

# X Reunión Anual CIBERER

## Libro de resúmenes

San Lorenzo del Escorial, Madrid  
23 y 24 de marzo de 2017



## CONTENIDO

<b>Presentación</b> .....	<b>5</b>
<b>Programa</b> .....	<b>7</b>
<b>Programa detallado</b> .....	<b>9</b>
<b>Presentación de resultados</b> .....	<b>21</b>
<b>Sesiones orales, jueves 23</b> .....	<b>23</b>
<b>Sesiones orales, viernes 24</b> .....	<b>39</b>
<b>Sesión pósteres, viernes 24</b> .....	<b>48</b>
Pósteres recorrido I. Medicina mitocondrial y neuromuscular .....	48
Pósteres recorrido II. Medicina metabólica hereditaria .....	53
Pósteres recorrido III. Medicina pediátrica y del desarrollo, patología neurosensorial y medicina endocrina.....	57
Pósteres recorrido IV. Medicina genética.....	63
Pósteres recorrido V. Cáncer hereditario, enfermedades hematológicas y dermatológicas.....	70
<b>Notas</b> .....	<b>75</b>



## PRESENTACIÓN

Estimados investigadores y compañeros,

Bienvenidos a la "Xª Reunión Anual del CIBER de Enfermedades Raras". CIBERER celebra ya sus 10 años desde su creación en noviembre de 2006.

CIBERER es la red de referencia nacional para la investigación en enfermedades raras (ER) y, dado nuestro carácter multidisciplinar, obtenemos resultados en numerosos grupos de patologías raras. Nuestra ventaja es ser el único centro estatal capaz de conectar la generación de conocimiento básico con su aplicación clínica. Las ER, por su complejidad y diversidad, necesitan de una investigación diversificada y en red, sumando la disponibilidad de nuevas tecnologías y el conocimiento específico de cada patología, para obtener los mejores resultados de investigación. CIBERER tiene ahora, la obligación de dar respuesta a las necesidades que plantea ser un centro de excelencia de estas características y los retos en el ámbito de las ER para los próximos años: desarrollar nuevos tratamientos y mejorar el acceso al diagnóstico de las ER, siguiendo las políticas nacionales e internacionales.

En el diagnóstico de las ER, el mayor avance en los últimos años ha sido la incorporación de la tecnología de secuenciación masiva. Esto ha permitido hallar los genes responsables de un gran número de ER. Su potencial ha posibilitado el desarrollo de nuevas aplicaciones y pruebas biológicas que están implementándose masivamente en el diagnóstico postnatal y prenatal de enfermedades genéticas. Destacamos nuestro Programa de Enfermedades Raras No Diagnosticadas, ENoD. Su objetivo es el de contribuir a un diagnóstico molecular preciso de casos clínicos no resueltos tras aplicar "todos" los protocolos disponibles (adecuados) en la cartera de servicios del SNS.

Por otra parte, CIBERER sigue potenciando estrategias terapéuticas, y en este sentido participa directamente como promotor de medicamentos huérfanos. Actualmente es sponsor de un total de 6 medicamentos designados como huérfanos por la Agencia Europea del Medicamento (EMA), 3 de los cuales también han sido designados como tales por la agencia americana (FDA) (3 corresponden a terapia génica y 3 a reposicionamiento de fármacos).

Por último, CIBERER ha renovado en 2016 los miembros de su Comité de Dirección y de su Comité Científico Asesor Externo. Destacando la inclusión de los representantes de afectados en este último, que sin duda fortalecerá nuestra estructura y nuestro compromiso hacia los pacientes. Aprovecho para agradecer a todos los miembros del Comité de Dirección anterior su gran dedicación al centro y especialmente al Profesor Francesc Palau, "nuestro" Director Científico en estos últimos 10 años, por su compromiso y labor en el CIBERER.

Esperamos que disfrutéis de estos días.



