

# IX Reunión Anual CIBERER

## Libro de resúmenes

Castelldefels, Barcelona.  
7 y 8 de marzo de 2016



## CONTENIDOS

<b>Presentación</b> .....	p. 5
<b>Programa</b> .....	p. 7
<b>Programa detallado</b> .....	p. 9
<b>Presentaciones de Resultados</b>	
<b>Sesión Orales, lunes 7</b> .....	p. 21
<b>Sesión Orales, martes 8</b> .....	p. 39
<b>Sesiones Pósteres, martes 8</b> .....	p. 47
Pósteres Recorrido I Medicina Mitocondrial y Neuromuscular .....	p. 47
Pósteres Recorrido II. Medicina Metabólica Hereditaria .....	p. 53
Pósteres Recorrido III Medicina Pediátrica y del Desarrollo y Patología Neurosensorial....	p. 58
Pósteres Recorrido IV. Medicina Genética .....	p. 63
Pósteres Recorrido V. Inestabilidad Genética, Cáncer Hereditario y Enfermedades Dermatológicas .....	p. 69
<b>Notas</b> .....	p. 76



## PRESENTACIÓN

Estimados investigadores y compañeros,

Bienvenidos a la "IXª edición de la Reunión Anual del CIBER de Enfermedades Raras".

Son ya 9 años de camino conjunto que nos han permitido a todos avanzar hacia una investigación más traslacional enfocada a los problemas científicos y de salud del ámbito de las enfermedades raras.

Como todos los años, este encuentro es el momento idóneo para intercambiar experiencias, conocimientos y planificar las actividades cooperativas que realizamos dentro de esta red. Además, es una oportunidad única para que, además de los jefes de grupo, los investigadores y técnicos contratados y adscritos del CIBERER puedan conocer de primera mano los avances de sus compañeros, especialmente para aquellos investigadores que acuden por primera vez a esta Reunión Anual.

Gracias al trabajo de todos, la producción científica de CIBERER sigue estando en un destacado nivel de excelencia. Para mantener y mejorar este resultado es cada vez más necesario formar parte de iniciativas transversales y poner en marcha proyectos colaborativos estratégicos. Esa sigue siendo una de las apuestas de CIBERER en su plan de actuación. Por otra parte, han pasado dos años desde que se inició una nueva etapa en cuanto a la gestión administrativa e integración dentro del consorcio CIBER. A lo largo de ese tiempo hemos ido adaptándonos a la nueva estructura, creando herramientas comunes, procedimientos normalizados y todo ello manteniendo la esencia de nuestra misión que tiene como objetivo ofrecer respuestas científicas y de apoyo clínico al colectivo de las enfermedades raras y a la sociedad en general.

Llegados a este punto, nos encontramos en una nueva etapa donde CIBERER debe tener un papel principal para afrontar los retos globales en la investigación científica y tecnológica de estas enfermedades. Para ello debemos aprovechar todas las oportunidades que se nos presentan al estar en una organización con una capacidad única como es el consorcio CIBER. Esta nueva etapa coincide con la incorporación de dos nuevos grupos de investigación que seguro aportarán nuevas oportunidades para crecer a todos y cada uno de quienes conformamos el CIBERER.

Esperamos que disfrutéis de estos días.

Un afectuoso saludo, Paco.



Francesc Palau  
Director Científico CIBERER



# IX REUNIÓN ANUAL CIBERER

## PROGRAMA

### Lunes 7 de marzo

---

**10:30 – 11:00** Recepción y café de bienvenida

**11:00 – 12:00** Bienvenida. CIBERER, actividad presente y futura.

**12:00 – 12:30** Presentación de los nuevos Grupos CIBERER

**12:30 – 14:00** Resultados de la investigación I

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

**14:00 – 15:30** Almuerzo

**15:30 – 18:00** Resultados de la investigación II

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

**18:00 – 18:30** Pausa café

**18:30 - 19:30** Varias sesiones en paralelo:

**Sesión I:** Reunión interna para los Jefes de grupo

> Para el resto de asistentes y Grupos Clínicos Vinculados, sesiones informativas en paralelo sobre plataformas y actividades del CIBERER:

**Sesión II** "Orphanet como plataforma para visibilizar la actividad clínica de CIBERER y sus Grupos Clínicos Vinculados"

**Sesión III** "Bioinformática y Enfermedades Raras, la Plataforma BIER":

- Actividad colaborativa de la plataforma BIER desde la U715

- Redes de asociación genotipo-fenotipo, integrando Genes y Enfermedad. BIER U741

**21:00** Cena

### Martes 8 de marzo

---

**08:30 – 10:30** Reuniones de los Programas de Investigación

Siete sesiones en paralelo

**10:30 – 11:00** Pausa café

**11:00 – 12:00** Sesión póster.

**12:00 – 14:00** Resultados de la investigación III

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

**14:00 – 15:30** Almuerzo

**15:30 – 17:15** Mesa Redonda: Registros en la investigación clínica

**17:15 – 17:30** Despedida



## PROGRAMA DETALLADO

### Lunes 7 de marzo

---

**10:30 – 11:30** Recepción y café de bienvenida

**11:30 – 12:00** EI CIBERER

**Bienvenida. CIBERER, actividades, programas presentes y futuras**

*F Palau, Director Científico CIBERER*

*Equipo de Gestión Científica*

**12:00 – 12:30** Presentación de los nuevos Grupos CIBERER

12:00 Encefalitis mediada por anticuerpos contra el receptor NMDA y otras sinaptopatías autoinmunes

*Josep Dalmau Obrador - Grupo CIBERER: U764*

12:15 El sistema hemostático: fuente de enfermedades raras y sistema afectado por otras enfermedades raras

*Vicente Vicente Gracia - Grupo CIBERER: U765*

**12:30 – 14:00** **SESIÓN I de Presentación de resultados**

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

#### SALA I

**12:30** Adipogenic reprogramming and correction of Congenital Generalized Lipodystrophy human dermal fibroblasts by forced expression of PPAR $\gamma$ 1: A proof of concept ex vivo gene therapy approach

*Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid*

**12:45** Characterization and transduction with a therapeutic lentiviral vector of hematopoietic progenitors from pyruvate kinase deficient (PKD) patients

*Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid*  
*Otros grupos: GCV19, GCV20*

**13:00** Nuevos modelos celulares y animales de enfermedades raras neurosensoriales generados mediante CRISPR (proyecto ACCI)

*Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid*  
*Otros grupos: U704, U709, U718, U728, U755, U761*

**13:15** Modelling the Fanconi anemia/BRCA pathway and functional analysis of genetic variants by TALEN and CRISPR-Cas9

*Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona*

**13:30** Genome editing by CRISPR/Cas9 of CERKL and NR2E3 to study retinitis pigmentosa

*Grupo CIBERER: U718 Genètica Molecular Humana, Departament de Genètica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona*  
*Otros grupos: U756, U704, U709, U728, U755, U761*

**13:45** Targeting liver disease at DNA level

*Grupo CIBERER: Invitado*  
*Otros grupos: U740*



## SALA II

- 12:30 Desarrollo de una plataforma para el diagnóstico por secuenciación de nueva generación (proyecto ACCI)**  
*Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia*  
*Otros grupos: U702, U704, U728, U735, U746, U753, U755*
- 12:45 Utilidad de un panel NGS para la caracterización genética de pacientes con enfermedades mitocondriales (OXHPOS) causadas por defectos en la traducción mitocondrial**  
*Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 13:00 La secuenciación masiva de exomas, una herramienta útil en la búsqueda de los genes responsables de los síndromes de Opitz C y Bohring-Opitz**  
*Grupo CIBERER: U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona, Barcelona*  
*Otros grupos: U715, U705*
- 13:15 Contribution of rare CNV and point mutations to the etiology of severe early-onset obesity**  
*Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona*  
*Otros grupos: In collaboration with CIBERObn and CIBERESP*
- 13:30 Medicina de Redes Aplicada a Enfermedades Raras**  
*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*
- 13:45 El CIBERER Spanish Variant Server y la importancia de la variación local en la investigación en enfermedades raras**  
*Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia*

14:00 – 15:30 Almuerzo

## 15:30 – 18:00 SESIÓN II de Presentación de resultados

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

## SALA I

- 15:30 New advances in McArdle disease: characterization of the p.R50X knock-in mouse model and evaluation of new therapeutic approaches**  
*Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona*
- 15:45 Patología celular en motoneuronas deficientes en GDAP1: nuevas implicaciones en la neuropatía de Charcot-Marie-Tooth.**  
*Grupo CIBERER: U732 Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona*
- 16:00 Metaboloma y proteoma de Charcot-Marie-Tooth: Marcadores de progresión**  
*Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología , Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*  
*Otros grupos: U732, U763*
- 16:15 Regulation of mitochondrial-tRNA modification enzymes by microRNAs: role in mechanisms of OXPHOS disease**  
*Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia*  
*Otros grupos: U701, U723, U727*

- 16:30 Mitochondrial lesion in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction and associated cardiovascular remodelling**  
*Grupo CIBERER: U722 Grupo de Investigación Muscular y Función Mitocondrial, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona*  
*Otros grupos: U719*
- 16:45 Insuficiencia de ADCK2 causa miopatía asociada a deficiencia de coenzima Q y defecto en el metabolismo de ácidos grasos**  
*Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla*  
*Otros grupos: U703, U737*
- 17:00 Functional characterization of LRRC8-mediated volume-regulated anion currents**  
*Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona*
- 17:15 Slc7a7<sup>-/-</sup> mouse model develops Lysinuric Protein Intolerance immune related abnormalities**  
*Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona*  
*Otros grupos: IRB Barcelona, Universitat de Barcelona, Hospital San Joan de Déu de Barcelona and Università Federico II di Napoli.*
- 17:30 Inborn metabolic errors and macromolecular structure and function: a bidirectional path to discovery**  
*Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia*
- 17:45 La Plataforma PROTEOmAb**  
*Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*

## SALA II

- 15:30 Mice lacking endoglin in macrophages show an impaired immune response.**  
*Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid*
- 15:45 Generación de modelos murinos de aSHU y C3G**  
*Grupo CIBERER: U738 Patología Molecular y Genética del Complemento, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid*
- 16:00 Differential localization of CERKL isoforms in retinal cells**  
*Grupo CIBERER: U718 Genética Molecular Humana, Departament de Genètica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona*
- 16:15 Meis1 coordinates a network of genes implicated in eye development and micropthalmia**  
*Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*
- 16:30 Análisis funcional de 10 mutaciones causantes del síndrome de Baraitser-Winter**  
*Grupo CIBERER: U728 Servicio de Genética, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 16:45 Predisposición al daño auditivo causada por haploinsuficiencia de IGF-1**  
*Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-UAM, Madrid. Otros grupos: U733*
- 17:00 Nuevos modelos animales y mutaciones asociadas a albinismo**  
*Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid*  
*Otros grupos: U711, U704*
- 17:15 Identification and characterization for a rare RAD51C variant in BRCA1 ovarian cancer patients**  
*Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid*

**17:30 A mutation in XLF/NHEJ1/CERNUNNOS gene results in downregulation of telomerase genes and telomerase activity**

*Grupo CIBERER: U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid*  
*Otros grupos: U706, U710, U749, GCV19*

**17:45 Caracterización molecular de modelos celulares asociados a tres genotipos de la Disqueratosis Congénita.**

*Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universitat de València, Valencia*

**18:00 – 18:30 Pausa café**

**18:30 – 19:30 Varias sesiones en paralelo:**

**Sesión I:** Reunión interna para los Jefes de grupo

> Para el resto de asistentes y Grupos Clínicos Vinculados, sesiones informativas en paralelo sobre plataformas y actividades del CIBERER:

**Sesión II** "Orphanet como plataforma para visibilizar la actividad clínica de CIBERER y sus Grupos Clínicos Vinculados"

**Sesión III** "Bioinformática y Enfermedades Raras, la Plataforma BIER":

- Actividad colaborativa de la plataforma BIER desde la U715

- Redes de asociación genotipo-fenotipo, integrando Genes y Enfermedad. BIER U741

**21:00 Cena**

---

**Martes 8 de marzo**

**8:30 – 10:30 Reuniones de los Programas de Investigación**

Siete sesiones en paralelo

**10:30 – 11:00 Pausa café**

**11:00 – 12:00 Sesión Pósteres:**

Presentaciones orales a pie de póster.

Cinco recorridos en paralelo.

**Pósteres Recorrido I.**

**Medicina Mitocondrial y Neuromuscular**

**1. CIBERER BIOBANK: Puesta a punto de nuevos servicios como apoyo a la Investigación Biomédica en el ámbito de las Enfermedades Raras.**

*Grupo CIBERER: CIBERER Biobank*

**2. Generación de un modelo de iPSCs de una encefalopatía infantil de origen mitocondrial causada por defectos de traducción**

*Grupo CIBERER: U717 Departamento de Bioquímica, Laboratorio B19, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM, Facultad de Medicina UAM, Madrid. Otros grupos: U704*

**3. Puesta a punto de un modelo celular para el estudio de la función OXPHOS en la enfermedad de Alzheimer**

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

- 4. Data mining en el genoma de Drosophila. Una herramienta para identificar genes humanos no descritos implicados en la función OXPPOS**  
*Grupo CIBERER: U717 Departamento de Bioquímica, Laboratorio B19, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM, Facultad de Medicina UAM, Madrid*
- 5. Profundizando en la fisiopatogenia de la enfermedad de McArdle: estudio de expresión diferencial de proteínas musculares.**  
*Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 6. Efectos de las mutaciones patológicas de la parkina en la diferenciación neuronal dopaminérgica**  
*Grupo CIBERER: U727 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza*
- 7. Deoxyribonucleoside supply rescues mtDNA depletion in human POLG-deficient fibroblasts**  
*Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona*
- 8. El precursor del NAD, NMN, mejora la bioenergética en híbridos mutantes del mtDNA**  
*Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla  
Otros grupos: U717, U727*
- 9. Mitochondrial dynamics in aralar deficient neuron**  
*Grupo CIBERER: U743 Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO) CSIC-UAM, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*
- 10. Rituximab es efectivo en el tratamiento de CIDP resistente con anticuerpos IgG4 dirigidos contra proteínas paranodales**  
*Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 11. Role of hypoxia in innate immunity activation in dermatomyositis**  
*Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 12. Immunoproteomic Studies on Paediatric Opsoclonus-Myoclonus associated with Neuroblastoma**  
*Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital Universitario La Fe, Valencia  
Otros grupos: U764*
- 13. Evaluation of a new gen therapy based on PPRHs for exon skipping in DMD**  
*Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital Universitario La Fe, Valencia*

## **Pósteres Recorrido II.**

### **Medicina Metabólica Hereditaria**

- 14. New transporters in the amino acid renal reabsorption**  
*Grupo CIBERER: U730 Centro de Genética Médica y Molecular CGMM, CGMM-IDIBELL Hospital Duran y Reynals, Fundación IDIBELL, Barcelona  
Otros grupos: 731*
- 15. Hyperexcretion of organic acids in urine as metabolic markers in murine aminoacidurias**  
*Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona  
Otros grupos: 730, 737, 703*
- 16. Disease modelling of Primary Hyperoxaluria by cell reprogramming**  
*Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid  
Otros grupos: U740*
- 17. Structure-Function studies of a prokaryotic LAT transporter**  
*Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona*

- 18. Inborn metabolic errors and macromolecular structure and function: a bidirectional path to discovery**  
*Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia*
- 19. Autophagy induction as a potential treatment for lysosomal diseases.**  
*Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona*
- 20. Exome sequencing revealed mutations in NADK2 in a patient with clinical improvement upon lysine restriction and pyridoxal phosphate administration**  
*Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona. Otros grupos: GCV03*
- 21. Altered functions of KCa3.1 channels in monocytes and macrophages in Gaucher's Disease**  
*Grupo CIBERER: U752 Grupo de estudio de enfermedad de Gaucher y neoplasias hematológicas. Servicio Hematología, Hospital Universitario "Miguel Servet", Instituto Investigación Sanitaria Aragon (IIS Aragon), Zaragoza*
- 22. Utilidad de los biomarcadores actividad quitotriosidasa, concentración de CCL18/PARC y 7-cetocolésterol en el diagnóstico de las enfermedades de Gaucher, Niemann-Pick A/B, C y por déficit de lipasa ácida lisosomal.**  
*Grupo CIBERER: U752 Grupo de estudio de enfermedad de Gaucher y neoplasias hematológicas. Servicio Hematología, Hospital Universitario "Miguel Servet", Instituto Investigación Sanitaria Aragon (IIS Aragon), Zaragoza*

## Pósteres Recorrido III.

### Medicina Pediátrica y del Desarrollo y Patología Neurosensorial

- 23. Stress test to reveal cardiac susceptibility in a rat model of Fetal Growth Restriction**  
*Grupo CIBERER: U719 Grupo de Investigación en Medicina Fetal y Perinatal. Servicio de Medicina Materno Fetal, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona*
- 24. Incremento del espectro genotípico y fenotípico mediante la identificación de nuevas mutaciones en agrecano en pacientes con displasias esqueléticas**  
*Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 25. Estudio geográfico y temporal de la mortalidad debida a la enfermedad de Huntington en España (1984-2013)**  
*Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid*
- 26. Biobanks supporting research on Rare Diseases: International collaboration of the Spanish National Rare Diseases Biobank**  
*Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid*
- 27. Edición genómica con el sistema CRISPR/Cas9 para la inserción dirigida del gen GCDH responsable de la acidúria glutárica**  
*Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona. Otros grupos: U737*
- 28. Generación de células knock-out de una proteína ciliar mediante tecnología CRISPR/Cas9**  
*Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid*
- 29. Base genética del trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad en niños de la población española.**  
*Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid*
- 30. Whole genome sequencing findings in Spanish families affected with Retinal Dystrophies**  
*Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid*
- 31. PEX6- Defective Peroxisomal Biogenesis Disorder with mild phenotype in two sibs misdiagnosed as having Usher syndrome**  
*Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia. Otros grupos: U704*

- 32. Evaluación de la toxicidad de nanocarriers para el tratamiento de la retinosis pigmentaria**  
*Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia*

## **Pósteres Recorrido IV. Medicina Genética**

- 33. Identificación de dos mecanismos responsables de la bajada de expresión de PAX6, como posible causa de la aparición de la enfermedad de Hirschsprung.**  
*Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud en Sevilla, Sevilla*
- 34. Improving the management of Inherited Retinal Dystrophies by targeted sequencing of a population-specific gene panel**  
*Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud en Sevilla, Sevilla*  
*Otros grupos: U715*
- 35. NGS: Identificación de una nueva mutación en el gen LTBP2 responsable de Ectopia Lentis Aislada.**  
*Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 36. Análisis molecular de Miopatías Congénitas mediante un panel predeterminado: La importancia de elegir la herramienta adecuada.**  
*Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 37. Soluciones bioinformáticas para diagnóstico mediante paneles y descubrimiento de nuevas variantes de enfermedad.**  
*Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia*
- 38. Estudio de la mitofagia en fibroblastos de pacientes de Lafora**  
*Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia*  
*Otros grupos: U-742, U-733*
- 39. Targeting TDP-43 phosphorylation by Casein Kinase-1 inhibitors: a novel strategy for the treatment of frontotemporal dementia**  
*Grupo CIBERER: U734 Fisiopatología de trastornos hemostáticos; Bases celulares y moleculares de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid*  
*Otros grupos: de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED)*
- 40. Obtención y caracterización de células madre inducidas de origen murino como sistema modelo de enfermedad de Lafora**  
*Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia*  
*Otros grupos: U-721 y U-733*
- 41. Astrocytic glutamate uptake is decreased in Lafora disease due to a change in GLT-1 cellular localization**  
*Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia*
- 42. Disparity in onset of Lafora disease within the same family and detection at early stages of the disease mutation.**  
*Grupo CIBERER: U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid*
- 43. Functional assessment of a rare FXII polymorphism as a disease-modifier in Hereditary Angioedema**  
*Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 44. Autoanticuerpos y deficiencias de la vía alternativa del Complemento en el Lupus Eritematoso Sistémico. Comparación con SHUa y C3G.**  
*Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid*

## Pósteres Recorrido V.

### Inestabilidad Genética, Cáncer Hereditario, Enfermedades Dermatológicas y Endocrinas

- 45. Novel in vivo biomarkers of DNA damage and bone marrow failure in Fanconi anemia mouse models**  
*Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona*  
*Otros grupos: U710*
- 46. An example of how mutational analysis can save the life of a Fanconi anemia patient**  
*Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona*
- 47. Reduced DNA methylation of FKBP5 in Cushing's syndrome, implications for glucocorticoid resistance**  
*Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona*
- 48. Comparison of different algorithms applied to high-throughput data for identifying prognostic markers using PPGL as a model.**  
*Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid*
- 49. Análisis de CNVs en linfomas B difusos de célula grande: descripción de alteraciones genéticas y correlación con respuesta.**  
*Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña*
- 50. CNVs raras en línea germinal en pacientes jóvenes con sospecha de cáncer colorrectal hereditario**  
*Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña*
- 51. Evaluación de la herramienta ExomeDepth en la detección de grandes reordenamientos (LGRs) en cáncer de mama/ovario hereditarios (CMOH)**  
*Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña*
- 52. Down-regulation of FBXW7 isoforms is a main event in T-cell lymphoblastic lymphoma**  
*Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*
- 53. Development of a new therapeutic strategy in T lymphoblastic lymphomas based on the vulnerability created by passenger genes in common 9p21 deletions**  
*Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*
- 54. Long-term skin regeneration in xenografts from iPSC teratoma-derived human keratinocytes**  
*Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid*
- 55. Análisis funcional de los procesos biológicos alterados en Síndrome de Kindler: Estudio de la expresión génica global en queratinocitos SK**  
*Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid*

#### 12:00 – 14:00 **SESIÓN III de Presentación de resultados**

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

#### **SALA I**

**12:00 De novo heterozygous mutations in SMC3 cause a range of Cornelia de Lange Syndrome-overlapping phenotypes**

*Grupo CIBERER: GCV02 Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza*

- 12:15 Deleciones intragénicas en el gen CREBBP causan el síndrome de Rubinstein-Taybi tipo1**  
*Grupo CIBERER: U724 Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas - CIAC, Centro mixto ISCIII - ASEREMAC, Madrid*
- 12:30 Phenotypic overlap between CLAPO syndrome and PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum (PROS)**  
*Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 12:45 Genetic analysis of the MC1R gene in Spanish Huntington's disease patients reveals the influence of the p.R151C polymorphism on the age of onset**  
*Grupo CIBERER: U726 Grupo de Investigación en Genética de Enfermedades Raras (GICER), Hospital Clinic GICER (Servicio de Bioquímica y Genética Molecular), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona  
Otros grupos: U755 (Dr. José María Millán), U704 (Dra. María José Trujillo-Tiebas)*
- 13:00 A mouse model for DYRK1A-related intellectual disability syndrome presents autistic-like behaviours, epilepsy and altered brain cytoarchitecture**  
*Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona  
Otros grupos: U744*
- 13:15 Cinco años con osteogénesis imperfecta. Estado actual y diagnóstico diferencial**  
*Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid  
Otros grupos: U753, GCV01*
- 13:30 El Biobanco del CIBERER como plataforma de servicio: generación de células iPS**  
*Grupo CIBERER: Biobank CIBERER*
- 13:45 EpiDisease. Investigación e innovación basada en epigenética.**  
*Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina i Odontología, Universitat de València, Valencia*

## SALA II

- 12:00 Propuesta de subclasificación de los adenomas hipofisarios no funcionantes en base a su fenotipo molecular.**  
*Grupo CIBERER: GCV19 Hospital Niño Jesús, Madrid*
- 12:15 Cerebrospinal fluid neopterin analysis in neuropediatric patients: establishment of a new cut off-value for the identification of inflammatory-immune mediated processes.**  
*Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona*
- 12:30 Estudio molecular de una paciente con anemia diseritropoyética congénita y disgenesia gonadal completa con cariotipo 46,XY**  
*Grupo CIBERER: U712 Servicio de Pediatría, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Institut Català de la Salut, Barcelona  
Otros grupos: U701*
- 12:45 Características e historia natural de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth por mutaciones del gen GDAP1**  
*Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital Universitario La Fe, Valencia*
- 13:00 Efecto del tratamiento con TRIAC en ratones deficientes del transportador Mct8.**  
*Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid*
- 13:15 Pharmacological chaperoning for neurometabolic disorders: Therapeutic strategy applicable to PMM2-CDG**  
*Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*



**13:30 Intertwining between Endoplasmic Reticulum and Redox Imbalance leads to axonal degeneration in X-adrenoleukodystrophy: therapeutic implications**

*Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL -Hospital Duran i Reynals, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Barcelona*

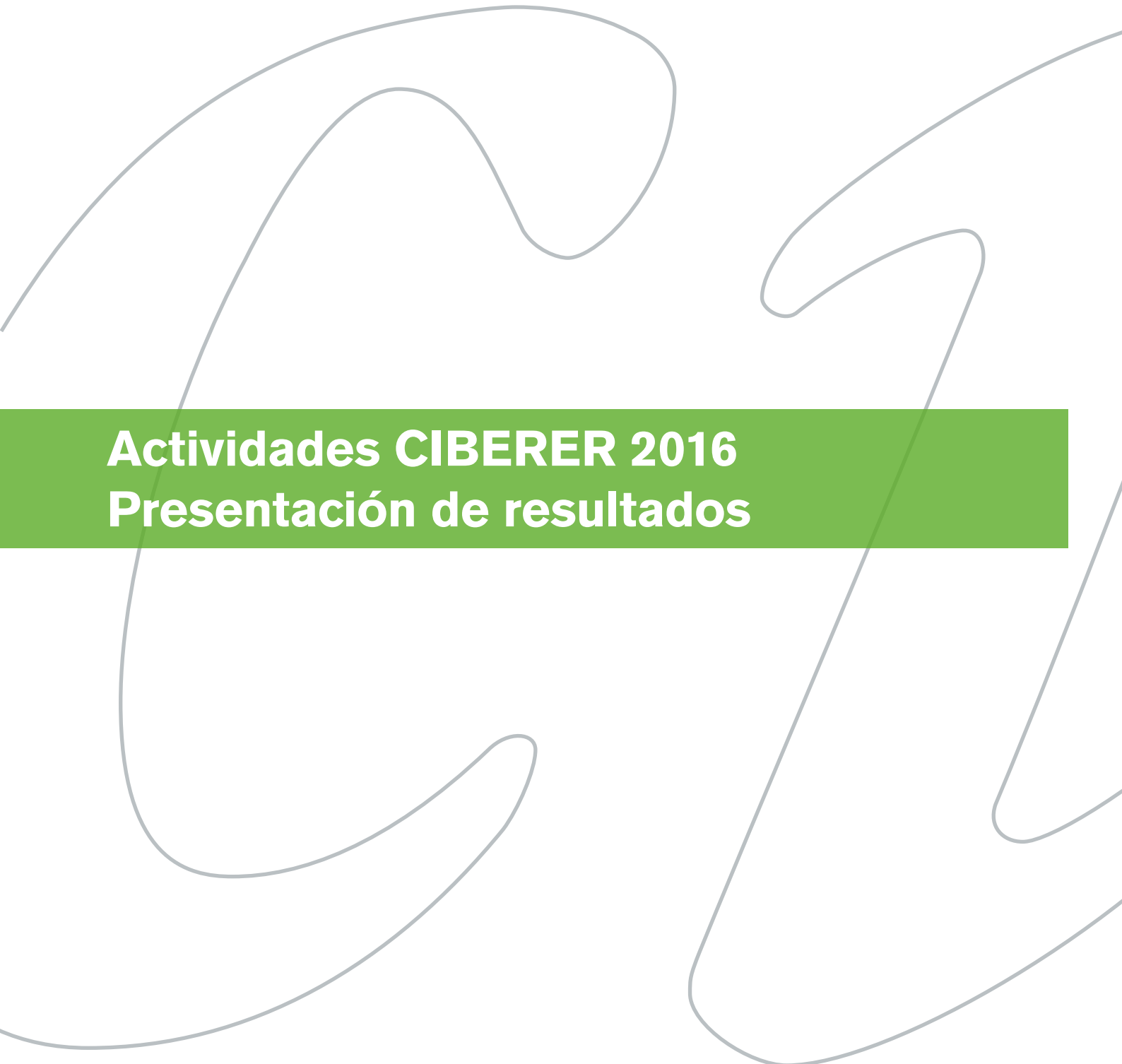
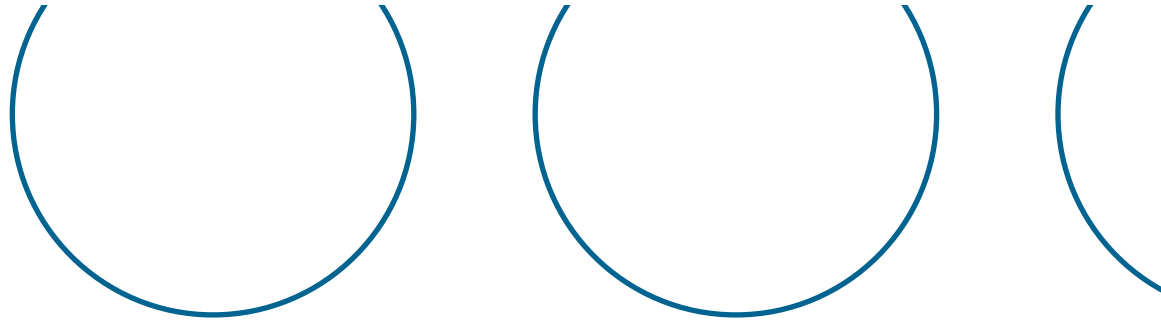
**13:45 La Plataforma de Internacionalización CIBER**

*Rodríguez, C*

**14:00 – 15:30 Almuerzo**

**15:30 – 17:15 Mesa Redonda: Registros en la investigación clínica.**

**17:15 – 17:30 Despedida**



**Actividades CIBERER 2016**  
**Presentación de resultados**



## Sesión Orales, lunes 7

**SESIÓN PLENARIA SALA 1, Lunes 7 12:00 – 12:30**

**Presentaciones Orales de los nuevos Grupos de Investigación CIBERER**

### Encefalitis mediada por anticuerpos contra el receptor NMDA y otras sinaptopatías autoinmunes

*Dalmau, J*

Grupo CIBERER: U764 IDIBAPS, Barcelona

El descubrimiento de un grupo de enfermedades mediadas por anticuerpos contra receptores sinápticos y otras proteínas de superficie neuronal ha revolucionado la estrategia diagnóstica y terapéutica en Neurología y Psiquiatría. Actualmente hay 13 enfermedades asociadas a anticuerpos contra diferentes proteínas sinápticas, y en la mayoría de ellas hay evidencia de que los anticuerpos son patogénicos. Para esta presentación voy a utilizar la encefalitis asociada a anticuerpos contra el receptor de glutamato NMDA para ilustrar una serie de conceptos nuevos. Utilizando cultivos de neuronas y un modelo de infusión de anticuerpos de pacientes en el sistema cerebroventricular de ratones nuestros estudios muestran como los anticuerpos modifican de manera específica la estructura y función de los receptores NMDA, produciendo su internalización, alterando la plasticidad sináptica, y causando importantes alteraciones de memoria y conducta. Estas alteraciones son reversibles al eliminar la presencia de los anticuerpos o bien al bloquear sus efectos mediante la modulación del receptor de Efrina-B2 que estabiliza los receptores NMDA en la sinapsis. Los resultados de estos estudios y el mejor conocimiento de la fisiopatología de ésta y otras sinaptopatías autoinmunes ya han empezado a proporcionar nuevas estrategias terapéuticas (además de la inmunoterapia) dirigidas a preservar la estructura y función del receptor atacado por los anticuerpos. A nivel más básico el estudio de estas enfermedades proporciona modelos de cómo un anticuerpo puede alterar la memoria, conducta y cognición, reforzando la hipótesis de que una hipofunción glutamatérgica es la base molecular de la psicosis esquizofrénica.

