda Lucía, Cuesta Ángel, Botella Luisa-María

Grupo U707, presentado por Virginia Albiñana (vir_albi_di@yahoo.es)

Von-Hippel Lindau disease (VHL) is a rare hereditary disease characterized by the predisposal to develop different types of highly vascularized tumors. VHL patients carry a VHL mutation that causes partial lack of functional VHL protein (pVHL) in all cells, and a total lack thereof in cells harboring a second hit mutation. Absence of pVHL generates a prolonged state of pseudo-hypoxia in the cell due to accumulation of Hypoxia Inducible Factor-1 (HIF-1), an important transcription factor regulating pro-tumorigenic genes. The

work here presented focuses on characterizing the endothelium of VHL patients, by means of blood outgrowth endothelial cells (BOECs). Transcriptome analysis of VHL-derived BOECs, further supported by in vitro assays, shows that these cells are in disadvantage, as evidenced by loss of cell adhesion capacity, angiogenesis defects, immune and an oxidative metabolism genes downregulated, that induces an excess of oxidative stress residues, ROS. These results would suggest that the endothelium of VHL patients is functionally compromised, and more susceptible to tumor development. These findings contribute to shed light on the vascular landscape of VHL patients preceding the second hit mutation in VHL. This knowledge could be useful in searching new therapies for these patients.

P12 - SARS-CoV-2 Infection in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia Patients Suggests Less Clinical Impact Than in the General Population.

Autores: Sol Marcos , Virginia Albiñana , Lucía Recio-Poveda , Belisa Tarazona, María Patrocinio Verde-González, Luisa Ojeda-Fernández, Luisa-María Botella

Grupo U707, presentado por Luisa-María Botella Cubells (cibluisa@cib.csic.es)

At the moment of writing this communication, the health crisis derived from the COVID-19 pandemic has affected more than 120 million cases, with 40 million corresponding to Europe. In total, the number of deaths is almost 3 million, but continuously rising. Although COVID-19 is primarily a respiratory disease, SARS-CoV-2 infects also endothelial cells in the pulmonary capillaries. This affects the integrity of the endothelium and increases vascular permeability. In addition, there are serious indirect consequences, like disruption of endothelial cells' junctions leading to micro-bleeds and uncontrolled blood clotting. The impact of COVID-19 in people with rare chronic cardiovascular diseases is unknown so far, and interesting to assess, because the virus may cause additional complications in these patients. The aim of the present work was to study the COVID-19 infection among the patients with Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia (HHT). A retrospective study was carried out in a 138 HHT patients' sample attending an Ear Nose and Throat (ENT) reference consult. The evaluation of the COVID-19 infection in them reveals milder symptoms; among the 25 HHT patients who were infected, only 3 cases were hospitalized, and none of them required ICU or ventilation assistance. The results are discussed in the light of macrophage immune response.

P14 - Elevada tasa de variantes de novo en pacientes con discapacidad intelectual.

Autores: Alejandro J. Brea-Fernández, Miriam Álvarez-Barona, Jorge Amigo, María Tubío-Fungueiriño, Pilar Caamaño, Montserrat Fernández-Prieto y Ángel Carracedo

Grupo U711, presentado por Alejandro Brea-Fernández (a.brea@usc.es)

INTRODUCCIÓN La discapacidad intelectual (DI), un trastorno del neurodesarrollo que afecta al 1-3% de la población general, se caracteriza por limitaciones en la función intelectual y en las habilidades adaptativas. La elevada heterogeneidad genética de la DI dificulta el diagnóstico genético en estos pacientes, por lo que es habitual que permanezcan

durante largo tiempo en los sistemas de salud esperando un diagnóstico genético definitivo. El advenimiento de la Next Generation Sequencing, y en particular la secuenciación de exoma (SE), ha permitido la identificación de la causa genética de la DI en un considerable número de pacientes, especialmente en aquellos casos de diagnóstico complicado. En este sentido, la SE basada en tríos parece reforzar y facilitar aún más el proceso del diagnóstico genético de la DI en estos pacientes. **OBJETIVOS** Identificar la causa genética subyacente y alcanzar el diagnóstico genético definitivo en una cohorte de pacientes con DI. **RESULTADOS** La SE en 254 pacientes y sus respectivos padres ha permitido identificar la causa genética subyacente a la DI en 63 de estos pacientes. De las 73 variantes deletéreas identificadas, 49 (67,12%) son variantes de novo. **CONCLUSIONES** La SE de tríos ha demostrado una gran utilidad para el diagnóstico genético de la DI en nuestra cohorte, arrojando una tasa de diagnóstico del 24,8%. No obstante, un resultado no diagnóstico no excluye absolutamente la presencia de la variante causal. Por lo tanto, el reanálisis sistemático de exomas no diagnósticos podría mejorar la identificación de variantes patogénicas e incrementar la tasa diagnóstica.

P15 - Phenotypic variability of patients with PAX8 variants presenting congenital hypothyroidism and eutopic thyroid.

Autores: Núria Camats-Tarruella, Noelia Baz-Redón, Mónica Fernández-Cancio, María Clemente, Ariadna Campos-Martorell, Nadya Jaimes, María Antolín, Elena Garcia-Arumí, Laura Blasco-Pérez, Ida Paramonov, Eduard Mogas, Laura Soler-Colomer, Antonio Moreno-Galdó, Diego Yeste

Grupo U712, presentado por Núria Camats Tarruella (nuria.camats@vhir.org)

Introduction: Thyroid dysmorphogenesis is a heterogeneous group of hereditary diseases produced by a total/partial blockage of the biochemical processes of thyroid-hormone synthesis and secretion. PAX8 is essential for thyroid morphogenesis and thyroid hormone synthesis. **Objectives:** We aimed to identify PAX8 variants in patients with thyroid dysmorphogenesis and to analyze them with in-vitro functional studies. **Methodology:** **Patients:** Nine pediatric patients from the Catalan-screening program of Congenital Hypothyroidism, with a eutopic thyroid gland. Scintigraphies showed absent, low or normal uptake. Only one patient had a hypoplastic gland. In reevaluation, perchlorate discharge test was negative or compatible with partial iodine-organization deficit. After evaluation, eight patients showed permanent mild or severe hypothyroidism. **Methods:** Massive-sequencing techniques were used to detect variants in congenital hypothyroidism-related genes. In-vitro functional studies were based on transactivating activity of mutant PAX8 on a TG-gene promoter and analyzed by a dual-luciferase assays. **Results:** We identified 7 heterozygous PAX8 exonic variants and 1 homozygous PAX8 splicing variant in 9 patients with variable phenotypes of thyroid dysmorphogenesis. Five were novel and five variants showed a statistically significant impaired transcriptional activity of TG promoter: 51-78% versus the wild type. **Conclusions:** Nine patients presented PAX8 candidate variants. All presented eutopic thyroid gland and seven had deleterious variants. Phenotype of affected patients

varies considerably, even within the same family; but, all, except the homozygous patient, presented normal eutopic thyroid gland and thyroid dysmorphogenesis. PAX8 functional studies have shown that six PAX8 variants are deleterious. Our studies have proven their effectiveness in evaluating these variants.

P21 - CERKL, a retinitis pigmentosa gene, is involved in the regulation of mitochondrial dynamics in the mammalian retina and hippocampus.

Autores: Rocío García-Arroyo, Gemma Marfany, Serena Mirra

Grupo U718, presentado por Rocío García-Arroyo (rociogarciaarroyo@ub.edu)

INTRODUCTION CERKL mutations cause Retinitis Pigmentosa and Cone-Rod dystrophy in humans, two rare diseases characterized by photoreceptor neurodegeneration and progressive vision loss, eventually leading to blindness. The function of CERKL still remains to be precisely determined, although preliminary evidences indicate that CERKL is a sensor of photoreceptor stress by contributing to the formation of RNA stress granules and probably by regulating mitochondrial dynamics. In the retina, photoreceptors and retinal ganglion cells (RGCs) are neurons characterized by a high metabolism and are thus more susceptible to mitochondrial dysfunction. As CERKL produces a wide range of mRNA isoforms that produce proteins displaying different domains, CERKL subcellular localization and functional role may be different depending on the domains of each protein isoform. **OBJECTIVES** We aim to study the impact of different isoforms of Cerkl on the mitochondrial network organization and dynamics using live imaging on CerklKD/KO mouse neuronal cells in order to shed light onto the human disease. **RESULTS** We detected CERKL expression in hippocampus, where its intracellular behaviour and dynamics is similar to those in RGCs: a pool of CERKL isoforms clearly localize at mitochondria. Hence, we used hippocampal cells as a suitable tool to study mitochondrial dynamics through live imaging. Our results show that the depletion of Cerkl causes alterations in mitochondrial size, area and trafficking. **CONCLUSIONS** Overall, our studies support that Cerkl is a neural gene involved in the regulation of mitochondrial dynamics, thus becoming a new player in the multiple pathways that control mitochondrial health in the mammalian retina.

P22 - CERKL, a retinal dystrophy gene, regulates mitochondrial function and dynamics in the mammalian retina.

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

Grupo U718, presentado por Serena Mirra (sere.mirra@gmail.com)

Introduction The retina is a highly active metabolic organ that displays a particular vulnerability to genetic and environmental factors causing stress and homeostatic imbalance. Mitochondria constitute a bioenergetic hub that coordinates stress response and cellular homeostasis, therefore structural and functional regulation of the mitochondrial

dynamic network is essential for the mammalian retina. CERKL (ceramide kinase like) is a retinal degeneration gene whose mutations cause Retinitis Pigmentosa in humans, a rare disease characterized by photoreceptors neurodegeneration and progressive vision loss. We have evidences that CERKL is involved in regulating mitochondrial dynamics. Objectives We aim to elucidate the precise cellular and molecular function of CERKL in mammalian retina, by taking advantage of the knockdown/knockout (CerkIKD/KO) in vivo model, recently generated by our group. Results We describe a pool of CERKL isoforms localizing at mitochondria in mouse retinal ganglion cells primary culture. In addition, by using the CerkIKD/KO model, we studied the impact of CERKL downregulation on mitochondrial function and mitochondrial network organization. Our results showed that CerkIKD/KO retinas are characterized by increased autophagy. Additionally, depletion of Cerk1 causes alteration of the mitochondrial size and distribution, and dysregulation of mitochondrial metabolism and other energy-related markers. Conclusions We showed that CERKL is a relevant retinal gene involved in the regulation of mitochondrial biology and metabolism, and provide a solid link between inherited retinal disorders and the alteration of cell metabolism and homeostasis in the mammalian retina. The characterization of CerkIKD/KO retinas will contribute to the design of effective treatments for patients carrying CERKL mutations.

P23 - Distinctive endothelial and angiogenic signature of preeclampsia and SARS-CoV-2 infection in pregnancy.

Autores: Marta Palomo, Lina Youssef, Sara Fernandez, Sergi Torramadé-Moix, Ana Belen Moreno-Castaño, Julia Martinez-Sanchez, Laura Bonastre, Marc Pino, Pilar Gomez-Ramirez, Lidia Martin, Estefania Garcia Mateos, Pablo Sánchez, Francesca Crovetto, Ginés Escolar, Enric Carreras, Pedro Castro, Eduard Gratacós, Maribel Diaz-Ricart, Fátima Crispi

Grupo U719, presentado por Fátima Crispi (fcrispi@clinic.cat)

INTRODUCTION: Endothelial dysfunction is crucial in SARS-CoV-2 infection. COVID-19 in pregnancy might be misdiagnosed as preeclampsia, an endothelial pregnancy-related syndrome that shares clinical and analytical features with COVID-19. **OBJECTIVES:** To study endothelial damage, microvascular thrombosis, immune response and angiogenic imbalance in preeclampsia and COVID-19 in pregnancy. **METHODS:** Plasma and sera samples were obtained from pregnant women with severe COVID-19 (n=9) to assess circulating VCAM-1, TNF-receptor I (TNFRI), angiotensin II (ANGII), heparan sulfate (HS), thrombomodulin (TM), vWF antigen, activity and multimeric pattern, dsDNA for neutrophil extracellular traps (NETs), C5b9, PAI-1, α -2-antiplasmin, ADAMTS-13 activity, fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt1) and placental growth factor (PIGF). Endothelial damage and alteration in signaling pathways triggered by sera samples were also analyzed in vitro. Results were compared to those obtained in SARS-CoV-2 negative pregnant women as controls (n=10), and patients with severe preeclampsia (n=13). **RESULTS:** Both COVID-19 and preeclampsia showed abnormal results in most endotheliopathy and immune response markers, with distinctive profiles among them: severe COVID-19 with predominant alterations in HS, NETS and PIGF, versus PE with most significant alterations in VCAM-1,

TNFRI, ANGII, VWF, PAI, c5b9 and sFlt1. The principal component analysis (PCA) demonstrated a clear separation between preeclampsia and the rest of groups (first and second components explained 40.8% and 13.5% of the variance), mainly differentiated by variables related to VWF that were markedly reduced in preeclampsia. **CONCLUSIONS:** COVID-19 and preeclampsia exhibit distinctive profiles of endothelial damage, immune dysregulation and angiogenic imbalance, which could help in the differential diagnosis and development of new therapeutic strategies.

P24 - The 14-3-3 gene family contributes to neurodevelopmental disorders: genetics, functional studies and zebrafish models.