Pablo Lapunzina, Director Científico CIBERER



# X REUNIÓN ANUAL CIBERER

## PROGRAMA

### Jueves 23 Marzo 2017

---

10h00 – 11h00 **Recepción y café de bienvenida**

11h00 – 12h00 **Bienvenida. CIBERER, actividad presente y futura**

12h00 – 12h45 **Presentación nuevas áreas CIBER**

12h45 – 14h15 **Resultados de la Investigación I**

Dos sesiones en paralelo con presentaciones de resultados de los proyectos en marcha y resultados mas destactados

14h15 – 15h30 **Almuerzo**

15h30 – 17h45 **Resultados de la Investigación II**

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

17h45 – 18h15 **Pausa café**

18h15 – 19h00 **Sesión III de Presentación de Resultados**

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

19h00 – 20h15

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

*Sesiones en paralelo de formación para el resto de asistentes*

**Sesión II:** Genomic toolbox ready to use! – BIER

**Sesión III:** Aplicación del Human Phenotype Ontology - HPO

**Sesión IV:** Fenotipado de animales en Enfermedades Raras

21h00 **Cena**

### Viernes 24 Marzo 2017

---

8h30 – 10h00 **Reuniones de los Programas de Investigación**

7 sesiones en paralelo

10h00 – 11h15 **Sesión póster**

11h15 – 11h45 **Pausa café**

11h45 – 14h00 **Sesión IV de Presentación de Resultados**

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

14h00 – 15h30 **Almuerzo - Despedida**



## PROGRAMA DETALLADO

### Jueves 23 de marzo

---

10h00 – 11h00 **Recepción y café de bienvenida**

11h00 – 12h00

11h00 Bienvenida. 10 años del CIBERER  
*Alba Ancochea Directora FEDER y Pablo Lapunzina Director Científico CIBERER*

11h15 Informe Dirección Científica Actividad realizada y futura  
*Pablo Lapunzina Director CIBERER*

11h45 Maper  
*Juan Luque, Gestor Científico CIBERER*

11h55 Preguntas

12h00 – 12h45 **Presentación nuevas áreas CIBERER**

12h00 Área de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV)  
*Francisco Fernández Avilés, Director Científico*

12h10 Área de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES)  
*Leocadio Rodríguez, Director Científico*

12h20 Área de Cáncer (CIBERONC)  
*Joaquín Arribas, Director Científico*

12h30 Preguntas

12h45 – 14h15 **Sesión I de Presentaciones de resultados**

Dos sesiones en paralelo con presentaciones de resultados

### SESIÓN I, SALA I

12h45 **Aproximación genética, bioquímica y computacional en pacientes con fenotipo compatible con Síndrome de Allan-Herndon-Dudley sin mutación en MCT8**  
*Grupo CIBERER: U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid*

13h00 **Caracterización Molecular en Síndromes Hereditarios con Insuficiencia de Médula Ósea Mediante Panel de Secuenciación Masiva**  
*Grupo CIBERER: GCV19 Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid*

13h15 **Deleciones múltiples del ADN mitocondrial. Estrategia para el estudio de genes implicados en la biosíntesis y mantenimiento del ADN mitocondrial utilizando técnicas de secuenciación masiva**  
*Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona*

13h30 **Aproximación al Diagnóstico Molecular del Hipotiroidismo Congénito con Glándula en Situación Eutópica Mediante Técnicas de Secuenciación Masiva (NGS)**  
*Grupo CIBERER: U712 Servicio de Pediatría, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Institut Català de la Salut, Barcelona*

13h45 **Análisis de un nuevo gen de reparación candidato potencialmente implicado en cáncer de mama hereditario**  
*Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid*



14h00 **Molecular diagnosis of patients with aplastic anemia or idiopathic pulmonary fibrosis associated to telomere shortening**

*Grupo CIBERER: U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid*

## SESIÓN I, SALA II

12h45 **Caracterización Clínica y Molecular en Población Pediátrica y Adultos Jóvenes con Diagnóstico de Adenoma Hipofisario**

*Grupo CIBERER: U725 Asociación Instituto de Investigación Sanitaria de Biocruces. Barakaldo, Bilbao.*

13h00 **Diagnostic tests for Cushing's syndrome differ from guidelines. Data from ERCUSYN**

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

13h15 **Adenomas corticotropos silentes ¿Constituyen un subtipo de adenoma hipofisario no funcionante más agresivo? Datos preliminares**

*Grupo CIBERER: GCV13. Fundación para la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO), Alicante.*

13h30 **La ablación del transportador de aminoácidos LAT2 (SLC7A8) causa hipoacusia asociada al envejecimiento en ratón**

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

13h45 **Mutaciones en el transportador de aminoácidos LAT2 (SLC7A8) subyacen a la hipoacusia asociada al envejecimiento (ARHL)**