[jdalmau@clinic.ub.es](mailto:jdalmau@clinic.ub.es)

### El sistema hemostático: fuente de enfermedades raras y sistema afectado por otras enfermedades raras

*Vicente V, Rivera J, Corral J*

Grupo CIBERER: U765 Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, Murcia

El compendio de enfermedades raras que constituyen la patología congénita del sistema hemostático se explica por alteraciones en genes que directa o indirectamente están implicados en la respuesta hemostática. Nuestro grupo es referencia en la caracterización de coagulopatías congénitas (VKCFD, deficiencia de FXI), trastornos plaquetarios congénitos y trombofilia (especialmente deficiencia de antitrombina) mediante estudios funcionales, bioquímicos y moleculares de muestras del paciente y el empleo de modelos celulares y animales. Como ejemplos destacamos la reciente caracterización de patología molecular en CalDAG-GEF1, proteína clave en la activación de integrinas como allbb3, en pacientes con diátesis hemorrágica desde la infancia; la identificación de una UPD en un niño con deficiencia de proteínas vitamina K dependiente; o la introducción del concepto de trombofilia congénita transitoria. Pero nuestra aportación al CIBERER no se restringe al estudio de las consecuencias funcionales de nuevas mutaciones, la caracterización de mecanismos patológicos inéditos, el desarrollo de nuevas aproximaciones diagnósticas, o el diseño de nuevas terapias para estas enfermedades raras hemostáticas. Las complicaciones hemorrágicas o trombóticas son manifestaciones frecuentes en pacientes con otras enfermedades raras, por lo que caracterizar al sistema hemostático en estos pacientes puede ser una excelente fuente de información sobre este sistema. Y viceversa, estudios de casos con trastornos de la hemostasia pueden identificar o aportar nueva información sobre otras enfermedades raras. Así, al estudiar pacientes con trombosis que presentaban deficiencia de antitrombina pero sin mutaciones en el gen SERPINC1 identificamos pacientes adultos sin retraso psicomotor que tenían trastornos de glicosilación congénitos.

[vicente.vicente@carm.es](mailto:vicente.vicente@carm.es)

## SESIÓN PRESENTACIÓN DE RESULTADOS I SALA 1, Lunes 7 12:30 – 14:00

### Presentaciones Orales

#### Adipogenic reprogramming and correction of Congenital Generalized Lipodystrophy human dermal fibroblasts by forced expression of PPAR $\gamma$ 1: A proof of concept ex vivo gene therapy approach

*Rosa Moro, Sara Llames, Álvaro Meana, Rodolfo Murillas, Ángeles Mencía, Marcela Del Río and Fernando Larcher*

Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Madrid

Congenital generalized Lipodystrophy also known as Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy (BSCL) comprises several inherited disorders characterized by generalized adipose tissue atrophy, metabolic alterations and deficiency of adipokines. Inactivation of 1-acylglycerol-3-phosphate-O-acyltransferase 2 (AGPAT2) or seipin due to mutations in AGPAT2 or BSCL2 genes constitute the molecular defects responsible for BSCL types 1 and 2, respectively. Recent evidence indicate that functions of both AGPAT2 and seipin go beyond those of glycerolipids biosynthesis and lipid droplet formation, with roles affecting other metabolic and signalling pathways critical for adipogenesis, including PPAR $\gamma$  transcription factor activation.

Control and BSCL patient-derived dermal fibroblasts were reprogrammed by forced expression of the transcription factor PPAR $\gamma$ 1 by means of retroviral transduction. Adipogenesis, as determined phenotypically and through molecular markers, was assessed in reprogrammed cells using adipose-derived mesenchymal stem cell (AdMSC) as control. PPAR $\gamma$ 1 reprogrammed cells were grafted to immunodeficient mice under different settings to assess their safety and persistence in vivo. BSCL patient-derived dermal fibroblasts made permissive for adipogenic stimuli by PPAR $\gamma$ 1 overexpression become fully capable of adipose differentiation, bypassing the requirement for functional AGPAT2 or BSCL2 genes. Data including lipid accumulation, expression of adipogenic genes and leptin secretion showed that PPAR $\gamma$ -1-reprogrammed BSCL fibroblasts undergo adipogenic differentiation in the same way than PPAR $\gamma$ -1-reprogrammed healthy donor-derived fibroblasts and AdMSC. Lipid profiling showed that differentiated, PPAR $\gamma$ -1-reprogrammed fibroblasts exhibit a lipid composition similar to differentiated healthy donor-derived AdMSC. Preliminary in vivo experiments demonstrated the safety of grafted PPAR $\gamma$ -1-reprogrammed cells. Our study provides further support for a main role of AGPAT2 and seipin as essential controllers of the adipogenic transcription factor PPAR $\gamma$  function. On the other hand we present a proof-of-concept ex vivo gene therapy approach for the major forms of BSCL.

[Fernando.larcher@ciemat.es](mailto:Fernando.larcher@ciemat.es)

#### Characterization and transduction with a therapeutic lentiviral vector of hematopoietic progenitors from pyruvate kinase deficient (PKD) patients

*Navarro, S, López-Manzaneda, S, García-Gómez, M, Sánchez-Domínguez, R, García-Bravo, M, Alberquilla, O, Mañu, MM, Muriel-Ramos, M, Vives-Corróns, JL, Sevilla, J, Bueren, JA, Segovia, JC*

Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid  
Otros grupos: GCV19, GCV20

Pyruvate kinase deficiency (PKD) is an autosomal recessive disorder caused by mutations in the PKLR gene. PKD is the most common erythroid inherited enzymatic defect causing chronic non-spherocytic hemolytic anemia, high reticulocytosis, acute splenomegaly and intense iron overload in the liver, being life-threatening in severe patients. Up to date allogeneic bone marrow transplant represents the only curative treatment of patients affected by the severe form of the disease (5-10% of PKD patients aprox.). Preclinical gene therapy studies conducted in pyruvate kinase deficient mice have shown the safety and the efficacy of a new PGK-coRPK-Wpre therapeutic lentiviral vector, designed as an Orphan Drug (EU/3/14/1130) by the European Medicinal Agency (EMA). To continue with the preclinical studies required to develop a clinical trial for PKD we have characterized the hematopoietic progenitor's content and the erythroid progenitors' profile in peripheral blood (PB) from PKD patients, showing an increased content of both

cell types, as compared to PB from healthy donors. PB CD34 sorted cells from PKD patients were transduced with the PGK-coRPK-Wpre LV to investigate the transduction efficacy of the vector in human PKD cells. The percentage of transduction ranged from 31% to 100%. Vector copy number was quantified both, in individual CFU-derived colonies and in CD34 cells maintained in liquid culture for 14 days, ranging from 0.1 to 3.0 VCN/cells, showing the efficacy of the PGK-coRPK therapeutic vector. Additional studies are being conducted to demonstrate PGK-coRPK functionality in human PKD cells.

[jc.segovia@ciemat.es](mailto:jc.segovia@ciemat.es)

### Nuevos modelos celulares y animales de enfermedades raras neurosensoriales generados mediante CRISPR

*Montoliu L, Sánchez-Alcudia R, Bovolenta P, González R, del Castillo I, Aller E, Varela-Nieto I*

Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid  
Otros grupos: U704, U709, U718, U728, U755, U761

La generación de modelos celulares y animales (principalmente ratones y peces cebra) genéticamente modificados ha permitido reproducir, en parte o en su totalidad, el fenotipo complejo habitualmente asociado a las enfermedades raras humanas. Las tecnologías clásicas de modificación genética permitían, no sin dificultades, producir alelos mutantes nulos que, frecuentemente no correspondían a las alteraciones observadas en pacientes, en los cuales se observan mutaciones puntuales, o pequeñas inserciones/deleciones/reordenaciones, que producen proteínas aberrantes directamente implicadas en la patología. En la actualidad, las herramientas CRISPR-Cas9, en cualquiera de sus variantes, han revolucionado y universalizado la generación de modelos celulares y animales, tanto en eficacia y precisión como en rapidez y facilidad de obtención.

La utilización de editores genómicos permite generar prácticamente cualquier alelo mutante de cualquier gen, reproduciendo fielmente las alteraciones genéticas observadas en los pacientes. En este proyecto ACCI conjunto del Programa de Patología Neurosensorial pretendemos aplicar los nuevos métodos CRISPR-Cas9 a un conjunto de enfermedades raras que cursan con alteraciones neurosensoriales en la visión y/o audición. Planteamos generar nuevos modelos celulares y animales (en ratones y peces cebra) con sus genomas editados para la investigación en 12 enfermedades raras, para estudiar sus bases patofisiológicas y los mecanismos moleculares subyacentes, con objeto de mejorar nuestra comprensión sobre estas patologías y poder plantear el desarrollo de terapias paliativas o curativas. En esta presentación se expondrán de forma resumida las enfermedades raras seleccionadas y las estrategias experimentales elegidas para la obtención de los nuevos modelos celulares y animales.

[montoliu@cnb.csic.es](mailto:montoliu@cnb.csic.es)

### Modelling the Fanconi anemia/BRCA pathway and functional analysis of genetic variants by TALEN and CRISPR-Cas9

*Bogliolo, M, Aza-Carmona, M, Marín, M, Mina, L, Muñoz, A, Ramírez, M.J., Surrallés, J.*

Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

Fanconi anemia (FA) is a rare genome instability disorder clinically characterized by developmental abnormalities, high predisposition to cancer and bone marrow failure. Many of the available cell lines from FA anemia patients are difficult to grow, difficult to transduce and genetically manipulate and are not isogenic. Due to current limitations of FA cell models, we decided to knock-out three FA genes (FANCA, FANCD1, FANCD2) and one associated gene (FAN1), all of them implicated in the FA/BRCA pathway, in the genetically amenable and fast growing human HEK293T cell line. We used transcription activator-like effector nucleases (TALENs) and clustered regularly interspaced short palindromic repeats with CRISPR associated 9 nuclease (CRISPR-Cas9) for gene KO. Specific gene disruption was proven by genetic complementation with the corresponding wildtype gene using lentiviral vectors or transient transfection. Variants of uncertain significance (VUS) were introduced in the corresponding cDNA and functionally studied by lentivirus mediated genetic complementation. We successfully generated FANCA, FAN1, FANCD1 and

FANCO KO HEK293T cell lines by the use of engineered nucleases. All these cell lines are sensitive to DNA crosslinking agents, thus mimicking cells from patients with defects in the FA/BRCA pathway. Moreover, all FA genes KO cells get blocked in the G2/M phase of the cell cycle upon treatment with DNA crosslinkers, a typical FA cellular phenotype. Finally, these FA cell lines reproduce gene-specific defects: FANCA<sup>-/-</sup> cells have impaired FANCD2 monoubiquitination, FANCD1<sup>-/-</sup> cells are unable to form Rad51 foci after irradiation and are sensitive to PARP inhibitors, and FANCO<sup>-/-</sup> cells are sensitive to UV-light radiation and were amenable for functional analysis of VUS.

[massimo.bogliolo@uab.es](mailto:massimo.bogliolo@uab.es)

### Genome editing by CRISPR/Cas9 of CERKL and NR2E3 to study retinitis pigmentosa

López-Iniesta, M<sup>a</sup> J., Escudero-Ferruz, P., Marfany, G. & González-Duarte, R.

Grupo CIBERER: U718 Genètica Molecular Humana, Departament de Genètica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona

Otros grupos: U756, U704, U709, U728, U755, U761

Mutations in over 300 genes are associated to inherited monogenic retinal degenerative diseases (prevalence 1:3000 worldwide), but we are still far from understanding the ethiopathological basis of these disorders. Therefore, animal models are an essential tool to complement in vitro and cell culture assays. Within the framework of the ACCI funding grant (MODCELANI\_CRISPR, 2015) we have generated two different mouse models by CRISPR/Cas9 genome editing of CERKL and NR2E3, two retinal dystrophy genes, to dissect and characterize their precise role in photoreceptor cells. For CERKL, we performed a full gene deletion of nearly 100 kb. For NR2E3, we aimed to delete some of the functional domains. After zygote injection and embryo transfer, mosaic pups were genotyped to characterize the modified alleles. Selected animals were used as founders to obtain heterozygous and homozygous mice in subsequent matings. Experiments to assess the effect of CERKL and NR2E3 deletions in retinal phenotype are currently being carried out on wildtype, heterozygous and homozygous littermates. Retinal morphology and functionality is being assessed and compared to other knock-out and knock-down mouse models. These new genetically modified strains will provide further insights into the role of these two genes in visual disorders.

[rgonzalez@ub.edu](mailto:rgonzalez@ub.edu)

### Targeting liver disease at DNA level

Gloria Gonzalez-Asequinolaza Programa de Terapia génica y Regulación de la expresión génica, FIMA, UNAV  
 Ponente invitado

Otros grupos: U740

The liver plays a critical role in the metabolism of lipids, carbohydrates, and proteins. Genetic deficiencies that lead to disease in each of these critical liver functions have been identified; the majority of them belonging to the group of rare diseases. For this reason the liver is a major target for gene therapy. The work of our group is focus on the development on gene therapy strategies for liver inherited metabolic diseases using AAV vectors. Acute intermittent porphyria (AIP), primary Hyperoxaluria type I (PH1) and Wilson disease (WD) are some of the disease in which we are currently working. The most advanced of our programs is the gene therapy for AIP. AIP is a rare genetic disease in which mutations in the porphobilinogen deaminase (PBGD) gene produce insufficient activity of a protein necessary for heme synthesis. This leads to an accumulation of toxic intermediates resulting in a wide variety of problems. The only curative therapy is liver transplantation. We have performed a Phase I multicentre, open label, single dose and dose escalation clinical trial to test primarily the safety and secondarily the efficacy of AAV5-AAT-PBGD in patients with severe AIP. Eight patients were included in the clinical trial, each received a single dose of the AAV5-AAT-PBGD, the eight patients were divided in 4 cohorts each cohort received a different dose. The treatment was well tolerated and safe out of 8 patients have reduced the uptake of medications specific for the disease and have reduced the number and days of hospitalizations.

[ggasegui@unav.es](mailto:ggasegui@unav.es)

## SESIÓN PRESENTACIÓN DE RESULTADOS I SALA 2, Lunes 7 12:30 – 14:00

### Presentaciones Orales

#### Desarrollo de una plataforma para el diagnóstico por secuenciación de nueva generación (proyecto ACCI)

*Dopazo, J., Antiñolo, G., Ayuso, C., Lapunzina, P., Moreno, M.A., Jaijo, T., Millán, J.M., Pérez, B. y Pérez Jurado, L.*

Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia  
Otros grupos: U702, U704, U728, U735, U746, U753, U755

En este proyecto ACCI se pretende desarrollar un sistema piloto que permita la práctica del diagnóstico de patologías raras mediante secuenciación de nueva generación de forma estandarizada y rentable. El objetivo general consiste en el desarrollo de un software que lea directamente los archivos de variantes (VCF) generados por el secuenciador, permita la definición de paneles virtuales y la detección automática de variantes diagnósticas dentro de ellos. El sistema incluirá herramientas de priorización de variantes para el caso de que no se encuentre ninguna variante diagnóstica conocida. También estará dotado de una base de datos que permitirá, según crezca, extraer frecuencias cada vez más exactas de variantes de población control y pseudo-control (enfermos de otras enfermedades) y encontrar recurrencias de variantes de efecto dudoso. Y toda esta información se dispondrá sin necesidad de tener acceso directo a las secuencias de los otros grupos. Además, la base de datos se podrá usar para explorar la existencia de individuos con variantes de enfermedad nuevas, según se vayan describiendo. Es importante remarcar que el uso de la base de datos permite explotar la información de los otros grupos pero sin tener acceso individualizado a los pacientes. Finalmente, el sistema permitirá la trazabilidad de todas las operaciones llevadas a cabo.

Este proyecto aúna los esfuerzos de siete grupos experimentales y uno bioinformático, siendo una de las ACCI más colaborativa.

[jdopazo@cipf.es](mailto:jdopazo@cipf.es)

#### Utilidad de un panel NGS para la caracterización genética de pacientes con enfermedades mitocondriales (OXHPOS) causadas por defectos en la traducción mitocondrial

*Blázquez A. (1,2), Rufian L. (1,2), García-Silva MT (2,3), García-Consuegra I. (1,2), Serrano-Lorenzo P. (1), Jiménez S (1,2), González-Quintana A, (1), Delmiro A (1,2), Martín MA (1,2). (1) Laboratorio de enfermedades mitocondriales y neuromusculares. Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (i+12). Madrid. (2) U723-CIBERER (3) Unidad de E. Mitocondriales y E. Metabólicas Hereditarias. Hospital 12 de Octubre. Madrid.*

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

Se han descrito recientemente en pacientes pediátricos y con fenotipos heterogéneos numerosas mutaciones en genes nucleares implicados en distintas etapas de la traducción mitocondrial. Se desarrolló un panel NGS de genes de traducción mitocondrial para mejorar la caracterización genética en pacientes OXPHOS.

Se estudiaron prospectivamente 26 pacientes menores de 15 años, con hallazgos clínicos, bioquímicos y/o histológicos sugerentes de disfunción mitocondrial (tales como fenotipos similares a los descritos previamente en estos genes y déficits combinados OXPHOS) y sin lesiones moleculares frecuentes en el mtDNA.

Se diseñó un panel de 43 genes utilizando metodología de captura Haloplex-Agilent, con una cobertura teórica del 99,99 %. Las librerías se secuenciaron en una plataforma PGM-IonTorrent. La anotación y priorización de variantes se realizó mediante integración de "scripts" propios con Annovar.

En 3 pacientes se priorizaron mutaciones potencialmente patogénicas: 1) gen VARS2, posible heterocigosis compuesta, en un niño con hipotonía, disfagia y déficit del complejo IV; 2) gen AARS2, posible heterocigosis compuesta,



en un paciente con hipotonía, acidosis láctica y proliferación mitocondrial, y 3) gen TRMU, heterocigosis compuesta, en una niña con acidosis láctica, afectación hepática, encefalopatía, hipotonía y déficits de los complejos I y IV. Estos pacientes representaron un 12% del total.

El panel NGS dirigido a genes implicados en una ruta biológica común permite identificar la causa molecular en pacientes infantiles OXPHOS con fenotipos clínicos y bioquímicos complejos. Por otro lado, la existencia de chips de diferente capacidad en PGM-IonTorrent permite gestionar mejor la demanda diagnóstica en enfermedades de muy baja prevalencia.

[abencinar@hotmail.com](mailto:abencinar@hotmail.com)

### La secuenciación masiva de exomas, una herramienta útil en la búsqueda de los genes responsables de los síndromes de Opitz C y Bohring-Opitz

*Urreizti R, Mort-Farre S, Roca-Ayats N, Franco-Valls H, Esteve C, Munell F, Cueto A, Tizzano EF, Dopazo J, Cormand B, Vilageliu L, Grinberg D, Balcells S*

Grupo CIBERER: U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona, Barcelona  
Otros grupos: U715, U705

El síndrome de Opitz C (OTCS, MIM #211750) es un síndrome severo, ultra-raro, de causa genética y heredabilidad desconocidas, caracterizado por malformaciones y retraso psicomotor severo. Presenta solapamiento clínico con el Síndrome de Bohring-Opitz (BOS, MIM #605039), un desorden más grave, y en el que la mitad de los pacientes son portadores de mutaciones en el gen ASXL1.

Nuestro grupo ha reunido 14 familias con pacientes diagnosticados de OTCS y BOS. El gen ASXL1 ha sido secuenciado en la totalidad de los pacientes y seis pacientes independientes se analizaron por secuenciación de exoma (WES).

Hemos encontrado una mutación en el gen ASXL1 en un paciente diagnosticado como BOS. En una paciente OTCS española encontramos una mutación de novo, truncante, en el gen MAGEL2. Este gen se ve afectado por imprinting con silenciamiento del alelo materno. En la paciente la mutación se encuentra en el cromosoma paterno. Mutaciones en este gen son causa del síndrome de Shaaf-Yang y de artrogriposis severa. En un paciente OTCS italiano encontramos una mutación de novo que afectaría el splicing de un gen previamente asociado con retraso mental, problemas del habla y contracturas, rasgos todos ellos presentes en el paciente. Además, dos hermanos fueron reevaluados y diagnosticados de miopatía congénita. Los resultados del WES revelaron que ambos pacientes presentaban 2 mutaciones en el gen RYR1, heredadas de forma autosómica recesiva. Nuestros resultados demuestran que OTCS es un síndrome heterogéneo con solapamiento con otras patologías.

[roseruf@yahoo.es](mailto:roseruf@yahoo.es)

### Contribution of rare CNV and point mutations to the etiology of severe early-onset obesity

*Serra-Juhé C, Martos-Moreno GA, Bou del Pieri F, González JR, Flores R, Rodríguez-Santiago B, Argente J, Pérez-Jurado LA*

Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona  
Otros grupos: In collaboration with CIBERObn and CIBERESP

Obesity is considered a multifactorial disorder with high heritability (50-75%), probably higher in early-onset and severe cases. Although rare monogenic forms and several genes and regions of susceptibility, including CNVs, have been defined, the genetic causes underlying the disease still remain largely unknown.

In collaboration with the CIBERObn and CIBERESP, we aimed to identify novel genetic and genomic abnormalities in a cohort of Spanish children with severe non-syndromic early-onset obesity (EOO). We obtained molecular karyotypes of 157 children with EOO. Large and rare CNVs were validated and segregated in the fa-

mily. A higher burden of duplication-type CNVs was detected in EOO patients versus controls (OR=1.85, p-value=0.008). Likely pathogenic CNVs included duplications of glutamate receptor (GRIK1, GRM7), the X-linked gastrin-peptide receptor (GRPR) or the NPY genes. Results were replicated by MLPA in 323 EOO children and 480 controls.

Additionally, 26 candidate genes (CNV-related and/or previously associated with EOO) were studied in both cohorts by NGS using a pooled DNA strategy. A significantly higher burden of point mutations were identified in patients compared to controls, remarkably MC4R, SIM1, FTO, BDNF and MC3R. Point mutations in NPY, GRIK1 and GRPR were also identified in individual EOO cases. Genetic or genomic variants highly contributing to the phenotype were identified in up to 12% of the individuals with EOO.

Our data reinforce the role of proopiomelanocortin pathway in the pathophysiology of EOO and identified novel candidates likely associated with the disease as glutamate receptors and NPY.

[clara.serra@upf.edu](mailto:clara.serra@upf.edu)

### Medicina de Redes Aplicada a Enfermedades Raras

*Ranea J.A., Reyes-Palomares A., Bueno A., Rodríguez-López R., Rojano E., Montañez R., Perkins J., Sánchez-Jiménez F.*

Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga

La medicina de redes es una nueva disciplina prometedora que combina enfoques de biología de sistemas y el modelado de redes de asociación para entender la complejidad de los fenotipos patológicos. Dada la creciente disponibilidad de perfiles genómicos y fenotípicos personalizados, los modelos en red ofrecen un marco integrador robusto para el análisis de los datos "ómicos", lo que ayuda en la caracterización de la etiología molecular de los procesos patológicos asociados a las enfermedades genéticas y sus relaciones. En este trabajo hemos hecho uso de miles de datos genómicos de pacientes para explotar diferentes análisis basados en redes de asociación, estudiando las relaciones genéticas y fenotípicas entre los distintos individuos. Hemos desarrollado una estrategia computacional que identifica grupos de pacientes con desordenes genéticos raros que representan nuevas asociaciones genotipo-fenotipo, lo que sugiere la identificación de potenciales nuevos síndromes. En este trabajo llegamos a definir un mapa de alta resolución de fenotipos patógenos asociados con sus respectivas regiones genómicas, y una nueva herramienta poderosa para el diagnóstico de mutaciones actualmente no caracterizadas que pueden estar implicadas en la aparición de fenotipos deletéreos y síndromes.

[kika@uma.es](mailto:kika@uma.es)

### El CIBERER Spanish Variant Server y la importancia de la variación local en la investigación en enfermedades raras

*Aleman, A., Salavert, F., García-García, F. y Dopazo, J.*

Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia

La necesidad de disponer de repositorios de variabilidad de población control sana es clave para la detección de nuevas variantes y genes de enfermedad en enfermedades raras. La publicación de datos genómicos hace cada vez más evidente que la variabilidad poblacional tiene una importante componente local. Sin embargo, a pesar de su importancia, existen pocas iniciativas encaminadas a obtener un catálogo de la variación local (Holanda, Japón, Finlandia, Islandia, y recientemente España), debido a los costes de la iniciativa. El CIBERER Spanish Variant Server (CSVS) constituye una iniciativa basada en crowdsourcing que recolecta exomas con un etiquetado general de enfermedades (ICD-10) que permite obtener frecuencias poblacionales de pseudo-controles (ej. una cardiomiopatía es un control sano para estudiar una distrofia de retina). Se comentará el reciente estudio de la población de controles españoles, donde se ha detectado diferencias poblacionales significativas en variantes asociados a enfermedades raras. También se comentará el estado actual y planes de futuro de CSVS.

[jdopazo@cipf.es](mailto:jdopazo@cipf.es)

**SESIÓN PRESENTACIÓN DE RESULTADOS II SALA 1, Lunes 7 15:30 – 18:00**
**Presentaciones Orales**
**New advances in McArdle disease: characterization of the p.R50X knock-in mouse model and evaluation of new therapeutic approaches**

*Pinós T, Brull A, de Luna N, Nielsen TL, Krag TO, Vissing J, Martí R*

Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona

McArdle disease (glycogenosis type V), the most common muscle glycogenosis, is an autosomic recessive disorder caused by mutations in the PYGM, the gene encoding muscle glycogen phosphorylase. Patients typically present exercise intolerance, frequently associated with rhabdomyolysis and myoglobinuria. We have generated a knock-in mouse model by replacing the wild-type allele of Pygm with a modified allele carrying the most common human mutation, p.R50X. In the skeletal muscle of the p.R50X/p.R50X mice we observed undetectable levels of myophosphorylase protein and activity, as well as massive glycogen accumulation and very poor exercise performance. Additionally we have observed that not all muscles are equally affected and the degree of the damage do not depend on the metabolic nature (oxidative or glycolytic) of the muscle (soleus and tibialis anterior muscles are more affected than quadriceps and the extensor digitorum longus muscles). In the different muscles, IIa and IIX fiber types are more damaged than type I and IIb fibers.

We have also analyzed the potential therapeutic effects of valproate (an inhibitor of histone deacetylation) in skeletal muscle cultures derived from the murine model, and we have observed that valproate diminishes glycogen accumulation in these cultures by enhancing the expression of the brain isoform of glycogen phosphorylase. Along with the positive results of valproate treatment in the sheep McArdle model, valproate might represent a good therapeutic approach to evaluate in future clinical trials.

[tomas.pinos@vhir.org](mailto:tomas.pinos@vhir.org)

**Patología celular en motoneuronas deficientes en GDAP1: nuevas implicaciones en la neuropatía de Charcot-Marie-Tooth.**

*Civera-Tregón A, Juárez P, Fernández-Lizarbe S, Martínez-Valero P, Satrustegui J, Palau F.*

Grupo CIBERER: U732 Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es una de las neuropatías periféricas hereditarias más comunes. Las mutaciones en el gen GDAP1 causan formas de CMT desmielinizantes recesivas (CMT4A), axonales recesivas (AR-CMT2K) y axonales dominantes (CMT2K). GDAP1 es una proteína localizada en la membrana mitocondrial externa cuya función ha sido relacionada con procesos de dinámica mitocondrial.

La caracterización fenotípica del modelo murino deficiente en GDAP1 demuestra una afectación del sistema locomotor. En los estudios histológicos se detecta una pérdida progresiva de las neuronas motoras de la médula espinal y defectos en la unión neuromuscular. A nivel celular, la ausencia de GDAP1 produce inestabilidad en el citoesqueleto de las neuronas motoras de la médula espinal. También se observa una alteración en la morfología, distribución, transporte y bioenergética mitocondrial, lo que conlleva a un aumento de estrés oxidativo. Interesantemente, el déficit de GDAP1 afecta a la interacción de la mitocondria con el retículo endoplasmático, disminuyendo la entrada de calcio en la célula a través del mecanismo de SOCE y los niveles de calcio en los reservorios celulares.

Por consiguiente, la caracterización del modelo murino deficiente en la proteína GDAP1 revela que las alteraciones en la red mitocondrial y en la comunicación fisiológica entre el retículo y la mitocondria conducen a una desregulación en los procesos de homeostasis de calcio que podría ser relevante en el mecanismo que subyace al proceso de neurodegeneración en la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth causadas por mutaciones en GDAP1 (CMT-GDAP1).