Autores: Ester Antón-Galindo, Elisa Dalla Vecchia, Javier G. Orlandi, Gustavo Castro, Pablo Loza Alvarez, William HJ Norton, Bru Cormand, Noèlia Fernández-Castillo

Grupo U720, presentado por Ester Antón Galindo (ellantongalindo@gmail.com)

BACKGROUND: The 14-3-3 protein family is a group of molecular chaperones involved in several biological processes that are important for neuronal development. We previously identified, through whole-exome sequencing, a frameshift variant (c.659-660insT, p.L220Ffs18) in the *YWHAZ* gene, encoding 14-3-3<U+03B6>, in two siblings with Autism Spectrum Disorder (ASD) and attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). **AIM:** Here we explored the contribution of 14-3-3 family members, and *YWHAZ* in particular, to neurodevelopmental and psychiatric disorders by investigating: (i) functional impact of the 14-3-3<U+03B6> mutation; (ii) contribution of genetic risk variants in 14-3-3 genes to neurodevelopmental and psychiatric disorders; (iii) role of *ywhaz* in nervous system development and function using a zebrafish knockout (KO) model. **RESULTS:** First, using in vitro assays, we showed that the p.L220Ffs18 truncating variant produced an impairment of 14-3-3<U+03B6> function. Second, genetic studies revealed an enrichment of ultra-rare variants in ASD across the 14-3-3 genes and in schizophrenia for *YWHAZ*, whereas common variants in *YWHAZ* contribute to schizophrenia. Furthermore, the expression of 14-3-3 genes was found altered in post-mortem brains of ASD and schizophrenia patients. Third, whole-brain imaging analyses performed in *ywhaz* KO larvae showed an altered hindbrain neuronal activity and connectivity in KO animals. Interestingly, *ywhaz* KO adults present decreased monoamine levels in the hindbrain and show a freezing behaviour that can be reversed with drugs acting on serotonin and dopamine neurotransmission. **CONCLUSIONS:** All this evidence supports a genetic contribution of the 14-3-3 family to neurodevelopmental disorders and provides clues to unravel the underlying mechanisms and to help develop therapeutical approaches.

P25 - Inflammasome genes expression as biomarkers in ALS and FTD patients.

Autores: Laura Expósito Blázquez, Gabriel García Salamero, Irene Contreras Hoyo, Sofía Bellón Membrilla, Daniel Borrego Hernández, Ana Cristina Calvo Royo, Pilar Cordero Vázquez, Alberto Villarejo Galende, Sara Llamas Velasco, Marta González-Sánchez, Miguel

Ángel Martín Casanueva, Jesús Esteban Pérez, Rosario Osta Pinzolas, Alberto García Redondo

Grupo U723, presentado por Laura Expósito Blázquez (lexpositobla.imas12@h12o.es)

Introduction: There is a growing need to identify specific biomarkers that facilitate the diagnosis and prognosis of neurodegenerative diseases such as amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD). Neuroinflammation plays an important role in the pathogenesis of these pathologies. **Objectives:** The aim of this study is to determinate the diagnostic capacity of these inflammatory genes as potential biomarkers both on ALS and FTD, and their clinical predictors of prognosis. **Method:** cDNA serial samples from lymphocytes of 55 ALS patients and 42 FTD patients were subjected to quantitative PCR in order to study expression levels of LGALS1 and NLRP3. These levels were related to the main clinical parameters like days since symptoms onset, ALSFRS-r, ALSFRS-r slope, diagnostic delay, age of onset of symptoms, and others. **Statistical analysis** was performed using SPSS Statistics version 22 (IBM, Spain). **Results:** We found a significant down expression of LGALS1 in FTD patients on respect to control group. Additionally, NLRP3 expression correlated significantly with diagnostic delay in FTD patients and Spearman correlation between ALSFRS-r score and diagnostic delay was also found significant. **Conclusions:** The expression of LGALS1 could not be considered as a diagnostic biomarker in FTD patients due to the low sensitivity and specificity values shown in the present study. Regarding the functioning of the inflammasome, we have not been able to see an alteration in an important component, NLRP3. Any case, it would be necessary to introduce new components related to inflammasome to reach more significant and conclusive results.

P26 - Efficient application of next-generation sequencing for the diagnosis of neurodevelopmental diseases.

Autores: Irene Madrigal Bajo, María Isabel Álvarez Mora, Aurora Sánchez, Susana Puig Sarda, Laia Rodríguez-Reventa Bodi

Grupo U726, presentado por IRENE MADRIGAL BAJO (imadbajo@clinic.cat)

Introduction: Neurodevelopmental disorders (NDDs) are a group of are a group of heterogeneous conditions, which include intellectual disability, autism spectrum disorders, attention deficit hyperactivity disorder and global developmental delay. NDDs are highly heterogeneous and both genetic and environmental factors play an important role in many of them. **Objectives:** The introduction of whole exome (WES) and genome (WGS) sequencing has lead to the detection of genetic variants in several genetic diseases. **Results:** In our series, next generation technologies were applied in 82 families with one or several members affected with neurodevelopmental disorders. Identification of disease-causing variants was achieved in 35% of the families who could receive a genetic diagnosis and genetic counselling. The majority of identified variants are located in know NDDs genes; nevertheless, several of these variants are rare, and in some cases the clinical

manifestations do not correspond to the classic syndromic forms. One of the identified variants occurred in the CHD9 gene that is a strong genetic candidate for NDDs. Conclusion: WES is a useful analysis tool for detecting genetic causes in patients with unexplained NDDs. Furthermore, our results have shown that WGS is especially valuable in patients for whom previous WES had resulted negative or inconclusive. We hope that in a short time, the application of WGS may become as a first-tier diagnostic test that will transform genetic assessment in rare diseases.

P27 - Development and characterization of induced pluripotent stem cells harbouring a mitochondrial DNA deletion.

Autores: Carmen Hernández-Ainsa, Ester López-Gallardo, Irene Jiménez-Salvador, M^a Concepción García-Jiménez, Carmen Rodríguez-Vigil, Julio Montoya, Eduardo Ruiz-Pesini, Sonia Emperador

Grupo U727, presentado por Carmen Hernandez-Ainsa (carmenha@unizar.es)

INTRODUCTION Pearson syndrome (PS) is a rare multisystem disease caused by single large scale mitochondrial DNA deletions (SLSMDs). PS presents early in infancy and it is mainly characterized by sideroblastic anaemia treated by blood transfusions. Treatment is supportive and patients usually pass away early in childhood, but in some cases, they develop Kearns-Sayre syndrome (KSS) with multiorgan effect including neurological symptoms. Thus, development of new models for the study of these pathologies and new therapy strategies is essential.

OBJECTIVE Generation and characterization of induced pluripotent stem cells (iPSC) carrying a mitochondrial DNA (mtDNA) deletion by reprogramming fibroblasts from a PS patient with “common deletion” for in vitro study of the pathophysiology of these diseases. **RESULTS** In this communication we show the generation and validation of a new iPSC line carrying mtDNA “common deletion” by determining different parameters representative of pluripotent cells, including their capacity to differentiate into three germ layers. Our iPSCs maintain a high heteroplasmy level during culture and they show an important mitochondrial dysfunction. Therefore, the presence of the deletion does not affect the pluripotency of defective line. However, we observe that mtDNA deletion impair the correct neural differentiation of iPSC determined by morphological characterization and quantification of mRNA and protein levels of specific markers. **CONCLUSION** Thus, this new model will be useful for the in vitro study of the pathophysiology of mtDNA deletions in specific cell types affected in PS and KSS patients and the development of new treatments.

P30 - GEMIN5: La paradoja de la deficiencia secundaria de CoQ10 llama a la puerta.

Autores: Carlos Santos-Ocaña, Rafael Artuch, María Victoria Cascajo-Almenara, Aurora Pujol, Udai Bhan Pandey, Ana Sánchez Cuesta, Plácido Navas

Grupo U729, presentado por Carlos Santos Ocaña (csanoca@upo.es)

Introducción En 2006 fue publicado un caso de deficiencia de CoQ10 con ataxia cerebelosa que mejoró tras el tratamiento con CoQ10. Sin embargo, no se pudo obtener un diagnóstico molecular definitivo. Recientemente, una secuenciación del exoma ha mostrado que el paciente porta una mutación bialélica en GEMIN5, un componente del complejo SMN (Survival Motor Neuron) implicado en la regulación transcripcional. La búsqueda de pacientes similares permitió encontrar un caso de GEMIN5 que está incluido en un amplio estudio de pacientes con atrofia cerebelosa y retraso en el desarrollo motor. **Objetivos** El objetivo de este trabajo es determinar si la deficiencia de CoQ10 es una manifestación clínica común a los pacientes GEMIN5. **Resultados** Ambos pacientes muestran una deficiencia de CoQ10, con disminución de masa mitocondrial, y una disfunción mitocondrial manifestada por un bajo consumo de oxígeno, depleción del ADNmt y una disminución de la expresión de proteínas COQ. El transcriptoma muestra una represión de la biogénesis mitocondrial, oxidación de ácidos grasos, ciclo de Krebs, actividad OXPHOS, desarrollo del músculo esquelético y la acumulación snRNA. La represión transcripcional afecta de forma específica a genes que codifican proteínas necesarias para la síntesis de CoQ10, la fosfatasa PPTC7 y factores de transcripción implicados en la biogénesis mitocondrial como PGC-1a. **Conclusiones** Los fibroblastos derivados de ambos pacientes muestran una alteración de la función mitocondrial con una deficiencia de CoQ10 que se puede denominar secundaria atendiendo a los criterios clínicos actuales (no se afectan genes COQ) pero que muestra característica de una deficiencia primaria de CoQ10.

P31 - La estructura del transportador LAT2/CD98hc revela mecanismos moleculares de especificidad de sustratos y de patología debidos a mutaciones en los transportadores HAT.

Autores: Carlos F Rodríguez, Paloma Escudero-Bravo, Lucía Díaz, Paola Bartoccioni, Carmen García-Martín, Joan G Gilabert, Jasminka Boskovic, Víctor Guallar, Ekaitz Errasti-Murugarren, Oscar Llorca y Manuel Palacín

Grupo U731, presentado por Manuel Palacín Prieto (manuel.palacin@irbbarcelona.org)

Introducción: A pesar de tener estructuras similares, cada miembro de los transportadores heteroméricos de aminoácidos (HAT) muestra preferencias para el intercambio de ciertos aminoácidos. Esta especificidad de sustratos determina el papel fisiológico de cada HAT. A pesar de ello, la base molecular de esta especificidad se desconoce. **Objetivos:** crio-ME estructura de LAT2/CD98hc humano y bases moleculares de la especificidad de sustratos. **Resultados:** Tras resolver la estructura de LAT2/CD98hc humano por crio-ME, hemos utilizado una estrategia multidisciplinar para identificar determinantes de la especificidad de sustratos de los transportadores HAT de aminoácidos neutros. De hecho, hemos identificado mutaciones que intercambian los perfiles de sustratos de estos transportadores HAT. Los residuos identificados se localizan en el lugar de unión de sustratos y en una región alejada de este. Esta región acumula mutaciones asociadas a sordera y cataratas que causan cambio en la especificidad de sustratos en LAT2. **Conclusión:** hemos identificado mecanismos moleculares que gobiernan la especificidad de sustratos que

podrían estar en la base de nuevos mecanismos de patología de las enfermedades asociadas a mutaciones en los transportadores HAT.

P32 - Players in macrophage iron accumulation in LPI mouse model.

Autores: Judith Giroud-Gerbetant, Fernando Sotillo, Rafael Artuch, Aida Ormazabal, Günter Weiss, Manuel Palacín, Susanna Bodoý

Grupo U731, presentado por Judith Giroud Gerbetant Deus (judith.giroudgerbetant@irbbarcelona.org)

Macrophages are involved in a wide range of cellular processes. Specifically, red pulp macrophages (RPMs) orchestrate red blood cell (RBC) degradation and iron recycling, thus, ensuring body iron homeostasis and metal delivery for erythropoiesis. Herein, we uncover a novel mechanism that links amino acid metabolism to iron homeostasis and erythropoiesis. Slc7a7 encodes for y+LAT1, a light subunit of the heterodimeric amino acid transporter family, which is involved in cationic amino acid transport across the basolateral membrane of epithelial cells. Mutations in Slc7a7 gene give rise to Lysinuric Protein Intolerance (LPI), a rare and severe autosomal recessive disease. Intriguingly, y+LAT1 is also involved in arginine transport in non-polarized cells such as macrophages. Here we report that complete inducible Slc7a7 ablation compromises proper erythropoiesis and that dysfunctional RBC generation leads to increased erythrophagocytosis, RPM iron overload and an altered iron metabolism. Mechanistically, the expression of the cellular iron exporter ferroportin-1 expression was compromised by increased plasma hepcidin and LPI metabolic environment, ultimately all contributing to macrophage iron accumulation. Moreover, altered erythropoiesis might be compromised due to decreased erythropoietin plasma levels, influencing thus erythrocyte development and recycling. This study establishes a new crucial link between arginine metabolism and iron homeostasis in macrophage.

P33 - GDAP1–LAMP-1 IS A NEW TETHERING PAIR OF MITOCHONDRIA-LYSOSOME MEMBRANE CONTACT SITES THAT IS DEFECTIVE IN CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE.