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

14h00 **Cystine lithiasis modulation in a cystinuria KO mouse model (Slc7a9-/-)**

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

14h15 – 15h30 **Almuerzo**

15h30 – 17h45 **Sesión II de Presentación de Resultados**

Dos sesiones en paralelo con presentaciones de resultados

## SESIÓN II, SALA I

15h30 **WES reveals a novel mutation in the GGPS1 gene in three sisters with bisphosphonates-associated atypical femoral fractures**

*Grupo CIBERER: U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona, Barcelona*

15h45 **Desarrollo de una plataforma para el manejo de datos de secuenciación de nueva generación: lecciones aprendidas y futuro**

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

16h00 **Interpretando cambios en expresión génica o mutaciones en términos de actividad funcional o metabólica con modelos de actividad de pathways**

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

16h15 **EpiDisease. Innovación en diagnóstico in vitro basada en epigenética.**

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

- 16h30 **Systemic view of the comorbidity of rare diseases**  
*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*
- 16h45 **Sistemas de predicción como apoyo a la investigación de enfermedades raras**  
*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*
- 17h00 **Efficacy of Network-Based Computational Strategies in the Diagnosis and Novel Gene Identification for Inherited White Matter Disorders**  
*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*
- 17h15 **RNA-seq data analysis in the miR-96 mutant mouse Diminuendo reveals the nasal epithelium as a target tissue to explore drug-based therapeutic approaches**  
*Grupo CIBERER: U728 Unidad de Genética Molecular, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid*

## SESIÓN II, SALA II

- 15h30 **Depolarization causes the formation of a ternary complex between GlialCAM, MLC1 and CIC-2 in astrocytes: implications in Megalencephalic leukoencephalopathy**  
*Grupo CIBERER: U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona*
- 15h45 **Application of CRISPR/Cas9 technology in zebrafish to understand the possible function of CDON in eye and kidney malformations**  
*Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*
- 16h00 **Generation of mouse models with large, moderate and small deletions by CRISPR/Cas9 to study retinal gene function**  
*Grupo CIBERER: U718 Genètica Molecular Humana, Departament de Genètica. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona*
- 16h15 **Generación y análisis de nuevos modelos animales de diferentes tipos de albinismo mediante la tecnología CRISPR**  
*Grupo CIBERER: U756 Modelos animales por manipulación genética, Centro Nacional de Biotecnología (CNB), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid*
- 16h30 **Identification and characterization of variants and a novel rare 4bp deletion in the regulatory region of SIX6, a risk factor for Primary Open Angle Glaucoma**  
*Grupo CIBERER: U709 Morfogénesis y Diferenciación del Sistema Nervioso de Vertebrados, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC-UAM., Universidad Autónoma de Madrid, Madrid*
- 16h45 **Caracterización de los Patrones de Expresión de las Isoformas A y B del Gen NIPBL en Tejidos Adultos y Fetales, y Fenotipo Leve por Mutación de la Isoforma A**  
*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*
- 17h00 **Mutaciones somáticas en PIK3CA causan el síndrome CLAPO**  
*Grupo CIBERER: U753 INGEMM-Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital Universitario "La Paz", Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 17h15 **Espectro molecular y diagnóstico diferencial en pacientes con osteogénesis imperfecta identificados como esporádicos o con herencia recesiva**  
*Grupo CIBERER: U760 Grupo de Genética Humana y Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid*

17h30 **Caracterización funcional de mutaciones en EVC asociadas a manifestaciones clínicas tipo disostosis acrofacial de Weyer**

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

17h45 – 18h15 **Pausa café**

18h15 – 19h00 **Sesión III de Presentación de Resultados**

Dos sesiones en paralelo con presentaciones de resultados

## SESIÓN III, SALA I

18h15 **Programa CIBERER de Enfermedades raras No Diagnosticadas (ENoD): Contribución al diagnóstico molecular preciso de pacientes no resueltos mediante una aproximación colaborativa**

*Grupo CIBERER: U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona*

18h30 **RD-Connect platform: A useful tool for the undiagnosed rare diseases program SpainUDP**

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

18h45 **Simultaneous analysis of single nucleotide and structural variants through NGS using a targeted panel of genes involved in ocular congenital malformations**

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

## SESIÓN III, SALA II

18h00 **EVERREST Trial: DoEs Vascular Endothelial gRowth factor gene theRapy safEly improve outcome in Severe early-onset 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*