[acivera@fsjd.org](mailto:acivera@fsjd.org)

### Metaboloma y proteoma de Charcot-Marie-Tooth: Marcadores de progresión

*Soldevilla B Cuevas-Martín C Ibáñez C Alberti MA Simó C Santacatterina F Casanovas C Márquez-Infante C Sevilla T Pascual SI Sánchez-Argó M Espinos C Palau F Cuezva JM*

Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología , Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid  
Otros grupos: U732, U763

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es la forma más común de neuropatía hereditaria, representando el subtipo CMT1A más del 50% de los casos diagnosticados. No existen tratamientos efectivos ni marcadores moleculares que faciliten el seguimiento de la enfermedad. Dentro del proyecto TREAT-CMT, hemos identificado marcadores moleculares en plasma y en biopsias de piel de pacientes con CMT1A que podrían monitorizar la progresión de la enfermedad y la respuesta a las terapias, así como establecer nuevas estrategias de tratamiento.

La aproximación proteómica realizada en 70 biopsias de piel de pacientes de CMT1A mediante arrays de proteínas en fase reversa (RPPA) indica una pérdida temprana de las proteínas mitocondriales y de aquellas asociadas al sistema antioxidante. Sin embargo, durante la progresión de la enfermedad observamos un aumento de los marcadores de la respuesta antioxidante. El estudio metabólico realizado en muestras de plasma de 42 pacientes con CMT1A mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) revela un incremento de los metabolitos derivados del catabolismo de proteínas y de la movilización de los lípidos de membrana implicados en vías de señalización inflamatorias durante la progresión de la enfermedad. Además, encontramos una disminución simultánea de metabolitos fundamentales para la biogénesis muscular, como el aminoácido leucina y la vitamina D3.

Nuestros resultados sugieren que el CMT1A está asociado con un estado metabólico similar al ayuno y proponen nuevos tratamientos basados en la prevención de la pérdida del nervio y del músculo característico de estos pacientes.

[bsoldevilla@cbm.csic.es](mailto:bsoldevilla@cbm.csic.es)

### Regulation of mitochondrial-tRNA modification enzymes by microRNAs: role in mechanisms of OXPHOS disease

*S. Meseguer, A. Martínez-Zamora, M. Villarroya, R. Boutoual and M.-E. Armengod*

Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras , Centro de Investigación Príncipe Felipe, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia  
Otros grupos: U701, U723, U727

MELAS, MERRF, TRMU-dependent acute infantile liver failure and hypertrophic cardiomyopathies related to MTO1 and GTPBP3 mutations are a group of OXPHOS diseases associated with defects in the post-transcriptional modification of the wobble uridine (U34) of certain mitochondrial tRNAs (mt-tRNAs). mt-tRNA hypomodification is thought to affect mitochondrial translation, which would be causative of the OXPHOS impairment and the disease. However, it is unclear how the mitochondrial translation defect may lead to so different phenotypes. We hypothesize that the retrograde signaling between mitochondria and nucleus is different in each case, thus generating a different nuclear response.

By using a GTPBP3 stable-silencing model, we found that GTPBP3 depletion produces a mild effect on mitochondrial translation but triggers an AMPK-dependent retrograde signaling leading to an uncoupling between glycolysis and oxidative phosphorylation, which may be detrimental for tissues like the heart. Interestingly, we found an endogenous depletion of the three U34 modification enzymes in MELAS (Leu(UUR), 3243A>G) and MERRF (Lys, 8344A>G) trans-mitochondrial cybrids, which is due to a ROS dependent induction of microRNA-9/9\*. Down-regulation of these enzymes by microRNA-9/9\* affects the U34 modification status of non-mutant tRNAs and contributes to the phenotype. A comparative study with cybrid cells carrying mutations in other mt-tRNA genes (Trp and Val, m.5514A>G and m.1643A>G) showed an altered expression of GTPBP3, MTO1 and TRMU as a consequence of the regulatory action of a different miRNA. Thus, the altered expression profiles of U34 modification proteins and miRNAs seem to be potential hallmarks of OXPHOS diseases caused by mutations in mt-tRNA genes.

[smeseguer@cipf.es](mailto:smeseguer@cipf.es)

### Mitochondrial lesion in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction and associated cardiovascular remodelling

Guitart-Mampel M1,3, Roca-Agujetas V1,3, Niñerola S1,3, González-Tendero A2,3, Moren C1,3, Catalán-García M1,3, González-Casacuberta I1,3, DL Juárez-Flores1,3, Tobías E1,3, Crispi F2,3, Garrabou G1,3, Gratacós E2,3, Cardellach F1,3. 1Muscle Research and Mitochondrial Function Laboratory, Cellex-IDIBAPS, Faculty of Medicine-University of Barcelona, Internal Medicine Service-Hospital Clínic of Barcelona (Barcelona, Spain) 2BCNatal-Barcelona Center for Maternal-Fetal and Neonatal Medicine (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Deu), IDIBAPS, University of Barcelona (Barcelona, Spain) 3CIBERER (Madrid, Spain) Funding: FIS 01199/12, 00903/15 and 00817/15 (ISCIII-FEDER) and Fundació CELLEX.

Grupo CIBERER: U722 Grupo de Investigación Muscular y Función Mitocondrial, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

Otros grupos: U719

**Introduction:** Intrauterine growth restriction (IUGR) is an adverse obstetric outcome which results in a cardiovascular remodeling that may increase susceptibility to cardiomyopathy in adulthood. Our group has previously observed altered mitochondrial function in heart and placenta from the offspring of an IUGR-rabbit model focused to mitochondrial respiratory chain (MRC) complex II. We aimed to characterize mitochondrial function in newborns and pregnant women with IUGR.

**Methods:** Peripheral and cord blood mononuclear cells (PBMC and CBMC) were isolated from 41 pregnant women and their newborns: 20-IUGR and 21-controls. Also, mitochondria from placenta were isolated. Oxygen-consumption of MRC was measured by polarography using endogen cellular substrates (Cellox) and substrates for Complex I (GMox). In a 5% (w/v)-homogenate of placental tissue, enzymatic activity of complex I, II, IV, I III and II III of MRC, mitochondrial content as citrate synthase (CS) activity, oxidative stress and ATP levels were measured by spectrophotometry.

**Results:** A non-significant decrease in mitochondrial oxygen consumption was observed in maternal-IUGR PBMC and neonatal-IUGR CBMC (Cellox and GMox), as well as in IUGR-placental mitochondria (GMox). CII and CS activity were maintained in maternal-IUGR PBMC but CS was significantly reduced in neonatal-IUGR CBMC. Also, enzymatic activities of all complexes and CS activity showed trends to decrease in placenta of IUGR-pregnant women. These changes did not affect oxidative stress or ATP production.

**Conclusions:** In human pregnancies with IUGR and associated cardiovascular remodeling, the decrease of citrate synthase activity may suggest alterations in glycolytic pathways or oxidative metabolism.

[mguitart@clinic.ub.es](mailto:mguitart@clinic.ub.es)

### Insuficiencia de ADCK2 causa miopatía asociada a deficiencia de coenzima Q y defecto en el metabolismo de ácidos grasos

Vázquez-Fonseca, L., Santos-Ocaña, C., Artuch, R., Ribes, A., Cascajo, M.V., Gutiérrez-Ríos, P., Matte, C., Navas-Enamorado, I., Sánchez-Cuesta, A., Brea-Calvo, G., Navas, P.

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

Otros grupos: U703, U737

Las deficiencias de coenzima Q (CoQ) son enfermedades mitocondriales raras con patogénesis muy variada. Hemos identificado una mutación puntual en el gen ADCK2 que introduce un stop codón que origina una proteína truncada responsable de una deficiencia de CoQ en fibroblastos de un paciente adulto que presenta una clínica de miopatía aislada grave y esteatosis hepática. Hemos generado un ratón KO para este gen, letal en homocigosis. En heterocigosis induce una expresión baja en los músculos esquelético y cardíaco y en MEFs, y una bajada de CoQ9 y CoQ10, pero no en los otros tejidos y órganos del ratón. La miopatía fue confirmada por histoquímica muscular así como por la disminución de la capacidad aeróbica y equilibrio de los ratones heterocigotos. El hígado mostró esteatosis asociada a una acumulación de acil-carnitinas en el plasma, y los MEFs mutantes fueron sensibles a la presencia de ácidos grasos en el medio de cultivo. Los perfiles de expresión génica del hígado y el músculo esquelético son consistentes con debilidad muscular y defectos de los metabolismos mitocondrial y de ácidos grasos. La suplementación con CoQ10 de estos animales demostró un aumento significativo de este transportador en hígado, corazón y músculo esquelético y una mayor resistencia a la caída en el rotarod. Estos resultados indican que el gen ADCK2 parece conectar la síntesis

de CoQ y el metabolismo de los ácidos grasos, especialmente en el músculo esquelético, y la deficiencia del gen causa una miopatía grave y disfunción hepática que responde al tratamiento con CoQ10.

[pnavas@upo.es](mailto:pnavas@upo.es)

### Functional characterization of LRRC8-mediated volume-regulated anion currents

*Héctor Gaitán-Peñas, Antonella Gradogna, Lara Laparra-Cuervo, Carles Solsona, Victor Fernández-Dueñas, Alejandro Barrallo-Gimeno, Francisco Ciruela, Melike Lakadamyali, Michael Pusch, Raúl Estévez*

Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona

Volume-regulated anion channels (VRAC) play an important role in controlling cell volume by opening upon cell swelling and conducting anions and osmolytes. This is important in several processes as cell volume regulation, cell migration, apoptosis, cancer chemotherapeutics as well as for the release of regulatory molecules such as glutamate and ATP in the brain. After a long search for the proteins responsible for this activity, recent work has shown that heteromers of LRRC8A with other LRRC8 proteins (B/C/D/E) are part of the VRAC channel (Qiu Z et al Cell 2014; Voss FK et al Science 2014, Syeda R et al Cell 2016).

However, functional investigation of LRRC8 proteins is complicated by their ubiquitous expression. We have developed a simple but powerful system to study VRAC activity induced by LRRC8 proteins. We used this system to characterize several functional properties such as inactivation kinetics, selectivity, single-channel measurements and the stoichiometry using step photobleaching. LRRC8 proteins may be involved in several human disorders such as agammaglobulinemia and megalencephalic leukoencephalopathy.

[hektorgp@hotmail.com](mailto:hektorgp@hotmail.com)

### Slc7a7<sup>-/-</sup> mouse model develops Lysinuric Protein Intolerance immune related abnormalities

*Sotillo F\*, Bodoy S, Zorzano A, Artuch R, Sebastio G & Palacín M.*

Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona  
Otros grupos: IRB Barcelona, Universitat de Barcelona, Hospital San Joan de Déu de Barcelona and Università Federico II di Napoli.

**Background:** Lysinuric Protein Intolerance (LPI, MIM 222700) is a rare autosomic disease caused by mutations in SLC7A7 gene. SLC7A7 encodes for y<sup>+</sup>LAT-1 which is cationic amino acid exchanger. LPI hallmarks are malabsorption, urea cycle dysfunction and altered cationic amino acids renal reabsorption. Nevertheless LPI patients also develop immunological complications, such as Pulmonary Alveolar Proteinosis (PAP) or erythroblastophagy among others. The contribution of y<sup>+</sup>LAT-1 to these complications is still unknown. y<sup>+</sup>LAT-1 is mainly expressed in epithelial cells of kidney and intestine. However it is also expressed in some myeloid populations such as alveolar macrophages and red pulp macrophages.

Due to ablation of Slc7a7 is perinatally lethal in mouse, we have generated the first conditional KO mouse model for LPI (Slc7a7<sup>-/-</sup>), inducing y<sup>+</sup>LAT-1 ablation with tamoxifen diet.

**Results:** Slc7a7<sup>-/-</sup> mice present all hallmarks of human LPI. Regarding to LPI immune related complications, lung histology of Slc7a7<sup>-/-</sup> mice revealed ~40% of Slc7a7<sup>-/-</sup> mice accumulated surfactant inside alveoli. Alveolar macrophage population of Slc7a7<sup>-/-</sup> mice was enlarged and showed a higher number of foamy cells. Both features are diagnostic signs of PAP. PAP development in Slc7a7<sup>-/-</sup> mice starts to be visible after 25 days of LPI induction. Macrophages of Slc7a7<sup>-/-</sup> mice accumulate iron in lung, spleen and bone marrow.

**Conclusions:** our data confirms Slc7a7<sup>-/-</sup> as the first viable mouse model that will allow to study the mechanisms of LPI immune related complications.

[fernando.sotillo@irbbarcelona.org](mailto:fernando.sotillo@irbbarcelona.org)

### Inborn metabolic errors and macromolecular structure and function: a bidirectional path to discovery

*Vicente Rubio, Clara Marco-Marín, Sergio de Cima, Nadine Gougeard Instituto de Biomedicina de Valencia of the CSIC, and Group 739 of the Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Raras (CIBERER) del Instituto de Salud Carlos III, Valencia, Spain*

Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia

In the recent past, studies on inborn metabolic errors have favored genetics, compiling clinical mutations repertoires. Knowledge of the protein structure can dispel doubts about disease causation for many mutations, although those affecting folding or stability may render more difficult prediction of their severities, as recently found for mutations in an entire domain of carbamoyl phosphate synthetase 1 (CPS1). Furthermore, the effects of missense mutations in regulatory domains of poorly characterized function may be dubious, as found by us for N-acetylglutamate synthase. Moonlighting and non-catalytic structural functions of macromolecular catalysts are increasingly discovered, as for argininosuccinate lyase (ASL) and nitric acid production, which cannot be explained by mere structural determination of the isolated macromolecule. These cases call for studies on protein complexes or for snapshots of different stages of the functional life cycle of the macromolecule, as documented by our two-snapshot study of inactive and activated CPS1. Crucial structural inferences allowed understanding that some ALDH18A1 gene (encoding  $\Delta$ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) mutations are dominant and others are recessive. Similarly, the structure of ASL clarified intragenic complementation in argininosuccinic aciduria. In summary, more rather than less structure is needed to fill our knowledge gaps in molecular pathogenesis. Conversely, clinical mutations databases provide shortcuts for physical localization of functions in individual proteins, as recently exemplified in studies of CPS1. Overall, the structural and functional knowledge can help understand the derangements due to specific missense mutations, but, in addition, the patient's mutational spectrum can help understand protein function. Grants PrometeoII/2014/029 and BFU 2011-30407 and 201458229-P.

[rubio@ibv.csic.es](mailto:rubio@ibv.csic.es)

### La Plataforma PROTEOmAb

*Santacatterina F Cuezva JM*

Grupo CIBERER: U713 La mitocondria y su disfunción en patología , Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Las alteraciones genéticas suelen ir acompañadas por alteraciones en el proteoma. El metabolismo energético ofrece un excelente indicador para monitorizar alteraciones genéticas que promueven la disfunción celular y por tanto, es un biomarcador útil en Enfermedades Raras. El desarrollo de técnicas de alto rendimiento OMIC permite la interrogación simultánea de un gran número de genes, proteínas y metabolitos en el mismo ensayo. La plataforma PROTEOmAb es un servicio de marca registrada de propiedad CIBERER-UAM, basada en microarrays de proteínas en fase reversa (RPPA), una técnica proteómica de alto rendimiento que permite la cuantificación de proteínas, en un rango femtomolar, a partir de muestras biológicas de diferente origen, ya sean biopsias humanas o de ratón. En concreto, se evalúan marcadores de la glucólisis, ciclo de pentosas fosfato, fosforilación oxidativa, dinámica y estructura mitocondrial, metabolismo mitocondrial del piruvato, ciclo de los ácidos tricarbósílicos,  $\beta$ -oxidación, sistema antioxidante, etc..., proporcionando un análisis cuantitativo del fenotipo metabólico favoreciendo así el entendimiento de los principios biológicos de las enfermedades raras y eventualmente el manejo, el diagnóstico y/o el seguimiento de los pacientes. En esta presentación se pondrán diversos ejemplos de esta aproximación en el ámbito de las Enfermedades Raras para la búsqueda de marcadores diagnósticos, de respuesta a terapia y del fenotipado de modelos animales de enfermedad.

[fsantacatterina@cbm.csic.es](mailto:fsantacatterina@cbm.csic.es)

## SESIÓN PRESENTACIÓN DE RESULTADOS II SALA 2, Lunes 7 15:30 – 18:00

### Presentaciones Orales

#### Mice lacking endoglin in macrophages show an impaired immune response.

*Ojeda-Fernández, L; Bernabéu, C and Botella LM*

Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

Endoglin is an auxiliary receptor for members of the TGF- $\beta$  superfamily and plays an important role in the homeostasis of the vessel wall. Mutations in endoglin gene (ENG) or in the closely related TGF- $\beta$  receptor type I ACVRL1/ALK1 are responsible for a rare dominant vascular dysplasia, the Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia (HHT) or Rendu-Osler-Weber syndrome. Endoglin is also expressed in human macrophages, but its role in macrophage function remains unknown. In this work, we show that endoglin expression is triggered during the monocyte-macrophage differentiation process, both in vitro and during the in vivo differentiation of blood monocytes recruited to foci of inflammation in wild-type C57BL/6 mice. To analyze the role of endoglin in macrophages in vivo, an endoglin myeloid lineage specific knock-out mouse line (Engf1/flLysMCre) was generated. These mice show a predisposition to develop spontaneous infections by opportunistic bacteria. Engf1/flLysMCre mice also display increased survival following LPS-induced peritonitis, suggesting a delayed immune response. Phagocytic activity is impaired in peritoneal macrophages, altering one of the main functions of macrophages which contributes to the initiation of the immune response. We also observed altered expression of TGF- $\beta$ 1 target genes in endoglin deficient peritoneal macrophages. Overall, the altered immune activity of endoglin deficient macrophages could help to explain the higher rate of infectious diseases seen in HHT1 patients.

[cibluisa@cib.csic.es](mailto:cibluisa@cib.csic.es)

#### Generación de modelos murinos de aSHU y C3G

*Subías, M. de Juana López, L. Rodríguez de Córdoba, S.*

Grupo CIBERER: U738 Patología Molecular y Genética del Complemento, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid

Las patologías asociadas con desregulación del complemento se caracterizan por presentar un solapamiento casi completo de los genes que se asocian con ellas. Sin embargo, determinadas mutaciones en estos genes se asocian exclusivamente con una u otra enfermedad. Estudios funcionales previos sobre variantes genéticas asociadas específicamente con Síndrome Hemolítico Urémico atípico (aSHU) y Glomerulopatía C3 (C3G) nos han permitido avanzar en el conocimiento de sus mecanismos patogénicos. Para profundizar en este conocimiento y facilitar el desarrollo de terapias eficaces estamos generando modelos murinos que tratan de replicar las correlaciones genotipo-fenotipo que caracterizan a estas enfermedades. Para ello, hemos seleccionado tres mutaciones en C3 asociadas a patología. Dos de ellas, R161W y I1157T, muy prevalentes en Europa y Asia, respectivamente se asocian exclusivamente con aHUS. La tercera mutación en C3, D923\_G924del, es una de las dos mutaciones descritas hasta el momento asociadas exclusivamente con C3G. En la generación de estos modelos murinos estamos siguiendo dos estrategias en paralelo, transgénesis aditiva y CRISPR Cas9. Con la primera, experimentalmente más sencilla, pretendemos aportar prueba de concepto. Las mutaciones humanas se introdujeron en el cDNA del C3 murino mediante mutagénesis. Estos cDNAs mutados se clonaron en un vector de expresión ubicua controlada por un promotor  $\beta$ -globina enhancer CMV. Los transgenes resultantes se han introducido mediante microinyección en el pronúcleo de oocitos fertilizados que se han implantado en hembras pseudogestantes. Presentaremos la caracterización preliminar del ratón Tg D923\_G924del, que ilustra un fenotipo renal compatible con C3G, y actualizaremos el estado de los otros modelos.

[m.subias@cib.csic.es](mailto:m.subias@cib.csic.es)



### Differential localization of CERKL isoforms in retinal cells

*Andrés, R., Domènec E.B., Pons A., López-Iniesta, M<sup>a</sup> J., Marfany, G. & González-Duarte, R.*

Grupo CIBERER: U718 Genética Molecular Humana, Departament de Genètica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona

CERKL mutations cause retinitis pigmentosa and cone-rod dystrophy in human. The CERKL gene is a paradigm for high transcriptional complexity, with many isoforms produced by alternative splicing and the use of alternative promoters. Besides, the protein comprises among others several domains, such as lipid kinase, nuclear localization and nuclear export signals. Although the precise physiological function is still unknown, CERKL overexpression protects cells from apoptosis triggered by oxidative stress. In vitro studies on cultured cells showed that CERKL binds mRNA and contributes to stress granule complexes. These in vitro results have been further confirmed in isolated retinal neurons (retinal ganglion cells and photoreceptors), where CERKL co-localizes with RNA and RNA-binding proteins and is a component of the stress granules produced under oxidative-stress conditions. Moreover, differential localization of CERKL isoforms in rods and cones has been shown using a panel of in-house antibodies. This differential isoform specificity is highly suggestive of specific functional roles for CERKL in different photoreceptor cell types. Future work will address the impact of CERKL mutations in rods and cones related to human visual pathophysiology.

[rgonzalez@ub.edu](mailto:rgonzalez@ub.edu)

### Meis1 coordinates a network of genes implicated in eye development and microphthalmia

*Bovolenta P., Marcos S., González-Lázaro M., Beccari L., Carramolino L., Martín-Bermejo MJ., Amarie O., Mateos-San Martín, D., Torroja C, Doohan R, Graw J, Gomez-Skarmeta JL, Casares F., Torres M.*

Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Microphthalmos is a rare congenital anomaly characterized by reduced eye size and visual deficits of variable degrees. Sporadic and hereditary microphthalmos have been associated to heterozygous mutations in genes fundamental for eye development. Yet, many cases are idiopathic or await the identification of molecular causes. Here we show that haploinsufficiency of Meis1, which encodes a transcription factor with an evolutionarily conserved expression in the embryonic trunk, brain and sensory organs, including the eye, causes microphthalmic traits and visual impairment, in adult mice. By combining the analysis of Meis1 loss-of-function and conditional Meis1 functional rescue with ChIP-seq and RNA-seq approaches we show that, in contrast to its preferential association with Hox-Pbx BSs in the trunk, Meis1 binds to Hox/Pbx-independent sites during optic cup development. In the eye primordium, Meis1 coordinates, in a dose-dependent manner, retinal proliferation and differentiation by regulating genes responsible for human microphthalmia and components of the Notch signalling pathway. In addition, Meis1 is required for eye patterning by controlling a set of eye territory-specific transcription factors, so that in Meis1<sup>-/-</sup> embryos boundaries among the different eye territories are shifted or blurred. We thus propose that Meis1 is at the core of a genetic network implicated in eye patterning/microphthalmia and represents an additional candidate for syndromic cases of these ocular malformations.

[pbovolenta@cbm.csic.es](mailto:pbovolenta@cbm.csic.es)

### Análisis funcional de 10 mutaciones causantes del síndrome de Baraitser-Winter

*Morín M, Borreguero L, Mayo F, Serrao de Castro, L y Moreno-Pelayo MA.*

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

El síndrome de Baraitser-Winter presenta una prevalencia de 1/1000000 y combina malformaciones faciales y cerebrales. Dentro de las malformaciones faciales destacan: hipertelorismo ptosis, nariz bulbosa ancha, cejas arqueadas, coloboma ocular y trigonocefalia. Los problemas neurológicos incluyen: retraso mental, sordera y epilepsia grave.

Además muchos pacientes presentan problemas de crecimiento. Recientemente se ha descrito que mutaciones en los genes que codifican las actinas citoplasmáticas, ACTG y ACTB, son la causa genética de este síndrome. En este trabajo mostramos la caracterización funcional de 10 mutaciones causantes de este síndrome, 6 mutaciones en el gen ACTG (p.T120I, p.A135V, p.S155F, p.T203K, p.R254W y p.R256W) y 4 en ACTB (p.N12D, p.L65V, p.R196H y p.R196C), en dos sistemas biológicos con complejidad creciente: la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y las células de mamífero NIH3T3. Los experimentos realizados en levaduras muestran que todos los mutantes ensayados presentan defectos en alguno de los parámetros estudiados: crecimiento, distribución de vacuolas, función mitocondrial y sensibilidad a la trunculina. En células NIH3T3 transfectadas con las actinas mutadas se observó en todos los casos un patrón de expresión aberrante que consistía en la presencia de acúmulos citoplasmáticos. El mutante p.T203K presentó la peculiaridad de formar cables de actina anormalmente engrosados y con una distribución aberrante. Nuestros resultados muestran que los ensayos funcionales realizados en sistemas biológicos de complejidad creciente son necesarios para la total caracterización del mecanismo de patogénesis asociado a mutaciones en ACTG y ACTB.

[mmorenop@salud.madrid.org](mailto:mmorenop@salud.madrid.org)

### Predisposición al daño auditivo causada por haploinsuficiencia de IGF-1

*Rodríguez-de la Rosa L, Celaya Puértolas A, Pulido S, Romá-Mateo C, Zubeldía JM, Pallardó F, Varela-Nieto I y Murillo-Cuesta S.*

Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-UAM, Madrid  
Otros grupos: U733

La deficiencia del factor del crecimiento semejante a la insulina tipo 1 (IGF-1) (OMIM608747) causa retraso en el crecimiento y sordera neurosensorial. El ratón nulo homocigoto para este gen recapitula el fenotipo humano, es infértil y muere prematuramente. Varias enfermedades raras (ER) sindrómicas cursan con haploinsuficiencia de IGF-1, baja talla y pérdida auditiva. Hemos estudiado el ratón heterocigoto *Igf1*<sup>+/-</sup> como modelo de estas ER. El animal joven presenta características semejantes al silvestre, pero la disminución fisiológica de los niveles de IGF-1 en el adulto acarrea un envejecimiento auditivo prematuro. Así como una peor respuesta al daño causado por exposición a ruido excesivo. Se produce un incremento irreversible en los umbrales auditivos acompañado de daño celular exacerbado, infiltración de células Iba1+ y apoptosis. Al nivel molecular la haploinsuficiencia crónica de IGF-1 causa un estado pro-inflamatorio en la cóclea con mayor infiltración de macrófagos y elevados niveles de expresión de *Tgfb1* e *Il1b*. Tras la exposición al ruido aumenta la oxidación y se hiperactivan las quinasas de estrés (JNK y p38), que se mantienen en ese estado hasta un mes después del daño. Al tiempo que hay una defectuosa activación de rutas de supervivencia (AKT) y anti-inflamatorias.

Estos resultados apuntan al IGF1 como uno de los factores de predisposición genética al daño auditivo. Trabajo financiado con los proyectos FP7-INNOVA2-AFHELO, FP7-PEOPLE-TARGEAR y SAF2014-R-AGEAR. SP disfruta de un contrato FPI.

[ivarela@iib.uam.es](mailto:ivarela@iib.uam.es)

### Nuevos modelos animales y mutaciones asociadas a albinismo

*Josa S., Seruggia D., Fernández A., Torres M., Zurita E., Jiménez R., Cantero M., Fernández J., Trujillo M.J., Corton M., Ayuso C., Carracedo A., Montoliu L.*

Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid  
Otros grupos: U711, U704

El albinismo es una enfermedad rara que afecta a 1 de cada 17,000 personas nacidas, causada por mutaciones en al menos 18 genes y que cursa con alteraciones visuales severas y discapacitantes (hipoplasia foveal, conexiones quiasmáticas anómalas, fotofobia, nistagmo...) que pueden, o no, ir acompañadas de alteraciones en la pigmentación. El tipo más frecuente de albinismo es el oculocutáneo de tipo 1 (OCA1), asociado a mutaciones en el gen de

la tirosinasa (TYR). Sin embargo, hasta en un 30% de pacientes clínicamente diagnosticados o con sospecha de OCA1 no es posible localizar la segunda mutación o ninguna de las dos mutaciones en el locus, utilizando estrategias de diagnóstico genético universal (Albinochip), lo cual sugiere la existencia de mutaciones en otros genes o en zonas reguladoras, no codificantes. Hemos generado diferentes modelos animales mediante la tecnología CRISPR-Cas9 con mutaciones en zonas reguladoras del gen Tyr del genoma de ratón. En algunos de estos casos el fenotipo observado en los animales se asemeja a un tipo de albinismo (OCA1B) caracterizado por hipopigmentación, por lo que se están analizando las secuencias homólogas en el locus humano TYR con objeto de explorar la posible presencia de mutaciones. Adicionalmente, han sido descritos síndromes nuevos, como FHONDA, asociado a mutaciones en el gen SLC38A8, que cursa con alteraciones visuales indistinguibles de las que se detectan en el albinismo, aunque sin aparentes alteraciones pigmentarias. Utilizando la tecnología CRISPR-Cas9 hemos generado nuevos modelos animales con mutaciones en el locus homólogo Slc38a8, cuyo fenotipo está siendo analizado.

[sjosa@cnb.csic.es](mailto:sjosa@cnb.csic.es)

### Identification and characterization of a rare RAD51C variant in BRCA1/2 ovarian cancer patients

*Gayarre J., Osorio A., Barroso A., Fernandez V., Tiviño JC., Palacios J., Urioste M., Benitez J., García MJ.*

Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid

Characterization of new susceptibility variants in epithelial ovarian cancer is important to improve familial risk management and to better understand the underlying mechanisms of the disease. Whole exome sequencing analysis of patients from a non-BRCA1/2 high-risk family identified a new variant in the RAD51C moderate-risk gene. The change (R312W) is a rare missense variant located in a conserved residue across paralogs and orthologs and is predicted to be deleterious. Complementation of the RAD51C-deficient CL-V4B cell line with RAD51C.WT and RAD51C.R312W showed that cells carrying the variant displayed a significant reduction in the half maximal inhibitory concentration upon mitomycin treatment ( $p=0.0003$ ) and presented an accumulation of cells in S and G2-phases. We also induced RAD51C foci formation after X-Ray irradiation and observed that cells complemented with RAD51C.R312W presented a decrease in foci formation compared with the RAD51C.WT-complemented cells. Altogether our results indicate that the R312W variant is deleterious causing a loss of function of the protein. A case (n=1474) control (n=654) genotyping study in Spanish population is ongoing in order to confirm the association of the variant with the disease, which will be further validated in more than 50,000 international cases and controls. Our results strengthen the recommendation to perform functional complementation assays for any highly conserved RAD51C missense variant with a deleterious prediction. This is becoming increasingly clear given the high prevalence of RAD51C missense variants, the recently reported relative risk estimates of 5-6 and the implication for carriers in terms of genetic counseling and possible targeted treatments.