Autores: Lara Cantarero, Elena Juárez-Escoto, Azahara Civera-Tregón, María Rodríguez-Sanz, Mònica Roldan, Raul Benítez, Janet Hoenicka, Francesc Palau

Grupo U732, presentado por Lara Cantarero Abad (lcantarero@sjdhospitalbarcelona.org)

Introduction: Mitochondrial membrane contact sites (MCSs) allow bidirectional communication between mitochondria and other organelles for specific functions. Recently, mitochondria–lysosome MCSs have been identified as regulators of mitochondrial fission and lysosomal dynamics and transport via the lysosomal GTPase Ras-related protein RAB7. However, the protein tethers between these organelles are still unknown. GDAP1 is an atypical glutathione S-transferase located in both the outer mitochondrial membrane and the mitochondrial contacts with endoplasmic reticulum (MAMs). Since mutations in GDAP1 cause Charcot–Marie–Tooth (CMT) neuropathy, its function is essential for peripheral nerve

physiology. Our previous studies showed mitochondrial network defects, associated with abnormal autophagic vesicles. Nevertheless, the underlying pathophysiological mechanisms remain elusive. Objectives: Deepening the study of GDAP1-related CMT pathophysiology in order to know the primary insults that may lead us to new therapeutic targets. Results: We demonstrate in both the SH-SY5Y knockdown clone G4 and the embryonic motor neurons from the Gdap1 KO mouse that GDAP1 participates in lysosome maturation by interacting with PYKfyve, a pH-dependent kinase. Notably, we present GDAP1–LAMP-1 as a new tethering pair of mitochondria-lysosome MCSs. GDAP1 deficiency reduces MCSs between these organelles, impairs lysosomal and mitochondrial network morphology and decreases cellular glutathione levels. The antioxidant GSH-reduced ethyl ester (GSH-MEE) rescues lysosomal membrane and mitochondrial dynamics defects but not mitochondrial MCSs [1]. Conclusions: GDAP1 enables the proper function of mitochondrial MCSs which could explain primary insults in GDAP1-related CMT pathophysiology and highlights new redox-sensitive targets in axonopathies where mitochondria and lysosomes are involved. 1. [DOI:10.1093/hmg/ddaa243](https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa243)

P35 - Age-related microRNA overexpression in Lafora disease: at the crossroads between inflammation and oxidative stress.

Autores: Lucía Márquez-Thibaut, Sheila Lorente-Pozo, Concepción Garcés, José Luis García-Giménez, Mireia Moreno-Estellés, Carmen Aguado, Federico V. Pallardó, Pascual Sanz and Carlos Romá-Mateo

Grupo U733, presentado por Lucía Márquez Thibaut (lumart2@alumni.uv.es)

Introduction: microRNA-mediated regulation of gene expression lies at the center of an increasing number of molecular networks critical for the maintenance of cell homeostasis. As such, alterations in microRNA expression can be found in many pathological conditions, to the point that microRNA profiles are being proposed as biomarkers of disease onset, progression, and treatment monitoring. Several specific microRNAs have been directly related to regulation of the antioxidant response, and at the same time, oxidative stress has proven to affect the expression of certain microRNAs. Objectives: the aim of this work was to analyze the age-related altered expression of two specific microRNAs (inflamma-miRs), miR-146a and miR-155, in two different mouse models of the rare progressive myoclonus epilepsy called Lafora disease (LD). These animal models have previously shown important alterations in gene expression mainly related to inflammatory pathways, as well as an increase in oxidative stress parameters and a defective antioxidant response. Results: our results show correlative alterations between these two microRNAs and the expression of antioxidant, pro- and anti-inflammatory genes, which can also be observed in cellular models of the disease, as well as in other cellular models subjected to oxidative stress or inflammatory stimuli. Conclusions: these data pave the road for the use of these microRNAs as biomarkers for LD and, at the same time, provide further insights on their role at the crossroads between inflammation, oxidative stress, and LD pathophysiology.

P36 - Cannabinoid signaling modulation through JZL184 restores key phenotypes of a mouse model for Williams-Beuren syndrome.

Autores: Alba Navarro-Romero, Lorena Galera-López, Paula Ortiz-Romero, Alberto Llorente-Ovejero, Lucía de los Reyes-Ramírez, Aleksandra Mas-Stachurska, Marina Reixachs-Solé, Antoni Pastor, Rafael de la Torre, Rafael Maldonado, Begoña Benito, Eduardo Eyra, Rafael Rodríguez-Puertas, Victoria Campuzano, Andrés Ozaita

Grupo U735, presentado por Victoria Campuzano Uceda (vcampuzanou@ub.edu)

Williams-Beuren syndrome (WBS) is a genetic neurodevelopmental disorder caused by a hemizygous deletion of 26 to 28 genes into chromosomal band 7q11.23. WBS is characterized by mild intellectual disability and hypersocial phenotype, while the most life-threatening features are cardiovascular abnormalities. Nowadays, there are no available treatments to ameliorate the main traits of WBS. The endocannabinoid system (ECS) is a homeostatic neuromodulator system involved in many physiological functions. Alterations of this neuromodulatory system have been described in several mouse models for autism spectrum disorders with altered sociability. ECS could be a potential druggable target in this syndrome. We investigated the brain components of the ECS in the complete deletion (CD) mouse model of WBS and assessed the impact of its pharmacological modulation in key phenotypes relevant for WBS. The analysis of the main components of the ECS revealed an increased density and functional coupling to Gi/o proteins of CB1R in the amygdala, a region with major role in social behavior and where structural and functional abnormalities have been described in WBS patients. Additionally, we reveal that sub-chronic administration of the monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 normalized relevant behavioral phenotypes in CD mice including social behavior and memory alterations. Interestingly, this treatment also restored some of the cardiac alterations found in the model with a partially reverted gene expression patterns to the normal phenotype. Altogether, our results reveal the modulation of the ECS as a promising novel therapeutic approach to improve key phenotypic alterations in WBS.

P39 - Functional characterization of 105 Factor H variants associated with atypical HUS: lessons for variant classification.

Autores: Héctor Martín Merinero, Yuzhou Zhang, Emilia Arjona, Guillermo del Angel, Renee Goodfellow, Elena Gomez-Rubio, Rui-Ru Ji, Malkoa Michelena, Richar J. H. Smith, Santiago Rodríguez de Córdoba

Grupo U738, presentado por Hector Martín Merinero (hectormartin@cib.csic.es)

Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) is a life-threatening thrombotic microangiopathy that can progress, when untreated, to end-stage renal disease. Most frequently, aHUS is caused by complement dysregulation due to pathogenic variants in genes that encode complement components and regulators. Amongst these genes, the Factor H (FH) gene, CFH, presents with the highest frequency (15-20%) of variants and is associated with the poorest prognosis. Correct classification of CFH variants as pathogenic or benign is

essential to clinical care but remains challenging owing to the dearth of functional studies. As a result, significant numbers of variants are reported as variants of uncertain significance. To address this knowledge gap, we expressed and functionally characterized 105 aHUS-associated FH variants. All FH variants were categorized as pathogenic or benign, and for each, we fully documented the nature of the pathogenicity. Twenty-six previously characterized FH variants were used as controls to validate and confirm the robustness of the functional assays used. Of the remaining 79 uncharacterized variants only 28 (35.4%) alter FH in vitro expression or function and are therefore proposed to be pathogenic. We show that rarity in control databases is not informative for variant classification, and we identify important limitations in applying prediction algorithms to FH variants. Based on structural and functional data, we suggest ways to circumvent these difficulties and thereby improve variant classification. Our work highlights the need for functional assays to interpret FH variants accurately if clinical care of patients with aHUS is to be individualized and optimized.

P46 - Identification of the GlialCAM interactome: the G protein-coupled receptors GPRC5B and GPR37L1 modulate Megalencephalic leukoencephalopathy proteins.

Autores: Marta Alonso-Gardón^{1,#}, Xabier Elorza-Vidal^{1,2,#}, Aida Castellanos^{1,2}, Gina La Sala³, Mercedes Armand-Ugon¹, Alice Gilbert⁴, Chiara Di Pietro³, Adrià Pla-Casillanis¹, Francisco Ciruela⁵, Xavier Gasull⁶, Virginia Nunes⁷, Albert Martínez⁸, Uwe Schulte⁹, Martine Cohen-Salmon⁴, Daniela Marazziti³, Raúl Estévez^{1,2,*}

Grupo U750, presentado por Marta Alonso Gardón (malonsga@gmail.com)

Megalencephalic Leukoencephalopathy with subcortical Cysts (MLC) is a type of vacuolating leukodystrophy which is mainly caused by mutations in MLC1 or GLIALCAM. The two MLC-causing genes encode for membrane proteins of yet unknown function that have been linked to the regulation of different chloride channels such as the CIC-2 and VRAC. To gain insight into the role of MLC proteins, we have determined the brain GlialCAM interacting proteome. The proteome includes different transporters and ion channels known to be involved in the regulation of brain homeostasis, proteins related with adhesion or signaling as several G protein-coupled receptors (GPCRs), including the orphan GPRC5B and the proposed prosaposin receptor GPR37L1. Focusing on these two GPCRs, we could validate that they interact directly with MLC proteins. The inactivation of Gpr37l1 in mice upregulated MLC proteins without altering their localization. Conversely, a reduction of GPRC5B levels in primary astrocytes downregulated MLC proteins, leading to a impaired activation of CIC-2 and VRAC. The interaction between the GPCRs and MLC1 was dynamically regulated upon changes in the osmolarity or potassium concentration. We propose that GlialCAM and MLC1 associate with different integral membrane proteins modulating their functions and acting as a recruitment site for various signaling components as the GPCRs identified here. We hypothesized that the GlialCAM/MLC1 complex is working as an adhesion molecule coupled to a tetraspanin-like molecule performing regulatory effects through direct binding or influencing signal transduction events.

P47 - Complement Factor D (adipsin) levels are elevated in patients with Barraquer-Simons syndrome.

Autores: Fernando Corvillo, Laura González-Sánchez, Alberto López-Lera, Emilia Arjona, Giovanni Ceccarini, Ferruccio Santini, David Araújo-Vilar, Rebecca J. Brown, Joan Villarroya, Francesc Villarroya, Santiago Rodríguez de Córdoba, Teresa Caballero, Pilar Nozal, Margarita López-Trascasa

Grupo U754, presentado por Fernando Corvillo Rodríguez (fcorvillo@yahoo.es)

Introduction: Complement over-activation has been reported in most patients with Barraquer-Simons syndrome (BSS), a rare form of partial lipodystrophy. Complement Factor D (FD) is a serine protease with a crucial role in the activation of the alternative pathway of the complement system, which is mainly synthesized by adipose tissue. However, its role in the pathogenesis of BSS has not been addressed. **Objectives:** In this study, plasma FD concentration was measured in 13 patients with BSS, 20 patients with acquired generalized lipodystrophy, 22 patients with C3 glomerulopathy (C3G), and 50 healthy controls. Gene expression and immunohistochemistry studies were assayed using adipose tissue from a patient with BSS. **Results:** We found significantly elevated FD levels in BSS compared with the remaining cohorts ($P < 0.001$). There were no significant differences in FD levels between sexes; but FD was strongly and directly associated with age in BSS ($r = 0.7593$, $P = 0.0036$). A positive correlation between FD and C3 was seen in patients with C3G, characterized by decreased FD levels due to chronic C3 consumption, but no correlation was detected for BSS. Following mRNA quantification in the patient's adipose tissue, we observed decreased CFD and C3 but elevated C5 transcript levels. In contrast, the increased FD staining detected in the atrophied areas reflects the effects of persistent tissue damage on the adipose tissue, thus providing information on the ongoing pathogenic process. **Conclusions:** Our results suggest that FD could be a biomarker involved in the pathophysiology of BSS by promoting unrestrained local complement activation in the adipose tissue environment.

P48 - CAG repeats- associated non-ATG translation in C. elegans.

Autores: Gómez-Escribano AP, Trujillo-Del Río C, Tortajada-Pérez J, Millán JM, Vázquez-Manrique RP

Grupo U755, presentado por Ana Pilar Gómez Escribano (apgomezescibano@gmail.com)

INTRODUCTION Abnormal expansions of CAGs, in coding regions, alter RNA and protein functions, causing disease. Relatively recently, it has been shown that these expansions promote ATG-independent non-conventional translation, the so-called RAN translation (from Repeat-associated Non-ATG translation). This is a novel process characteristic of repetitive expansion diseases and produces homopolimeric peptides from all open reading frames of these expansions (i.e. CAG-polyglutamines; AGC-polyserines; GCA-polyalanines). They discovered that RAN translation is conserved in *Drosophila* and all vertebrates studied. However, there are not clear evidences that it is evolutionary conserved in the nematode *C. elegans*. **OBJECTIVE** To develop *C. elegans* models that express CAG expansions in frame

with mNeonGreen fluorescent protein in order to identify RAN endogenous peptides in vivo. **RESULTS** We have evaluated different number of CAG triplets from pathological (139CAG, 60CAG and 36CAG) to non-pathological (9CAG) range in Huntington disease. Our findings show that the models expressing high and moderate number of repeats appear to produce RAN translation of polyalanines fused to mNeonGreen, that aggregate and decreases viability of worms. **CONCLUSIONS** These results represent the first evidence of CAG-associated RAN translation in *C. elegans*. These models may help to identify key mechanisms that modulate RAN translation and to investigate whether it contributes to the progression of the disease, together with CAG-containing RNA and polyQs

P54 - Análisis genético, epigenómico y transcriptómico de los schwannomas vestibulares. Relación con factores implicados en la hipoacusia y el crecimiento tumoral.

Autores: Luis Lassaletta, Carmen Ruiz, Ana Jiménez, Lourdes Rodríguez, Jose Manuel Morales, Jose Miguel Coscaya, Víctor Martínez, Sandra Franco, Isabel Varela Nieto

Grupo U761, presentado por Luis Lassaletta Atienza (luikilassa@yahoo.com)

INTRODUCCIÓN Los schwannomas vestibulares son tumores benignos originados a partir de las células de Schwann del VIII nervio craneal. Pueden ser esporádicos unilaterales y asociados con el síndrome NF2. **OBJETIVOS** Presentar los estudios experimentales preliminares encaminados a comprender las bases de la afectación auditiva y el comportamiento de los SVs. **MÉTODO** Recogida prospectiva de muestras tumorales. Generación de cultivos primarios de células tumorales para el análisis del secretoma tumoral, correlacionándolos con variables histológicas, epidemiológicas, clínicas, quirúrgicas y radiológicas con implicación en el comportamiento biológico del tumor. **RESULTADOS** Se han recogido 35 muestras de tumor, en 7 de las cuales se ha realizado el cultivo celular. En los cultivos celulares se han identificado dos tipos de células con morfología diferente, uno de ellos con un marcaje alto de S100, (S100 high) y otro tipo celular son células más pequeñas, S100 low, con menor expresión de antígeno. El análisis anatomopatológico ha mostrado un patrón Antoni A en el 77% de los tumores analizados, células xantomatosas en el 23% y fibrosis intensa o moderada en el 61%. La expresión de Ki-67 ha sido <5% en todos los casos analizados. Los tumores con células S100low y aquellos con células xantomatosas presentaron menor proliferación que aquellos con células S100high y sin células xantomatosas. **CONCLUSIONES** Los resultados preliminares sugieren la presencia de dos tipos celulares en los cultivos realizados hasta la fecha que presentan una potencial repercusión clínica pendiente de confirmar con los próximos casos analizados.