18h15 **Translational research and the screening for novel oestrogen related HAE-causing F12 mutations.**

*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*

18h30 **Rare variants of genes involved in N-glycosylation increase the risk for fetal alcohol syndrome under prenatal alcohol exposure.**

*Grupo CIBERER: U765, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia*

19h00 – 20h15

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

*Sesiones en paralelo de formación para el resto de asistentes*

**Sesión II:** Genomic toolbox ready to use! – BIER

**Sesión III:** Aplicación del Human Phenotype Ontology - HPO

**Sesión IV:** Fenotipado de animales en Enfermedades Raras

21:00 **Cena**

## Viernes 24 de marzo

---

8h30 – 10h00 **Reuniones de los Programas de Investigación**  
7 sesiones en paralelo

10h00 – 11h15 **Sesión Pósteres:**  
Presentaciones orales a pie de póster.  
Cinco recorridos en paralelo.

## PÓSTERES RECORRIDO I.

### MEDICINA MITOCONDRIAL Y NEUROMUSCULAR

- 1. Terapia Génica del MNGIE: Comparación del Uso de Diferentes Vectores Adeno-Asociados en el Modelo Preclínico de la Enfermedad**  
*Grupo CIBERER: U701 Unitat de Patologia Mitocondrial i Neuromuscular, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Fundació Institut de Recerca, Barcelona*
- 2. Comorbidity and common molecular links between diabetes and sporadic inclusion body myositis**  
*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: 1. U722 CIBERER; 2. CIBERDEM*
- 3. An innovative strategy to clone positive modifier genes of defects caused by mtDNA mutations: MRSP18C as suppressor gene of m.3946G>A mutation**  
*Grupo CIBERER: U723 Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares., Hospital Universitario 12 de Octubre, Servicio Madrileño de Salud, Madrid*
- 4. Xenobiotics that affect oxidative phosphorylation alter differentiation of human adipose-derived stem cells at concentrations that are found in human blood**  
*Grupo CIBERER: U727 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza*
- 5. Diseño y caracterización de modelos celulares para el estudio del Síndrome de Pearson**  
*Grupo CIBERER: U727 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza*
- 6. El Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER): un modelo traslacional en el ámbito hospitalario**  
*Grupo CIBERER: U732 Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER), Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona*  
*Otros grupos: 703*
- 7. Aplicación de metodología de la calidad al Registro nacional multicéntrico de enfermedades Neuromusculares (NMD-ES).**  
*Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 8. Estrategia experimental para la búsqueda de biomarcadores en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica.**  
*Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 9. Actividades para garantizar la viabilidad y sostenibilidad de un registro de enfermedades raras (ER).**  
*Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 10. Anticuerpos contra Caspr2 y receptores de Netrina-1 en pacientes con neuromiotonía y timoma**  
*Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital UiP La Fe, Valencia*  
*Otros grupos: Josep Dalmau. Hospital Clínic- U764*
- 11. Contribution of the NGS analysis to the HyperCKemia**  
*Grupo CIBERER: U763 Servicio de Neurología, Hospital UiP La Fe, Valencia. Otros grupos: U755*
- 12. Deficient glucose and glutamine metabolism in Aralar/AGC1/Slc25a12 knockout mice leads to altered visual function**  
*Grupo CIBERER: U743 Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO) CSIC-UAM, Madrid.*