[jgayarre@cnio.es](mailto:jgayarre@cnio.es)

### A mutation in XLF/NHEJ1/CERNUNNOS gene results in downregulation of telomerase genes and telomerase activity

*Carrillo J, Calvete O, Pintado Berninches L, Manguan García C, Sevilla Navarro J, Sastre L, Guenechea G, Piqueras JF, Benitez J and Perona R*

Grupo CIBERER: U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid  
 Otros grupos: U706, U710, U749, GCV19

XLF-Patients develop severe progressive lymphocytopenia and premature aging of hematopoietic stem cells (HSCs) at a young age. Here we show, a patient with a NHEJ1 mutation that developed severe pancytopenia and bone marrow aplasia correlating with short telomeres. We show that downregulation of NHEJ1 expression in 293T, CD34 and IMR90 cells results in decreased telomerase activity and expression of several telomerase/shelterin genes. Interestingly, these cells showed diminished  $\Delta 133p53$  and higher p53 $\beta$ , p53 isoforms expression in 293T and CD34 cells. The decrease in expression of telomerase/shelterin genes does not occur when we inhibited expression DNA-PK,

Artemis or LigaseIV. Because premature aging of HSCs is observed only in NHEJ1 patients, we propose that this is the result of senescence induced by decreased levels of telomerase activity and expression of telomerase/shelterin genes. Our results indicate that NHEJ1/Cennunos/XLF deficiency syndrome should be included among diseases associated with short telomeres.

Acknowledgements C-MG and OC are granted by CIBERER Funding: PI4-01495 and P12/00070 from FIS and ER14PROACCI3G706 from CIBERER

[rperona@iib.uam.es](mailto:rperona@iib.uam.es)

### Caracterización molecular de modelos celulares asociados a tres genotipos de la Disqueratosis Congénita

*Ibáñez-Cabellos, J.S.; García-Giménez, J.L.; Pérez-Machado, G.; Seco-Cervera, M.; Berenguer-Pascual, E.; Pallardó, F.V.*

Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultat de Medicina, Universitat de València, Valencia

La Disqueratosis congénita (DC, ORPHA1775) es una displasia ectodérmica rara, que presenta una clásica triada de signos mucocutáneos que consisten en hiperpigmentación, distrofia ungueal y leucoplasia de la mucosa oral. El origen genético es muy heterogéneo, debido a las diferentes mutaciones que afectan a los genes que codifican para las distintas subunidades del complejo Telomerasa y Telosoma. Estos complejos actúan en conjunto, regulando, manteniendo y reparando los telómeros. La DC presenta tres tipos de herencia: autosómica dominante (TERT, TERC, TINF2), autosómica recesiva (NOP10, NHP2, TCAB1) y ligada al cromosoma X (DKC1).

El objetivo del presente estudio es estudiar las diferencias fenotípicas en relación al estrés oxidativo y al daño en el ADN, producidas como consecuencia del silenciamiento de TINF2 (Telosoma), NOP10 y DKC1 (Telomerasa) que corresponden a cada uno de los subtipos de herencia. En esta investigación se utilizó la tecnología del ARN de interferencia para generar los diferentes modelos celulares. Se observó un incremento del estrés oxidativo (carbonilación de proteínas, cociente GSH/GSSG, peroxirredoxina oxidada) en los modelos celulares de DKC1 y NOP10. Se evaluaron los niveles de las principales enzimas antioxidantes, mediante RT-qPCR y Western Blot, observado una alteración en la expresión de enzimas MnSOD y Trx1 en NOP10 y de la enzima Trx2 en TINF2. Se caracterizó el daño al ADN (simple y doble cadena) observándose una mayor susceptibilidad en los modelos DKC1 y NOP10. Finalmente detectamos una alteración en la expresión de genes participantes en los mecanismos de reparación (PARP1 y RAD51) en los tres modelos celulares.

[j.santiago.ibanez@uv.es](mailto:j.santiago.ibanez@uv.es)

### Sesiones informativas en paralelo, lunes 7 18:30 – 19:30

#### Bioinformática y Enfermedades Raras, la Plataforma BIER

### Actividad colaborativa de la plataforma BiER desde la U715

*García-García F., Alemán A., Salavert F., Dopazo J.*

Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia

En el pasado año 2015, la plataforma BiER ha mantenido su intensa labor colaborativa con grupos del CIBERER, inicialmente dentro del contexto de los proyectos intramurales de secuenciación y posteriormente en proyectos propios de secuenciación de los grupos.

BiER ha proporcionado servicio de asesoramiento y soporte tecnológico-bioinformático en 22 proyectos procedentes de 15 grupos CIBERER, en los programas de Medicina Genética, Medicina Metabólica Hereditaria, Medicina Endocrina, Patología Neurosensorial, Medicina Mitocondrial y Neuromuscular, y Cáncer

Hereditario y Síndromes Relacionados. Las estrategias de análisis desarrolladas se aplicaron sobre datos procedentes de tecnologías de alto rendimiento, abordando estudios transcriptómicos y genómicos (exomas y paneles de genes). Hemos trabajado en el desarrollo de nuevos métodos de análisis transcriptómicos en el contexto de las rutas de señalización y análisis de enriquecimiento funcional de microRNAs.

Participamos activamente en la colaboración inter-grupos con la recepción de 11 investigadores y se realizó la actividad formativa "NGS course: from reads to candidate genes" a la que asistieron 25 participantes de diferentes grupos CIBERER.

Se ha proporcionado soporte y desarrollo de nuevas versiones de las herramientas web para el tratamiento y análisis de datos genómicos: BiERapp, TEAM, Ciberer Spanish Variant Server, Babelomics, Genome Maps.

Los resultados de estos análisis y desarrollos bioinformáticos han generado 25 publicaciones científicas colaborativas.

[fgarcia@cipf.es](mailto:fgarcia@cipf.es)

### Redes de asociación genotipo-fenotipo, integrando Genes y Enfermedad. BIER U741

*Ranea J.A., Reyes-Palomares A., Bueno A., Rodriguez-López R., Rojano E., Montañez R., Perkins J., Sánchez-Jiménez F.*

U741 Universidad de Málaga

Las variaciones del número de copias (CNV) son variaciones estructurales del genoma (deleciones, duplicaciones o translocaciones) que en muchas ocasiones se encuentran asociadas a la aparición de muchas enfermedades genéticas en personas con discapacidad intelectual, trastornos de comportamiento y metabólicos, así como malformaciones congénitas. En nuestro grupo construimos redes tripartitas con miles de asociaciones fenotipo-genotipo-paciente utilizando un conjunto de datos de miles de pacientes con trastornos genómicos raros. Mediante la explotación de dichas redes de asociación a gran escala de los fenotipos y genotipos en miles de pacientes con enfermedades raras y patologías complejas, se consigue identificar relaciones significativas entre fenotipos patológicos y loci específicos. La aplicación de esta metodología desarrollada por la unidad 741 del CIBERER, que se describirá en la sesión, presenta también un alto potencial para ayudar en el diagnóstico de casos clínicos novedosos así como en la localización de síndromes raros putativos.

[kika@uma.es](mailto:kika@uma.es)

### Orphanet como plataforma para visibilizar la actividad clínica de CIBERER y sus Grupos Clínicos Vinculados

*M<sup>ª</sup> Elena Mateo, Estrella Rubio y Virginia Corrochano*

Equipo de Orphanet-España coordinado por CIBERER

Desde abril de 2010, CIBERER es el socio en España de Orphanet, portal de información europeo de referencia en Enfermedades Raras (ER) y medicamentos huérfanos en nuestro país y en Europa. El equipo de Orphanet-España tiene encomendadas diversas tareas entre las que figuran la recopilación, validación e inclusión de las actividades españolas, la traducción al castellano de los contenidos del portal Orphanet y otros documentos relacionados con el proyecto, la identificación de recursos documentales externos sobre ER en castellano o el desarrollo de actividades de comunicación.

Uno de sus valores más destacados de este portal es la información sobre actividad clínica de referencia. En este sentido, resulta fundamental para visibilizar las consultas expertas en ER. Con el fin de que la información reflejada sea completa y de calidad es imprescindible contar con los expertos de referencia para la validación / actualización de datos relativos a consultas expertas que ya figuran en el directorio Orphanet, la generación de nuevos resúmenes de enfermedades o la identificación de recursos documentales de interés, tales como Guías Clínicas. Para el desempeño de estas labores, Orphanet-España estima muy necesaria la implicación de facultativos y otros profesionales vinculados al CIBERER, tanto pertenecientes a los Grupos Clínicos Vinculados como los contratados y adscritos CIBERER con un perfil predominantemente clínico.

[vcorrochano@ciberer.es](mailto:vcorrochano@ciberer.es)

## Sesiones Orales, martes 8

### SESIÓN PRESENTACIÓN DE RESULTADOS III SALA 1, Martes 8 12:00 – 14:00

#### De novo heterozygous mutations in SMC3 cause a range of Cornelia de Lange Syndrome-overlapping phenotypes

Ramos FJ, Puisac B, de Teresa E, Hernández M, Moreno C, Gil MC, Bueno I, Pie J

Grupo CIBERER: GCV02 Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza

El Síndrome de Cornelia de Lange (SCdL) es una enfermedad hereditaria caracterizada por deformidad facial, crecimiento y deterioro cognitivo, malformaciones de las extremidades y la participación de múltiples órganos. Las mutaciones en cinco genes, que codifican subunidades del complejo cohesinas (SMC1A, SMC3, RAD21) y sus reguladores (NIPBL, HDAC8), representan aproximadamente el 70% de los pacientes con el SCdL o fenotipos solapantes. Hasta la fecha, sólo se han publicado las características clínicas de un paciente con mutación en SMC3. A continuación, presentamos la descripción clínica de dieciséis pacientes con características para SCdL como causadas por mutaciones en SMC3 y valorar el grado de solapamiento con SCdL típicos fenotipo. Además, estudiamos todas las mutaciones en la estructura conocida del complejo de SMC para predecir sus consecuencias moleculares/funcionales. Hemos estudiado 16 probandos con 15 mutaciones intragénicas diferentes en el gen SMC3. Aunque todos los pacientes presentaron signos clínicos que solapaban con los del SCdL típico, en general su fenotipo craneofacial no era tan característico, el retraso del crecimiento prenatal era más leve, aunque empeoraba durante la infancia, tenían menor incidencia de cardiopatías congénitas y no presentaban malformaciones graves en extremidades. Por otro lado, todos presentaban microcefalia postnatal.

Este trabajo confirma que las mutaciones en el gen SMC3 representan el 1-2% de los fenotipos SCdL-like y hace hincapié en la importancia de la detección de mutaciones en dicho gen, destacando la importancia de una evaluación clínica cuidadosa que contribuya a un mayor conocimiento de las correlaciones genotipo-fenotipo en el SCdL.

[ramos@unizar.es](mailto:ramos@unizar.es)

#### Deleciones intragénicas en el gen CREBBP causan el síndrome de Rubinstein-Taybi tipo 1

Martínez-Fernández ML1, Sanchis A1,2, Marugán V1,3, Rupérez S4, Centeno F1,5, Romero S6, Bermejo-Sánchez E1,7, Martínez-Frías ML1,8.

1.Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas (ECEMC). Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC). Centro de Investigación Biomédica En Red de Enfermedades Raras (CIBERER. U724). Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad. Madrid. 2.Sº de Pediatría. Hospital Dr. Peset. Valencia. 3.Sº de Pediatría. Hospital Virgen de La Concha. Zamora. 4.Sº de Pediatría. Hospital Nuestra Sra. de Sonsoles. Ávila. 5.Sº de Pediatría. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. 6.Sº de Pediatría. Hospital Universitario Nuestra Sra. de Candelaria. Santa Cruz de Tenerife. 7.Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. 8.Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid.

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

El síndrome de Rubinstein-Taybi tipo 1 (SRT1, OMIM #180849) es un trastorno genético poco frecuente, caracterizado por rasgos dismórficos (cejas arqueadas, fisuras palpebrales hacia abajo, nariz aguilena con columela prominente, paladar ojival, micrognatia), microcefalia, pulgares y dedos gordos de los pies anchos, estatura corta y discapacidad intelectual. Otros rasgos que se observan incluyen: anomalías oculares incluyendo anejos (obstrucción del conducto nasolacrimal, glaucoma congénito, errores de refracción), anomalías cardíacas (comunicación interauricular e interventricular, conducto arterioso persistente), hiperlaxitud articular y anomalías cutáneas (queloides). El patrón de herencia es autosómico dominante aunque la mayoría de los casos son esporádicos, y su frecuencia se ha estimado en 1/125.000 recién nacidos.

El SRT1 está causado por mutaciones en el gen CREBBP (~55%), mientras que el SRT2 se debe a mutaciones en el gen EP300 (~8%). Hay descritas también deleciones variables en tamaño, de uno u otro gen. CREBBP y EP300 funcionan como coactivadores transcripcionales en la regulación de la expresión génica a través de varias rutas de transducción de señal, y son potentes acetiltransferasas de las histonas, sugiriendo que el síndrome es debido a regulación aberrante de la cromatina.

Los análisis mediante las técnicas de MLPA o array-CGH, han permitido detectar deleciones intragénicas del gen CREBBP. Presentamos 4 pacientes con fenotipo de SRT del registro del ECEMC, que fueron estudiados mediante MLPA (Salsas P096MR y P313). En todos se confirmó el diagnóstico de SRT1 por deleción de distintos exones del gen CREBBP. Estos resultados ponen de manifiesto la contribución de las deleciones exónicas como causa de este síndrome.

[m.martinez@isciii.es](mailto:m.martinez@isciii.es)

### Phenotypic overlap between CLAPO syndrome and PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum (PROS)

*Martinez-Glez V, Gordo G, Lapunzina P.*

Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

The presence of multiple clones of cells with various genotypes in the same individual is known as somatic mosaicism, a pathogenic mechanism in which the mutations are not present in the germ-line but arise as a post-zygotic event, causing both cancer and highly variable developmental genetic syndromes. PROS (PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum) comprises a group of segmental overgrowth syndromes caused by somatic mutations in the PIK3CA gene, including previously considered separate syndromes such as Megalencephaly-Capillary malformation (MCAP) and CLOVES (Congenital Lipomatous Overgrowth, Vascular malformations, Epidermal nevi, And Skeletal/Spinal abnormalities). However, as somatic mosaicism makes clinical expression variable in severity and location, the complete phenotypic spectrum in PROS is still to be elucidated. On the other hand, CLAPO syndrome (Capillary malformation of the lower lip, Lymphatic malformation of the face and neck, Asymmetry and Partial/generalized Overgrowth), is another rare disease in this group of the overgrowth syndromes, with a highly similar phenotype to PROS, but of unknown cause, although somatic mosaicism is also suspected. Our preliminary studies have not detected PIK3CA mutations in CLAPO patients. Here we present the design of a specific NGS panel for detecting low somatic mosaicism. We also discuss the specific case of two patients with clinical features of PROS and confirmed PIK3CA mosaic mutations, but also showing the hallmarks of CLAPO syndrome. Therefore, we report a phenotypic overlap between these two entities and suggest a possible pathogenic association.

[vmartinezglez@salud.madrid.org](mailto:vmartinezglez@salud.madrid.org)

### Genetic analysis of the MC1R gene in Spanish Huntington's disease patients reveals the influence of the p.R151C polymorphism on the age of onset

*Tell-Martí G, Puig-Butille JA, Gimenez-Xavier P, Potrony M, Badenas C, Alvarez V, Millán JM, Trujillo-Tiebas MJ, Ramos-Arroyo MA, Milà M, Puig S*

Grupo CIBERER: U726 Grupo de Investigación en Genética de Enfermedades Raras (GICER), Hospital Clinic GICER (Servicio de Bioquímica y Genética Molecular), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona  
 Otros grupos: U755 (Dr. José María Millán), U704 (Dra. María José Trujillo-Tiebas)

Huntington's disease (HD) is caused by an expansion of CAG repeats in the HTT gene. Its length correlates inversely with the age of onset (AOO) but does not completely determine it. We investigated the role of the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene as a modifier factor of AOO by sequencing the entire gene in 600 HD Spanish patients. We found that the loss-of-function p.R151C MC1R polymorphism has an influence on the AOO ( $P = 0.004$ ; Bonferroni-corrected  $P = 0.032$ ), which explains 1.42% of the variance in AOO that cannot be accounted for by the expanded HD allele.

[gemma.tell@gmail.com](mailto:gemma.tell@gmail.com)

## A mouse model for DYRK1A-related intellectual disability syndrome presents autistic-like behaviours, epilepsy and altered brain cytoarchitecture

*Arranz J, Sánchez-Elexpuru G, Najas S, Sahún I, Rebollo E, Sánchez MP, Arbonés M*

Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona  
Otros grupos: U744

DYRK1A is a human chromosome 21 gene encoding a dual specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase with substrates involved in numerous functions. DYRK1A have been extensively investigated because of its involvement in neurological alterations associated to Down syndrome. DYRK1A regulates brain growth and critical neurodevelopmental processes including neurogenesis and neurite extension. We previously showed that haploinsufficient *Dyrk1a*  $-/-$  mice present microcephaly and cognitive deficits. Recently, genetic evaluation of patients with syndromic intellectual disability (ID) and/or autism spectrum disorder allowed the identification of de novo pathogenic variants in DYRK1A. These patients defined a recognizable syndrome characterized by the presence of microcephaly, developmental delay, moderate or severe ID, impaired speech and typical facial dysmorphism. Epileptic seizures and autistic behaviours have been also reported in most patients.

In this work we extend the characterization of *Dyrk1a*  $-/-$  mouse model. Intracranial recordings performed in adult *Dyrk1a* mutants showed interictal epileptiform activity with polyspike and spike-wave discharges corresponding to spontaneous myoclonus, as well as generalized tonic-clonic seizures with spike-wave and polyspike-wave discharges. *Dyrk1a*  $-/-$  mice showed poor reciprocal social interactions and stereotyped and repetitive behaviours in tests designed to assess autistic-like behaviours. *Dyrk1a*  $-/-$  brains present altered balance of excitatory and inhibitory neurons in the neocortex and hippocampus that could lead to an abnormal network activity. These data validate the use of the *Dyrk1a*  $-/-$  mouse for mechanistic and therapeutic research in patients with heterozygous mutations in DYRK1A.

[marbmc@ibmb.csic.es](mailto:marbmc@ibmb.csic.es)

## Cinco años con osteogénesis imperfecta. Estado actual y diagnóstico diferencial

*Ruiz-Perez VL, Caparros-Martin JA, Valencia M, Vallespin E, Prior de Castro C, Martinez-Glez V, Guillen-Navarro E, Lapunzina P*

Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid  
Otros grupos: U753, GCV01

La osteogénesis imperfecta (OI) es una enfermedad esquelética caracterizada por fragilidad ósea y fracturas recurrentes cuya causa principal son defectos en la producción de colágeno tipo I. Otros síntomas que a menudo están presentes en pacientes con OI son talla baja, dentinogénesis imperfecta, deformaciones óseas, movilidad reducida, sordera, huesos wormianos y escleróticas azules. La gran mayoría de pacientes con OI presentan un patrón de herencia dominante o son esporádicos y portan mutaciones en los genes COL1A1 o COL1A2; sin embargo, también existe una menor proporción de casos en los que el modo de herencia es recesivo. En los últimos años con ayuda de las nuevas tecnologías se ha producido una explosión en el número de genes responsables de OI, habiéndose descrito hasta la fecha 17 loci de esta enfermedad. Desde 2010, nuestro grupo, en colaboración con la U753 y otros grupos nacionales e internacionales, se ha interesado por las causas moleculares de OI y ha venido realizando análisis de cohortes de pacientes de forma continua, contribuyendo así a expandir la variabilidad genética de esta enfermedad. Aquí presentamos nuestra experiencia en el estudio de la genética de OI, las relaciones genotipo-fenotipo y el diagnóstico diferencial de esta patología con otras de fenotipo solapante.

[vlruiz@iib.uam.es](mailto:vlruiz@iib.uam.es)



## El Biobanco del CIBERER como plataforma de servicio: generación de células iPS

Salvador Martí (1), Estrella Rubio (1), Josema Torres (2), Virginia Corrochano (1), José María Millán (1,3), Francesc Palau (1,4).  
 (1) CIBERER Biobank, Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP), Valencia; (2) Departamento de Biología Celular y Parasitología (Universidad de Valencia); (3) Unidad de Genética, Instituto de Investigación Sanitaria-La Fe, Valencia; (4) Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona.

Grupo CIBERER: CIBERER Biobank

El Biobanco del CIBERER (CBK) centraliza la recepción de muestras de alto valor biológico para la investigación biomédica en el campo de las enfermedades raras (ER) en España, contribuyendo así a evitar la dispersión de muestras debida a la baja prevalencia de estas enfermedades. Además, el CBK constituye una plataforma al servicio de la comunidad científica: cultivo de fibroblastos, inmortalización de linfocitos B, cultivo de mioblastos, extracción y controles de calidad de ADN, detección de micoplasma, retrotranscripción. En paralelo, el CBK está trabajando en la implementación de un protocolo para generar células madre pluripotentes inducidas (células iPS) a partir de fibroblastos procedentes de biopsias de piel, mediante un sistema de reprogramación que utiliza vectores basados en una versión modificada del virus Sendai (SeV) que incluyen los cuatro factores de Yamanaka: Oct, Sox2, Klf4 y c-Myc. El CBK pretende, además, ampliar su oferta de servicios, lo que hace necesario un diálogo previo (feedback) con los investigadores con el fin de conocer sus inquietudes y necesidades, dando cobertura a las necesidades técnicas más demandadas y económicamente factibles. En este contexto, el incremento en el número de solicitudes de servicio recibidas, junto con la colaboración activa del CBK en diferentes proyectos y el trabajo que se está realizando en la implementación de un protocolo que nos permita generar células iPS, pone de manifiesto la importancia del CBK como plataforma de apoyo a los diferentes grupos de investigación CIBERER y, en general, a la comunidad científica internacional en el campo de las ER.

[smarti@ciberer.es](mailto:smarti@ciberer.es)

## EpiDisease. Investigación e innovación basada en epigenética.

García-Giménez, J.L.; Mena Mollá, S.; Peiró-Chova, L.; Ibañez-Cabellos, S., Seco-Cervera, M., Romá-Mateo, C., Pallardó, F.V.

Grupo CIBERER: U733 Departamento de Fisiología, Facultat de Medicina i Odontologia, Universitat de València, Valencia

La Epigenética, término que significa "por encima de la genética", es la ciencia que estudia la regulación genética mediante el análisis de mecanismos como la metilación de ADN, las modificaciones de las histonas, las variantes de histonas y los ARNs no codificantes (ej. miARNs y lncARNs).

La epigenética tiene el potencial de incrementar las herramientas de diagnóstico clínico, contribuyendo a la medicina de precisión. La epigenética proporciona además una visión más completa de las enfermedades que el análisis genético, introduciendo el factor ambiental y otras variables que modifican el fenotipo de la enfermedad. De hecho, en la actualidad existe un gran interés por la epigenética y su aplicación en clínica, ya que contribuye a la mejora en el diagnóstico, el pronóstico de las enfermedades y la monitorización de los tratamientos.

En esta comunicación se presenta EpiDisease S.L., la primera Spin-Off del CIBER (ISCIII). EpiDisease es una compañía de investigación e innovación basada en la tecnología epigenética que tiene como objetivo desarrollar y comercializar una cartera de productos propios para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades humanas. Nuestra misión es proporcionar nuevas herramientas clínicas tanto para la detección precisa y precoz de enfermedades como para su seguimiento y evolución clínica, permitiendo de esta forma mejorar la salud y la calidad de vida de los pacientes.

En este sentido presentamos dos de las tecnologías más avanzadas que están en nuestro pipeline, así como la cartera de servicios que ofrece la empresa para contribuir al desarrollo de proyectos de investigación de los distintos grupos CIBER.

[j.luis.garcia@uv.es](mailto:j.luis.garcia@uv.es)

## SESIÓN PRESENTACIÓN DE RESULTADOS III SALA 2, Martes 8 12:00 – 14:00

### Propuesta de subclasificación de los adenomas hipofisarios no funcionantes con base a su fenotipo molecular.

*Sánchez-Tejada L. 1, Sánchez-Ortiga R. 2, Lamas C. 3, Cámara R. 4, Riesgo P. 5, Fajardo C. 6, Picó A. 2. Filiación: 1 Unidad de Investigación, Hospital General Universitario Alicante. 2 Servicio de Endocrinología, Hospital General Universitario Alicante. 3 Servicio de Endocrinología, Hospital General Universitario Albacete. 4 Servicio de Endocrinología, Hospital Universitario de La Fe (Valencia). 5 Servicio de Neurocirugía, Hospital de La Ribera, Alzira (Valencia). 6 Servicio de Endocrinología, Hospital de La Ribera, Alzira (Valencia).*

Grupo CIBERER: GCV19

**Introducción:** La edición de 2004 de la OMS titulada "Tipificación histológica de los tumores endocrinos" clasifica los adenomas hipofisarios (AH) sobre la base de sus características inmunohistoquímicas e histológicas. Los AH no funcionantes (AHNF) son aquellos AH que cursan sin clínica, aunque esto engloba a múltiples subtipos con distinto origen y comportamiento que no siempre pueden ser discriminados en función de su análisis inmunohistoquímico. Los avances en el conocimiento sobre los fenotipos moleculares de estos tumores permiten establecer una clasificación molecular alternativa.

**Métodos:** Dentro del proyecto multicéntrico clínico-básico REMAH (Registro Español Molecular de Adenomas Hipofisarios), hemos obtenido el fenotipo molecular de 160 AH, de los que 74 casos fueron AHNF y se disponía además de datos del análisis inmunohistoquímico. Se midió la expresión de 26 genes por qRT-PCR, incluyendo los de las hormonas hipofisarias, receptores de somatostatina y dopamina entre otros. Se incluyeron 9 hipófisis sanas procedentes de autopsias como muestra de referencia.

**Resultados:** Basándonos en las características inmunohistoquímicas y moleculares, los AHNF se subclasificaron según la expresión dominante de las hormonas hipofisarias y su semejanza con los patrones moleculares de los subtipos funcionantes. A partir de nuestros resultados se propone la siguiente clasificación molecular basándonos en los patrones de expresión génica para cada subtipo: somatotropo silente (puro o mixto (con expresión de PRL)), corticotropo silente (con expresión génica de POMC, AVPR1b y CRH-R1), tirotropo silente (con expresión de TSH), lactotropo silente (con expresión de PRL y DRDs), gonadotropo (FSHoma, LHoma o mixto (con expresión de una o ambas gonadotropinas y/o de la subunidad alpha) y nulo. La inmunohistoquímica identificó como nulos a 17 AH, de los que el análisis molecular pudo rescatar a 12, demostrando la mayor resolución de esta técnica.

**Conclusión:** Los avances en el conocimiento sobre el fenotipo molecular de los AH y su patogenia, permiten proponer una clasificación mucho más precisa de los AHNF que la clasificación basada en la tinción inmunohistoquímica, gracias a la mayor especificidad y sensibilidad de la qRT-PCR, que podría ser de ayuda para los clínicos en el tratamiento y seguimiento de sus pacientes. **Financiación:** FUNDACION SEEN; GRANT Novartis Oncology

[antonio.pico@umh.es](mailto:antonio.pico@umh.es)

### Cerebrospinal fluid neopterin analysis in neuropediatric patients: establishment of a new cut off-value for the identification of inflammatory-immune mediated processes.

*Molero-Luis, M Fernández-Ureña, S Jordán, Y Serrano, M Ormazabal, A García-Cazorla, A Artuch, R*

Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona

**Objective:** A high level of cerebrospinal fluid (CSF) neopterin is a marker of central nervous system inflammatory-immune mediated processes. We aimed to assess data from 606 neuropediatric patients, describing the clinical and biochemical features of those neurological disorders presenting CSF neopterin values above a new cut-off value that was defined in our laboratory.

**Methods:** To establish the new CSF neopterin cut-off value, we studied two groups of patients: Group 1 comprised 68 patients with meningoencephalitis, and Group 2 comprised 52 children with a confirmed peripheral infection and no central nervous

system involvement. We studied 606 CSF samples from neuropediatric patients who were classified into 3 groups: genetic diagnosis (A), acquired/unknown etiologic neurologic diseases (B) and inflammatory-immune mediated processes (C).

**Results:** The CSF neopterin cut-off value was 61 nmol/L. Out of 606 cases, 56 presented a CSF neopterin level above this value. Group C had significantly higher CSF neopterin, protein and leukocyte values than the other groups. Sixteen of twenty-three patients in this group had a CSF neopterin level above the cut-off, whereas three and seven patients presented increased leukocyte and protein values, respectively. A significant association was found among CSF neopterin, proteins and leukocytes in the 606 patients. White matter disturbances were associated with high CSF neopterin concentrations.

**Conclusions:** Although children with inflammatory-immune mediated processes presented higher CSF neopterin values, patients with other neurological disorders also showed increased CSF neopterin concentrations. These results stress the importance of CSF neopterin analysis for the identification of inflammatory-immune mediated processes.

[mmolerol@hsjdbcn.org](mailto:mmolerol@hsjdbcn.org)

### Estudio molecular de una paciente con anemia diseritropoyética congénita y disgenesia gonadal completa con cariotipo 46,XY

*Fernández-Cancio M., Clemente M., Campos A., La Bastida P., Camats N., Audí L., Vendrell T., García-Arumí E., Tizzano E., Carrascosa A.*

Grupo CIBERER: U712 Servicio de Pediatría, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Institut Català de la Salut, Barcelona  
 Otros grupos: U701

Las anemias diseritropoyéticas congénitas son trastornos hereditarios heterogéneos de la hematopoyesis con producción defectuosa de glóbulos rojos. La disgenesia gonadal completa 46,XY es un trastorno del desarrollo sexual asociado con anomalías en el desarrollo gonadal con presencia de genitales externos e internos femeninos y cariotipo 46,XY. La asociación entre dichas entidades clínicas no ha sido descrita previamente en la literatura.

Se presenta el caso de una paciente 46,XY de 5 años de edad con disgenesia gonadal completa y genitales externos femeninos que presentó una anemia grave intrauterina requiriendo transfusiones periódicas hasta los 13 meses de vida. Una hermana de esta paciente, con cariotipo 46,XX, había fallecido en período neonatal por hydrops fetalis y anemia grave.