P56 - Neuropatía hereditaria compleja asociada a mutaciones en el gen TRMT5.

Autores: Herminia Argente-Escrig, Miguel Á. Martín, Marina Frasset, Elvira Millet, Fernando Mas, Inmaculada Pitarch, Miguel Tomás, Inmaculada Azorin, Roger Vílchez, Nuria Muelas, Juan J. Vílchez, Carmen Espinós, Vincenzo Lupo y Teresa Sevilla

Grupo U763, presentado por Herminia Argente-Escrig (hermiargente@hotmail.com)

INTRODUCCIÓN: Mutaciones el gen TRMT5 se han asociado con diversos déficits clínicos en tres familias con intolerancia al ejercicio, acidosis láctica y deficiencias en el complejo I y IV en el músculo esquelético. Algunos pacientes desarrollaron neuropatía tras décadas de evolución, pero nunca ésta dominó el cuadro clínico. **OBJETIVOS:** Investigar las mutaciones causales y detallar el fenotipo de 3 pacientes pertenecientes a 3 familias aparentemente no relacionadas con neuropatía hereditaria asociada a retraso del neurodesarrollo y mutaciones en este gen. **RESULTADOS:** Los tres pacientes resultaron heterocigotos compuestos para mismas variantes en el gen TRMT5 (ARNt metiltransferasa 5): una mutación descrita previamente, c.312_315del, que conduce a un codón de parada prematuro p.Ile105SerfsTer4, y la variante c.665T>C que predice el cambio de aminoácido Ile222Thr. TRMT5 es un gen nuclear implicado en la correcta maduración de los ARNt mitocondriales. La clínica se inició con retraso de las adquisiciones motoras, deformidad de pies, debilidad muscular distal e inestabilidad de la marcha. Presentaban también baja estatura, signos de ataxia cerebelosa, afectación piramidal y discapacidad intelectual. Los estudios electrofisiológicos fueron compatibles con una neuropatía desmielinizante. La RM cerebral mostró atrofia cerebelosa. Se observó una disminución leve aislada de la actividad enzimática de complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) en homogenado muscular de uno de los pacientes. En los otros dos pacientes la CRM fue normal. **CONCLUSIONES:** Las mutaciones de TRMT5 halladas en estos pacientes son la causa de un síndrome neurológico complejo que se expresa fundamentalmente por neuropatía y retraso del neurodesarrollo.

P58 - CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA MUTACIÓN QUE CAUSA INTERFERONOPATÍA TIPO I Y DESARROLLO DE MODELOS ANIMALES PARA MEDICINA PERSONALIZADA.

Autores: Diana García-Moreno, Francisco J. Martínez-Morcillo, Alicia Martínez-López, Haleh Nikzamid, Isabel Cabas-Sánchez, Teresa Martínez-Menchón, Pablo Mesa del Castillo, María L. Cayuela, Ana B. Pérez-Oliva, Victoriano Mulero

Grupo U768, presentado por Diana García Moreno (dianagm@um.es)

Las Interferonopatías tipo I son un grupo heterogéneo y creciente de enfermedades raras monogénicas autoinflamatorias asociadas con una señalización elevada del interferón (IFN) tipo I. Los mecanismos son complejos y presentan fenotipos clínicos variados. Presentamos un caso de síndrome autoinflamatorio grave de inicio temprano caracterizado por lesiones cutáneas de vasculitis que evolucionaron a necrosis en dedos, nariz y oídos y calcificaciones intracraneales. El WES del paciente no reveló mutaciones en los genes descritos responsables del fenotipo. El Trio-WES revela una nueva lista de posibles mutaciones patogénicas que estamos comprobando en la actualidad. El análisis transcriptómico de los leucocitos de sangre periférica del paciente mostraron una clara firma de interferón, que se confirmó sus linfocitos inmortalizados. Dicha firma se redujo considerablemente tras tratamiento con Baricitinib (inhibidor de JAK kinasas). Además, los

linfocitos inmortalizados del paciente acumularon ADN de cadena simple que activaría la ruta de señalización de los TLRs, pero no las rutas de señalización citosólicas, de acuerdo con los estudios de inhibición genética y farmacológica realizados. En paralelo, hemos desarrollado varios modelos de interferonopatía en pez cebra mediante la inactivación génica de *copa*, *isg15* y *samhd1* con CRISPR/Cas9 o mediante sobreexpresión del ARNm de *ifih1* con una mutación encontrada en pacientes (p.Arg742His) que reproducen la firma del interferón cuando se estimulan con dosis subóptimas de poli I:C o IFN tipo I. Por último, acabamos de encontrar un segundo paciente con la misma sintomatología que vamos a analizar mediante WES con el fin de poder encontrar la mutación causante de la enfermedad.

Nuevos diagnósticos

P02 - Transferrin isoforms, old but new biomarkers in Hereditary Fructose Intolerance.

Autores: Ainara Cano, Carlos Alcalde, Amaya Belanger, Elvira Cañedo, Leticia Ceberio¹, Silvia Chumillas, Patricia Correcher, María Luz Couce, Dolores García Arenas, Igor Gómez, Tomás Hernandez, Elsa Izquierdo-García, Dámaris Martínez Chicano, Montserrat Morales, Consuelo Pedrón, Estrella Petrina, Luis Peña, Paula Sánchez, Juli Serrano, María Unceta, Isidro Vitoria, Javier de las Heras

Grupo GCV10, presentado por Ainara Cano San José
(ainara.canosanjose@osakidetza.eus)

INTRODUCTION: Hereditary Fructose Intolerance (HFI) is an autosomal-recessive inborn error of metabolism characterised by deficiency of the hepatic enzyme aldolase B. Treatment consists of a fructose, sucrose, and sorbitol (FSS)-restrictive diet for life. Untreated HFI patients have an abnormal transferrin (Tf) glycosylation pattern due to inhibition of mannose-6-phosphate isomerase by fructose-1-phosphate. Hence, elevated serum carbohydrate deficient Tf (CDT) may allow prompt detection of HFI. CDT values improve when a FSS-restrictive diet is followed; however, there is no agreement among authors regarding the correlation of the sialoTf profile and dietary fructose consumption, nor about which isoform of Tf is more valuable for monitoring fructosemic patients. **AIM:** Thus, the objective of the present study was to determine the role of the entire sialoTf profile for monitoring a FSS-restricted diet in HFI patients by assessing the correlation between the different sialoTf isoforms and dietary fructose, sucrose, and sorbitol intake. **METHODS:** we have examined the complete serum sialoTf profile and correlated it with FSS dietary intake in a cohort of paediatric and adult fructosemic patients. To do so, the profile of serum sialoTf from genetically diagnosed HFI patients on a FSS-restricted diet (n=37) and their age-, sex-, and body mass index-paired controls (n=32) was analysed by capillary zone electrophoresis. **RESULTS:** We found that in HFI patients, asialoTf correlated with dietary intake of sucrose (R=0.575, p<0.001), and FSS (R=0.475, p=0.008), and that pentasialoTf+hexasialoTf correlated negatively with dietary intake of fructose (R=-0.386, p=0.024) and FSS (R=-0.400, p=0.019). In addition, the tetrasialoTf/disialoTf ratio truthfully differentiated treated HFI

patients from healthy controls with an AUROC of 0.97, 92% sensitivity, 94% specificity, and 93% accuracy. **CONCLUSION:** The results shown here evidence that the entire sialoTf profile should be considered for the diagnosis and follow-up of HFI patients, even on a FSS-restricted diet. To our knowledge, this is the first time that the ratio of tetrasialoTf to disialoTf has been demonstrated to be an accurate biomarker for identifying HFI patients. Moreover, asialoTf and pentasialoTf+hexasialoTf isoforms can be considered valuable indicators for treatment monitoring of FSS dietary intake in patients with fructosemia.

P07 - Desarrollo de una estrategia de análisis de datos de secuenciación de genoma completo para la priorización de variantes en nuevos genes de enfermedad en distrofias hereditarias de retina.

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

Grupo U702, presentado por María González del Pozo (maria.gonzalez@ciberer.es)

INTRODUCCIÓN: El diagnóstico genético de las distrofias hereditarias de retina (DHR) sigue suponiendo un reto, y aunque la llegada de la secuenciación del genoma completo (WGS) tiene un gran potencial para agilizar el diagnóstico y descubrir variantes etiológicas desconocidas, resulta todavía necesario estandarizar las estrategias de análisis. **OBJETIVOS:** Establecer un flujo de trabajo para el análisis de datos de WGS de 14 casos no resueltos de DHR partiendo de los datos genómicos de 415 individuos genéticamente diagnosticados. **RESULTADOS:** Los datos genómicos curados de los pacientes diagnosticados se usaron para un estudio estadístico comparativo entre 13 predictores de patogenicidad, permitiendo establecer cutoffs óptimos, así como la mejor combinación de herramientas, que sería posteriormente aplicada a los casos no resueltos. Así, la combinación de las herramientas CADDv1.6, MAPP, Grantham y SIFT constituía la mejor aproximación de filtrado ya que permitía reducir la tasa de falsos positivos con porcentajes de validación ~90% para todas las patologías analizadas. El uso de cutoffs personalizados, en lugar de los descritos en la literatura, ha permitido reducir el porcentaje de variantes que deben ser revisadas manualmente en un 84,62%. La aplicación de nuestro algoritmo en las familias no resueltas nos está permitiendo identificar variantes en genes candidatos que están siendo actualmente validadas. **CONCLUSIONES:** Dado que las herramientas de predicción son elementos clave en la priorización, y que existe una grave falta de consenso, ofrecemos una estrategia traslacional para la priorización de datos de WGS, que es esencial para el avance de la medicina personalizada.

P09 - Algoritmos basados en ontologías fenotípicas y secuenciación masiva aumentan el rendimiento diagnóstico en enfermedades retinianas sindrómicas.

Autores: Irene Perea-Romero, Fiona Blanco-Kelly, Iker Sánchez-Navarro, Isabel Lorda-Sanchez, Saoud Tahsin-Swafiri, Almudena Ávila-Fernández, Inmaculada Martín-Mérida, María José Trujillo-Tiebas, Rosario López-Rodríguez, Marta Rodríguez de Alba, Ionut-Florín

Iancu, Raquel Romero, Mathieu Quinodoz, Hakon Hakonarson, Pablo Mínguez, Marta Cortón, Carlo Rivolta, Carmen Ayuso

Grupo U704, presentado por Irene Perea-Romero (irene.perea@quironsalud.es)

INTRODUCCIÓN: Las enfermedades retinianas sindrómicas (ERS) son un grupo complejo de trastornos sistémicos hereditarios con alta heterogeneidad molecular y difícil manejo clínico.

OBJETIVOS: Mejorar el diagnóstico clínico y molecular de las ERS, aplicando algoritmos basados en ontología fenotípica estructurada y secuenciación masiva. **METODOLOGÍA:** Se realizó un estudio prospectivo y retrospectivo en nuestra cohorte formada por 100 casos con diagnóstico a priori de ERS no Usher, clasificándose en 7 categorías clínicas anotando los datos disponibles con términos HPO. Según disponibilidad, el diagnóstico molecular retrospectivo se hizo mediante diferentes métodos moleculares y bioinformáticos. Los casos no caracterizados fueron examinados prospectivamente empleando otros enfoques de NGS para ampliar los genes analizados. **RESULTADOS:** Tras la clasificación fenotípica, las ciliopatías fueron las ERS más comunes (36%). Se obtuvo una tasa de caracterización del 52%, incluyéndose 6 casos incompletamente caracterizados con un gen que explica parcialmente el fenotipo. Se consiguieron mayores tasas de caracterización abordando los casos prospectivos (83%) y síndromes bien definidos (62%) independientemente. Más del 25% de los casos completamente caracterizados fueron reclasificados clínicamente tras la identificación del gen causante. Nuestros resultados muestran al exoma clínico como el enfoque más apropiado para los casos naïve, mientras que la secuenciación del exoma completo y el reanálisis adicional aumentan el diagnóstico de los casos no caracterizados, principalmente en aquellos con síntomas inespecíficos. **CONCLUSIONES:** Este estudio proporciona un enfoque integral de las ERS, la importancia de una evaluación clínica exhaustiva y la selección de la prueba molecular más adecuada para resolver casos complejos y dilucidar nuevas asociaciones.