## PÓSTERES RECORRIDO II.

### MEDICINA METABÓLICA HEREDITARIA

- 13. Contribution of the novel renal cystine transporter AGT1 in cystinuria**  
*Grupo CIBERER: U730 Centro de Genética Médica y Molecular CGMM, CGMM-IDIBELL Hospital Duran y Reynals, Fundació IDIBELL, Barcelona*  
*Otros grupos: U703*
- 14. Slc7a7-/- mouse model develops Lysinuric Protein Intolerance immune related abnormalities**  
*Grupo CIBERER: U731 Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona*  
*Otros grupos: U703*
- 15. Mutaciones en NDUF4F asociadas a dismorfia, cardiomiopatía y aciduria 3-metilglutacónica**  
*Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona*  
*Otros grupos: GCV14*
- 16. Alteración del metabolismo de las cardiolipinas en pacientes con trastornos del metabolismo energético mitocondrial asociados a aciduria 3-metilglutacónica**  
*Grupo CIBERER: U737 Enfermedades Metabólicas Hereditarias, Institut de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Corporació Sanitària Clínic, Barcelona*
- 17. Microbiome engineering: a palliative approach to rare metabolic diseases**  
*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*
- 18. Invasion and metastasis of neuroblastoma: a mathematical approach**  
*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*
- 19. Experimental approaches to study angiogenesis in angiogenesis-related rare diseases**  
*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*
- 20. Using phenotype-loci network analysis in undiagnosed clinical cases of patients with rare genomic disorders**  
*Grupo CIBERER: U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga*  
*Otros grupos: CB06/07/1005*
- 21. Comparison of glucosylsphingosine concentration and chitotriosidase activity as surrogated biomarkers in gaucher disease, the Spanish experience.**  
*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*
- 22. Structure and mechanism of a bacterial asc, structural and functional homologue of the human asc1 transporter**  
*Grupo U731, Institut de Recerca Biomèdica, Fundació Institut de Recerca Biomèdica, Barcelona*

## PÓSTERES RECORRIDO III.

### MEDICINA PEDIÁTRICA Y DEL DESARROLLO

- 23. A mouse model of DYRK1A-related intellectual disability syndrome shows altered gliogenesis and defects in myelination**  
*Grupo CIBERER: U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona*

**24. Genomic expression differences between cutaneous cells from red hair color individuals and black hair color individuals based on bioinformatic analysis.**

*Grupo CIBERER: U726 Grupo de Investigación en Genética de Enfermedades Raras (GICER), Hospital Clínic GICER (Servicio de Bioquímica y Genética Molecular), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona  
Otros grupos: U714, U715*

**25. Identificación de un nuevo "enhancer" de SHOX específico del crecimiento de las extremidades y su implicación en la displasia discondrosteosis de Léri-Weill.**

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

**26. Cambios en la Mortalidad por Enfermedad de Huntington en Europa 2001-2012**

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

**27. Atlas Nacional de Mortalidad debida a Enfermedades Raras**

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

## MEDICINA ENDOCRINA

**28. SGPL1, nuevo gen recesivo cuyas mutaciones inactivadoras provocan un síndrome que asocia insuficiencia adrenal primaria y síndrome nefrótico corticorresistente**

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

## PATOLOGÍA NEUROSENSORIAL

**29. Estudio farmacogenético de la respuesta a largo plazo del metilfenidato en el trastorno del déficit de atención e hiperactividad en niños de la población española.**

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

**30. Localization of CERKL, a Retinitis Pigmentosa gene, in the retina: association to RNA-stress granules**

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

**31. DFNA15 caused by POU4F3 mutations is one of the most frequent forms of hereditary deafness in Spain with different underlying pathogenic mechanisms**

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

**32. Avances en el diagnóstico genético de las distrofias hereditarias de retina**

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

**33. Perfil de expresión de Hif-1 $\alpha$  y factores inflamatorios durante la progresión de la degeneración retiniana en un modelo murino de retinosis pigmentaria**

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

**34. Actualización del diagnóstico genético de albinismo mediante la estrategia albinochip**

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

**35. Modelos animales y celulares del déficit humano en la acción del IGF-1**

*Grupo CIBERER: U761 Grupo de Neurobiología de la Audición, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC-UAM, Madrid  
Otros grupos: U756*

## PÓSTERES RECORRIDO IV.

### MEDICINA GENÉTICA

- 36. Potential genes related with Hirschsprung disease through the determination of DNMT3b targets by ChIP-seq assay in enteric precursor cells.**  
*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*
- 37. Retinosis Pigmentaria autosómica recesiva asociada a mutaciones en SYNE2: una nueva asociación gen-enfermedad.**  
*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*
- 38. Estrategias de secuenciación NGS para el estudio de las enfermedades neuromusculares congénitas**  
*Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*  
*Otros grupos: U762 (CB06/05/0030)*
- 39. Implementación de la secuenciación masiva para la mejora en el diagnóstico de las neuropatías motoras hereditarias distales**  
*Grupo CIBERER: U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona*
- 40. Caracterización de una mutación en 5'UTR de Endoglin causante de telangiectasia hemorrágica hereditaria.**  
*Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid*
- 41. Caracterización de patrones de estratificación a escala local: comparación de variantes comunes y raras**  
*Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña*
- 42. Aplicación de la secuenciación de exoma en el diagnóstico de Paraparesia espástica complicada**  
*Grupo CIBERER: U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña*
- 43. Actividad colaborativa de la plataforma BiER en 2016**  
*Grupo CIBERER: U715 Departamento de Genómica Computacional, Centro de investigación Príncipe Felipe (CIPF), Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia*
- 44. Metabolic reprogramming involved in the pathomechanisms of OXPHOS diseases related to hypomodification of mitochondrial tRNAs**  
*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: U723*
- 45. Transport of laforin between nucleus and cytosol**  
*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*
- 46. Huan endoglin as a potential new partner involved in platelet-endothelium interactions**  
*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: 707*
- 47. Impaired Cellular Respiration in a Neuronal Model of Progranulin deficient Frontotemporal Lobar Degeneration**  
*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*