Al nacer la paciente, se confirmó el diagnóstico de anemia diseritropoyética congénita. Pruebas ecográficas posteriores confirmaron la presencia de útero pero no de gónadas. La secuenciación masiva del exoma ha permitido identificar dos mutaciones patogénicas (p.Arg998Ter / p.Arg1042Trp) en trans en el gen CDAN1 que codifica para una proteína implicada en el mantenimiento de la integridad de la envoltura nuclear. Hasta el momento, no se ha podido identificar la/s mutación/es responsables de la disgenesia gonadal completa que presenta la paciente aunque existen variantes patogénicas en algunos genes que se expresan en testículo cuya función no se ha relacionado directamente con la diferenciación sexual.

[monica.fernandez.cancio@vhir.org](mailto:monica.fernandez.cancio@vhir.org)

### Características e historia natural de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth por mutaciones del gen GDAP1

*Rafael Sivera<sup>1</sup>, Marina Frassetto<sup>2</sup>, Marina Frassetto<sup>2</sup>, Marisa Barreiro<sup>2</sup>, Tania García-Sobrino<sup>3</sup>, Julio Pardo<sup>3</sup>, Roberto Fernández<sup>4</sup>, Adolfo López de Munain<sup>4</sup>, Celedonio Marquez<sup>5</sup>, Ricard Rojas<sup>6,7</sup>, Sonia Segovia<sup>6,7</sup>, Andrés Nascimento<sup>8</sup>, Carlos Cortez<sup>8</sup>, Mar García Romero<sup>9</sup>, Samuel Ignacio Pascual<sup>9</sup>, Antonio Guerrero<sup>10</sup>, Carlos Casanovas<sup>11</sup>, Jesús Esteban<sup>12</sup>, María José Chumillas<sup>2,7</sup>, Carmina Espinos<sup>13</sup>, Francisco Palau<sup>7,8</sup>, Juan Jesús Vilchez<sup>2,14,15</sup>, Teresa Sevilla<sup>2,14,15</sup> 1= Hospital San Francesç de Borja, Gandía. 2= Hospital Universitari i Politécnic La Fe, Departamento de Neurología, Valencia 3= Hospital Clínico de Santiago, Departamento de Neurología, Santiago de Compostela, 4= Hospital Universitario Donostia, Departamento de Neurología, San Sebastián. 6= Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Departamento de Neurología, Barcelona 7= Centro para la Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras CIBERER, Madrid. 8= Hospital Sant Joan de Déu, Unidad de Neuromuscular, Barcelona. 9= Hospital La Paz, Neuropaediatría, Madrid. 10= Hospital Clínico de San Carlos, Madrid. 11= Hospital de Bellvitge, Barcelona, Departamento de Neurología, Barcelona. 12= Hospital Universitario 12 de Octubre, Departamento de Neurología, Madrid. 13= Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia 14= Departamento de Medicina, Universitat de València.*

Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital Universitario La Fe, Valencia

**Introducción:** Las mutaciones en el gen *GDAP1* son una causa frecuente de neuropatía tipo Charcot-Marie-Tooth (CMT) en España y otros países de la cuenca mediterránea. La herencia puede ser autosómico dominante (AD) o recesiva (AR) con clara diferencias fenotípicas entre ambos patrones. **Métodos:** Estudio retrospectivo de pacientes con CMT y mutaciones de *GDAP1* en 13 centros españoles durante los años 2000-2015. Se han recogido parámetros clínicos, electrofisiológicos e información genética. Los pacientes se han agrupado según genotipo y se han comparado los patrones clínicos y electrofisiológicos. **Resultados:** Se identificaron 92 pacientes (43 familias) en total. Se distribuyeron por todo el país, fundamentalmente en la zona Noroeste y regiones mediterráneas. Los genotipos más frecuentes fueron la mutación p.R120W (46/53 en pacientes AD) y p.Q163X/p.Q163X (17/39 en pacientes AR). Se confirmaron diferencias clínicas ( $p < 0.05$ ) entre los pacientes AD y AR con respecto a la edad de inicio, gravedad, incapacidad, progresión de la enfermedad, disfonía y fallo respiratorio. No hubo diferencia estadística entre los pacientes con diferentes genotipos y el mismo patrón de herencia. Se halló una importante variabilidad clínica con respecto a la gravedad en los pacientes con el mismo genotipo. Los estudios electrofisiológicos fueron compatibles con neuropatía axonal en todos los pacientes. La disminución de los potenciales sensitivos evocados (PSE) y motores (CMAP) fue proporcional a la gravedad de la enfermedad (AR > AD) y se detectó inicialmente en extremidades inferiores.

[sevilla\\_ter@gva.es](mailto:sevilla_ter@gva.es)

### Efecto del tratamiento con TRIAC en ratones deficientes del transportador Mct8.

*Morte B., Báez S., Obregón M.J., Martínez-de-Mena R., Iglesias A., Moreno J.C., Bernal J. y Guadaño-Ferraz A.*

Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid

Mutaciones en el transportador de hormonas tiroideas (HT; T3, T4) MCT8 producen el Síndrome de Allan-Herndon-Dudley caracterizado por graves alteraciones neurológicas por un inapropiado aporte de HT al cerebro. Cursa con niveles circulantes de T3 incrementados y T4 ligeramente disminuida. Las opciones terapéuticas son muy limitadas y van encaminadas a normalizar los niveles circulantes de HT, lo cual mejora el estado general de los pacientes. Por el momento no se ha logrado una mejoría a nivel neurológico. El ácido triiodoacético (TRIAC) es un metabolito natural de HT con potencial actividad terapéutica. El tratamiento compasivo de un paciente con TRIAC normalizó los niveles de T3 pero disminuyó drásticamente la T4.

Hemos evaluado a nivel periférico y central el efecto del TRIAC en ratones wt y Mct8-knockout tras la administración de una dosis terapéutica. TRIAC restauró los niveles de T3 en los Mct8-KO pero disminuyó a niveles casi inapreciables la T4. Aunque el TRIAC atraviesa la barrera hematoencefálica el incremento de TRIAC en plasma tras el tratamiento no fue suficiente para aumentar los niveles de TRIAC en cerebro y promover la expresión de genes dependientes de T3 en células neurales. Además se agravó el estado de hipotiroidismo cerebral de estos ratones disminuyendo aún más el contenido de T3 cerebral.

Nuestros estudios sugieren que el tratamiento con TRIAC en pacientes debe ser considerado con cautela dado que no conocemos las consecuencias de la drástica disminución de T4 y en ratones no obtenemos ningún efecto del TRIAC en cerebro a la dosis terapéutica empleada.

[bmorte@iib.uam.es](mailto:bmorte@iib.uam.es)

### Pharmacological chaperoning for neurometabolic disorders: Therapeutic strategy applicable to PMM2-CDG

*Yuste-Checa P, Brasil S, Gámez A, Underhaug J, Desviat LR, Ugarte M, Pérez-Cerdá C, Martínez A, Pérez B*

Grupo CIBERER: U746 Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Over the last few years, a growing number of high-throughput screening (HTS) campaigns from commercial libraries searching for possible PCs, have been reported. To ensure that screening output will reach eventual clinical use, not only the biological validation of the hits is needed, but also, their structural analysis by cheminformatic filters and their inhibitory effect on protein activity, in order to prioritize the hits. We describe the in vitro HTS, by differential scanning fluorimetry, of a commercial library, searching for possible PCs for the enzyme PMM2, whose deficiency results in

the most common Congenital Disorder of Glycosylation, PMM2-CDG, for which no effective treatment is available. Recently, we have described this disease as a conformational disorder. Further validation of the hits identified four potential PCs which significantly increased the stability and activity of several destabilizing and oligomerization PMM2 mutants. However, the computational structural analysis of these validated compounds revealed just one of them negative for the cheminformatic filters, showing the abundance of likely false positive compounds in commercial libraries and the need of being aware about the limitations of these classes of compounds. The results of the computational triage, together with its apparent lack of any inhibitory effect on pure WT protein, plus its positive effect on stabilization and activity of PMM2 mutants render compound VIII the most promising for optimization and testing in animal models. Additionally, in conformational disorders, PCs can be co-applied with a more generic approach, proteostasis regulators, in order to increase mutants' stability in a synergistic manner.

[pyuste@cbm.csic.es](mailto:pyuste@cbm.csic.es)

### Intertwining between Endoplasmic Reticulum and Redox Imbalance leads to axonal degeneration in X-adrenoleukodystrophy: therapeutic implications

*Launay N., Ruiz M., Grau L., Ortega F. J., Ilieva E. V., Martinez J.J., Galea E., Fourcade S., Ferrer I., and Pujol A.*

Grupo CIBERER: U759 Laboratorio de enfermedades neurometabólicas, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge IDIBELL -Hospital Duran i Reynals, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Barcelona

X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD, OMIM: 300100) is a metabolic genetic disorder of the central nervous system exhibiting two main phenotypes: i) spastic paraparesis of adult presentation due to axonopathy of corticospinal tracts; ii) childhood or adult inflammatory brain demyelination, which are usually accompanied by adrenal insufficiency. The disease is caused by loss of function of the ABCD1 gene, a peroxisomal ATP-binding cassette transporter, resulting in the accumulation of very long-chain fatty acids (VLCFA) in target organs and plasma. Here, we report ER stress and UPR impairment early in disease pathogenesis using in vivo and in vitro models. We uncover a common feature among all the X-ALD models: the lack of activation of IRE1 and the activation of ATF6 and PERK-eif2a-ATF4 pathways instead, with subsequent over-expression of the transcription factor CHOP. Furthermore, we show a depletion of ER chaperones in spinal cords of X-ALD mice just before disease onset, pointing to selective impairment of UPR-related factors overtime. Moreover, we found that X-ALD patient's fibroblasts exposed to VLCFA excess exhibit increased sensitivity to ER stressors, which suggests a pre-existing ER stress condition. Treatment of the mice with a cocktail of antioxidants reversed the induction of ER stress transducers and prevented the decrease of ER chaperones, indicating that redox imbalance is upstream of ER stress. Most importantly, the antioxidants halted axonal degeneration and locomotor disability in the mouse model. Taken together, our data provides compelling evidence for ER stress as a culprit and therapeutic target in the etiopathogenic cascade in X-ALD.

[apujol@idibell.cat](mailto:apujol@idibell.cat) / [nlaunay@idibell.cat](mailto:nlaunay@idibell.cat)

### La Plataforma de Internacionalización CIBER

*Rodríguez, C*

La Internacionalización surge como una iniciativa conjunta de las áreas de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Enfermedades Raras (CIBERER) y Enfermedades Respiratorias (CIBERES), del Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER), con el fin de reforzar y coordinar los esfuerzos destinados a promover la participación de sus investigadores en los programas europeos y de crear una estructura común para impulsar la internacionalización y liderazgo de la investigación y la innovación en estas tres áreas temáticas.

Los objetivos generales de la plataforma son:

- Incrementar la participación de los grupos de investigación CIBER\_BBN/ER/RES en proyectos y programas internacionales.
- Fomentar la excelencia e internacionalización de los grupos de investigación en las áreas temáticas de BBN, ER y RES.
- Mejorar la capacidad de influencia a nivel internacional de CIBER\_BBN/ER/RES en estructuras colaborativas europeas.
- Mejorar el retorno económico del esfuerzo realizado por CIBER\_BBN/ER/RES para la internacionalización de su investigación.

La Plataforma de Internacionalización ofrece soporte a los investigadores durante el proceso de presentación de propuestas europeas poniendo a la disposición de los mismos un servicio de ayuda apoyando la búsqueda de socios, alineación estratégica de la propuesta y revisión del presupuesto.

[Cristina.Rodriguez@ciberisciii.es](mailto:Cristina.Rodriguez@ciberisciii.es)

## Sesión Pósteres, martes 8

### Pósteres Recorrido I Medicina Mitocondrial y Neuromuscular

#### 1 CIBERER BIOBANK: Puesta a punto de nuevos servicios como apoyo a la Investigación Biomédica en el ámbito de las Enfermedades Raras.

*Estrella Rubio (1), Salvador Martí (1), Virginia Corrochano (1), José María Millán (1,2), Francesc Palau (1,3). (1) CIBERER Biobank, Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP), Valencia; (2) Unidad de Genética, Instituto de Investigación Sanitaria-La Fe, Valencia; (3) Hospital Sant Joan de Déu (Barcelona).*

Grupo CIBERER: CIBERER Biobank

El CIBERER Biobank (CBK) es una plataforma de apoyo a la investigación que actúa de nexo entre donantes, clínicos e investigadores, tanto nacionales como internacionales, con el propósito de asegurar un tratamiento seguro y eficaz de muestras en el ámbito de las enfermedades raras (ER), así como sus datos asociados. El CBK constituye una plataforma tecnológica clave para acelerar la transferencia del conocimiento científico a la salud del individuo.

Sin embargo, la labor del CBK no se limita al procesamiento, almacenamiento y cesión de muestras, sino que además trabaja para incrementar su oferta de servicios con el fin de potenciar estudios en diferentes áreas de investigación. En la actualidad, el CBK está trabajando en la puesta a punto de nuevos servicios como la optimización del protocolo de obtención de mioblastos a partir de biopsias musculares, la puesta a punto de un protocolo de generación y diferenciación de células IPS a partir de fibroblastos, y de técnicas de control de calidad del ADN: análisis de su funcionalidad, análisis del perfil genético de un individuo, tanto a partir de ADN como de discos FTA y discriminación por sexo. La implantación de estos servicios por parte del CBK permitirá incrementar la masa crítica de muestras de ER, así como distribuir material biológico de alta calidad y datos asociados a los investigadores, generar un valor añadido para los grupos CIBERER, al tiempo que se fomentan nuevas líneas de investigación en ER y se prestan nuevos servicios de apoyo a la investigación.

[smarti@ciberer.es](mailto:smarti@ciberer.es)

#### 2 Generación de un modelo de iPSCs de una encefalopatía infantil de origen mitocondrial causada por defectos de traducción

*Zurita, F., Galera, T., González-Páramos, C., Moreno-Izquierdo, A., Fraga, M.F., Ayuso, C., Fernández, A.F., Garesse, R., Gallardo, M.E.*

Grupo CIBERER: U717 Departamento de Bioquímica, Laboratorio B19, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM, Facultad de Medicina UAM, Madrid

Otros grupos: U704

Las enfermedades mitocondriales aunque individualmente son raras en su conjunto constituyen un amplio grupo de enfermedades genéticas cuyo nexo de unión es un defecto en el sistema OXPHOS. Algunas de estas patologías se asocian con mutaciones en genes implicados en la traducción mitocondrial. Dado que la traducción mitocondrial es crucial para el mantenimiento de la función de la mitocondria, mutaciones en este sistema pueden originar defectos bioquímicos que den lugar a fallos en el sistema OXPHOS y patología. Un grupo interesante de defectos en la síntesis de proteínas mitocondriales lo constituye el causado por mutaciones en el factor de elongación de la traducción mitocondrial G1 (GFM1) que codifica para la proteína EFG1. Hasta el momento, no se conocen cuáles son los me-

canismos moleculares que conducen al desarrollo de estas enfermedades ni si existe algún tratamiento efectivo para ellas debido, en parte, a la falta de modelos experimentales adecuados.

En nuestro laboratorio, hemos generado células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) a partir de fibroblastos de una niña con una encefalopatía mitocondrial severa debida a una disfunción genética en el gen GFM1. Cabe destacar que a diferencia de otros casos publicados, esta paciente presenta un curso clínico estable que le ha permitido sobrevivir más allá de la primera infancia. La generación del modelo de iPSCs permitirá, por un lado, mejorar el conocimiento sobre los mecanismos fisiopatológicos de este tipo de enfermedades y por otro, la apertura de nuevas vías para la identificación de tratamientos farmacológicos y de terapia celular para este tipo de patologías.

[egallardo@iib.uam.es](mailto:egallardo@iib.uam.es)

### 3 Puesta a punto de un modelo celular para el estudio de la función OXPHOS en la enfermedad de Alzheimer

*Pesini, A., Iglesias, E., Bayona-Bafaluy, P., Garrido, N., Hernández-Ainsa, C. López-Gallardo, E., Montoya, J., Ruiz-Pesini, E.*

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

La enfermedad de Alzheimer (AD) es un proceso neurodegenerativo del sistema nervioso central. Esta patología se caracteriza por pérdida de memoria, cambios de comportamiento y demencia. Estos procesos mentales dependen del correcto funcionamiento de las redes neuronales, que a su vez dependen de las sinapsis entre las neuritas. La generación de neuritas requiere producción de membrana plasmática.

Nosotros proponemos que el sistema OXPHOS, por su implicación en la síntesis de novo de nucleótidos de pirimidina que participan en la síntesis de fosfolípidos, juega un papel muy importante en la elaboración de estas neuritas.

Para probar nuestra hipótesis, usamos una línea celular, neuroblastoma SH-SY5Y, con capacidad de diferenciación a neurona. Dado que las neuronas colinérgicas son una de las células más afectadas en la AD, vamos a poner a punto un modelo de neurona colinérgica para el estudio de la función OXPHOS. Lo primero que llevamos a cabo es la caracterización genética y celular. Posteriormente estudiamos mediante citometría de flujo diferentes parámetros de diferenciación neuronal y de neurona colinérgica. También analizamos por ELISA los niveles de acetilcolina celular. Finalmente, hemos estudiado los cambios que operan en el sistema OXPHOS (actividad y cantidad del complejo respiratorio IV y consumo de oxígeno) durante este tipo de diferenciación celular y los efectos que provocan diferentes compuestos que actúan sobre el sistema OXPHOS en la diferenciación.

Esta caracterización basal nos va a permitir analizar la función OXPHOS en la síntesis de novo de nucleótidos de pirimidina, en la generación de membrana y, finalmente, en la diferenciación neuronal.

[apesini@unizar.es](mailto:apesini@unizar.es)

### 4 Data mining en el genoma de Drosophila. Una herramienta para identificar genes humanos no descritos implicados en la función OXPHOS

*Sara Palacios Zambrano, Ramiro Vicente Blanco, Rosana Hernández Sierra, Rafael Garesse y Miguel Ángel Fernández Moreno.*

Grupo CIBERER: U717 Departamento de Bioquímica, Laboratorio B19, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC-UAM, Facultad de Medicina UAM, Madrid

La mitocondria juega un papel central en el metabolismo, destacando en: (i) el aporte de la energía en forma de ATP (ii) la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), (iii) la homeostasis del Ca<sup>2+</sup> intracelular y (iv) la muerte programada o apoptosis. Se considera la síntesis de ATP mediante el sistema cadena respiratoria (CR)/OXPHOS como la función más relevante, generando sus alteraciones las denominadas enfermedades mitocondriales.

El sistema CR/OXPHOS está formado por más de 93 subunidades estructurales, 13 codificadas en el genoma mitocondrial (mtDNA), necesitando además los elementos que las ensamblan y los que las sintetizan y transportan

al orgánulo. En más de la mitad de las patologías mitocondriales de base genética se desconoce el gen o genes responsables por lo que su identificación es actualmente un reto.

*Drosophila* posee un mtDNA, una maquinaria de replicación y decodificación del mismo y un sistema CR/OXPHOS similar al de mamíferos. Sin embargo, el estudio en el laboratorio de genes implicados en su biogénesis reveló que algunos de ellos estaban codificados en bicistrones. Ante la posibilidad de que esta organización suponga una tendencia estamos rastreando y analizando los genes codificados en bicistrones en este organismo.

Así, hemos identificado el gen c6ORF203, que codifica una proteína muy conservada evolutivamente de función desconocida. La generación y análisis de células KO mediante el sistema de edición genómica CRISPR/Cas sugieren su implicación en el consumo de oxígeno celular, síntesis de proteínas mitocondriales, ensamblaje de algunos de los complejos de la CR, etc. Es decir, en la función CR/OXPHOS.

[miguel.fernandez@uam.es](mailto:miguel.fernandez@uam.es)

## 5 Profundizando en la fisiopatología de la enfermedad de McArdle: estudio de expresión diferencial de proteínas musculares.

*García-Consuegra I, González-Quintana A, Asensio S, Blázquez A, Lucía A, Santalla A, Arenas J, Martín MA.*

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

La enfermedad de McArdle o glucogenosis tipo V (GSD-V), es una de las miopatías metabólicas con prevalencia ~ 1:160.000 en España. Esta causada por mutaciones en el gen PYGM, que conducen a un déficit de actividad de la glucógeno fosforilasa muscular (miofosforilasa). Aunque la base genética es conocida, su relación con la expresividad fenotípica no está del todo entendida. Para ahondar en la fisiopatología de la enfermedad se propone el estudio del proteoma diferencial muscular de estos pacientes.

Se estudiaron 6 biopsias musculares procedente de pacientes con diferente capacidad física (VO<sub>2</sub> max) y 6 controles, pareados por edad y sexo. Se realizó una electroforesis bidimensional diferencial en-gel (2D-DIGE), la cual proporciona información a la vez sobre la expresión diferencial de proteínas, y cuantificar sus niveles de expresión. Para ello, se procedió al marcaje de los extractos proteicos musculares con fluorocromos (Cy3, Cy5, Cy2) previo a la IEF. La visualización y el análisis automático se realizaron en un escáner de fluorescencia y las proteínas diana fueron identificadas por espectrometría de masas

Se detectaron 41 "spots" regulados diferencialmente entre ambas condiciones manteniendo un umbral de diferencia de expresión  $\geq 2$  y  $p < 0,01$ . En los pacientes se observó un aumento en 35 "spots" y en 6 se encontró una disminución de la expresión.

Se identificó una posible desregulación de la expresión proteica en pacientes con déficit de miofosforilasa, un hecho que puede ayudar a la identificación de biomarcadores pronósticos y/o dianas terapéuticas en esta miopatía metabólica.

[inesgcg@hotmail.com](mailto:inesgcg@hotmail.com)

## 6 Efectos de las mutaciones patológicas de la parkina en la diferenciación neuronal dopaminérgica

*Iglesias, E., Pesini, A., Garrido, N., Llobet, L., Emperador, S., Ruiz-Pesini, E., Montoya, J., Bayona-Bafaluy, P.*

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

La enfermedad de Parkinson (PD) es una enfermedad neurodegenerativa causada fundamentalmente por la destrucción de las neuronas dopaminérgicas de la pars compacta de la substantia nigra. Factores ambientales y genéticos contribuyen a su desarrollo. Así, mutaciones en el gen de la parkina han sido asociadas con la enfermedad de Parkinson de inicio temprano. Esta proteína se ha implicado en el mantenimiento e integridad mitocondrial. La parkina se trasloca a las mitocondrias des-polarizadas e induce su eliminación autofágica, sugiriendo que podría participar en la eliminación selectiva de mitocondrias defectuosas, actuando como un control de calidad mitocondrial. En el presente trabajo presentamos una caracterización de



los efectos de dos mutaciones patológicas de la parkina en la diferenciación neuronal dopaminérgica en células de neuroblastoma (SH-SY5Y y SK-N-BE(2)-C) y en células madre neurales (hNSCs). Así como los cambios genéticos moleculares y bioquímicos que se producen tras la diferenciación a neuronas, en particular en relación al sistema OXPHOS. Además se determinó la influencia de las mutaciones en los niveles de autofagia celular mediante la detección de la proteína LC3B.

[eiglesia@unizar.es](mailto:eiglesia@unizar.es)

## 7 Deoxyribonucleoside supply rescues mtDNA depletion in human POLG-deficient fibroblasts

*Blázquez-Bermejo, C., Carreño-Gago, L., Torres-Torronteras, J., Cabrera, R., García-Arumí, E., Lombès, A., Martí, R., Cámara, Y.*

Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona

Mitochondrial DNA (mtDNA) depletion and deletion syndrome (MDDS) has been associated with different mutations in genes somehow related to mtDNA replication. An important factor contributing to mtDNA synthesis is the availability of dNTP substrates. Enhancing dNTP synthesis by supplementation with their precursors in the form of deoxyribonucleosides (dNs) has been proven an effective treatment in different cellular models of MDDS due to defective nucleotide metabolism.

The mtDNA polymerase (polymerase gamma) is a heterotrimer constituted by one catalytic subunit (POLG1) and two accessory subunits. In this study we tested whether mutations affecting POLG1 could also benefit from finding a higher dNTP concentration provided by dNs supplementation. We have studied mtDNA copy number recovery rates after EtBr (ethidium bromide)-forced depletion in skin fibroblasts derived from patients harbouring mutations affecting the different protein domains in POLG1. After 14 days of EtBr treatment, all POLG1-deficient cells experienced higher mtDNA depletion than fibroblast obtained from healthy controls, evidencing a defective replication process. We monitored mtDNA recovery after EtBr withdrawal for 12 days in the presence or absence of all four dNs as dNTP precursors, plus an inhibitor of deoxyadenosine degradation. Control cells recovered their mtDNA copy number independently of dNs addition while POLG1-deficient cells recovered mtDNA levels only when exposed to the treatment. This work provides evidence that mutations affecting enzymes directly acting at the mitochondrial replication fork may benefit from dNs administration, and suggests that such a therapy could be also effective for treating other MDDSs or conditions in which mtDNA replication is challenged.

[yolanda.camara@vhir.org](mailto:yolanda.camara@vhir.org)

## 8 El precursor del NAD, NMN, mejora la bioenergética en cíbridos mutantes del mtDNA

*Cascajo, M.V., Siendones, E., Ballesteros, M., Navas, P.*

Grupo CIBERER: U729 Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla  
 Otros grupos: U717, U727

El NAD es un nucleótido imprescindible para el proceso bioenergético y también es sustrato de PARP para la reparación del DNA y de las sirtuinas para la regulación genética y bioquímica del metabolismo. La ruta de salvamento de la síntesis de NAD depende del intermediario nucleótido de nicotinamida (NMN) y su suplementación en ratones viejos induce la expresión de genes del mtDNA y la activación respiratoria (Gomes et al. Cell 2013; 155:1624-1638). Nuestra hipótesis es que el NMN podría aumentar la expresión de los genes mitocondriales y por tanto la respiración en cíbridos mutantes en el mtDNA. Cíbridos con mutación T8993G en homoplasmia tratados con NMN aumentaron el tiempo de supervivencia en medio de cultivo con galactosa y aumentaron la expresión de genes codificados por el mtDNA pero no por el genoma nuclear. El análisis del grado de consumo de oxígeno mitocondrial (OCR, Seahorse) dependiente tanto de la glucosa como de la galactosa fue mayor en cíbridos silvestres tratados con NMN, y también fue mayor la acidificación del medio dependiente de la glucosa en condiciones de inhibición del complejo V. El análisis de la respiración en cíbridos mutantes en los genes ATP6 y COX1 en homoplasmia demostraron un aumento significativo de OCR en presencia de NMN cuando las células tienen como sustrato la galactosa, mientras que no aumentó este grado de respiración con glucosa como sustrato. Estos resultados sugieren un beneficio del NMN en la mejora de la respiración mitocondrial en células con mutaciones en el mtDNA.

[pnavas@upo.es](mailto:pnavas@upo.es)

## 9 Mitochondrial dynamics in aralar deficient neuron

*Contreras, L del Río, A Montero, A Puertas, G Satrústegui, J*

Grupo CIBERER: U743 Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBM-SO) CSIC-UAM, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

Mitochondrial dynamics, transport and metabolism influence each other and have an impact on cell health. The transport of mitochondria along microtubules requires ATP, which is produced mainly in the mitochondria by glucose oxidation. Mitochondria associate with the endoplasmic reticulum for the exchange of molecules. Ca<sup>2+</sup> signaling between organelles takes place within those associations, which may enhance mitochondrial metabolism by activation of three matrix dehydrogenases or through stimulation malate-aspartate shuttle (MAS). Aralar/AGC1/Slc25a12 is the mitochondrial aspartate/glutamate carrier present in neurons, where it is essential for MAS activity and efficient oxidative glucose metabolism. Thus, aralar-KO neurons cultured in glucose have a marked decrease in respiratory activity. We postulated that this energy deficit may lead to alterations in mitochondrial dynamics that may be important in the development of the associated human disease "AGC1 deficiency-global cerebral hypomyelination" (OMIM). We have found no differences in basal morphology (fission/fusion equilibrium). However, aralar-KO neurons have increased mitochondria-ER apposition which may result in enhanced Ca<sup>2+</sup> transfer, consistent with larger Ca<sup>2+</sup> retention capacity in aralar-KO mitochondria. On the other hand mitochondrial velocity, but not percentage movement, was increased in aralar-KO neurons. Addition of glutamate decreased similarly movement in both genotypes, ruling out differences in Ca<sup>2+</sup> regulation. However, inhibition of ATP production by oligomycin reduced significantly movement in the WT but not in the aralar-KO neurons. Our results suggest an increase in Ca<sup>2+</sup>-ER connection as a compensatory response to oppose the decreased glucose oxidation and an altered mitochondria transport with lower dependence on mitochondrial ATP in aralar-KO neurons.

[lcontreras@cbm.csic.es](mailto:lcontreras@cbm.csic.es)

## 10 Rituximab es efectivo en el tratamiento de CIDP resistente con anticuerpos IgG4 dirigidos contra proteínas paranodales

*Querol L, Rojas-García R, Díaz-Manera J, Cortés E, De Luna N, Gallardo E, Illa I.*

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

Introducción y objetivos: Describir la respuesta a rituximab en pacientes con CIDP y anticuerpos contra proteínas paranodales de la subclase IgG4 que sean resistentes al tratamiento convencional.

Métodos: Se incluyeron pacientes con CIDP y anticuerpos contra contactin-1 (CNTN1) o neurofascin-155 (NF155) de la subclase IgG4. Aquellos pacientes resistentes a inmunoglobulinas endovenosas o corticoides fueron tratados con rituximab y seguidos prospectivamente. Las técnicas de ELISA e inmunocitoquímica fueron utilizadas para detectar y titular los anticuerpos anti-CNTN1 o anti-NF155. La mejoría clínica, determinada mediante la escala R-ODS y ONLS se correlacionaron con los niveles de anticuerpo pre y post tratamiento.

Resultados: Incluimos nueve pacientes con anticuerpos anti-CNTN1 o anti-NF155. Cinco pacientes reunían criterios de tratamiento pero sólo 4 aceptaron ser tratados. Dos pacientes (uno anti-CNTN1+, otro anti-NF155+) mostraron una respuesta muy significativa al rituximab. Otro paciente (anti-NF155+), con más de 15 años de evolución de la enfermedad, mejoró ligeramente tras 18 meses de tratamiento. El cuarto paciente tratado con rituximab sufrió un infarto cerebral tras el primer curso de tratamiento y fue perdido en el seguimiento. Los títulos de anticuerpo disminuyeron de forma significativa tras el rituximab en todos los pacientes, correlacionando con la respuesta a tratamiento.