P34 - Análisis de variantes genéticas en exoma de pacientes con distrofias musculares de cintura (LGMD)

Autores: Ana I. Avilés-Alía, Germán Casabó-Vallés, Carmen Picher, Ana Cuesta, Federico V. Pallardó; Teresa Bas; Rosa Zaragozá; Juan R Viña; Elena R García-Trevijano, José Luis García-Giménez

Grupo U733, presentado por Germán Casabó Vallés (j.luis.garcia@uv.es)

La distrofia muscular de cinturas (LGMD, ORPHA 263) es un grupo genética- y clínicamente heterogéneo de distrofias musculares raras. Afecta principalmente a los músculos proximales de la cadera y la cintura escapular, lo que provoca una debilidad muscular progresiva. LGMD tiene un patrón de herencia autosómico y actualmente no tiene cura ni tratamiento conocidos. Puede manifestarse desde la primera década hasta el final de la vida adulta. Los análisis actuales de los niveles de CK en suero, la biopsia muscular o las imágenes musculares no pueden discriminar entre otras miopatías que se solapan

clínicamente, pero el análisis de variantes genéticas mediante el uso de técnicas de secuenciación masiva puede ayudar en el diagnóstico genético de las LGMDs. Con el objetivo de identificar las mutaciones presentes en los pacientes que pudieran explicar la aparición de la enfermedad se secuenciaron los exomas de 7 pacientes diagnosticados clínicamente como LGMD y se buscaron variantes de interés. Después de filtrar las variantes situadas en genes no relacionados con LGMDs y las mutaciones sinónimas o cuya frecuencia alélica en la población general fuera superior al 1% se encontraron mutaciones en los genes TTN, TNPO3, CAPN3 o SGCA que explicarían directamente la aparición de la distrofia muscular en 6 de los 7 pacientes analizados. En concreto, se encontraron las variantes:

NM_001267550.2(TTN):c.107889delT(p.K35963Nfs9),
NM_012470.3(TNPO3):c.2771delT(p.924Cext15),
NM_000070.3(CAPN3):c.550delA(p.T184Rfs36),
NM_000070.3(CAPN3):c.2065_2066delAC(p.H690Rfs9),
NM_000070.3(CAPN3):c.2362_2363insTC(p.R788Ifs96) y
NM_000023.4(SGCA):c.229C>T (p.R77C). Además, en el paciente para el que no se identificó una mutación causante de la enfermedad se encontraron 2 mutaciones en heterocigosis en 2 genes asociados a diferentes tipos de LGMDs recesivas (TTN y DAG1) que conjuntamente podrían causar la enfermedad.

P49 - Estudio piloto multicéntrico para la implantación del cribado neonatal de la atrofia muscular espinal.

Autores: Gema García-García, Alba Berzal-Serrano, Elena Aller, Teresa Jaijo, M^a Dolores Rausell, José Marcos, Sandra Ruiz, Inma Pitarch, Carmen Rubio, Rocío Calvo, José Miguel Ramos, Raquel Yahyaoui, José M. Millán

Grupo U755, presentado por Gema García García (gema.gegargar@gmail.com)

La atrofia muscular espinal (AME) es una enfermedad hereditaria caracterizada por la deficiencia de proteína SMN que produce una degeneración de las motoneuronas en la médula espinal que conduce a una debilidad progresiva y parálisis muscular proximal. Está causada por mutaciones bialélicas del gen SMN1, siendo la delección del exón 7 de SMN1 en homocigosis la responsable de la AME en el 95% de los casos. Recientemente, se han aprobado por la FDA y la EMA tratamientos basados en distintas aproximaciones de terapia génica que implican la sobreexpresión del gen SMN1 o la modificación del gen SMN2 de forma que aumente la cantidad de proteína SMN. El estudio, de un año de duración, se realizará en dos centros hospitalarios españoles. La técnica elegida para el cribado de atrofia muscular espinal consiste en: 1-aislamiento del DNA obtenido de discos de sangre seca en papel y 2-detección de la delección del exón 7 de SMN1 mediante la tecnología de PCR cuantitativa. Los casos con resultado positivo se confirmarán mediante MLPA. El cribado neonatal permitirá identificar precozmente a aquellos neonatos que portan la delección de SMN1 en homocigosis, candidatos a recibir las terapias disponibles en la etapa más temprana de la enfermedad o presintomáticos, condiciones en las que el tratamiento es más efectivo. Los resultados esperables de este proyecto son la determinación de la

viabilidad y utilidad del cribado neonatal de la AME y la estimación de la prevalencia de la enfermedad en dos regiones españolas con una población total de 70.000 nacimientos/año.

P53 - Biallelic PI4KA variants cause a novel neurodevelopmental syndrome with hypomyelinating leukodystrophy.

Autores: Irene de la Calle, Edgard Verdura, Agustí Rodríguez-Palmero, Valentina Vélez-Santamaria, Laura Planas-Serra, Mehdi Benkirane, Francesco Saettini, Lisa Pavinato, Melanie O'Leary, Estibaliz Barredo, Vincent Michaud, David R Adams, Carlos Casanovas, Heather C Mefford, Luis González Gutiérrez-Solana, Alfredo Brusco, Michel Koenig, Alfons Macaya, Aurora Pujol

Grupo U759, presentado por Irene de la Calle Fuentes (idelacalle@idibell.cat)

Introduction: Phosphoinositides (PIPs) are lipids that play a critical role in processes such as cellular signalling, ion channel activity and membrane traffic. When mutated, several genes that encode proteins that participate in the metabolism of these lipids give rise to neurological or developmental phenotypes. PI4KA is a PIP kinase that is highly expressed in the brain and is essential for life. Objectives: We aimed to gather patients with biallelic PI4KA variants and compatible phenotypes through Genematcher and international collaboration, and to validate functionally the variants using Western Blot, Immunofluorescence and targeted lipidomics. Results: The mutations discovered in PI4KA caused a spectrum of conditions ranging from severe global neurodevelopmental delay with hypomyelination to pure spastic paraplegia in 10 independent patients. Some patients presented immunological deficits or genito-urinary abnormalities. Functional analyses showed decreased PI4KA and phosphoinositol-4-phosphate levels in the patients' fibroblasts and a diminished PI4KA activity was found in fibroblasts and peripheral blood mononuclear cells. Conclusions: We report a novel severe neurometabolic disorder caused by PI4KA malfunction, highlighting the importance of phosphoinositide (PIP) signalling in human brain development and the myelin sheath.

P57 - Germline and Acquired Variants Co-occurrence Profiles in Early-Onset Myelodysplastic Syndromes in Adults.

Autores: Tzu Hua Chen Liang, Salvador Carrillo Tornel, Ana María Hurtado, Rosa Cifuentes, Pedro Garrido, Raúl Teruel Montoya, Javier Corral, Vicente Vicente, Andrés Jerez

Grupo U765, presentado por Tzu Hua Chen Chen Liang (tzuchen82@gmail.com)

Introduction: De novo myelodysplastic syndromes (MDS) usually presents in elderly adults, with a median age of 75 years, in the context of the progressive acquisition of somatic mutations throughout the patient's life. However, MDS in children and younger adults are more often associated with predisposing germline mutations. Early-onset MDS in adults (16-60 yo) accounts for 5-10% of all MDS cases. Objectives: We aim to depict potential profiles of co-occurrence between germline and acquired variants. Results: Prospective cohort study

(2014-2020) of 182 patients from 25 centres with a de novo diagnosis of MDS between 16-60 yo, without prior organ dysfunction. Whole exome sequencing was performed in paired tumor-germline samples. The median age at diagnosis was 49 yo (16-60) with the WHO 2017 diagnoses: 13.9% MDS-unilineage dysplasia), 10.8% MDS-ring sideroblasts 31.3% MDS-multilineage dysplasia, 25.8% MDS-excess blasts, 5.4% MDS-isolated deletion-5q, 2.4% MDS-unclassifiable, 7.8% chronic myelomonocytic leukemia. We found pathogenic, likely pathogenic or uncertain significance germline variants in 80.2% of patients. Patients harboring mismatch repair genes germline variants developed a secondary acquired mutation in 17 cases, of which 9 (53%) of the affected genes were included in the chromatin modifiers group (out of seven functional groups for somatic mutation genes). Of note, those cases with germline variants in DNA repair genes not involved in microsatellite instability, 2 presented an acquired mutation, of which 11 (50%) involved somatic mutation in TP53. Conclusion: This multicenter 7-year prospective study describes new specific patterns of germline-acquired mutations involved in early-onset MDS, with potential diagnostic and therapeutic implications.

Nuevas terapias

P08 - La inhibición alelo-específica por CRISPR/Cas9 de una mutación dominante negativa en COL6A1 restaura la matriz extracelular de colágeno VI de los fibroblastos derivados de pacientes.

Autores: Arístides López-Márquez, Matías Morín, Carmen Badosa, Alejandro Hernández-Delgado, Daniel Natera-de Benito, Carlos Ortez, Andrés Nascimento, Daniel Grinberg, Susanna Balcells, Mónica Roldán, Miguel Ángel Moreno-Pelayo, Cecilia Jiménez-Mallebrera

Grupo U703, presentado por Arístides López-Márquez (alopezm@fsjd.org)

INTRODUCCIÓN Los trastornos relacionados con el colágeno VI son las segundas distrofias musculares congénitas más comunes. No hay tratamientos disponibles y la mayoría son causados por mutaciones negativas dominantes en los genes que codifican las cadenas α del colágeno VI, alterando el ensamblaje de los tetrámeros para formar microfibrillas de colágeno-VI. Ese es el caso de la mutación patogénica COL6A1 c.877G>A;p.Gly293Arg. **OBJETIVOS** Silenciar o corregir el alelo mutante con CRISPR/Cas9 es el principal objetivo de este trabajo. Esto se realizó en fibroblastos dérmicos de cinco pacientes. **RESULTADOS** Después de la secuenciación masiva de fibroblastos transfectados, la corrección del alelo mutante por recombinación homóloga se produjo en una frecuencia inferior al 1%. Sin embargo, los indels fuera del patrón de lectura y otras variantes que llevaban al silenciamiento del alelo mutante se encontraron en un porcentaje superior al 40%, mientras que el alelo salvaje no se vio afectado. Esto fue confirmado por ddPCR usando sondas específicas para cada alelo. La expresión del alelo mutante se redujo hasta un 80% mientras que el alelo salvaje no se vio afectado. Se llevaron a cabo inmunofluorescencias de Colágeno-VI. En todos los casos se observó recuperación

de la intensidad y estructura de la matriz extracelular de colágeno VI. **CONCLUSIÓN** En este trabajo, demostramos que CRISPR/Cas9 es capaz de revertir específicamente los efectos patogénicos de mutaciones negativas dominantes en genes de colágeno VI, lo cual puede abrir un nuevo abanico de posibilidades en la búsqueda de nuevas terapias para las distrofias relacionadas con el colágeno VI.

P17 - Preclinical models for in vivo gene editing of COL7A1 based on delivery of CRISPR/Cas9 to RDEB patient skin by viral vectors.

Autores: Marta García, Ángeles Mencía, José Bonafont, Marina Garín, Jesús Martínez, R Xu 1, Blanca Duarte, J M Ruibal, Marcela Del Río, Fernando Larcher, Rodolfo Murillas

Grupo U714, presentado por Marta García Díez (marta.garcia@externos.ciemat.es)

Introduction: Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa (RDEB), a devastating skin fragility disease characterized by recurrent skin blistering, scarring and a high risk of developing squamous cell carcinoma is caused by mutations in COL7A1, the gene encoding Collagen VII. Ex vivo correction of COL7A1 by gene editing in patient keratinocytes and fibroblasts, the skin cell types that produce and secrete Collagen VII, has been achieved before. **Objectives:** Establishing in vivo editing approaches to address the direct treatment of the blistering lesions characteristic of this disease using viral vectors for administration of CRISPR/ Cas9 system. **Results:** Viral vectors for CRISPR/Cas9 expression have been generated and tested on a skin-humanized mouse model generated by grafting RDEB patient skin equivalents onto immunodeficient mice. Wounds made on the regenerated human skin grafts were treated with viral vectors preparations. Viral transduction of dermal and epidermal wound tissue and concomitant Collagen VII expression was assessed. **Conclusions:** We have described a preclinical model for treatment of RDEB lesions in patient skin based on using CRISPR/Cas9 in vivo.

P19 - Innovative Splice Switching Oligonucleotide therapy for Niemann-Pick type C1 disease.

Autores: Maria Martínez de Lagrán, Yu-Han Huang, Ondrej Kostov, Marvin Caruthers, Timothy Yu, Daniel Grinberg, Mara Dierssen

Grupo U716, presentado por Maria Martinez de Lagran (maria.martinez@crg.eu)

Introduction Niemann-Pick disease type C1 is a fatal neurodegenerative disorder caused by mutations in the NPC1 gene, involved in lysosomal cholesterol transport. Clinical manifestations include liver failure, pulmonary disorder, neurological deficits, and psychiatric symptoms. Mortality is due to central nervous system dysfunction and there are no effective treatments. With the aim of developing a gene therapy approach, we are evaluating the efficacy of several novel therapeutic Synthetic Splice-Switching Oligonucleotides (SSOs) (SSO) in a murine model of this disease. This animal model carries NPC1 c.1554-1009G>A, a pseudoexon-generating mutation identified in several patients, and recapitulates the main characteristics of the pathology. **Materials and methods** A battery of SSOs, including some

with 2'MOE/PS chemistry as well as SSOs employing novel thiomorpholino chemistry, have been checked in vitro using patient fibroblasts culture. Their in vivo therapeutic effects have been analyzed by intraventricular injection of different doses in NPC1 mice at postnatal day 1-2. Mice were submitted to a battery of neurodevelopment and adult behavioral tests focusing mainly in motor and cognitive performance. Results In vitro experiments showed that selected SSOs suppressed NPC1 pseudo-exon inclusion in patient fibroblasts, recovered normal splicing, and achieved functional rescue. Postnatal SSOs administration, revealed toxicity at doses upper than 30 µg, showed by higher post-injection lethality. In vivo, a partial rescue of the cognitive profile in object recognition test and the motor performance in the rotarod and balance beam test were observed in mice injected with 15ug of thiomorpholino SSOs. Conclusion Our results with SSOs treatment supports the clinical applicability of antisense therapy in Niemann Pick type C1, a crucial initial step for clinical trials.

P20 - AAV gene therapy improves glutaric aciduria type I phenotype in knockout mice.