- 48. Nuevas aproximaciones terapéuticas a la Enfermedad de Huntington mediante el uso de modelos animales**  
*Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia*  
*Otros grupos: U755*
- 49. Phenotypic characterization of a new EPM2A mutation (N163D) related to slow progression of Lafora disease**  
*Grupo CIBERER: U742 Unidad de Señalización por Nutrientes, Instituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia*
- 50. Identificación de modificadores genéticos del fenotipo clínico de la enfermedad de Lafora**  
*Grupo CIBERER: U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid*
- 51. Autoantibodies against adipocytes on acquired lipodystrophies**  
*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*
- 52. Perfiles cuantitativos del factor H y las proteínas FHRs del Complemento y susceptibilidad a patología renal**  
*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.

### CÁNCER HEREDITARIO, ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS Y DERMATOLÓGICAS

- 53. Modeling molecular factors for predicting metastatic risk in Pheochromocytoma and paraganglioma patients**  
*Grupo CIBERER: U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid*
- 54. Mesenchymal stromal cells avoid graft failures in clinically relevant models of autologous transplantation**  
*Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid*
- 55. Flow Cytometry Characterization of hematopoietic samples from Pyruvate Kinase deficient patients**  
*Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid*  
*Otros grupos: GCV-19, GCV-20*
- 56. Piel Autóloga Bioingenierizada para la Cobertura de Lesiones Quirúrgicas tras Resección de Nevus Melanocíticos Congénitos Gigantes (NMCG)**  
*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*
- 57. Common and specific transcriptomic profile, molecular pathways and signaling circuits in three rare skin disorders: XPC, SK and EBDR.**  
*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*  
*Otros grupos: U715*
- 58. Biallelic mutations in the ubiquitin ligase RFWD3 cause Fanconi anemia**  
*Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona*
- 59. Biallelic mutations in FANCM cause a FA-like cancer predisposition syndrome**  
*Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona*



- 60. Valoración del Índice de Fragilidad Cromosómica (Cfi) como Marcador de la Estabilidad Hematológica en Pacientes con Anemia de Fanconi**  
Grupo CIBERER: U745 Departamento de Genética y Microbiología, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona  
Otros grupos: U710
- 61. Impact of FADD expression, phosphomimetic and nonphosphorylatable FADD mutants in T-cells.**  
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 62. The CDKN1C-E2F1-TP53 axis is altered in human primary T-cell lymphoblastic lymphomas**  
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 63. Down-regulation of FBXW7 by specific microRNAs in T-cell lymphoblastic lymphoma development**  
Grupo CIBERER: U749 Centro de Biología Molecular (CBM) "Severo Ochoa", Universidad Autónoma de Madrid, Madrid
- 64. El Biobanco del CIBERER como plataforma de servicio a la investigación.**  
Grupo CIBERER: U799 CIBERER Biobank.

11h15 – 11h45 **Pausa café**

11h45 – 14h00 **Sesión IV de Presentación de resultados**  
Dos sesiones en paralelo con presentaciones de resultados