Conclusion: Rituximab es una terapia de rescate efectiva en pacientes con CIDP y anticuerpos anti-CNTN1 o anti-NF155 de la subclase IgG4. Estos anticuerpos corellacionan con la respuesta clínica. La detección de los anticuerpos anti-CNTN1 o anti-NF155 debe considerarse de forma precoz en CIDP para guiar el tratamiento de la CIDP, especialmente en aquellos casos resistentes a tratamiento.

[lquerol@santpau.cat](mailto:lquerol@santpau.cat)

## 11 Role of hypoxia in innate immunity activation in dermatomyositis

*de Luna N, Suárez-Calvet X, Rojas-García R, Jordi Diaz-Manera J, Illa I, Gallardo E.*

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

Background: Innate immunity, including the retinoid acid-inducible gene 1 (RIG-I) pathway, has an important role in the pathogenesis of dermatomyositis (DM). Classically, it is accepted that the pathogenesis of DM involves loss of intramuscular capillaries as a consequence of an autoimmune attack to as yet unidentified target antigens on endothelial cells. This leads to reduced levels of oxygen and nutrients that promote muscle fiber atrophy, especially in the perifascicular areas. Aim: The aim of the study was to demonstrate that hypoxic environment has an effect on innate immunity pathways in dermatomyositis. Materials and Methods: Frozen sections from muscle biopsies. Human muscle primary cultures and HEK293 cells grown in normoxia and hypoxia. Immunocytochemistry, qPCR, Western-Blot, cloning, luciferase assays (Hypoxia inducible factor (HIF1a), RIG-I and ELISA (IFN)). Results: Immunohistochemistry and histochemical analysis on frozen muscle sections from patients with DM showed increased expression of HIF induced genes (i.e. bearing HRE elements in the promoter) such as RIG-I and glycogen synthase (accumulation of PAS+ material) in perifascicular areas. In vitro, hypoxia induced expression of RIG-I in human myotubes and in HEK293 cells. RIG-I activation under hypoxic conditions enhanced IFN-I response. Conclusions: Our results provide evidence that a non-immune factor such as hypoxia participates in the activation of innate immunity pathways (RIG-I) that may eventually lead to muscle fiber damage.

[egallardo@santpau.cat](mailto:egallardo@santpau.cat)

## 12 Immunoproteomic Studies on Paediatric Opsoclonus-Myoclonus associated with Neuroblastoma

*Estefanía Torres-Vega (1), María Durán-Moreno (2), Manuel Sánchez del Pino (3), Yania Yáñez (4), Adela Cañete (4), Victoria Castel (4), Rogelio López-Cuevas (5), Juan Jesús Vilchez (1,5), Josep Dalmau (6,7), Francesc Graus (7), José Manuel García-Verdugo (2), Luis Bataller (1,5).* 1. Laboratorio de Neurología, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, CIBERER, Valencia, Spain. Laboratorio de Neurobiología Comparada, Instituto Cavanilles, Universidad de Valencia, CIBERNED, Valencia, Spain. 2. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Valencia, Valencia, Spain. 3. Unidad de Oncología Pediátrica, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain. 4. Servicio de Neurología, Hospital Universitario i Politécnico La Fe, Valencia, Spain. 5. Department of Neurology, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA, and Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona, Spain. 6. Laboratori de Neurologia, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), and Servei de Neurologia, Hospital Clínic, Barcelona, Spain.

Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital Universitario La Fe, Valencia

Otros grupos: U764

Background. Although there is evidence that immune humoral mechanisms are implicated in the pathogenesis of paraneoplastic paediatric opsoclonus-myoclonus syndrome (OMS), putative antigens are currently unknown. We aimed to identify new neuronal-membrane antigens with sera of children with OMS and neuroblastoma.

Methods. Sera of 14 children with OMS leading to the diagnosis of neuroblastoma and 9 controls (3 healthy donors, 3 paraneoplastic neuromyotonia, 3 IGLON5 parasomnia) were used for the following studies: i) electron-microscopy immunogold on a human neuroblastoma cell line (SH-SY5Y); ii) systematic immunoprecipitation experiments using rat brain synaptosomes and SH-SY5Y neuroblastoma cell line; iii) cell-based assays (immunofluorescence on HEK293T cells transfected with plasmids encoding for the precipitated candidate proteins). Results. Sera of 3 patients with OMS-neuroblastoma that showed IgG immunogold reactivity with the surface of SH-SY5Y cells were selected for immunoprecipitation studies. Differential analysis of the proteoma precipitated with the 3 cases (706 proteins) vs the 9 controls led to the identification of 38 proteins of interest, encompassing: 1) thirty-one nuclear or cytoplasmic proteins (including antigens ELAV-like neuronal protein 1 [HuB], ELAV-like protein 3 [HuC], and Kinesin family member 21A [KIF21]); 2) seven neuronal membrane proteins, including the Shaw-potassium channel Kv3.3 (KCNC3) whose genetic disruption in mice is known to cause ataxia and generalized muscle twitching. Cell based assays with Kv3 channels failed to demonstrate direct antigenicity.

[l\\_bataller@yahoo.com](mailto:l_bataller@yahoo.com)

## 13 Evaluation of a new gen therapy based on PPRHs for exon skipping in DMD

Gomis-Coloma, C. Sanchez-Cabezas, S. Marti-Martinez, P. Martinez-Mañez, R. Ciudad, C.J. Vilchez, J.J.

Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital Universitario La Fe, Valencia

In Duchenne Muscular Dystrophy, mutations in the DMD gene interrupt the open reading frame which prevent the synthesis of dystrophin in the muscle cells. By exon-skipping, the mutated exon can be removed, restoring the open reading frame. At the moment there are several AONs that produce exon skipping by promoting an alternative splicing of the DMD pre-mRNA. We have evaluated the use of a new technology called Polypurine reverse-Hoogsteen hairpins (PPRHs) as a new exon-skipping strategy in DMD. PPRHs have been proved to be efficient for gene silencing in cancer cells. They also show high stability in cells. For the evaluation of the applicability of PPRHs for exon skipping in DMD, we directed it towards the removal of exon 51. We cultured myoblasts from three DMD patients, carrying two different deletions, in both cases the open reading frame would be restored by the removal of exon 51. Four different PPRHs were designed against sequences adjacent to the 51 exon in the pre mRNA. We tried to introduce the PPRHs into the primary myoblast cultures using different methods in order to maximize uptake efficiency. Finally we found that, when introducing the PPRHs by silica nanoparticles, they entered in 95% of the cells. We then tested these four PPRHs in different combinations and the results indicate that at least in this model, the PPRH strategy is not valid for exon-skipping. This was confirmed by efficiently obtaining exon-skipping with the use of eteplirsén, a well studied AON, in our myoblasts cultures.

[claragomiscoloma@gmail.com](mailto:claragomiscoloma@gmail.com)

## Pósteres Recorrido II. Medicina Metabólica Hereditaria

## 14 New transporters in the amino acid renal reabsorption

López de Heredia, M 1,; Vilches, C1; Bodoy, S2; Espino, M1,2; Boiadjieva, E3,; Prat, E1, 6; González, L1; Artuch, R4; Verrey, F 3\*; Palacín, M 2, 5\*; Nunes, V1, 6,\* 1.- U730 Human Molecular Genetics Laboratory, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. 2.- U731 Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), Barcelona, Spain. 3.- Institute of Physiology and Zurich Center for Integrative Human Physiology, University of Zurich, Switzerland. 4.- U703 Clinical Biochemistry Department and Institute of Research Pediatrics. Sant Joan de Déu Hospital. Barcelona, Spain. 5.- Biochemistry and Molecular Biology Department, Biology Faculty, University of Barcelona, Spain 6.- Genetic Unit, Physiological Sciences II Departament, Medicine Faculty, University of Barcelona, Spain. (\*Authors shearing senior leadership).

Grupo CIBERER: U730 Centro de Genética Médica y Molecular CGMM, CGMM-IDIBELL Hospital Duran y Reynals, Fundación IDIBELL, Barcelona  
Otros grupos U731

Thanks to two very recent findings we have expanded our understanding of the renal amino acid transport in mammals and subsequently our knowledge about aminoacidurias.

The generation and characterization of the double loss of function KO for two basolateral amino acid transporters LAT2/TAT1 demonstrated a decreased reabsorption of aromatic and neutral amino acids and to a lesser extent of basic amino acids and proline that is exacerbated under rich protein diet. A strong renal phenotype in the double KO in comparison with both single ones supports a coordinated function of both basolateral transporters in renal reabsorption. The model presents a significant remaining tubular reabsorption of neutral amino acids suggesting compensation by other basolateral transporters. We will present preliminary data suggesting that y+LAT1 and SNAT3 are two of those. Additionally, very recently, we have identified a new amino acid transporter (rBAT/AGT1) in the apical membrane of the epithelial cells of the straight proximal tubule. rBAT/AGT1 exchange in vitro cysteine, glutamate and aspartate. To demonstrate the role of this transporter in renal reabsorption, we determined the aminoaciduria in p.Asp140Gly rBAT mouse, that presents no expression of AGT1 and b0,+AT in renal apical membranes. p.Asp140Gly rBAT mouse presents the same aminoaciduria as the b0,+AT null mouse (i.e. hyperexcretion of cystine and dibasic amino acids) as expected, but also diminished excretion of aspartate. These data supports efflux of aspartate via rBAT/AGT1. Due to its characteristics AGT1 turns to be a good candidate to explain unsolved cystinuria patients. We are currently performing these analyses.

[vnunes@idibell.cat](mailto:vnunes@idibell.cat)

## 15 Hyperexcretion of organic acids in urine as metabolic markers in murine aminoacidurias

*Bodoy, S.1; García-Villoria, J.2, Vilches, C.3; Espino, M.1, 3; Lopez de Heredia, M.3; Prat, E.3, 7; González, L.3; Artuch, R.4 ; Zorzano, A.1, 5, 6; Ribes, A.2,\*; Nunes, V.3, 7 \*; Palacín, M.1, 6 \* 1 U731, Biochemistry and Molecular Biology Department, Biology Faculty, University of Barcelona, Spain. 2 U737, Div. Inborn Errors of Metabolism, Dpt. Biochemical and Molecular Genetics, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain. 3U730, Human Molecular Genetics Laboratory IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. 4 U703 Clinical Biochemistry Department and Institute of Research Pediatrics. Sant Joan de Déu Hospital. Barcelona, Spain 5 CIBERDEM. 6 Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), Barcelona, Spain. 7 Genetic Unit, Physiological Sciences II Departament, Medicine Faculty, University of Barcelona, Spain (\* Authors shearing leadership)*

Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona  
 Otros grupos: 730, 737, 703

Primary inherited aminoacidurias are caused by mutations in transporters located in the apical or basolateral plasma membranes of renal tubule epithelial cells. Loss-of-function murine models of these diseases have been generated. For apical transporters, mutant p.Asp140Gly rBAT and b0,+AT KO parallels human cystinuria, B0AT1 KO mimics Hartnup disorder and EAAC1 KO presents dicarboxylic aminoaciduria. The ablation of basolateral transporters causes lysinuric protein intolerance (LPI) (tamoxifen-inducible y+LAT1 KO) or a general neutral aminoaciduria (the double loss-of-function mouse LAT2 null KO and p.Tyr88X TAT1). To identify other possible substrates, a urine metabolomic study was run in p.Asp140Gly rBAT mice revealing urine hyperexcretion of tricarboxylic acid (TCA) cycle metabolites (e.g.,  $\alpha$ -ketoglutarate and fumarate). To identify the origin of these compounds, organic acids were also determined in b0,+AT KO, LPI and double loss-of-function LAT2/ TAT1 mouse models. Interestingly, excretion of TCA cycle intermediates correlates with arginine, ornithine and glutamine excretion in mice with ablation of basolateral transporters, suggesting that intracellular accumulation of these amino acids foster formation and excretion of TCA cycle intermediates. Loss-of-function of rBAT, but not b0,+AT, also produces hyperexcretion of these intermediates. Because p.Asp140Gly rBAT results in loss-of-function of AGT1 in addition of b0,+AT, hyperexcretion of TCA cycle intermediates should be due to the accumulation of a precursor amino acid substrate for AGT1 and not for b0,+AT (i.e., glutamate and aspartate). Accumulation of glutamate due to defective rBAT/AGT1 would explain hyperexcretion of TCA cycle metabolites. This is the first in vivo support for glutamate efflux through this transporter.

[manuel.palacin@irbbarcelona.org](mailto:manuel.palacin@irbbarcelona.org) y [vnunes@idibell.cat](mailto:vnunes@idibell.cat)

## 16 Disease modelling of Primary Hyperoxaluria by cell reprogramming

*García-Bravo M, Rodríguez-Madoz JR, Chinchón R, Zapata-Linares N, Rodríguez S, Abizanda G, Iglesias E, Nieto-Romero V, Prosper F, González-Asequinolaza G, Salido E, Segovia JC*

Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid  
 Otros grupos: U740

Disease models are essential to understand the molecular mechanisms that drive pathogenesis and enable the development of novel therapies. In particular, cell reprogramming offers a valuable tool to develop patient-specific disease models that after subsequent differentiation into the cell type of interest, allows the study of diseases that were previously inaccessible.

In this work we describe two different strategies to develop in vitro disease models of type 1 primary hyperoxaluria (PH1) by cell reprogramming, one generating patient-specific induced pluripotent stem cells (iPSCs) and a second one by direct transdifferentiation. In particular, we show the generation and characterization of the first iPSC lines derived from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and dermal fibroblasts of a PH1 patient homozygous for the p.I244T mutation, which is highly prevalent in Canary Islands due to a founder effect. On the other hand, direct reprogramming has been described as a potential source for the generation of hepatocytes from non-hepatic cell sources. We have developed a system to obtain hepatocyte-like cells from human fibroblasts using hepatocyte specific transcription factors and a hepatocyte defined culture media. We have applied this procedure to PH1 fibroblasts and we have obtained PH1 deficient cells expressing hepatocyte markers. Cells obtained from either strategy are being used to study the biology of PH1 in vitro and will be used in the future to develop strategies for the genetic correction of the disease.

[maria.garciabravo@ciemat.es](mailto:maria.garciabravo@ciemat.es)

## 17 Structure-Function studies of a prokaryotic LAT transporter

*Bartoccioni, PC.; Fort, J.; Errasti Murugarren, E.; Palacín, M.*

Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona

The transfer of amino acids across the plasma membrane is mediated by specific proteins that recognize, and transport them from the extracellular medium into the cell, or vice versa. LAT transporters are one of the most important players as deduced from their pathophysiological relevance. Solving atomic structure of a LAT member would be very important to understand their roles in physiology and disease. Our objective is to solve the structure of a prokaryotic homolog (Asc-like) from the LAT family. Initial membrane protein crystallization strategies to reach the structure of Asc-like, led us to obtain low resolution crystals (5.5 angstroms). So we are trying another strategy consisting on the use of nanobodies produced against Asc-like (collaboration with Dr Steyaert) to improve crystal packing. Their characterization is in progress. Purified Asc-like reconstituted in proteoliposomes exhibited obligatory exchange for neutral amino acids. Its substrates and inhibitors selectivity is similar to that of the human asc-1 transporter (we named it Asc-like).

Asc-like represents an excellent model to study the molecular architecture of the light subunits of HAT and APC transporters. Site-directed mutagenesis and mutants functional characterization in Asc-like, suggests a substrate binding site design similar to that reported for crystallized exchanger AdiC. Single molecule FRET analysis is in progress in our laboratory. We labelled specific positions of the protein to monitor specific movements as a consequence of substrate addition. This studies, performed in wild type and particular mutants affecting the translocation process, would help in the elucidation of the amino acid translocation mechanism through Asc-like.

[paola.bartoccioni@irbbarcelona.org](mailto:paola.bartoccioni@irbbarcelona.org)

## 18 Inborn metabolic errors and macromolecular structure and function: a bidirectional path to discovery

*Vicente Rubio, Clara Marco-Marín, Sergio de Cima, Nadine Gougeard Instituto de Biomedicina de Valencia of the CSIC, and Group 739 of the Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Raras (CIBERER) del Instituto de Salud Carlos III, Valencia, Spain*

Grupo CIBERER: U739 Enzimopatología estructural, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia

In the recent past, studies on inborn metabolic errors have favored genetics, compiling clinical mutations repertoires. Knowledge of the protein structure can dispel doubts about disease causation for many mutations, although those affecting folding or stability may render more difficult prediction of their severities, as recently found for mutations in an entire domain of carbamoyl phosphate synthetase 1 (CPS1). Furthermore, the effects of missense mutations in regulatory domains of poorly characterized function may be dubious, as found by us for N-acetylglutamate synthase. Moonlighting and non-catalytic structural functions of macromolecular catalysts are increasingly discovered, as for argininosuccinate lyase (ASL) and nitric acid production, which cannot be explained by mere structural determination of the isolated macromolecule. These cases call for studies on protein complexes or for snapshots of different stages of the functional life cycle of the macromolecule, as documented by our two-snapshot study of inactive and activated CPS1. Crucial structural inferences allowed understanding that some ALDH18A1 gene (encoding  $\Delta$ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) mutations are dominant and others are recessive. Similarly, the structure of ASL clarified intragenic complementation in argininosuccinic aciduria. In summary, more rather than less structure is needed to fill our knowledge gaps in molecular pathogenesis. Conversely, clinical mutations databases provide shortcuts for physical localization of functions in individual proteins, as recently exemplified in studies of CPS1. Overall, the structural and functional knowledge can help understand the derangements due to specific missense mutations, but, in addition, the patient's mutational spectrum can help understand protein function. Grants PrometeoII/2014/029 and BFU 2011-30407 and 201458229-P.

[rubio@ibv.csic.es](mailto:rubio@ibv.csic.es)

## 19 Autophagy induction as a potential treatment for lysosomal diseases.

*Matalonga L, Farrera-Sinfreu J, Pascual R, Arias A, Tort T, García-Villoria J, Ferrer A, Parente A, Ponsati B, Gort L, Ribes A*

Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

Lysosomal storage disorders (LSDs) are genetic diseases caused by the abnormal accumulation of non-degraded macromolecules into lysosomes leading, in most cases, to a biochemical cascade that results in the impairment of the autophagy flux and the prevention of lysosomal clearance. Recent studies have demonstrated that the induction of autophagy in LSDs could decrease the abnormally stored material by enhancing lysosomal exocytosis. Bicalutamide is an anti-androgen molecule involved in the induction of autophagy in human prostate cancer cells.

The aim of our work was to evaluate the potential benefits of Bicalutamide treatment, and its enantiomers (R and S), in skin-derived fibroblasts from patients affected by seven different LSDs.

Treatment response was evaluated in cultured fibroblasts by monitoring lysosomal exocytosis, substrate accumulation and cell viability. Treatment with (S)-Bicalutamide enantiomer was able to ameliorate significantly the altered biochemical parameters in all the cell lines, while the response to (R)-Bicalutamide, the racemic Bicalutamide or Cyclodextrin (a previously described autophagy inducer in LSDs) was less effective. Moreover, we have studied the molecular mechanism underlying Bicalutamide's action and we found that Bicalutamide acts through the activation of the transcription factor TFEB. This transcription factor enhances the transcription of genes involved in autophagy and lysosomal biogenesis, leading to the subsequent increase of the autophagy flux and the lysosomal exocytosis.

These results are encouraging as this approach circumvents the primary enzyme deficiency responsible for these diseases by exploiting the ability of lysosomes to expel their content into the extracellular space, resulting in the clearance of the pathogenic stored material.

[lmatalonga@ciberer.es](mailto:lmatalonga@ciberer.es)

## 20 Exome sequencing revealed mutations in NADK2 in a patient with clinical improvement upon lysine restriction and pyridoxal phosphate administration

*Tort F, Ugarteburu O, Torres MA, García-Villoria J, Girós M, Matalonga L, Ferrer-Cortès X, Arias A, Ruiz A, Ribes A*

Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

Otros grupos: GCV03

We report a 10 years old Spanish female with mutations in NADK2. Antenatal CNS abnormalities showed ventriculomegaly, colpocephaly and hypoplasia of the corpus callosum. At birth, axial hypotonia along with uncoordinated movements, microcephaly and generalized cerebellar atrophy were detected. Metabolic investigations revealed high lysine, lactate and pipercolic acid levels in blood and cerebrospinal fluid. Pyruvate carboxylase and pyruvate dehydrogenase activity in fibroblasts were normal. Since the newborn period she received biotin, thiamine and carnitine supplementation. Lysine restricted diet was started at one month old. As pipercolic acid was high, pyridoxine was added to treatment. Later on, at 3 years of age, ataxic myoclonic epilepsy appeared with no response to Levetiracetam. We switched pyridoxine to pyridoxal phosphate with electroclinical improvement. Because the activity of mitochondrial respiratory chain complexes III and IV were slightly low in muscle, other cofactors such as ubiquinone, idebenone, vitamin E and creatine were added to the treatment. At 8 years of age plasma acylcarnitines were performed and high levels of C10:2 were found. Whole exome sequencing identified a homozygous splice site mutation in NADK2 (c.468 6T>C; p.Trp156Cysfs\*21). This substitution generates an exon skipping, leading to a truncated protein. In fact, NADK2 mRNA and the corresponding protein were almost absent. Now, at 10 years of age she presents ataxia and incoordination. She has oromotor dysphasia but is able to understand fluid language and is a very friendly girl. We hypothesize that patient clinical improvement could be due to lysine restricted diet together with cofactors and pyridoxal phosphate administration.

[ftort@ciberer.es](mailto:ftort@ciberer.es)

## 21 Altered functions of KCa3.1 channels in monocytes and macrophages in Gaucher's Disease

*Oliván-Viguera, A; Alfonso, P; Giraldo, P; Köhler, R.*

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

KCa3.1 is a Ca<sup>2+</sup>-activated K channel, considered as key regulator in macrophage function, regulating cell volume, producing membrane hyperpolarization and by this shaping Ca<sup>2+</sup>-signaling, controlling secretion of pro-inflammatory cytokines, and possibly differentiation from peripheral monocytes to activated macrophages. In Gaucher's Disease (GD), accumulation of glucosylceramide in macrophages (Gaucher cells) results in pathologies such splenomegaly, liver defects, and bone lesions. We propose that KCa3.1 functions are altered in a GD-related fashion in activated macrophages and monocyte precursors.

We measured KCa3.1 currents by whole-cell patch-clamp in monocytes isolated and purified from peripheral blood from age-matched GD patients (GD type 1 and GD type 3) and healthy volunteers (controls, Ctrl). We also measured currents in macrophages activated in vitro by exposure to erythrocyte lysate for 4 days.

Current amounts in naïve monocytes were similar in GD1 and Ctrl, but in GD3 monocytes currents were smaller.

Maximal current quantities were increased in activated macrophages compared to their naïve monocyte precursors, nonetheless GD macrophages showed significantly smaller currents than controls, which was more evident in GD3.

In addition, we observed an inhibition of KCa3.1 currents in the presence of glucosylceramide, with an EC<sub>50</sub> ≈ 5 μM.

In conclusion, our electrophysiological studies demonstrate for the first time reduced KCa3.1 functions in GD monocytes and macrophages, and inhibition of KCa3.1 by glucosylceramide. Since KCa3.1 is considered mechanistically important in macrophage immune cell function, motility, and differentiation, the impaired KCa3.1-activity could be of pathomechanistic relevance in Gaucher cell malfunction and GD pathologies.

[mpalfonso.iacs@aragon.es](mailto:mpalfonso.iacs@aragon.es)

## 22 Utilidad de los biomarcadores actividad quitotriosidasa, concentración de CCL18/PARC y 7-cetocolesterol en el diagnóstico de las enfermedades de Gaucher, Niemann-Pick A/B, C y por déficit de lipasa ácida lisosomal.

*Irún P<sup>1,2,3</sup>, Cebolla JJ<sup>2,3,4</sup>, Alfonso P<sup>1,2</sup>, de Castro-Orós I<sup>3</sup>, López de Frutos L<sup>2,4</sup>, Giraldo P<sup>1,2,4</sup>* <sup>1</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Zaragoza; <sup>2</sup>Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), Zaragoza; <sup>3</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza, Zaragoza; <sup>4</sup>Fundación Española para el estudio y terapéutica de enfermedad de Gaucher y otras lisosomales (FEETEG), Zaragoza, España

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

Las enfermedades de Gaucher (EG), Niemann-Pick A/B (NPA/B), Niemann-Pick C (NP-C) y el déficit de lipasa ácida lisosomal (DLAL) son enfermedades de depósito lisosomal (EDL) difíciles de diagnosticar que originan gran heterogeneidad de signos y síntomas, en ocasiones comunes a varias patologías y la consiguiente alteración de biomarcadores.

Con objeto de evaluar su utilidad como biomarcadores de sospecha de dichas enfermedades, se midieron retrospectivamente la actividad quitotriosidasa (QT), concentración de CCL18/PARC y 7-cetocolesterol (7CC) en 146 muestras plasmáticas de sujetos con sospecha de EDL (32 de EG, 7 de NPA/B, 90 de NP-C y 17 de DLAL) recibidas entre 2014-2015.

Un total de 9/32 (28%) recibidos por sospecha de EG mostraron QT y/o CCL18/PARC elevada, 4 confirmaron EG y en los otros 5 se confirmó 1 NPA/B, 1 NP-C y dos portadores de una mutación en NPC1. Los 3/7 (43%) con sospecha de NPA/B y biomarcadores alterados resultaron afectados. Entre los 20/90 (22%) con sospecha NP-C con algún biomarcador elevado se diagnosticaron 4 afectados NP-C que presentaban elevados todos los biomarcadores



y 2 portadores con algún biomarcador alterado. De los 7/17 (41%) enviados con sospecha de DLAL con algún biomarcador elevado resultaron afectados 5.

La determinación conjunta de los biomarcadores actividad quitotriosidasa, CCL18/PARC y 7-cetocolesterol (éste último no aplicable en EG) hubiera permitido reducir a 39/146 (27%) el número de muestras susceptibles de ser sometidos al test confirmatorio de diagnóstico. En total se identificaron 18 sujetos afectados, constituyendo el 46% de los que presentaron algún biomarcador elevado.

[mpirun.uit@gmail.com](mailto:mpirun.uit@gmail.com)

## Pósteres Recorrido III Medicina Pediátrica y del Desarrollo y Patología Neurosensorial

### 23 Stress test to reveal cardiac susceptibility in a rat model of Fetal Growth Restriction

*Gonzalez-Tendero A, Martin M, Cornejo L, Guasch E, Crispi F, Gratacós E*

Grupo CIBERER: U719 Grupo de Investigación en Medicina Fetal y Perinatal. Servicio de Medicina Materno Fetal, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

Fetal growth restriction (FGR) affects 10% of births and increases 3-4 fold cardiovascular (CV) mortality from the fifth decade. Current theories point at fetal metabolic and renal programming predisposing to adult diabetes and hypertension, but there is a missing link to explain such early CV mortality. Our hypothesis is that the main determinant and missing link of adult CV mortality after FGR is a primary cardiac remodeling. We aimed to demonstrate that adult animals who suffered FGR are more vulnerable to cardiac dysfunction when subjected to different stressors.

We used an experimental model of FGR in rat based on a low protein diet during pregnancy. Adult offspring were subjected to two different stressors to induce cardiac dysfunction: transverse aortic constriction (TAC) and isoproterenol overdose. Cardiac function was evaluated through echocardiography. Animals were then sacrificed and histological signs of cardiac remodeling were evaluated with hematoxylin-eosin staining to assess gross morphological changes and picro-sirius red to evaluate fibrosis.

Results show that after TAC, hearts from FGR offspring, displayed a quick progression to eccentric hypertrophy, features of dilated cardiomyopathy, myocardial fibrosis and cardiac failure; whereas controls only presented concentric hypertrophy as expected. Similarly, FGR hearts after isoproterenol overdose presented a marked increase of apical fibrosis and cell damage compared to control animals.

In conclusion, this preliminar study shows that adults who suffered FGR, when subjected to different stressors, present a faster progression to heart failure, suggesting that cardiac remodeling due to FGR could be the main determinant of early CV mortality in adulthood.

[angonzal@clinic.ub.es](mailto:angonzal@clinic.ub.es)

### 24 Incremento del espectro genotípico y fenotípico mediante la identificación de nuevas mutaciones en agrecano en pacientes con displasias esqueléticas

*Sara Benito Sanz, Lucia Sentchordi, Jimena Barraza, M<sup>a</sup> Victoria Marcos Salas, M<sup>a</sup> Consuelo Sánchez Garre, Elena Vallespin, Angela del Pozo, Kristina Ibáñez, Juan Carlos Silla, Pablo Lapunzina y Karen E. Heath.*

Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

El gen ACAN (Aggrecan) codifica el proteoglicano agrecano, el mayor componente de la matriz extracelular del cartílago. Mutaciones en heterocigosis se han asociado a dos displasias esqueléticas, la osteocondritis disecante familiar

y la displasia espondiloepimetafisarias tipo Kimberley, y recientemente a pacientes con talla baja idiopática, avanzada edad ósea y cese prematuro del crecimiento.

Realizamos una búsqueda de mutaciones en una cohorte de pacientes con displasias esqueléticas mediante un panel de NGS (SkeletalSeqV3, 315 genes). Las mutaciones se confirmaron mediante secuenciación Sanger. Identificamos tres nuevas mutaciones en heterocigosis en ACAN, dos "nonsense" c.61G>T (p.Glu21\*) (Caso 1) y c.7276G>T (p.Glu2426\*) (Caso 2) y una "missense" c.903G>C (p.Trp301Cys) (Caso 3). Todas las mutaciones cosegregan con el fenotipo familiar y la mutación p.Trp301Cys no aparece en la ExAC.

Los tres casos presentan talla baja, rasgos dismórficos y leves anomalías esqueléticas. Además, el caso 2 presenta edad ósea avanzada y la rama paterna del caso 3 artritis, por la que han requerido intervención quirúrgica. En contraste con lo ya descrito en la literatura, en nuestros casos solo uno presenta edad ósea avanzada. En conclusión, mutaciones en heterocigosis en ACAN causa síndromes con alteración de la función del cartilago de crecimiento caracterizado por un espectro fenotípico muy variable. Se ha formado el Consorcio Internacional de Agrecano, con el que se pretende realizar una amplia evaluación clínica y seguimiento de todos los afectados con el fin de caracterizar el espectro fenotipo, condiciones asociadas y analizar la respuesta a terapias de estimulación del crecimiento.