Autores: A. Mateu-Bosch, S. Gea-Sorlí, J. García-Villoria, S. Arcas, L. Teixidó, A. Ribes, C. Fillat

Grupo U716, presentado por Anna Mateu Bosch (amateub@clinic.cat)

Glutaric aciduria type I (GA-I) is a rare metabolic inherited disorder in the catabolic pathways of lysine, hydroxylysine and tryptophan. It is caused by the deficiency of glutaryl-CoA dehydrogenase (GCDH). The enzymatic defect results in the accumulation of glutarate, hydroxyglutarate and glutarylcarnitine in tissues and body fluids. Clinically, GA-I patients display macrocephaly, progressive dystonia and dyskinesia. Dietary lysine restriction, carnitine supplementation and intensified emergency treatment during catabolism are effective for some individuals. Unfortunately, one-third of affected children do not respond to therapy and experience irreversible brain damage. We have explored the feasibility of in vivo gene therapy in the preclinical model of the disease, the Gcdh ^{-/-} mice. Here we present the effects of an adenoassociated viral AAV9-GCDH early intervention in mice in which a severe disease was induced by a lysine overload. Gcdh ^{-/-} mice treated with AAV9-GCDH by temporal vein administration at P2 displayed restored levels of GCDH after 4 weeks treatment in liver and brain, both in cerebral cortex and the striatum and lasted for at least 6 months. The accumulation of the toxic metabolite glutarylcarnitine was also rescued in brain and serum, both in animals receiving standard or high lysine diet. Moreover, we also observed restoration of the expression of altered genes involved in brain damage. In summary, these data suggest the potential of an AAV-mediated gene therapy approach for glutaric aciduria type I.

P41 - Avances en el desarrollo de ácidos salicílicos para el tratamiento de hiperoxalurias primarias.

Autores: Fabio Arias Bordajandi, María Dolores Moya-Garzón, Barbara Rodríguez-Rodríguez, Cristina Martín-Higueras, Francisco Franco-Montalban, Miguel X. Fernandes, José A. Gómez-Vidal, Ángel L. Pey, Mónica Díaz-Gavilán, Eduardo Salido

Grupo U740, presentado por Fabio Arias Bordajandi (farias3ro@ugr.es)

Introducción: Las hiperoxalurias primarias (HPs) son un conjunto de alteraciones genéticas del metabolismo del glioxilato. Se caracterizan por una sobreproducción de oxalato y su posterior acumulación en distintos tejidos. En estudios previos se ha demostrado la capacidad de los derivados de ácido salicílico para disminuir la producción de oxalato en cultivos de hepatocitos primarios modelo de la enfermedad HP1. Objetivos: Síntesis y evaluación biológica de nuevos derivados con actividad sobre los tres tipos de HP: HP1, HP2 y HP3. Estudio de su mecanismo de acción. Resultados: Se ha sintetizado y caracterizado una familia de compuestos que se ha sometido a evaluación biológica sobre enzimas clave en el metabolismo del glioxilato. Además se incluyen resultados sobre cultivos primarios de hepatocitos de ratón modelo de los tres tipos de HP. Conclusiones: Se demuestra la eficacia en los ensayos celulares in vitro de los inhibidores enzimáticos preparados.

P44 - Functional Characterization of PMM2 missense variants: identification of new potential variants to be rescued using pharmacological chaperones.

Autores: Cristina Segovia-Falquina, Alicia Vilas, Alejandra Gámez, Francisco del Caño, Santiago Ramón-Maiques, and Belén Pérez

Grupo U746, presentado por Cristina Segovia Falquina (cristina.segoviaf@estudiante.uam.es)

PMM2-CDG remains without an effective treatment although strategies such as pharmacological chaperones (PC) and/or proteostasis regulators (PR) have been proposed. Given that the lack of PMM2 activity is lethal, all patients must carry at least one hypomorphic variant. The aim of this work was the functional analysis of potential hypomorphic variants present in the 55 Spanish different genotypes. Hence, we have selected 18 variants for a comprehensive characterization in a prokaryotic expression system together with information provided by our PMM2 crystal structure. We have also been asked for advice about two unreported variants detected in a couple in a reproductive genetic carrier screening and in a fetal miscarriage, both combined with described severe mutations. The effects of the pure mutant proteins on oligomerization profile, enzymatic activity and thermal stability were analyzed. Most of the mutants exhibited a dimeric form, except for two variants with a tendency to aggregate and, surprisingly, only two variants located in the dimerization region prevented the protein from acquiring its native conformation. The residual activity ranged from 1 to 99% and most of variants presented a reduction of thermal stability (2.26-10.75°C) that was recovered with our PC, the compound VIII. Thus, the selected variants

are destabilizing and, according to the genotypes, all the Spanish patients could be recovered by PCs. This work provides an excellent platform for the identification of destabilizing PMM2 variants to be rescued by small molecules and for a rapid analysis of new variants detected in reproductive carrier or neonatal screening.

P45 - Efectos de la terapia de Mindfulness en pacientes con acromegalia.

Autores: Eugenia Resmini, Chiara Nalin, GianMario Bortolotti, Elisabet Dominguez Clavé, Gianola Daniela, Liana Cortesi, Pagani Marina, Maria Antonia Martinez Momblan, Susan Webb, Roberto Trevisan, Alicia Santos

Grupo U747, presentado por Eugenia Resmini (eresmini@santpau.cat)

Introducción: La acromegalia se asocia a disminución de calidad de vida, alteraciones del estado de ánimo, dolor crónico, déficits neuropsicológicos y riesgo cardiovascular. El Mindfulness es eficaz para mejorar estas alteraciones, no hay datos en pacientes con acromegalia. **Diseño:** Ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, internacional (Barcelona y Bergamo-Italia), de 60 pacientes, 30 por centro. **Objetivo:** Evaluar los cambios en calidad de vida, estado de ánimo, dolor crónico, sueño, tensión arterial y frecuencia cardíaca tras la impartición de Mindfulness. El grupo intervención hizo sesiones grupales presenciales de 8 semanas (conducidas por un terapeuta experto, de 120 minutos, con frecuencia semanal), el grupo control siguió la rutina clínica habitual. **Resultados:** En el grupo intervención de Barcelona hubo un aumento significativo de las horas nocturnas en la cama ($p=0.05$) y una tendencia a la reducción del tiempo en conciliar el sueño ($p=0.06$). En Barcelona al final del estudio se redujeron las diferencias entre grupos en la puntuación de dolor PAIND1 ($p=0.02$), disminuyendo el dolor en el grupo intervención; en Bergamo la puntuación de dolor PAIND1 se incrementó en el grupo control ($p=0.02$) (no en el grupo intervención). No hubo cambios en calidad de vida, ni en estado de ánimo. En ambos centros en el grupo intervención disminuyó la frecuencia cardíaca, al final de la primera y de la última sesión ($p<0.01$ ambos), con un efecto entrenamiento en Bergamo ($p=0.02$). **Conclusiones:** El Mindfulness es efectivo para tratar los síntomas de pacientes con acromegalia y es capaz de reducir la frecuencia cardíaca.

P51 - Caracterización de un modelo de ratón con telómeros cortos para el estudio de telomeropatías.

Autores: Rosa Guerrero-López, Cristina Manguán-García, Marta Toldos, Beatriz Fernández-Vara, Carlos Carrascoso-Rubio, M. Luz Lozano, Guillermo Guenechea, Leandro Sastre y Rosario Perona

Grupo U757, presentado por ROSA GUERRERO-LOPEZ (rosaguerrero@iib.uam.es)

Nuestro grupo lleva unos años trabajando en enfermedades raras que presentan acortamiento telomérico, tales como disqueratosis congénita y fibrosis pulmonar idiopática. Uno de los problemas que presenta el estudio de estas enfermedades es la ausencia de buenos modelos animales. Los modelos publicados se basan en cepas de ratón que tienen

telómeros entre 50 y 100 kb en lugar de las 12-15 kb de los humanos. Por este motivo, estamos generando un modelo de ratones en la cepa CAST/EiJ que tiene telómeros de tamaño similar a los humanos. En esta cepa hemos incorporado la delección del gen *Terc*, tanto en homocigosis como en heterocigosis. Los ratones mutantes obtenidos conservan los telómeros del tamaño característico de la cepa CAST/EiJ. Los ratones homocigotos *Terc*^{-/-} presentan una longevidad muy reducida, siendo este efecto más acusado en el fondo genético CAST/EiJ. Estamos estudiando las posibles patologías de estos ratones centrándonos en los procesos fibróticos en pulmón e hígado y las alteraciones del sistema hematopoyético que son las afectaciones más graves de los pacientes con telomeropatías. Hemos observado en los ratones homocigotos *Terc*^{-/-} procesos espontáneos de fibrosis pulmonar a partir de los 6 meses de edad. Este desarrollo patológico es más acusado en el fondo CAST/EiJ donde se observa incluso en los animales heterocigotos *Terc*^{+/-}. Estos primeros estudios sugieren que el modelo desarrollado genera procesos patológicos similares a las telomeropatías humanas y que puede constituir un buen modelo para el estudio de las bases moleculares de estas enfermedades y para el ensayo de posibles terapias.

P52 - Potencial terapéutico de la inactivación permanente de EWSR1-FLI1 en sarcoma de Ewing mediante CRISPR/Cas9.

Autores: Saint T. Cervera, Carlos Rodríguez-Martín, Raquel M. Melero-Fernández de Mera, Enrique Fernández-Tabanera, Matias Morin, Sergio Fernández-Peñalver, María Iranzo-Martínez, Jorge Amhíh-Cardenas, Laura García-García, Laura González-González, Miguel Angel Moreno-Pelayo, Javier Alonso

Grupo U758, presentado por Saint T. Cervera (scervera@isciii.es)

INTRODUCCIÓN: El sarcoma de Ewing (ORPHA:319) se caracteriza por la presencia de translocaciones cromosómicas que dan lugar a factores de transcripción quiméricos, como por ejemplo, EWSR1-FLI1. Dado que EWSR1-FLI1 gobierna el proceso de transformación oncogénica, su inactivación debería ser una excelente estrategia terapéutica. **OBJETIVOS:** Evaluar la eficacia de una estrategia de inactivación permanente del oncogén EWSR1-FLI1 característico del sarcoma de Ewing utilizando la tecnología de edición de genes CRISPR/Cas9. **RESULTADOS:** El uso de CRISPR/Cas9 y gRNAs localizados en los exones C-terminal de FLI1 produjo un porcentaje elevado de mutaciones inactivadoras (indels) en la línea celular de sarcoma de Ewing A673 (caracterizadas con el programa Mosaic Finder). La inactivación permanente de EWSR1-FLI1 eliminó la expresión de la proteína EWSR1-FLI1 y produjo la inducción e inhibición de genes diana de EWSR1-FLI1. Aún más relevante, la inactivación génica bloqueó drásticamente la proliferación celular e indujo senescencia de forma masiva. En comparación con un modelo de silenciamiento de EWSR1-FLI1 basado en shRNA, la inactivación génica con CRISPR/Cas9 fue más efectiva, particularmente en su capacidad para bloquear la proliferación celular. **CONCLUSIONES:** La inactivación génica de EWSR1-FLI1 en células de sarcoma de Ewing A673 bloquea la proliferación celular e induce un fenotipo senescente que podría aprovecharse

terapéuticamente. Aunque existen aún muchas limitaciones para la aplicación de la terapia génica en cáncer, este estudio muestra que estas aproximaciones pueden ser una alternativa prometedora, particularmente para aquellos tumores que son altamente dependientes de un oncogén en particular, como es el caso del sarcoma de Ewing.

Nuevas herramientas de investigación

P01 - El CIBERER Biobank como plataforma de servicio para la investigación en el campo de las enfermedades raras.

Autores: Salvador Martí (1), José María Millán (1,2) y Federico V. Pallardó (1, 3) y Carmen Aguado (1)

Grupo NA, presentado por Salvador Martí Pérez (smarti@ciberer.es)

Introducción: El CIBERER Biobank (CBK) es una infraestructura de apoyo a la investigación biomédica en enfermedades raras (ER). El funcionamiento del Biobanco fue acreditado por la Conselleria de Sanitat en 2013 y registrado en el Registro de Biobancos con número B.0000590 (05/06/2013). Este certificado garantiza que el CBK cumple los requisitos en gestión de calidad, trazabilidad y bioseguridad, expuestos en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica y en el Real Decreto 1716/2011. Objetivos: Facilitar la investigación traslacional, fomentando la colaboración entre investigadores clínicos y básicos, y poniendo a disposición de la comunidad científica muestras biológicas humanas y sus datos clínicos con todas las garantías éticas, legales y de calidad. Además, ofertar una cartera de servicios que cubra las necesidades de los grupos de investigación CIBERER. Resultados: Durante el 2020 y el primer trimestre de 2021, se han realizado: 14 Cesiones (7 en Régimen de Biobanco y 7 en Custodia) y 218 Solicitudes de Servicio. Contamos con una cartera 30 servicios (acreditados con la ISO 9001:2015) y en este último año se ha ofertado la detección de SARS-CoV-2 en líneas celulares. Participamos activamente en redes de biobancos: Red Valenciana de Biobancos, Red Nacional de Biobancos y Biomodelos (PT20) y Eurobiobank. Conclusiones: El incremento de la actividad del CBK (servicios, participación en proyectos y en redes), pone de manifiesto la importancia del biobanco como plataforma de apoyo a los grupos de investigación CIBERER y a la investigación traslacional en ER. (1) CIBERER Biobank, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, Valencia; (2) CB06/07/1030 Instituto de Investigación Sanitaria-La Fe, Valencia; (3) CB06/07/073 Departamento Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia-INCLIVA, Valencia, España.

P03 - Why Orphacodes?