## SESIÓN IV, SALA I

- 11h45 **Nintendanib es efectivo como agente antifibrótico en un modelo preclínico de distrofia muscular de Duchenne**  
Grupo CIBERER: U762 Servicio de Neurología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona
- 12h00 **Nuevo biomarcador del estatus serotoninérgico en pacientes con deficiencia de aminas biógenas: 6-sulfatoximelatonina en orina**  
Grupo CIBERER: U703 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona
- 12h15 **Repurposing propranolol as a drug for the treatment of retinal hemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease**  
Grupo CIBERER: U707 Patología vascular y receptores endoteliales, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid
- 12h30 **Primeras evidencias de reconstitución y ventaja proliferativa de células madre hematopoyéticas corregidas por terapia génica en pacientes con anemia de Fanconi**  
Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid  
Otros grupos: U745; GCV19; GCV18
- 12h45 **Development of a hematopoietic stem cell model of X-linked dyskeratosis congenita**  
Grupo CIBERER: U710 División de Terapias Innovadoras en el Sistema Hematopoyético, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid
- 13h00 **Dried blood spot screening of Lysosomal acid lipase deficiency (LALD) and confirmatory studies in Spanish LALD suspected patients**  
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
- 13h15 **Unraveling genotype-phenotype associations by complete functional characterization of the disease-associated variants found in the CFH gene**  
Grupo CIBERER: U738 Patología Molecular y Genética del Complemento, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid
- 13h30 **Autoinmunidad cerebral tras la encefalitis por el virus herpes simple (HSE): 100 casos**  
Grupo CIBERER: U764 Servicio de Neurología, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

**13h45 Alteraciones Cromosómicas Identificadas en la Serie de Recién Nacidos del ECEMC (Estudio Colaborativo Español De Malformaciones Congénitas).**

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

## **SESIÓN IV, SALA II**

**11h45 Estudio Comparativo de Patogenicidad de dos Mutaciones en el Gen *MT-ATP6* en una Familia con Síndrome de Leigh**

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

**12h00 Fisiopatología mitocondrial en axonopatías: Vulnerabilidad neuronal selectiva**

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

**12h15 La depleción aguda de *DKC1* y *NOP10* produce estrés oxidativo.**

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

**12h30 Los factores genéticos y constitucionales son determinantes de la hiperecogenicidad de la sustancia negra**

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

**12h45 IPS Cells as Disease Model for Defects in the Mitochondrial Propionate Oxidative Pathway**

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

**13h00 Characterization of the metabolic proteome in muscle of Progressive external ophthalmoplegia and MELAS syndrome patients.**

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

**13h15 El miR-323-3p circulante es un buen biomarcador de cardiomiopatía, capaz de identificar la variabilidad fenotípica de pacientes con ataxia de Friedreich.**

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

**13h30 Mutation affecting the proximal promoter of Endoglin as the origin of hereditary hemorrhagic telangiectasia type 1**

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

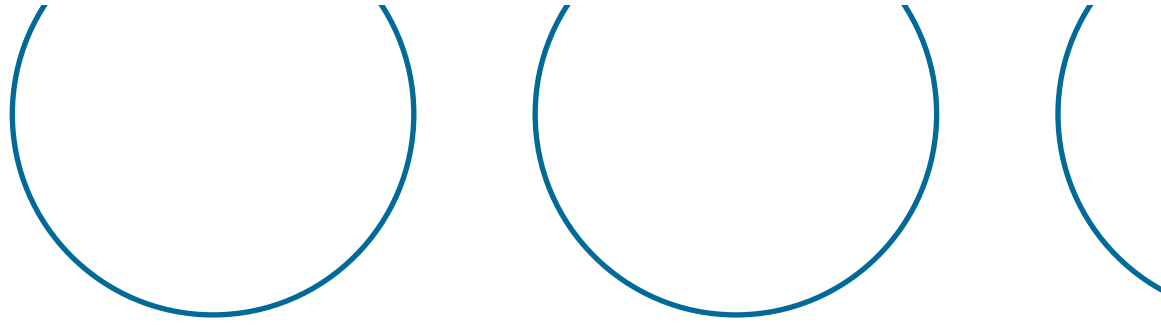
**13h45 Bases Estructurales de las Basalopatías Por Afectación Del Colágeno Tipo IV**

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

**14h00-15h30 Almuerzo Despedida**

**15h45 Salida hasta estación de tren y aeropuerto**



Abstract, flowing grey lines that sweep across the page, creating a sense of movement and depth. They are positioned behind the green title bar.

# Actividades CIBERER 2017 Presentación de resultados



## SESIONES ORALES, JUEVES 23

### SESIÓN I PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

#### SALA I, JUEVES 23 12H45 – 14H15

##### Presentaciones Orales

#### Aproximación genética, bioquímica y computacional en pacientes con fenotipo compatible con Síndrome de Allan-Herndon-Dudley sin mutación en MCT8.