[sara\\_bsanz@yahoo.es](mailto:sara_bsanz@yahoo.es)

## 25 Estudio geográfico y temporal de la mortalidad debida a la enfermedad de Huntington en España (1984-2013)

*Sánchez-Díaz G, Alonso V, Arias-Merino G, Villaverde-Hueso A, Hens M, Morales-Piga A, Abaitua I y Posada de la Paz M*

Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid

**Introducción:** La enfermedad de Huntington (EH) afecta al sistema nervioso causando deterioro mental y desórdenes en la movilidad. El objetivo de este estudio es analizar la tendencia temporal y espacial de la mortalidad debida a esta enfermedad rara en España.

**Métodos:** Las defunciones por EH se identificaron a partir de los datos del registro nacional de mortalidad del Instituto Nacional de Estadística, usando los códigos 333.4 (1984-1998) y G10 (1999-2013) de la Clasificación Internacional de Enfermedades. Se calcularon las tasas anuales y quinquenales de mortalidad ajustadas por edad para el estudio temporal y se obtuvieron las Razones de Mortalidad Estandarizadas (RME) para el análisis geográfico por comarcas. Las RME fueron suavizadas calculando el Riesgo Relativo (RRs) y la probabilidad posterior según criterios de contigüidad entre comarcas.

**Resultados:** Se identificaron 1556 fallecimientos debidos a EH desde 1981 a 2013 (51.6% hombres y 48.4% mujeres). Ambos sexos muestran un incremento de la tasa de mortalidad especialmente a partir del tercer quinquenio. La tasa de mortalidad anual ajustada aumentó de 0.076 x 100000 habitantes en 1984 (hombres: 0.097, mujeres: 0.057) a 0.157 en 2013 (hombres: 0.170, mujeres: 0.134). Según el análisis geográfico, se detectaron comarcas aisladas con mayores RR de fallecimiento por EH, sobre todo en el suroeste peninsular en varones.

**Conclusión:** La mejora del diagnóstico y el aumento de la prevalencia podrían explicar el incremento de mortalidad por EH. Diferencias en la prevalencia entre regiones, desigualdades en la atención sanitaria u otros factores deberían ser estudiados en profundidad en el futuro.

[valonso@isciii.es](mailto:valonso@isciii.es)

## 26 Biobanks supporting research on Rare Diseases: International collaboration of the Spanish National Rare Diseases Biobank

*Villaverde-Hueso A, López E, Alonso V, Sánchez-Díaz G, Abaitua I and Posada de la Paz M*

Grupo CIBERER: U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid

Spanish National Rare Disease Biobank (BioNER) mission is to make available to the scientific community a catalog of biological samples, associated with clinical and epidemiological quality information on Rare Diseases (RD). BioNER supports research and knowledge of the pathophysiological bases of these diseases and promotion of the quality of life of RD patients. Regarding national and international cooperation to enhance visibility of RD biological samples, BioNER is partner of:

- Biobanks Platform: it is a harmonious cooperative framework for Spanish biobanks promoted by Instituto de Salud Carlos III. BioNER and biobank of Hospital Universitari Vall d'Hebron are leaders and responsible for RD samples collections.
- Eurobiobank consortium: it is the first operating biobanks network in Europe, providing human DNA, cells and tissue samples of RD. About 130,000 samples are available and can be requested via <http://www.eurobiobank.org/en/services/CatalogueHome.html> online catalogue, including those from BioNER.
- RD-Connect: this project aims to link up biobanks, databases, registries and clinical bioinformatics' data used in RD research into a central platform for researchers worldwide. BioNER is working on promotion of interoperability between European, American and Australian RD biobanks. In addition, it participates in the development of the RD-Connect individual Sample Catalogue and facilitates collaborations with patient registries and databases.
- Biospecimens/biorepositories RD-HUB: it consists of a publicly accessible, searchable, web-based database of biorepositories and samples collection of RD from the Office of Rare Diseases Research, National Institute of Health (USA).

In conclusion, BioNER is contributing to the international cooperation and interoperability between RD biobanks, in order to enhance RD research worldwide.

[anavillaverde@isciii.es](mailto:anavillaverde@isciii.es)

## 27 Edición genómica con el sistema CRISPR/Cas9 para la inserción dirigida del gen GCDH responsable de la acidúria glutárica

*Gea-Sorlí S., Matalonga L., Garcia-Villoria, J., Ribes, A., Fillat, C.*

Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona

Otros grupos: U737

La aciduria glutárica tipo I (AG-I) es una enfermedad rara, de herencia autosómica recesiva, causada por la deficiencia del enzima glutaril-CoA deshidrogenasa (GCDH).

El tratamiento actual consiste en dietas específicas y suplementación con carnitina. Sin embargo, éste no es totalmente efectivo y ciertos pacientes desarrollan crisis encefalopáticas agudas con secuelas neurológicas graves. El objetivo consiste en desarrollar una estrategia de terapia génica para pacientes con AG-I. En este trabajo, planteamos como prueba de concepto, restablecer el defecto genético, en fibroblastos de pacientes con AG-I, a través de la inserción dirigida del gen GCDH en el locus genómico AAVS1, mediante cirugía genética con el sistema CRISPR/Cas9. Hemos diseñado las secuencias RNA guía AGT1 y AGT2 específicas contra la región del intrón 1 del gen PPP1R12C en el locus AAVS1. Hemos demostrado que la nucleasa Cas9 es capaz de cortar de forma específica en esta región en los sitios de reconocimiento de AGT1 y AGT2 en células HEK293. También hemos podido demostrar la eficacia del corte en fibroblastos primarios, tras la transducción con partículas lentivirales que contienen las secuencias guía y expre-

san la nucleasa Cas9. Por otro lado, hemos generado un casete de recombinación que expresa el gen GCDH bajo el promotor de la fosfoglicerato quinasa. Paralelamente se ha puesto a punto un método de detección de la actividad enzimática de GCDH mediante espectrometría de masas en tándem. En estos momentos estamos en fase de evaluar la integración selectiva del gen GCDH en el locus AAVS1 de fibroblastos de pacientes con AG-I.

[CFILLAT@clinic.ub.es](mailto:CFILLAT@clinic.ub.es)

## 28 Generación de células knock-out de una proteína ciliar mediante tecnología CRISPR/Cas9

*Palencia A, Ruiz-Pérez VL.*

Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid

El síndrome de Ellis-van Creveld (EvC) y su variante autosómica dominante Disostosis acrofacial de Weyer (Weyers) están causados por mutaciones en *EVC* y *EVC2*. Estos genes codifican para las proteínas *EVC* y *EVC2*, las cuales forman un complejo proteico en la base del cilio primario, donde actúan regulando positivamente la vía de Hedgehog. Con el objetivo de avanzar en el conocimiento de la función de *EVC* y *EVC2* se realizó una búsqueda de proteínas que pudieran interactuar con el complejo *Evc/Evc2*, mediante un ensayo de doble híbrido en levaduras. Una de las proteínas identificadas en este estudio resultó estar involucrada en la formación y mantenimiento del cilio primario por lo que validamos la interacción mediante co-inmunoprecipitación y co-localización en células en cultivo. A continuación, para descubrir el sentido biológico y/o las posibles implicaciones que pueda tener esta interacción sobre las enfermedades EvC y Weyers, hemos generado mediante tecnología CRISPR/Cas9 células mutantes knock-out de la proteína ciliar interaccionante. Este poster refleja el proceso llevado a cabo para generar las células knock-out y la caracterización de los niveles de expresión y la localización subcelular de *Evc* y *Evc2* en esta nueva línea celular.

[apalencia@iib.uam.es](mailto:apalencia@iib.uam.es)

## 29 Base genética del trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad en niños de la población española.

*Gomez-Sanchez, Cl.; Riveiro-Alvarez, R.; Soto-Insuga, V.; Rodrigo, M.; Tirado-Requero, P.; Mahillo-Fernandez I.; Abad-Santos, F.; Carballo, JJ.; Dal-Ré, R.; Ayuso, C.*

Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

El Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) es un trastorno altamente hereditario que afecta en torno al 10% de niños en edad escolar, incluyendo subtipos de baja prevalencia. El objetivo del estudio es analizar en población española la asociación entre 34 polimorfismos con la sintomatología del TDAH teniendo en cuenta el papel de los subtipos clínicos y el sexo.

Una cohorte de 290 pacientes con TDAH y 340 controles de entre 6 y 18 años fueron incluidos en un estudio caso-control estratificado por sexo y subtipo de TDAH. Se realizó un análisis de regresión logística para detectar los efectos combinados de múltiples variantes.

Tras la corrección por comparaciones múltiples, encontramos asociaciones significativas (p-valor corregido  $\leq 0.05$ ) en polimorfismos localizados en los siguientes genes: (1) *SLC6A4* y *LPHN3* se asociaron en la población total; (2) *SLC6A2*, *SLC6A3*, *SLC6A4* y *LPHN3* se asociaron en el subtipo combinado; y (3) *LPHN3* se asoció en la muestra masculina. El estudio mediante regresión logística multivariada reveló que las variables genéticas contribuyen un 8,5%, 14,6%, 2,6%, 16,5% y 8,5% a la varianza fenotípica de la enfermedad en la población total, subtipo combinado e inatento, muestra femenina y masculina respectivamente.

En este trabajo presentamos una fuerte evidencia de la contribución genética al fenotipo del TDAH en cuatro genes, con el gen *LPHN3* jugando un papel importante. Futuros estudios deberían tener en cuenta el sexo y el subtipo clínico ya que reproducen modelos más robustos y predictivos.

[clara.gomez@fjd.es](mailto:clara.gomez@fjd.es)

### 30 Whole genome sequencing findings in Spanish families affected with Retinal Dystrophies

*Sánchez-Alcudia R, Bedoni N, Royer-Bertrand B, Cortón M, Ávila-Fernández A, Pérez-Carro R, Sánchez-Bolívar N, Zurita O, Nikopoulos K, Balzano S, Rivolta C, Ayuso C.*

Grupo CIBERER: U704 Servicio de Genética, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

To study the genetic basis and to identify pathogenic mechanisms of Retinal Dystrophies (RD), a total of 10 Spanish families, remaining uncharacterized by Whole Exome Sequencing (WES), were analyzed by Whole Genome Sequencing (WGS). The WGS data were processed following an expert in-house in silico pipeline developed by the University of Lausanne. We were able to characterize 4 out of 10 (40%) of the families. Biallelic single nucleotide variations (SNV), undetected by WES due to the low-depth coverage of the specific region, were detected in an X-linked Retinitis Pigmentosa and two autosomal recessive RD families with mutations in the NYX, DFNB31 and ACBD5 genes, respectively. The identification of a nonsense mutation in the NYX gene, responsible for congenital stationary night blindness, led to the reassessment of the clinical diagnosis. Interestingly, the WGS analytical pipeline in combination with homozygosity mapping analysis were able to identify a novel homozygous mutation in the ACBD5 gene in a maternal isodisomy case, leading to a new phenotype-genotype association. A combination of a non biallelic SNV and a structural variation was found in an additional arRD family. Affected members of this family were compound heterozygous for a missense variant and a ~56kb deletion involving exons 32 and 33 in the EYS gene. In this study, we show the power of WGS coupled with homozygosity mapping in solving recessive cases. Moreover, we demonstrate not only that WGS allows the detection of structural events, but it also has a more uniform and reliable sequencing coverage compared to WES.

[rocio.sanchez@fjd.es](mailto:rocio.sanchez@fjd.es)

### 31 PEX6- Defective Peroxisomal Biogenesis Disorder with mild phenotype in two sibs misdiagnosed as having Usher syndrome

*Aller E, Jaijo T, Fuster C, Aparisi MJ, Rodríguez A, Ayuso C, Millán JM*

Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia  
 Otros grupos: U704

Sensorineural hearing loss (SNHL) and retinitis pigmentosa (RP) are the hallmarks of Usher syndrome (USH) but are also common features in other genetic disorders like the peroxisomal biogenesis defects (PBDs). PBDs are caused by mutations in PEX genes and are multisystem disorders manifesting with craniofacial dysmorphism, hypotonicity, seizures, psychomotor retardation, skeletal, renal, hepatic, and gastrointestinal disease and retinal dystrophy and hearing impairment. Their clinical spectrum ranges from the full-blown phenotype of Zellweger syndrome (ZS), which is fatal in infancy; through the intermediates forms, adrenoleukodystrophy (NALD) and infantile Refsum disease (IRD) which have more-prolonged survival; to the mildest and recently characterized form, Hemler syndrome (HS) which has SNHL, enamel hypoplasia and nail abnormalities.

Here, we report the PBD diagnosis of two siblings suffering from SNHL and RP, initially classified as Usher syndrome.

These two sibs were referred to our hospital at the age of 4 years (the daughter) and 8 months (the son), to perform the genetic study of Usher syndrome. A custom HaloPlex NGS panel was applied to sequence the 14 genes known to be related with USH up to date. No pathologic mutation was identified after this study. Subsequently, whole exome sequencing (WES) was performed, allowing us to identify two compound heterozygous mutations in PEX6: c.2807-2A>G (p.L937fsX8) and c.1310G>A (p.G437D).

Then, we contacted the family to ask for further clinical details and a mild psychomotor retardation and nephrolithiasis were referred for the son. Nowadays, an exhaustive biochemical and clinical evaluation is being performed in these sibs to confirm the genetic diagnosis.

[elenaller@yahoo.es](mailto:elenaller@yahoo.es)

## 32 Evaluación de la toxicidad de nanocarriers para el tratamiento de la retinosis pigmentaria

*Olivares-González L, Corell P, Millán JM, Rodrigo R*

Grupo CIBERER: U755 Unidad de Genética, Hospital Universitario La Fe, Fundación para la Investigación del Hospital La Fe, Valencia

La retinosis pigmentaria es un grupo de degeneraciones retinianas de origen genético que conlleva, la pérdida progresiva de los fotorreceptores (bastones y conos). Se produce una pérdida de la visión nocturna y periférica en las primeras etapas y una pérdida de la visión central en etapas más avanzadas. La degeneración retiniana empieza con la muerte de los bastones que progresa con la muerte de los conos, probablemente debida a los cambios metabólicos (estrés oxidativo, inflamación, etc) que provoca la degeneración de los bastones. Estudios previos en ratones y pacientes muestran un aumento de mediadores inflamatorios, en especial del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que podría contribuir a la progresión de la enfermedad. El uso de anticuerpos anti-TNF- $\alpha$  en un modelo ex vivo de degeneración de retina porcina y en el modelo murino rd10 reduce la degeneración.

El objetivo de este trabajo es evaluar la toxicidad de diferentes tipos de nanopartículas (partículas mesoporosas de sílice y nanovesículas con distintos surfactantes) en células retinianas, para su posterior utilización como nanocarriers de anticuerpos anti-TNF $\alpha$ . Para ello, se realizan ensayos de toxicidad e internalización celular en células retinianas (661W), explantes de retina porcina e in vivo tras inyección intravítrea en ratones control.

Los resultados preliminares sugieren que in vitro las nanovesículas son más tóxicas (LC50=5 $\mu$ g/mL) que las nanopartículas mesoporosas de sílice (LC50=200 $\mu$ g/mL) para las células retinianas tras 24h. Sin embargo, la administración intravítrea de concentraciones elevadas de nanovesículas no parece inducir muerte celular ni inflamación a las dos semanas de la inyección en ratón control.

[lorenalivaresgonzalez@gmail.com](mailto:lorenalivaresgonzalez@gmail.com)

## Pósteres Recorrido IV. Medicina Genética

## 33 Identificación de dos mecanismos responsables de la bajada de expresión de PAX6, como posible causa de la aparición de la enfermedad de Hirschsprung.

*Torroglosa, A., Enguix-Riego M.V., Fernández, R.M., Moya-Jiménez, M.J., de Agustín, J.C., Antiñolo, G., Borrego, S.*

Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud en Sevilla, Sevilla

La enfermedad de Hirschsprung (HSCR, OMIM 142623) es una neurocristopatía que se debe a fallos en la proliferación supervivencia, migración y/o diferenciación de las células derivadas de la cresta neural, las cuales colonizan la pared del intestino durante el desarrollo embrionario del Sistema Nervioso Entérico (SNE). Este proceso requiere de una amplia y compleja variedad de moléculas y vías de señalización determinadas por la actuación de factores de transcripción específicos. Para profundizar en el conocimiento de la etiología de HSCR, se llevó a cabo un estudio de expresión de una serie de factores de transcripción en "Neurospheres-likebodies" (NLBs) procedentes de intestinos de pacientes HSCR y controles. Se observaron diferencias en CDYL, MEIS1, STAT3 y PAX6, siendo éste último el que mostró una bajada más significativa en NLBs-HSCR en comparación con NLBs-controles. Tras ensayos específicos se identificaron dos posibles mecanismos responsables de la expresión aberrante de PAX6 en HSCR. Por un lado, se mostró una sobrerrepresentación de una secuencia repetitiva en tándem (AC)m(AG)n en la región promotora de PAX6 en los pacientes HSCR, que se tradujo a una pérdida de unión de la proteína P300 afectando a la expresión de PAX6. Por otro lado, se demostró que la expresión de PAX6 es dependiente de metilación por DNMT3B, mecanismo ya descrito en HSCR. Por tanto la bajada de expresión de PAX6 podría influir en la correcta activación de las vías de señalización necesarias para el desarrollo del SNE y, junto con factores genéticos adicionales, contribuir a la manifestación del fenotipo HSCR.

[ana.torroglosa.exts@juntadeandalucia.es](mailto:ana.torroglosa.exts@juntadeandalucia.es)

### 34 Improving the management of Inherited Retinal Dystrophies by targeted sequencing of a population-specific gene panel

*Bravo-Gil N, Méndez-Vidal C, Romero-Pérez L, González-del Pozo M, Rodríguez-de la Rúa E, Dopazo J, Borrego S, Antiñolo G.*

Grupo CIBERER: U702 Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud en Sevilla, Sevilla  
 Otros grupos: U715

**Purpose:** The aim of this study was the development of an efficient next generation sequencing (NGS)-based diagnostic tool for the identification of causative mutations in a Spanish cohort with diverse Inherited Retinal Dystrophies (IRD).

**Methods:** We implemented a custom panel of 64 retinal genes and three disease-associated intronic regions for the molecular diagnosis of 32 families with a wide range of IRD. Targeted bases were captured and sequenced on the Illumina MiSeq platform. Subsequently, bioinformatics and cosegregation analyses were performed to identify causative variants.

**Results:** The mutation detection rate of this panel was 100%, with 99% of target bases covered >70x. Pathogenic mutations were found in 73% (22/30) of IRD patients ranging from 50% (4/8) for autosomal dominant cases, 75% (6/8) for syndromic cases, 83% (10/12) for autosomal recessive cases, and 100% (2/2) for X-linked cases. Two cases unsuccessfully studied by exome sequencing were resolved by applying this panel. Moreover, the phenotype and genotype were not in full agreement in 6 probands, which led to the refinement of clinical diagnoses. Furthermore, intra- and interfamilial phenotypic variability was also observed in two cases, respectively.

**Conclusions:** To our knowledge, this is the first study to apply a population-specific panel to seek for causative mutations in a cohort of unselected patients of IRD. Our results demonstrate that this approach is highly efficient for the diagnosis of this heterogeneous hereditary condition. The molecular information found in this study has aid clinical diagnosis in some cases, and has improved family counseling and patient management in others.

[crisrina.mendez.exts@juntadeandalucia.es](mailto:crisrina.mendez.exts@juntadeandalucia.es)

### 35 NGS: Identificación de una nueva mutación en el gen LTBP2 responsable de Ectopia Lentis Aislada.

*Alías L, Crespi J, Bernal S, González-Quereda L, Gallano P, Baiget M.*

Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

**Introducción:** La ectopia lentis es una enfermedad rara caracterizada por presentar de forma bilateral cristalinos de tamaño más pequeño y más esféricos que los normales (microesferofoquia). La subluxación del cristalino puede conllevar defectos refractivos, glaucoma por bloqueo pupilar y pérdida de visión. Aunque en general se asocia a síndromes sistémicos (Marfan, Weill-Marchesani y homocistinuria), también está descrita la forma aislada (IEL) de herencia autosómica recesiva, caracterizada por una elevada variabilidad fenotípica y con heterogeneidad genética (ADAMTSL4, FBN1, LTBP2, ADAMTSL-10 y ADAMTSL17). **Material:** Familia formada por dos hermanos afectados de IEL sin megalocornea y de padres consanguíneos. **Métodos:** 1) Secuenciación masiva (NGS) mediante paneles TruSight One (Illumina) de los pacientes. 2) Validación de los resultados obtenidos por NGS mediante secuenciación por método Sanger. 3) Confirmación de un origen común de la mutación detectada en el gen LTBP2 por homocigosidad mediante los marcadores polimórficos D14S43 y D14S999. **Resultados:** Identificación mediante NGS de diversas variantes genéticas, de las cuales la única detectada con carácter patogénico consiste en la inserción de una adenina en el exón 36 del gen LTBP2 (c.5439\_5440insA). El estudio familiar con marcadores confirma un haplotipo común asociado a esta mutación no descrita hasta el momento. **Conclusión:** El gen LTBP2 ha sido descrito previamente en familias no-europeas como causante de IEL asociado a megalocornea o glaucoma congénito (OMIM 251750). Mediante técnicas de NGS hemos identificado una nueva mutación en LTBP2 que confiere una variante fenotípica diferente al síndrome asociado hasta ahora: IEL sin megalocornea ni glaucoma congénito.

[lalias@santpau.cat](mailto:lalias@santpau.cat)

### 36 **Análisis molecular de Miopatías Congénitas mediante un panel predeterminado: La importancia de elegir la herramienta adecuada.**

*Gonzalez-Quereda L, Rodriguez MJ, Baena M, Lasa A, Baiget M, Gallano P.*

Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

Las miopatías congénitas (MC) y los síndromes Miasténicos Congénitos (SMC) son un grupo heterogéneo de enfermedades neuromusculares con un patrón de herencia variable, que presentan hipotonía y debilidad desde el nacimiento.

**Teniendo en cuenta:** 1) La alta heterogeneidad genética, 2) El complejo diagnóstico diferencial respecto a otras miopatías y, 3) El elevado número de genes responsables, decidimos testar el panel predeterminado "Trusight One" (Illumina), para valorar si los genes específicos asociados a patología neuromuscular quedaban suficientemente bien cubiertos como para justificar su utilización en diagnóstico clínico.

**Métodos:** Secuenciación de los exones de 4813 genes contenidos en Trusight One en las muestras de ADN de 17 pacientes con sospecha clínica de Miopatía Congénita en un secuenciador MiSeq (Illumina). El análisis de los datos se realizó mediante Variant Studio (Illumina).

**Resultados:** De las 17 muestras estudiadas, 4 de ellas alcanzaron un diagnóstico genético definitivo. En tres muestras se identificaron variantes genéticas candidatas, actualmente en proceso de confirmación mediante secuenciación Sanger. Las 10 muestras restantes continúan en estudio dado que mostraron diversas regiones de genes candidatos con baja o nula cobertura.

**Conclusiones:** La cobertura de los genes de interés en patología neuromuscular es altamente variable y dependiente de cada muestra. Esto conlleva que a menudo los resultados obtenidos mediante Trusight One no sean concluyentes. Para superar este inconveniente tecnológico, estamos diseñando un panel dirigido exclusivamente a los genes asociados con patología neuromuscular. Con ello esperamos obtener coberturas más altas mejorando así el diagnóstico molecular de estas patologías.

[lgonzalezq@santpau.cat](mailto:lgonzalezq@santpau.cat)

### 37 **Soluciones bioinformáticas para diagnóstico mediante paneles y descubrimiento de nuevas variantes de enfermedad.**

*Alemán, A., Salavert, F., García-García, F., Dopazo, J.*

Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia

Para apoyar los proyectos de secuenciación del CIBERER se han desarrollado desde el BiER sistemas para ayuda al descubrimiento de nuevas variantes de enfermedad.

El BiERapp (<http://bierapp.babelomics.org>) es una herramienta para el análisis de secuencias genómicas o exómicas tanto individuales como de familias o casos/controles.

BiERapp permite la aplicación interactiva de filtrado heurístico para descartar variantes incompatibles con la enfermedad.

Presentamos, además, la herramienta CIBERER Spanish Variant Server. EL CSVS es una base de datos de frecuencias de variantes españolas (<http://csvs.babelomics.org>). Actualmente el CSVS consta de en la actualidad con 578 individuos, de los cuales forman parte 267 controles sanos del proyecto MGP y un creciente número de datos de los proyectos de secuenciación del CIBERER, así como datos de individuos del proyecto de los 1000G de origen español.

Finalmente, se describe TEAM (<http://team.babelomics.org>), un software específico para el diseño de paneles de genes para diagnóstico por NGS que reporta los hallazgos diagnósticos y opcionalmente también hallazgos inesperados y variantes de efecto incierto.



Otras herramientas desarrolladas en el grupo son:

- CellMaps (<http://cellmaps.babelomics.org>)
- Babelomics (<http://babelomics.org>)
- GenomeMaps (<http://genomemaps.org>)

[aaleman@cipf.es](mailto:aaleman@cipf.es)

## 38 Estudio de la mitofagia en fibroblastos de pacientes de Lafora

*Aguado, C., Lahuerta, M., Sanchez-Martin, P., Sanz, P., Knecht, E.*

Grupo CIBERER: U721 Laboratorio de Degradación Intracelular de Proteínas y Enfermedades Raras, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia  
 Otros grupos: U-742, U-733

La enfermedad de Lafora (LD) es una epilepsia mioclónica progresiva asociada mayoritariamente a mutaciones en uno de dos genes, EPM2A y EPM2B, que codifican laforina y malina, respectivamente. Anteriormente demostramos que la autofagia está disminuida en los diferentes modelos de la enfermedad. Además, en estos modelos también existe una alteración de la morfología mitocondrial y un mayor estrés oxidativo con aumento en la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y agravado por una disminución en la respuesta de enzimas antioxidantes a este estrés.

La mitofagia es el proceso por el que las mitocondrias dañadas son degradadas de forma selectiva, principalmente a través de la vía de ubiquitinilación mitocondrial por PINK1-PARQUINA. Además, varias enfermedades neurodegenerativas cursan con defectos en la mitofagia. Por eso, investigamos una posible alteración en la mitofagia en los modelos de Lafora. Hemos utilizado fibroblastos humanos procedentes de pacientes de LD y diferentes aproximaciones, tales como analizar, en presencia o no del desacoplante mitocondrial FCCP, los niveles de LC3-II por Western-blot, la colocalización por fluorescencia de mitocondrias y lisosomas y la cuantificación de la degradación mitocondrial por citometría de flujo con MitoTracker Red®. Todos los resultados muestran una menor degradación de mitocondrias en los fibroblastos procedente de los pacientes deficientes tanto en malina como laforina.

**Conclusión:** En LD, la degradación mitocondrial por autofagia está disminuida, lo que contribuye a la acumulación de mitocondrias dañadas y aumento de los niveles de ROS descritos. Por tanto, nuestros resultados apoyan, de nuevo, la importancia de una autofagia defectuosa en LD.

[caguado@cipf.es](mailto:caguado@cipf.es)

## 39 Targeting TDP-43 phosphorylation by Casein Kinase-1 inhibitors: a novel strategy for the treatment of frontotemporal dementia

*Alquézar C, Salado IG, de la Encarnación A, Pérez DI, Moreno F, Gil C, González-Manchón C, Porras G, López de Munain A, Martínez A, and Martín-Requero A*

Grupo CIBERER: U734 Fisiopatología de trastornos hemostáticos; Bases celulares y moleculares de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid  
 Otros grupos: de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED)

Mutations in the progranulin gene (GRN) are the most common cause of frontotemporal lobar degeneration with TDP-43 inclusions (FTLD-TDP), but little is known about the relationship between TDP-43 inclusions and neuronal loss in FTLD-TDP and other TDP-43 proteinopathies. One of the principal hallmarks of TDP-43 inclusions is the hyperphosphorylation of the protein at Serine 409/410. Casein kinase-1d (CK-1d) was the first enzyme reported to phosphorylate TDP-43 directly. The goal of this work has been to elucidate the effects of CK-1d inhibitors on viability of lymphoblast from FTLD-TDP patients carriers of the c.709-1G>A GRN mutation. Work in our laboratory revealed the presence of CDK6/pRb-dependent cell cycle alterations, and cytosolic accumulation of TDP-43 in these progranulin deficient cells. We investigated the effects of two brain penetrant CK-1d inhibitors, N-(benzothiazolyl)-2-phenyl-acetamides derivatives (IGS-2.7 and IGS-3.27) designed and synthesized in our laboratory. Here we report that both compounds normalized the proliferative activity of PGRN-deficient lymphoblasts by preventing the phosphorylation of TDP-43, its nucleo-cyto-

sol translocation and the overactivation of the CDK6/pRb cascade. Moreover, our results show neuroprotective effects of CK-1d inhibitors in a neuronal cell model of induced TDP-43 phosphorylation. It is suggested that modulating CK-1d activity could be considered a novel therapeutic approach for the treatment of FTLD-TDP and other TDP-43 proteinopathies such as amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Generally, CK-1d inhibitors and more specifically IGS-2.7 and IGS-3.27, can be considered good drug candidates for the future treatment of diseases mediated by TDP-43.

[amrequero@cib.csic.es](mailto:amrequero@cib.csic.es)

## 40 Obtención y caracterización de células madre inducidas de origen murino como sistema modelo de enfermedad de Lafora

*León, M., Torres, J., Aguado, C., Esmorís, I., García-Gimenez, J.L., García-Gimeno, M.A., Lahuerta, M., Romá-Mateo, C., Knecht, E., Pallardó, F.V., Sanz, P.*

Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia  
Otros grupos: U-721 y U-733

La enfermedad de Lafora (LD) es una enfermedad rara caracterizada por neurodegeneración, epilepsia y acumulación de poliglucosanos insolubles en diferentes tejidos, denominados cuerpos de Lafora. En la gran mayoría de los casos, LD está causada por mutaciones en los genes EPM2A o EPM2B, que codifican las proteínas Laforina (fosfatasa de especificidad dual) y Malina (E3 ubiquitina ligasa), respectivamente. El estudio de las bases fisiopatológicas de la enfermedad se ha realizado desde muy distintos enfoques, utilizando diversos modelos de la enfermedad. Sin embargo, hasta ahora no se había abordado su estudio mediante la obtención de células madre pluripotentes inducidas (iPC, del inglés induced-Pluripotent Stem Cells) y su diferenciación a neuronas, principales células afectadas en la enfermedad y cuya degeneración conduce finalmente a la muerte de los pacientes.