Autores: Virginia Corrochano, M^a Elena Mateo, Elisa Checa

Grupo NA, presentado por Virginia Corrochano (vcorrochano@ciberer.es)

“If we cannot count rare diseases patients, patients do not count”, Gareth Baynam La infrarrepresentación de los diagnósticos poco frecuentes en los sistemas de información

sanitaria/ registros de pacientes dificulta la estimación del número de personas que viven con una enfermedad rara. A su vez, obstaculiza la extracción de datos dado que los diagnósticos se codifican con códigos que, además del diagnóstico minoritario, pueden dar cabida a muchos otros diagnósticos. En consecuencia, las personas con enfermedades raras (ER) son invisibles en los sistemas de información sanitaria. Las ventajas de un sistema de codificación eficaz son muchas, ya que permite: - La identificación y diagnóstico de pacientes con enfermedades raras a nivel clínico - La identificación de pacientes para su participación en ensayos clínicos y proyectos de investigación - La extracción de datos para su uso en investigación clínica a partir de los registros de pacientes - Disponer de estadísticas que faciliten la planificación de servicios socio-sanitarios para este colectivo de pacientes - Contar con un lenguaje/nomenclatura común que permita compartir conocimientos entre centros, bases de datos y registros a nivel internacional El sistema de codificación ORPHA, desarrollado por el consorcio europeo Orphanet, es la única clasificación específica de ER integrada por más de 7.000 ORPHAcodes o identificadores numéricos únicos. Las directrices europeas recomiendan su adopción con el 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.

P05 - Dysfunctional mitochondrial translation and combined oxidative phosphorylation deficiency in a mouse model of the hepatoencephalopathy due to mutations in GFM1.

Autores: Miguel Molina-Berenguer, Ferran Vila-Julià, Sandra Pérez-Ramos, Maria Teresa Salcedo-Allende, Yolanda Cámara, Javier Torres-Torronteras, Ramon Martí

Grupo U701, presentado por Miguel Molina Berenguer (miguel.molina@vhir.org)

Hepatoencephalopathy due to combined oxidative phosphorylation deficiency type 1 (COXPD1) is a recessive mitochondrial translation disorder caused by mutations in GFM1, a nuclear gene encoding the mitochondrial elongation factor G1 (EFG1). Patients with COXPD1 typically present hepatoencephalopathy early after birth with rapid disease progression, and usually die within the first few weeks or years of life. We have generated two different mouse models: a Gfm1 knock-in (KI) harboring the p.R671C missense mutation, found in at least ten patients who survived more than one year, and a Gfm1 knock-out (KO) model. Homozygous KO mice (Gfm1^{-/-}) were embryonically lethal whereas homozygous KI (Gfm1^{R671C/R671C}) mice were viable and showed normal growth. R671C mutation in Gfm1 caused drastic reductions in the mitochondrial EFG1 protein content in different organs. Six- to eight-week-old Gfm1^{R671C/R671C} mice showed partial reductions of in organello mitochondrial translation and respiratory complex IV enzyme activity in the liver. Compound heterozygous Gfm1^{R671C/-} mice showed normal survival and had a more pronounced EFG1 protein decrease in liver and brain mitochondria, as compared with Gfm1^{R671C/R671C} mice. At 8 and 30 weeks of age, their mitochondrial translation rates were significantly reduced in both tissues and mice showed combined oxidative

phosphorylation deficiency (reduced complex I and IV activities in liver and brain) due to a reduction of the assembled complexes. We conclude that the compound heterozygous Gfm1R671C/- mouse presents a clear dysfunctional molecular phenotype, showing impaired mitochondrial translation and combined respiratory chain dysfunction, making it a suitable animal model for the study of COXPD1.

P13 - Loss of Mosmo function causes craniofacial abnormalities in zebrafish.

Autores: Carlos Camacho-Macorra, Marcos Sintes, Noemí Tabanera, Paola Bovolenta, Marcos J. Cardozo

Grupo U709, presentado por Carlos Camacho Macorra (carlos.camacho@cbm.csic.es)

Hedgehog (Hh) signaling depends on a highly regulated molecular pathway implicated in many developmental and homeostatic events, such as cell specification, proliferation and differentiation as well as tissue morphogenesis. Its defective activity causes an array of congenital diseases and pathological conditions. Hh signaling defects may occur as a result of mutations in genes encoding both primary components and regulators of the pathway. Very recent studies have identified a novel Hh signaling modulator known as Mosmo (Modulator of Smoothened). Mosmo encodes a tetraspanin protein that promotes the internalization and degradation of the Hh signaling transducer Smoothened (Smo), thereby down-modulating pathway activation. Whether Mosmo is essential for any of the multiple context-dependent functions of vertebrate Hh signaling remains poorly explored. Here, we have addressed this question by focusing on the two zebrafish mosmo paralogs, mosmoa and mosmob. Both paralogs are expressed in craniofacial structures and along the entire ventral neural tube with a pattern that resembles that of the shha ligand and its patched1 receptor, which also act as negative regulator of the pathway. Expression of a HA-tagged version of mosmoa shows that the protein localizes at the plasma membrane, primary cilium and cytoplasmic vesicles in both chicken and zebrafish embryos. CRISPR/Cas9 mediated inactivation of mosmoa and mosmob in zebrafish causes craniofacial defects which are evident in the adult fish. We thus suggest that the mosmo gene is a likely candidate to explain uncharacterized forms of congenital craniofacial malformations, such as those described in association with recurrent 16p12.1 chromosomal deletion, which includes the human MOSMO locus.

P18 - Análisis mecanístico para la interpretación de la variación genómica en una cohorte de enfermedades mentales ENOD.

Autores: Ana M. Pérez-Gutiérrez, Rosario Carmona, Beatriz Morte, Joaquín Dopazo, María Peña-Chilet

Grupo U715, presentado por Ana María Pérez Gutiérrez (ana.pgfv@gmail.com)

Introducción La falta de diagnóstico en pacientes con enfermedades raras (ER) mentales exige explorar nuevos enfoques para la detección de variantes diagnósticas. Un enfoque mecanístico, en el que se analizan las variantes de un individuo en su conjunto y contexto

funcional, podría ayudar a detectar nuevas variantes diagnósticas en estos pacientes. Métodos Siguiendo un diseño caso/control se partió de las variantes genómicas de 407 individuos sanos obtenidas de CSVS (<http://csvs.babelomics.org/>) y de 226 individuos con ERs mentales de los programas NAGEN y EnoD. Se seleccionaron aquellas con mayor impacto funcional potencial y se determinaron los genes contenedores de las mismas. Se simuló el impacto funcional de estos sobre datos de expresión de GTEx de tejido cerebral mediante knockouts in silico según el perfil mutacional de cada individuo. Se usó el algoritmo 'hipathia' para computar el nivel de actividad de 1098 circuitos contenidos en las rutas de señalización (KEGG), seleccionando aquellos con actividad significativamente diferente en los perfiles mutacionales pertenecientes a casos. Resultados Obtuvimos 172 mecanismos funcionales diferencialmente afectados en estos perfiles, relacionados principalmente con funciones celulares como adhesión celular, transporte de iones o regulación de ritmos biológicos. También detectamos aquellos genes con mayor impacto funcional in silico sobre los circuitos diferencialmente afectados en casos, permitiendo proponer mecanismos funcionales alterados en las enfermedades mentales, así como aquellos genes implicados con un mayor impacto. Conclusiones Este análisis proporciona nueva información relevante a la hora de establecer un diagnóstico en este heterogéneo y complicado grupo de pacientes con enfermedades mentales. Además esta metodología proporciona un enfoque mecanístico y funcional a la hora de priorizar variantes candidatas en pacientes que no han sido diagnosticados con los criterios de priorización actualmente empleados.

P28 - Generation of two Knock-in Mouse models to Explore the Pathological Mechanisms of miR-96 Mutations in the Inner Ear.

Autores: María Lachgar, Francesca Di Domenico, Matías Morín, Sergio Fernández Peñalver, Karen P Steel, Miguel Ángel Moreno-Pelayo, Morag A Lewis

Grupo U728, presentado por Miguel Angel Moreno Pelayo (mmorenop@salud.madrid.org)

Background The microRNA miR-96 is important for hearing, as it acts as a transcriptional regulator in the inner ear and coordinates hair cell maturation. Point mutations in the seed region of miR-96 cause DFNA50, a dominant progressive hearing loss in humans and mice. Here, we present two new knock-in mouse models carrying the mutations identified in humans (Mir96s403 and Mir96s1334) in which we have explored the underlying pathological mechanism in the inner ear. **Methods** ABRs, SEM and immunolabelling of pre- and post-synaptic markers were performed to determine the onset of the hearing impairment, the morphology of the hair bundles and to look for synaptic defects, respectively. We performed RNAseq and pRTPCR of the organ of Corti to determine how the different mutations affect the gene expression profile. Several approaches have been used to construct the miR-96 regulatory network and to identify potential therapeutic targets to treat hearing loss. **Results and conclusions** The two mutations lead to different physiological, structural and transcriptional phenotypes. The structural phenotype of Mir96s1334 mice is more severe than that of Mir96s403 mice, consistent with the audiological features displayed by humans carrying those mutations. Homozygotes of both mouse lines exhibit profound hearing loss

and only Mir96s1334 heterozygous mice have a mild progressive hearing loss. Structural analyses showed hair cell degeneration and misshapen hair bundles in both mutants, with Mir96s1334 mice being more severely affected. Preliminary results indicate a reduction in the number of inner hair cell synapses in Mir96s403 homozygotes.

P29 - In vivo analysis of mitochondrial metabolism in a mitochondrial disease.

Autores: Juan Diego Hernández-Camacho, Cristina Vicente-García, Ana Sánchez-Cuesta, Jaime J Carvajal, Daniel JM Fernández-Ayala, Plácido Navas

Grupo U729, presentado por Juan Diego Hernández Camacho (hernandezcamachojuanDiego@gmail.com)

Fatty acids and glucose are the primary bioenergetic substrates in mammals. Impairment of mitochondrial bioenergetic causes mitochondrial myopathy leading to decreased physical performance. We have described in both human and mouse model that haploinsufficiency of ADCK2 is associated with an alteration of fatty acid oxidation, liver dysfunction and severe mitochondrial myopathy with lipid droplets in skeletal muscle, and a significant decrease in Coenzyme Q (CoQ) biosynthesis (Vazquez-Fonseca et al, 2019, J Clin Med. 8(9):1374; doi: 10.3390/jcm8091374). In order to study the etiology of the disease, we have developed a novel technique by which we can isolate functional mitochondria from the skeletal muscles to study mitochondrial respiration and metabolism using Seahorse technology. This work will show how the measurement of oxygen consumption rate and beta-oxidation assays in isolated mitochondria from skeletal muscle of mice that suffer a mitochondrial disease could be used to assess mitochondrial damage and respiration. Also, we demonstrate that mitochondria from animals on CoQ10 treatment improve the altered mitochondrial respiration. Our method could become a new research tool to analyse mitochondrial diseases in vivo and even could become a new diagnostic method. Analyse mitochondrial respiration directly from the damaged tissue opens new possibilities to determine the mitochondrial metabolism, specifically in the tissue affected by the disease. At the same time, it would be possible to study the effect of drug treatments on in vivo mitochondrial function.

P37 - Utilización de RNAseq para el diagnóstico de enfermedades metabólicas hereditarias no resueltas.

Autores: Gerard-Muñoz Pujol, Frederic Tort, Blai Morales, Olatz Ugarteburu, Judit García-Villoria, Vicente A Yepez, Mirjana Gusic, Holger Prokisch, Antonia Ribes

Grupo U737, presentado por Frederic Tort Escalé (ftort@ciberer.es)

INTRODUCCIÓN La implementación de la secuenciación del exoma (WES) en la práctica clínica ha mejorado notablemente el rendimiento diagnóstico de las enfermedades metabólicas hereditarias (EMH). Sin embargo, alrededor del 50% de los pacientes no disponen todavía de un diagnóstico genético definitivo. Estudios recientes han puesto de manifiesto la utilidad de RNAseq para identificar variantes candidatas en pacientes no

diagnosticados mediante WES o WGS. **OBJETIVOS** Identificar la causa genética de la patología en una cohorte de 15 pacientes con sospecha de EMH utilizando WES y RNAseq en fibroblastos. **RESULTADOS** El análisis de los datos RNAseq se ha realizado utilizando algoritmos que permiten detectar alteraciones de “splicing”, expresión aberrante y expresión monoalélica. Esta aproximación ha permitido priorizar variantes candidatas en 4 de los 15 casos (26%) en los siguientes genes: PEX1, ATP6AP1, UFM1 y PTC3. Las variantes identificadas en PEX1 (c.1240-1551A>G) y ATP6AP1 (c.289-233C>T) se encontraban en regiones no cubiertas por WES. Estas variantes están asociadas a retención de fragmentos intrónicos en el mRNA. En el tercer caso el RNAseq detectó una reducción drástica de la expresión de UFM1 asociada a una mutación en homocigosis en el promotor (c.273_-271delTCA). En el cuarto paciente la variante priorizada en PTC3 (c.1453-1G>C) alteraba el proceso de “splicing” provocando un “exon skipping”. **CONCLUSIONES** La utilización de RNAseq en fibroblastos de pacientes es una buena herramienta para dirigir el diagnóstico cuando la secuenciación del exoma no identifica las variantes causantes de la enfermedad. **Funding:** ISCIII (PI16/01048;PI19/01310),CIBERER. Co-funded by ERDF.

P38 - Desarrollo de una estrategia basada en CRISPR/Cas9 para determinar el impacto funcional de variantes genéticas de significado incierto.

Autores: Olatz Ugarteburu, Gerard Muñoz-Pujol, Eulàlia Segur-Bailach, Judit Garcia-Villoria, Antonia Ribes, *Frederic Tort*

Grupo U737, presentado por Olatz Ugarteburu López (ugarteburu@clinic.cat)

INTRODUCCIÓN En los últimos años, la implementación de las herramientas de “Next Generation Sequencing” (NGS) ha permitido mejorar de forma importante el diagnóstico de las enfermedades genéticas hereditarias. Sin embargo, también ha incrementado el número de variantes de significado incierto que deben ser interpretadas. La validación del impacto funcional de las variantes identificadas es esencial para determinar si estas son la causa de la patología y poder proporcionar un diagnóstico genético definitivo. **OBJETIVO** Desarrollar una plataforma que permita estudiar el impacto funcional de variantes genéticas en modelos celulares modificados con CRISPR/Cas9. Para ello, evaluaremos la utilidad de esta estrategia mediante una prueba de concepto, seleccionando una serie de mutaciones descritas en 8 genes asociados a enfermedad: deficiencia OXPHOS (NDUFA8, LYRM7, TMEM70), deficiencia de cofactores (NFU1, FDXR, COQ8A), metabolismo de aminoácidos (GCDH) y remodelaje de cardiolipinas (TAZ). **RESULTADOS** Se han generado modelos “knock-in” en células HAP1 para las mutaciones de interés en 6 genes: NDUFA8 (c.293G>T; p.Arg98Leu), LYRM7 (c.73G>A; p.Asp25Asn), TMEM70 (c.317-2A>G), FDXR (c.332A>G; p.Tyr111Cys), NFU1 (c.622G>T; p.Gly208Cys) y GCDH (c.1198G>A; p.Val400Met). Resultados preliminares sugieren que los estudios funcionales realizados mimetizan las alteraciones bioquímicas características de los pacientes con estas patologías. Los modelos TAZ (c.280C>T; p.Arg94Cys) y COQ8A (c.811C>T; p.Arg271Cys) están en proceso de edición genética. **CONCLUSIÓN** La generación de modelos celulares HAP1 mediante CRISPR/Cas9 es una estrategia que puede ser muy útil para estudiar el efecto de las

variantes genéticas de significado incierto. Esta aproximación podría ser extensiva a otras enfermedades genéticas hereditarias. Funding: ISCIII (PI16/01048;PI19/01310),CIBERER. Co-funded by ERDF.

P40 - Hiperoxaluria Primaria en España – Registro OxalSpain.

Autores: Cristina Martín Higuera, Bárbara Rodríguez, Armando Torres, Eduardo Salido

Grupo U740, presentado por Cristina Martín Higuera (cristinamh24@gmail.com)

La unidad U-740 (Patología Molecular) ofrece el análisis genético de la Hiperoxaluria Primaria (HOP). En los últimos 23 años, >250 individuos han sido analizados genéticamente para el diagnóstico HOP, distribuidos en 98 familias. Trece familias de territorios extendidos por América del Norte y del Sur, Asia y Europa, han sido analizados, obteniendo diagnóstico positivo para HOP tipo 1 en 11 pacientes. Dentro del territorio nacional, 84 familias han sido analizadas (n=231 individuos), de los cuales se ha obtenido diagnóstico positivo para HOP1 en 61 pacientes, y para HOP 2 en 3 pacientes (2 familias). Diez pacientes fueron diagnosticados por screening familiar, siendo uno de ellos HOP2, y 7 de ellos de las Islas Canarias (todos HOP1). De los 61, 36 pacientes HOP1 proceden de Canarias, principalmente con ascendencia de la isla de La Gomera, siendo la mutación p.L244T la más frecuente, (frecuencia alélica de 0,8, mayoritariamente en homocigosis), seguido de las mutaciones c.33dupC y p.G170R (ambas en heterocigosis compuesta). Recientemente, hemos creado un registro español de pacientes con Hiperoxaluria Primaria (OxalSpain), donde pretendemos recoger la información clínica de estos pacientes en España, así como sus comorbilidades y hábitos de vida. Con este registro, pretendemos evaluar la evolución de la enfermedad de los pacientes españoles, obtener datos epidemiológicos, y facilitar la inclusión de pacientes en ensayos clínicos con tratamientos innovadores. Actualmente, sólo el trasplante hepatorrenal es capaz de curar esta enfermedad, pero las nuevas estrategias terapéuticas en desarrollo permitirán postponerlo o evitarlo, y mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

P42 - Computational analysis of phenotypes, genes and microRNAs in rare-disease.

Autores: James R. Perkins, Pedro Seoane, Fernando M. Jabato, Elena Rojano, Elena Díaz, Jose Córdoba-Caballero, Carlos Romá-Mateo, Pascual Sanz, Diana Gallego, Alejandra Gámez, Laura Planas, Stephane Fourcade, Agatha Schluter, Aurora Puyol, Belén Pérez, Laura Castilla-Vallmanya, Roser Urreizti, Janet Hoenicka, Francesc Palau, Miguel Ángel Medina, Juan A.G. Ranea

Grupo U741, presentado por James Richard Perkins (jimrperkins@gmail.com)

Introduction: Rare disease researchers are producing more data than ever before. At the molecular level, decreased costs of sequencing and new technologies have led to the creation of high throughput omics datasets. At the patient level, collaborative projects allow data to be obtained and shared between researchers. Objectives: To improve high-throughput data analysis related to rare disease, we developed workflows for miRNA

detection and identifying their potential gene-targets. We also developed tools to analyse patient cohorts for which characterization has been performed using the Human Phenotype Ontology. Results: Through collaborations within CIBERER, we have identified miRNAs and genes with potential involvement in Lafora, PMM2-CDG and Adrenoleukodystrophy. For this we developed a platform for sequencing data analysis, including statistical and functional transcriptomic data analysis, miRNA detection, and the integration of mRNA and miRNA expression data. The latter allows us to detect disease-related miRNAs and identify their potential gene-targets. In terms of patient analysis, we have developed tools to analyse cohorts that include Human Phenotype Ontology characterization. Our methodology can divide them into sub-cohorts and compares each patient against public databases such as the Monarch Initiative, allowing the use of external evidence to better explain a patient phenotypic profile. We used it to characterize a CDG-PMM2 cohort of 27 patients, assessing the phenotype quality of the cohort. Using semantic similarity measures, we have identified several patient subgroups related to disease-development. Conclusions: Our workflows allow the generation of new hypotheses for rare disease at both the phenotype and expression levels.

P43 - Un nuevo modelo de ratón knock-in de la enfermedad de Lafora con una mutación en el gen codificante de laforina.

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

Grupo U744, presentado por Daniel Fernández Burgos (daniel.fburgos@quironsalud.es)

Introducción: La enfermedad de Lafora es una forma rara y letal de epilepsia mioclónica progresiva, que aparece generalmente durante la adolescencia. Los pacientes desarrollan crisis epilépticas, deterioro neurológico y agregados aberrantes de poliglucosanos, los cuerpos de Lafora. Está causada por la mutación recesiva de los genes EPM2A o EPM2B, que codifican las proteínas laforina y malina, respectivamente. La mutación R241X es la más frecuente del gen EPM2A, y resulta en una proteína truncada. Los modelos murinos Epm2a^{-/-} y Epm2b^{-/-} presentan alteraciones neurológicas similares a las observadas en pacientes, e hiperexcitabilidad neuronal al agente epileptógeno PTZ. Sin embargo, ambos modelos reflejan diferencias respecto a los pacientes de la enfermedad de Lafora. Objetivo: Caracterizar el primer modelo knock-in de la enfermedad de Lafora, que porta la mutación Epm2aR240X (R240Xlaf), correspondiente con la mutación R241X. Resultados: Los ratones R240Xlaf presentaron cuerpos de Lafora y agregados de laforina con una distribución similar al modelo Epm2a^{-/-}. Además, mostraron neurodegeneración y neuroinflamación, un deterioro cognitivo más temprano y una mayor susceptibilidad a las mioclonías inducidas mediante PTZ. A los 12 meses de edad, el modelo R240Xlaf presentó mayor sensibilidad a las crisis generalizadas provocadas por la administración de PTZ. A diferencia de los ratones Epm2a^{-/-}, no mostraron problemas motores. Conclusiones: Los ratones R240Xlaf exhibieron las principales alteraciones comportamentales, epilépticas e histopatológicas observadas en la enfermedad de Lafora. Ya que es el primer modelo de

ratón que porta una mutación descrita en pacientes, se trata de una buena herramienta para probar terapias.

P50 - El análisis de los nuevos modelos animales de albinismo permite avanzar en el diagnóstico y tratamiento de esta condición genética rara.

Autores: Almudena Fernández, Andrea Montero, Ana M. Guardia, Gema Garrido, Marta Cantero, Julia Fernández, Oksana Kutsyr, Henar Albertos-Arranz, María Torres, Marta Cortón, Ángel Carracedo, Carmen Ayuso, Nicolás Cuenca, Lluís Montoliu

Grupo U756, presentado por Almudena Fernández López (afernandez@cnb.csic.es)

El albinismo es una condición genética poco frecuente que cursa con una discapacidad visual importante y con la posible alteración del patrón de pigmentación corporal. Mientras que las alteraciones del sistema de visión están presentes en todos los casos solamente algunas personas con albinismo presentan una hipopigmentación significativa. Los 22 tipos de albinismo conocidos en la actualidad, divididos entre sindrómicos y no sindrómicos, están asociados a mutaciones en al menos 21 genes. En general todas las mutaciones son recesivas y autosómicas, con excepción del albinismo ocular, vinculado a mutaciones en el gen GPR143, que reside en el cromosoma X. En nuestro laboratorio hemos aplicado la tecnología CRISPR-Cas9 para generar un conjunto de nuevos modelos animales para el estudio de los diferentes tipos de albinismo que son portadores de mutaciones específicas diagnosticadas en pacientes a través de la iniciativa albinochip, que desarrollamos desde hace unos años en colaboración con los grupos de Ángel Carracedo y Carmen Ayuso. Los modelos animales resultantes los llamados ratones avatar, pues replican en el genoma murino la misma mutación detectada en personas con albinismo, aprovechando la gran homología existente entre los genomas humano y del ratón. Se han conseguido modelos de albinismo oculocutáneo de tipo 1 (OCA1), OCA2, OCA4, OCA5, OCA6, OCA7, OA1 y FHONDA. Estos modelos están siendo fenotipados en la actualidad. En particular se están evaluando las alteraciones visuales a través de diversos estudios estructurales y de ensayos funcionales realizados en colaboración con el laboratorio de Nicolás Cuenca (Universidad de Alicante).

P55 - Lipopolysaccharide-induced disruption of the blood-labyrinth barrier: a new model to study hearing loss.

Autores: Murillo-Cuesta S, Lara Astiaso E, Martín-Bernardo B, Rodríguez de la Rosa L, Bermúdez-Muñoz JM, Contreras J, Varela-Nieto I

Grupo U761, presentado por Ester Lara Astiaso (elara@iib.es)

INTRODUCTION : Blood-cochlear barrier (BCB) is an anatomical barrier that separates inner ear from blood and regulates stria vascularis permeability, which is critical for the maintenance of cochlear homeostasis and for the prevention of the entry of deleterious substances. Disruption of BCB and altered permeability has been associated with several inner ear pathologies including autoimmune inner ear disease, acoustic trauma, and

presbycusis. In addition, controlled modification of the BLB permeability can improve drug delivery to the inner ear by intravenous injection. **OBJECTIVE:** To develop and characterize a rat model of lipopolysaccharide (LPS)-induced BCB disruption. **METHODS:** Young (5-6 week-old) male Wistar rats received an intraperitoneal injection of LPS at 5 mg/kg (day 1) and 24 hours later, a second dose at 10 mg/kg. On day 4, hearing was assessed by auditory brainstem responses (ABR) recording, BLB permeability was evaluated by Gadolinium dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging (Gd-MRI) and Evans blue (EB) dye cochlear quantification. A time course cochlear gene expression of LPS receptors and pro-inflammatory cytokines was determined by RT-qPCR. **RESULTS:** ABR records show a moderate increase of auditory thresholds in LPS treated rats compared to saline controls. In addition, an increase in the cochlear signal enhancement in Gd-MRI was observed in LPS rats, as well as a higher cochlear EB concentration after intravenous dye injection, compared to controls. An increase in the expression of Tlr2, Cd14, Il1b, Il1r, Nfkb and iNos was observed after each LPS injection. The time course study of cochlear gene expression show that 2-6 hours and 25 hours (after first LPS injection) are the key temporal points in cochlear inflammatory response to LPS. **CONCLUSIONS:** The proposed animal model helps to understand the role cochlear inflammation and BCB disruption in hearing loss pathology and constitutes an interesting tool for preclinical assays.

P59 - DC-fish Tool Kit®. Nuevos modelos de Disqueratosis Congénita para la búsqueda de tratamientos personalizados.

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

Grupo U768, presentado por Miriam Fernández Lajarín (miriam.fernandez3@um.es)

Introducción. La disqueratosis congénita (DC) es una enfermedad rara hereditaria debida a mutaciones que afectan al complejo telomerasa o a proteínas teloméricas. Los pacientes presentan acortamiento telomérico, siendo la principal causa de muerte el fallo de la médula ósea. Nuestro grupo ha demostrado que el pez cebra es un buen modelo de DC. Las líneas deficientes en las dos principales unidades de la telomerasa, subunidad catalítica (TERT) y componente de RNA (TERC) muestran problemas en la formación de células sanguíneas, envejecimiento prematuro y anticipación genética. **Objetivos** La hematopoyesis es un proceso evolutivamente conservado entre el humano y el pez cebra. Por ello, y por su fácil observación in vivo en este animal, pretendemos generar una batería de modelos para los 12 genes que, hasta la fecha, se sabe que causan DC, que hemos llamado DC-fish Tool Kit®. Con estas herramientas se pretende hacer escrutinios a media/gran escala para la búsqueda de tratamientos. Además, permitirán clasificar las variantes patogénicas conocidas o de patogenicidad incierta que afecten a la hematopoyesis, contribuyendo a la personalización del diagnóstico. **Resultados.** La estrategia ha sido validada en la línea mutante *terc*^{-/-}, con la que se han encontrado moléculas candidatas a utilizarse como medicamento huérfano y donde se ha estudiado un

panel de variantes patogénicas. La misma aproximación se realiza con variantes en TERT.
Conclusiones. El DC-fish Tool Kit® será una herramienta que pondrá a disposición de la comunidad científica modelos de DC para la personalización del diagnóstico e identificación de medicamentos que lleguen rápidamente al paciente.