En este trabajo, se ha iniciado la obtención y caracterización de iPCs a partir de fibroblastos embrionarios derivados de ratones *Epm2b*<sup>-/-</sup>. Los fibroblastos se reprogramaron mediante transducción con virus que contienen los genes que codifican para los 4 factores de Yamanaka (Oct4/Klf4/Sox2/cMyc). A partir de los clones reprogramados, se procedió a su diferenciación a células neuronales mediante la formación de cuerpos embrioides en suspensión y estimulación con ácido retinoico. En estos momentos estamos procediendo a una completa caracterización de las mismas para comprobar si constituyen un buen modelo de la enfermedad, lo que permitiría el abordaje in vitro del estudio de las bases moleculares subyacentes a la enfermedad. Este trabajo supone un primer paso para su posterior traslación a muestras derivadas de pacientes.

[agarcia@ibv.csic.es](mailto:agarcia@ibv.csic.es)

## 41 Astrocytic glutamate uptake is decreased in Lafora disease due to a change in GLT-1 cellular localization

*Muñoz-Ballester, C., Berthier, A., Viana, R., Sanz, P.*

Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia

Lafora disease (LD) is a fatal autosomal neurological disorder caused by mutations in EPM2A, encoding laforin, or EPM2B, encoding malin. LD is characterized by neurodegeneration, epilepsy and the accumulation of insoluble and poorly-branched polyglucosans in brain and other peripheral tissues. Recent years have witnessed progress with respect to our understanding of the disease. However, the molecular basis underlying epilepsy are still poorly understood. Astrocytes are the most abundant cells in the CNS that fulfill a wide range of other homeostasis maintaining functions. In the last two decades, the relevance of astrocytes in different neurological disorders, including epilepsy, has been repeatedly demonstrated.

In this work we present evidence indicating that the homeostasis of glutamate transporter GLT-1 (EAAT2), which is in charge of removing up to 90% of the extracellular glutamate in excitatory glutamatergic synapses, is compromised in LD primary astrocytes. Our results indicate that these primary astrocytes have reduced capacity of glutamate transport. We also observed that the presence of GLT-1 at the plasma membrane is reduced in LD primary astrocytes. On the other hand, the overexpression of laforin and malin results in an accumulation of GLT-1 at the plasma membrane and in a reduction of

the ubiquitination of the transporter. Taking all these results together we suggest that the laforin/malin complex slows down the endocytic recycling of the GLT-1. Since, defects in the function of this transporter lead to excitotoxicity and epilepsy, we suggest that the epilepsy that accompanies LD could be due to deficiencies in the function of the GLT-1.

[cmunoz@ibv.csic.es](mailto:cmunoz@ibv.csic.es)

## 42 Disparity in onset of Lafora disease within the same family and detection at early stages of the disease mutation

*Guerrero-López, R Sánchez-Martín G, Díaz E, Ruggiero M, Giráldez BG, Serratos José M*

Grupo CIBERER: U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid

**INTRODUCTION:** Lafora Disease (LD) is an autosomal recessive form of progressive myoclonus epilepsy characterized by intractable generalized seizures, typically with an adolescent onset and rapid progressive neurological deterioration. Mutations in two genes, EPM2A and EPM2B, cause LD. We report the clinical and genetic findings of 2 brothers with LD with an 8-year difference in the age at onset, and late onset and mild symptomatic stage at 27 years in one.

**METHODS:** Clinical examination, EEGs and a skin biopsy were obtained in both sibs. EPM2A and EPM2B were analyzed by Sanger sequencing in patients and parents.

**RESULTS:** Onset was at ages 17 and 25 years with a GTC seizure. The elder brother, now 30-year-old, progressed to a stage with frequent seizures and severe psychomotor deterioration. The younger brother has a late onset LD, a single GTC seizure and a single episode of upper limb myoclonic jerks at age 25 years. He is now 27-year-old and has no neurological deterioration. His EEG shows frequent periods of slow background activity at 4-6 Hz and rare bursts of slow waves intermixed with random spikes. Axillary skin biopsy showed typical Lafora bodies. Genetic analysis revealed two mutations in EPM2A (p.Gly279Ser and a novel p.Gln55X) in both patients.

**CONCLUSION:** We report a LD family with two affected sibs with a significant disparity in the age at onset and a late onset and mild phenotype in one. The detection of mildly symptomatic or even presymptomatic stages could be of major importance for the early implementation of preventive therapies.

[rguerrero@fjd.es](mailto:rguerrero@fjd.es)

## 43 Functional assessment of a rare FXII polymorphism as a disease-modifier in Hereditary Angioedema

*López-Lera, A López-Trascasa, M*

Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

Hereditary Angioedema (HAE) is a rare, autosomal dominant disease caused by episodic, uncontrolled contact system (CS) activation manifesting as edema flares. HAE due to SERPING1 homozygous-deficiency is extremely rare (3 families described worldwide). Those affected develop an unusual form of HAE inherited in an autosomal recessive manner. In search of disease-modifier genes on the basis for this rare condition, we conducted whole exome sequencing in a recessive HAE pedigree with two SERPING1 homozygous-deficient siblings. The low-frequency polymorphism A207P in the CS activator FXII was found in homozygosis in all the pedigree members. This variant modifies an EGF-like domain of FXII which may be implicated in FXII recognition of activating surfaces. Wild-type and 207P-FXII were cloned in a pcDNA6A-V5/His vector, transiently expressed in HEK293 cells and purified by IMAC. CS activation assays were prepared by incubating recombinant protein/plasma samples with FXII activators kallikrein and dextran sulphate, and measuring activated FXII (FXIIa) by western blot and by specific FXIIa cleavage of the chromogenic substrate S-2302. Wild type and 207P-FXII constructs demonstrated normal cleavage susceptibility by kallikrein as ascertained in western blot, confirming reactive site functionality. End-point S-2302 cleavage upon dextran sulphate incubation was very similar in both constructs (WT:69.9AU vs. 207Pro: 73.3AU) and similar absorbance curves were obtained for time-dependant FXII activation. Despite higher plasma-FXII activability in HAE vs. controls, 207P+/+ vs.

207P+/- and in symptomatic vs. asymptomatic 207P+/+ individuals, all in agreement with CS-driven angioedema in the pedigree, our results demonstrate that it is not significantly affected by the A207P-FXII polymorphism.

[alberole@gmail.com](mailto:alberole@gmail.com)

#### 44 Autoanticuerpos y deficiencias de la vía alternativa del Complemento en el Lupus Eritematoso Sistémico. Comparación con SHUa y C3G.

Nozal, P; Segovia, S; Garrido, S; López Trascasa, M; Sánchez-Corral, P.

Grupo CIBERER: U754 Diagnóstico y caracterización de alteraciones del sistema del complemento, Unidad de Inmunología y Unidad de Investigación. Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid

En el Síndrome Hemolítico Urémico atípico (SHUa) y en las glomerulopatías C3 (C3G) existe una desregulación de la vía alternativa (VA) del Complemento que puede ser genética o estar causada por autoanticuerpos. Más del 80% de los pacientes SHUa con autoanticuerpos frente a factor H (anti-fH) tienen deficiencia de las proteínas homólogas FHR-1 y FHR-3, y esta deficiencia es un factor de predisposición al Lupus Eritematoso Sistémico (LES), enfermedad mucho más prevalente y con un claro componente autoinmune. Hemos reunido una cohorte de LES española que actualmente incluye muestras de plasma de 110 pacientes en las que hemos analizado: a) presencia de autoanticuerpos frente a fH y otras proteínas de la VA del Complemento (mediante E.L.I.S.A); b) deficiencia FHR-1 FHR-3 (mediante Western-blot).

Hemos observado que un 20-25% de los pacientes LES y C3G tienen autoanticuerpos anti-C3, anti-fI, anti-fB y/o anti-Propertina, mientras que en los pacientes SHUa este porcentaje es del 6-11%. Por otro lado, la frecuencia de autoanticuerpos anti-fH y la frecuencia de la deficiencia FHR-1 FHR-3 en pacientes LES son muy similares a las observadas en SHUa, pero en los pacientes LES y C3G estas 2 situaciones no están asociadas. Finalmente, algunos pacientes LES tienen deficiencia de otras proteínas FHRs que también se han observado en pacientes SHUa. Nuestros resultados sugieren que determinados autoanticuerpos o deficiencias del Complemento pueden contribuir al desarrollo de algunas manifestaciones en el LES mediante mecanismos patogénicos solapantes con SHUa y C3G.

[pilar.nozal@salud.madrid.org](mailto:pilar.nozal@salud.madrid.org)

### Recorrido V Inestabilidad Genética, Cáncer Hereditario, Enfermedades Dermatológicas y Endocrinas

#### 45 Novel in vivo biomarkers of DNA damage and bone marrow failure in Fanconi anemia mouse models

Ramírez, MJ, Casado, J.A. Díez, B, Bueren, J.A. and Surrallés J

Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona  
Otros grupos: U710

The only current curative treatment of bone marrow failure (BMF) and leukemias in Fanconi anemia (FA) patients is hematopoietic stem cell transplantation, which has markedly improved in the last years, but also has important drawbacks. In addition, the management of solid tumors in FA patients is extremely difficult due to lack of prevention strategies and the high sensitivity of FA patients to conventional chemo/radiotherapy. In order to find novel drugs that may prevent or delay BMF and cancer in FA patients, FA mouse models constitute invaluable tools for drug screening. The main limitation of Fanca<sup>-/-</sup> mice is the lack of easy-to-measure in vivo biomarkers of BMF and chromosome fragility. The aim of this study is to discover novel biomarkers of DNA damage and bone marrow failure in FA mice. We investigate the use of a flow cytometry micronucleus assay in 100ul of peripheral blood from the tail of Fanca<sup>-/-</sup> mice as a tool to investigate erythropoiesis and DNA damage in hematopoietic cells in vivo. The assay was validated in mice exposed to ionizing radiation and then apply to Fanca<sup>-/-</sup> mice. Our data showed a marked decrease in the % of reticulocytes in Fanca<sup>-/-</sup> mice as compared to age-matched controls, suggesting an in vivo erythropoiesis failure in Fanca<sup>-/-</sup> mice. We found that untreated Fanca<sup>-/-</sup> mice were characterized by a significant increase of MN in both

reticulocytes and mature erythrocytes compared to WT mice, reflecting acute and chronic genome instability in bone marrow progenitor cells. In conclusion, the in vivo MN assay described in this study efficiently detects bone marrow chromosome fragility and erythropoietic defects in Fanca<sup>-/-</sup> mice. These biomarkers can be used for the in vivo testing of candidate drugs capable of ameliorating FA associated chromosome instability that may minimize cancer risks and bone marrow failure in FA patients

[mariajose.ramirez@uab.es](mailto:mariajose.ramirez@uab.es)

## 46 An example of how mutational analysis can save the life of a Fanconi anemia patient

*Pujol R, Carrasco E, Díez O, Balmaña J, and Surrallés J*

Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

Female patient born with low weight, flat thenar eminence and skin hyperpigmentation. She was adopted and there is no information about the biological parents. Some learning disabilities were observed during infancy. Her blood counts were normal but she was followed by a hematologist due to macrocytosis of unknown origin. At the age of 33 (June 2013) she was diagnosed of invasive ductal cancer in the right breast (T2N0M0). She presented with a severe and durable pancytopenia after the first course of chemotherapy (epirubicin and cyclophosphamide). Right breast mastectomy was performed. Fanconi anemia (FA) was suspected and confirmed by a positive chromosome fragility DEB-test with a clear indication of mosaicism (32% aberrant cells, 9/50 cells with multiradial chromosomes). Whole exome sequencing of peripheral blood DNA uncovered two variants in the BRCA2/FANCD1 gene that were then confirmed by Sanger sequencing. The first variant (c.1813\_1814insA, p.Pro606Trefs\*10) was a clear pathogenic frame shift mutation in exon 10 leading to premature termination. This mutation was previously described in FA-D1 patients (Wagner et al, Blood 2004) and in familiar breast cancer patients (Breast Cancer Information Core database (BRIC)). The second mutation was a missense (c.7796A>G, p.Glu2599Gly) variant of unknown significance, never reported but potentially damaging according to in silico predictions. Lack of homologous recombination repair was then demonstrated in the patient's skin fibroblasts as they were unable to form MMC-induced Rad51 foci, suggesting that both BRCA2 alleles are not functional. Prophylactic mastectomy of the left breast was recommended and performed in Oct 2014 followed breast reconstruction. Even that the left breast was echographically and radiographically normal before mastectomy, a small but highly aggressive in situ ductal carcinoma was detected in the post-surgery histopathological analysis.

[mariaroser.pujol@uab.es](mailto:mariaroser.pujol@uab.es)

## 47 Reduced DNA methylation of FKBP5 in Cushing's syndrome, implications for glucocorticoid resistance

*Resmini E, Santos A, Aulinas A, Webb SM, Vives-Gilabert Y, Cox O, Wand G and Lee R*

Grupo CIBERER: U747 Enfermedades de la hipófisis. Depto Medicina. Servicio de Endocrinología, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

**Context:** FKBP5 gene encodes a chaperone protein that regulates intracellular glucocorticoid receptor (GR) sensitivity. When it is bound to the GR complex, cortisol binds with lower affinity to GR. Cushing's syndrome (CS), is associated with memory deficits, smaller hippocampal volumes (HV), and wide range of cognitive impairments. Objective: To evaluate blood DNA methylation of FKBP5 and its relationship with memory and HV in CS patients.

**Patients and Methods:** 32 CS patients and 32 matched controls underwent memory tests, 3Tesla-MRI of the brain, and DNA extraction from total leukocytes in a cross-sectional study. DNA samples were bisulfite treated, PCR amplified, and pyrosequenced to assess a total of 41 CpG-dinucleotides in the introns 1, 2, 5, and 7 of FKBP5.

**Results:** Significantly lower intronic FKBP5 DNA methylation in CS patients compared to controls was observed in ten CpG-dinucleotides. DNA methylation at these CpGs correlated with left and right HV (Intron-2-Region-2-CpG-3: LHV,  $r=0.73$ ,  $p=0.02$ ; RHV,  $r=0.58$ ,  $p=0.03$ ), verbal (Intron-2-Region-2-CpG-3,  $r=0.53$ ,  $p=0.01$ ) and visual memory (Intron-2-Region-4-CpG-3: delayed  $r=0.56$ ,  $p=0.01$ ; immediate  $r=0.53$ ,  $p=0.01$ ). Cured and active CS patients showed both lower methylation of intron 2 (92.37%, 91.8% and 93.34% respectively,  $p=0.03$  for both) and of intron 7 (77.08%, 73.74% and 79.71% respectively,  $p=0.02$  and  $p<0.01$ ) than controls.

**Conclusion:** Association between methylation and brain impairments was subtle and less than what we had hypothesized. However, we suggest for the first time that lower methylation in intron 2 and intron 7, with subsequently higher FKBP5 expression levels, may play a role in GC resistance of Cushing's patients.

[eresmini@santpau.cat](mailto:eresmini@santpau.cat)

## 48 Comparison of different algorithms applied to high-throughput data for identifying prognostic markers using PPGL as a model.

*Inglada-Pérez L., Torres R., Calsina B., Currás-Freixes M., Mancikova V., Letón R., Cascón A. and Robledo M.*

Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid

Pheochromocytoma and paraganglioma (PPGL) are rare neuroendocrine tumors that arise from the adrenal medulla and paraganglial system, respectively. Extensive clinical and genetic characterization over the last 25 years has greatly improved our knowledge about the genetic basis underlying PPGLs. However, lack reliable markers for metastatic disease complicate the clinical management of PPGL patients. In previous studies we demonstrated by using whole-genome DNA methylation profiling data that hypermethylation of specific genes could be used for stratifying patients according to risk of developing metastasis (de Cubas et al CCR 2015).

In this study, we explored microRNA profiling in 3 well-characterized cohorts of PPGLs, two based on miRNA-seq and one on arrays, in order to identify metastatic related markers. These series were composed of 174, 132 and 92 patients, including 13, 19 and 19% of metastatic patients respectively.

While microRNA profiles based on arrays were analyzed by standard methods, no standard pipeline analysis has still been established for miRNA-Seq read count data. Thus, we evaluated several procedures for miRNA-Seq read count data, including EdgeR, and DESeq2 among others. The biological function of those common markers among the different series and methods will be studied in order to narrow down the list of candidates to validate.

**REFERENCES:** *DNA Methylation Profiling in Pheochromocytoma and Paraganglioma Reveals Diagnostic and Prognostic Markers.* de Cubas AA, Korpershoek E, Inglada-Pérez L, Letouzé E, Currás-Freixes M, Fernández AF, Comino-Méndez I, Schiavi F, Mancikova V, Eisenhofer G, Mannelli M, Opocher G, Timmers H, Beuschlein F, de Krijger R, Cascon A, Rodríguez-Antona C, Fraga MF, Favier J, Gimenez-Roqueplo AP, Robledo M. *Clin Cancer Res.* 2015 Jul 1;21(13):3020-30. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2804. Epub 2015 Mar 30

[linglada@cnio.es](mailto:linglada@cnio.es)

## 49 Análisis de CNVs en linfomas B difusos de célula grande: descripción de alteraciones genéticas y correlación con respuesta.

*Cruz,R.; Celeiro, C.; Quintela, I; Fraga, M.; Forteza, J.; Bello, J.L.;Carracedo, Á.*

Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña

El linfoma difuso de célula grande B (LBDCG) es una neoplasia agresiva de crecimiento rápido con una incidencia anual de 25.000 casos (aproximadamente el 40% de los linfomas no Hodgkin). Los LBDCG presentan heterogeneidad en su evolución clínica y molecular. Aproximadamente el 40% de los pacientes responden a la terapia y tienen una supervivencia prolongada, el resto mueren por la enfermedad.

En el presente trabajo se pretende profundizar en el conocimiento de las alteraciones genómicas determinadas por OncoScan FFPE array de Affymetrix en pacientes con diagnóstico de LDCGB de tipo no especificado y estudiar su relación con la capacidad de respuesta al tratamiento.

Se reclutaron 59 pacientes y se analizó la existencia de diferencias en la pérdida o ganancia de brazos cromosómicos y en las características de las CNVs (número, tamaño medio, máximo y total afectado) entre respondedores (N=42) y no respondedores (N=17). Adicionalmente se exploró la diferenciación entre fenotipos extremos (buena y mala respuesta extrema).

El análisis mostró un mayor número de CNV-loss en los cromosomas 3, 8 y 14 en los individuos que no responden al tratamiento y mayor magnitud de las CNV-gains en los cromosomas 11 y 19 en los individuos respondedores. El análisis de fenotipos extremos confirmó la importancia de las ganancias en el cromosoma 19 y mostró una zona del cromosoma 17 (p13.2-p12) con graves pérdidas en los individuos no respondedores, ausente en los individuos de respuesta óptima. Estos hallazgos podrían ser importantes para identificar biomarcadores que seleccionen a los pacientes no respondedores.

[raquel.cruz@usc.es](mailto:raquel.cruz@usc.es)

## 50 CNVs raras en línea germinal en pacientes jóvenes con sospecha de cáncer colorrectal hereditario

*Brea-Fernandez, AJ; Fernandez-Rozadilla, C; Alvarez-Barona, M; Azuara, D; Ginesta, M M; Clofent, J; de Castro, L; Gonzalez, D; Andreu, M; Bessa, X; Llor, X; Xicola, R; Jover, R; Castells, A; Capella, G; Castellvi-Bel, S; Carracedo, A; Ruiz-Ponte, C*

Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias más frecuente en los países desarrollados. Aproximadamente, el 10% de los casos de CCR se producen en individuos <50 años. Sin embargo, aunque este subgrupo de pacientes probablemente presente una predisposición hereditaria al CCR, en la mayoría de los casos no se han identificado mutaciones germinales en los genes Mendelianos conocidos.

Estudios en gemelos estimaron la heredabilidad del CCR en un 35%. No obstante, la contribución de mutaciones de alta penetrancia responsables de los síndromes mendelianos de predisposición al CCR hereditario junto con las variantes de baja penetrancia identificadas por Genome-Wide Association Studies (GWAS) es de ~6-12%. Se postula que parte de esta "heredabilidad perdida" podría ser explicada por variantes raras de moderada penetrancia o por variaciones estructurales que afectarían al número de copia (Copy Number Variants, CNVs) y alterarían la expresión de genes críticos en el desarrollo de enfermedades.

En este estudio se analizaron 27 pacientes diagnosticados de CCR <50 años sin alteración del sistema MMR ni mutaciones germinales en los genes Mendelianos. La búsqueda de CNVs germinales raras mediante el Array Affymetrix 6.0 resultó en la identificación de 2 CNVs en 2 pacientes, en los genes AK3 y SLIT2, respectivamente. Tras descartar una posible herencia recesiva, la búsqueda del segundo evento mutacional en los respectivos tumores mostró la pérdida de heterocigosidad en AK3 y la hipermetilación del promotor en SLIT2. Estos hallazgos sugieren que ambos genes pueden ser potenciales candidatos implicados en la susceptibilidad hereditaria al CCR.

[a.brea@usc.es](mailto:a.brea@usc.es)

## 51 Evaluación de la herramienta ExomeDepth en la detección de grandes reordenamientos (LGRs) en cáncer de mama/ovario hereditarios (CMOH)

*Marta Santamariña, Sandra Filippini, Ana Blanco, Belinda Rodríguez-Lage, Jorge Amigo, Ángel Carracedo, Ana Vega.*

Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña

**INTRODUCCIÓN:** La herramienta informática ExomeDepth (Plagnol et al 2012), fue desarrollada para la asignación de LGRs en estudios de exomas, en la búsqueda de variantes causales en enfermedades mendelianas. ExomeDepth utiliza datos de cobertura de los reads de exoma o targeted sequencing para la asignación de LGRs. ExomeDepth selecciona progresivamente como referencia aquellas muestras individuales que tienen la mayor correlación con la muestra de ensayo. Se basa en un modelo beta-binomial, requiriendo una cobertura relativa de la muestra normalmente distribuida en torno a aquella cobertura esperada para la misma.

El objetivo de este trabajo es evaluar la incorporación de la herramienta ExomeDepth a partir de datos NGS en el diagnóstico del CMOH.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Se secuenciaron los genes BRCA1 y BRCA2 en 62 muestras de familias CMOH en la plataforma SOLiD 5500xl™. Esos resultados se analizaron con ExomeDepth y se compararon con los resultados de MLPA, arrays de SNPs y secuenciación, en su caso.

**RESULTADOS:** En seis de las 62 muestras secuenciadas ExomeDepth detectó diferencias en la profundidad de cobertura. Tres de estas alteraciones comprendían a más de un exón y estos resultados se confirmaron con MLPA. Las otras tres alteraciones, de un único exón, fueron falsos positivos.

**CONCLUSIÓN:** ExomeDepth identificó diferencias en la profundidad de cobertura en el 19,35% de los casos (6/62). En tres muestras (25%) los resultados fueron confirmados por MLPA. La utilización de ExomeDepth como método de screening reduce significativamente el número de muestras a confirmar por otras tecnologías.

[santamarinapena@gmail.com](mailto:santamarinapena@gmail.com)

## 52 Down-regulation of FBXW7 isoforms is a main event in T-cell lymphoblastic lymphoma

Vázquez I, González-Sánchez L, López-Nieva P, Villa-Morales M, Cobos MA, Roncero AM, de Arriba MC and Fernández-Piqueras J.

Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

FBXW7 functions as cell cycle regulator acting through the degradation of its target oncoproteins as NOTCH1. Notably, the oncogenic potential of its substrates and mutations identified this gene as a key tumour suppressor gene in many types of cancers, including T-LBLs. Additionally, it has been demonstrated that FBXW7 encodes three isoforms ( $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$ ), containing isoform-specific domains at the N-terminus, and display distinct cellular localization patterns. Consistent with that complexity, evaluating the role of FBXW7 in any tumour type would require a profound analysis that should consider the mutational spectrum, the levels of expression and the mechanisms governing its expression and protein stability.

We have performed a comprehensive analysis of FBXW7 in T-LBLs samples including massive mutational and expression analyses. Mutational screening revealed that this gene is not mutated in any sample, but RNA-Seq and gene expression arrays showed that FBXW7 mRNA level is significantly down-regulated in a fraction of T-LBLs due mainly to reductions of  $\beta$  isoform. In silico searching identified several differential-methylated regions (DMRs), including a CpG-island, in T-LBLs and cell lines derived from T-LBL/T-ALL that might be influencing the levels of expression of the different isoforms. Furthermore, massive RNA-sequencing of microRNAs led us to identify a pool of up-regulated microRNAs with relevant effects on FBXW7 expression and on the growth and viability of selected cell lines.

In conclusion, we proposed that both epigenetic hypermethylation of key regulatory sequences and up-regulation of multiple microRNAs regulate the FBXW7 expression therefore contributing to T-LBL development.

[lgonzalez@cbm.csic.es](mailto:lgonzalez@cbm.csic.es)

## 53 Development of a new therapeutic strategy in T lymphoblastic lymphomas based on the vulnerability created by passenger genes in common 9p21 deletions

González-Sánchez L, Villa-Morales M, López-Nieva P, Cobos MA, de Arriba MC, Cuezva JM, Garesse R and Fernández-Piqueras J.

Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

The central challenge in anticancer therapy is to kill tumour cells without harming other cells in the body. Most anticancer strategies have been focused on driver mutations. However treatments against activating mutations in key oncogenes or to replace inactive tumour suppressor genes have been largely ineffective. An alternative approach is



to take advantage of the vulnerabilities created by passenger genes that are exclusively altered in the cancer cells. CGH-array analyses in T-LBLs samples allowed us to identify very frequent 9p21 deletions involving ACO1, a passenger gene that encodes a cytoplasm protein with dual function whose deficiency can be compensated by the other members of the family (ACO2/ACO3). Then, we carried out induced-cell-death in vitro assays using specific ACO2 inhibitors in cell lines exhibiting different levels of ACO1 expression. Results revealed that fluorocitrate is capable of inducing significant cell death in SUP-T1 (cell line with almost inexistent ACO1) but not in other cell lines with ACO1 using the same concentrations. Due to the residual ACO1 protein level in SUP-T1, we also generate a new cell line with complete absence of ACO1 expression by using a CRIPR/Cas9 system in order to reproduce homozygous deletions observed in some tumours. In vivo assays in xenotransplanted nude mice are also on-going.

If our in vivo assays yield the desired results, fluorocitrate will be recommended as a new orphan drug to treat T-LBLs exhibiting ACO1 deletion but normal ACO2/ACO3 expression. This strategy could be extended to many other types of tumour with similar characteristics.

[lgonzalez@cbm.csic.es](mailto:lgonzalez@cbm.csic.es)

## 54 Long-term skin regeneration in xenografts from iPSC teratoma-derived human keratinocytes

*García, M; Quintana-Bustamante, O; Segovia, JC; Bueren, J; Martínez-Santamaría, L; Guerrero-Aspizua, S; Escamez, MJ; Del Río, M; Larcher, F.*

Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M, Fundación Jiménez Díaz Healthcare Research Institute (IIS FJD), Madrid, Spain

Grafting of cultured autologous epithelia or skin equivalents containing either wild type or genetically corrected cutaneous stem cells for permanent skin regeneration are among the most successful therapeutic approaches in regenerative medicine. Although in the majority of situations epidermal progenitors present in a skin biopsy are readily available for expansion in culture and suffice for efficient tissue renewal after grafting, certain diseases and conditions limit the number of stem cells capable of long-term skin regeneration. In recent years, iPSC technologies have appeared as a possible solution to rejuvenate regenerative somatic cells that could have lost their "stemness" potential. Several laboratories have been able to derive human keratinocytes from iPSC generated after reprogramming of somatic cells from healthy donors or patients affected by different genetic skin diseases. However, there has been no proof that these iPSC-derived human keratinocytes possess long-term regenerative capabilities when assessed in skin regeneration assays. In fact, in the majority of these studies, well-differentiated epidermal tissues were only produced either in organotypic cultures or in short-term in vivo grafting experiments unable to demonstrate stem cell performance. A question, therefore, arises as to whether, iPSC-derived keratinocytes are truly incapable of attaining epidermal stem cell abilities or these cannot be fully developed under current in vitro derivation protocols. In order to tackle this question we sought to generate human keratinocytes from iPSC not in vitro but by isolating them from iPSC-derived teratomas developed in immunodeficient mice.

[fernando.larcher@ciemat.es](mailto:fernando.larcher@ciemat.es)

## 55 Análisis funcional de los procesos biológicos alterados en Síndrome de Kindler: Estudio de la expresión génica global en queratinocitos SK

*Guerrero-Aspizua S, León C, Zapatero-Solana E, Conti CJ, Larcher F, and del Río M*

Grupo CIBERER: U714 Unidad de Medicina Regenerativa (CIEMAT) y Departamento de Bioingeniería (UC3M), Unidad Mixta de Investigación CIEMAT y Universidad Carlos III de Madrid, CIEMAT-UC3M. Fundación Jiménez Díaz Healthcare Research Institute (IIS FJD), Madrid, Spain

El Síndrome de Kindler (SK) (OMIM 173650), es una genodermatosis autosómica recesiva causada por mutaciones en el gen FERMT1. Los pacientes con SK presentan una patología compleja que incluye la presencia de ampollas en la piel, elevada fotosensibilidad, envejecimiento prematuro y una mayor predisposición a padecer cáncer mucocutáneo. No toda esta sintomatología puede ser explicada por la fragilidad cutánea y por lo tanto es probable que la mu-

tación en el FERMT1 altere vías de señalización relacionadas con las integrinas y adhesiones focales. Con el fin de dilucidar los mecanismos de señalización alterados, se llevó a cabo el análisis de la expresión génica global (ARNm) en queratinocitos de pacientes SK y sus respectivos controles. Dicho análisis señaló la implicación de diferentes procesos biológicos (oxidación celular, mecanismos de reparación del ADN y desarrollo de tumores) adicionales a aquellos relacionados con la función adhesiva primaria de la Kindlina-1. Nuestros resultados muestran que la mutación de FERMT1, resulta en diferencias significativas de expresión en distintos genes en queratinocitos SK, frente a sus controles. La sintomatología del SK puede entonces ser explicada en base a estas diferencias en la expresión génica, así como por las interacciones entre los genes alterados.

[sguerrer@ing.uc3m.es](mailto:sguerrer@ing.uc3m.es)