*Morte B, Belinchón MM, Rojano E, Lacámara N, Martínez de Mena R, Roldán B, Miranda C, Nascimento A, Nunes TF, O'Callaghan M, Armstrong J, Palomares M, Moreno JC, Ranea JA, Bernal J*

**Grupo CIBERER:** U708 Hormonas tiroideas y cerebro, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid  
**Otros grupos:** U471, U703, U753

El Síndrome de Allan-Herndon-Dudley (SAHD) se debe a mutaciones en el transportador de membrana de hormonas tiroideas, MCT8. Cursa con grave retraso psicomotor y cognitivo, hipotonía y perfil tiroideo típico (T3 elevada, T4 baja, TSH ligeramente incrementada y rT3 baja). Existen pacientes con alteración neurológica y perfil tiroideo sugerentes de SAHD pero sin mutación en los exones del gen, denominados "MCT8-like".

Para determinar la base genética de 8 pacientes "MCT8-like" realizamos análisis de dosis génica mediante array-CGH enriquecido en 18 genes del metabolismo tiroideo y PCR/Secuenciación Sanger de región codificante de 8 de estos genes. No se encontró ningún cambio patogénico por secuenciación Sanger en ninguno de los exones de los pacientes. Mediante array-CGH se identificó una delección en heterocigosis de 4.6Mb en 2q24.1-24.3 que abarca 20 genes en un paciente.

Para un correcto diagnóstico bioquímico determinamos los niveles de rT3 en suero (no disponible en la práctica clínica). Salvo en un paciente, los niveles resultaron normales lo que podría descartar alteración en MCT8 no detectada previamente.

Mediante estudio de asociación entre loci y fenotipos patológicos se confirmó que la región del cromosoma 2 deletionada correlaciona con los fenotipos neurológicos comunes en "MCT8-like". Actualmente, realizamos un estudio detallado de esta región para evaluar el impacto individual de los 20 genes en el fenotipo, así como el análisis de perfiles fenotípicos concretos de cada paciente para asociarlos con regiones concretas del genoma.

Esta información servirá como punto de partida para posteriormente verificar experimentalmente las regiones responsables de la enfermedad en pacientes "MCT8-like".

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

#### Caracterización Molecular en Síndromes Hereditarios con Insuficiencia de Médula Ósea Mediante Panel de Secuenciación Masiva

*Gálvez, E; Sebastián, E; Sastre, L; Bogliolo, M; Madero, L; Sastre, L; Bogliolo, M; Catalá, A; Beléndez, C; Díaz de Heredia, C; Galera, A; Badell, I; Plaza, D; Dasí, MA; Vallespín, E; Lapunzina, P; Perona, R; Surrallés, J; Bueren, J; Sevilla, J.*

**Grupo CIBERER:** GCV19 Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid

**Otros grupos:** U710; U745; U753; U757; GCV16; GCV17; GCV18

Los síndromes hereditarios con insuficiencia de médula ósea (SHIMO) se caracterizan por ser muy similares clínicamente y genéticamente heterogéneos, lo que resulta en un diagnóstico complejo. La caracterización molecular es imprescindible para establecer el diagnóstico, tratamiento y pronóstico. Las técnicas de "next generation sequencing" (NGS) parecen ser una plataforma útil a la hora de caracterizar molecularmente los diferentes SHIMO. Por ello hemos diseñado un panel NGS para el análisis de las regiones exónicas e intrónicas adyacentes de 164 genes implicados en diferentes SHIMO. Para el estudio se ha empleado la plataforma NextSeq de Illumina (Roche). El análisis bioinformático ha sido orientado a la identificación de polimorfismos puntuales (SNPs) e inserciones/delecciones de pequeños fragmentos de ADN. Se han procesado 120 muestras, de las que 12 no fueron aptas para el análisis. De las 108 analizadas, se ha detectado mutación causal en 64 (59,3%), coincidiendo con lo descrito en la literatura. Sigue habiendo un porcentaje de pacientes sin diagnóstico genético. Esto podría explicarse porque el gen responsable no haya sido descrito o por las limitaciones de la técnica (no permite detectar grandes delecciones/duplicaciones, mutaciones puntuales en mosaico <50% ni mutaciones en promotores o regiones intrónicas alejadas más de 10 pb). Los pacientes no diagnosticados deberían incluirse en proyectos y programas de investigación.

[eva.galvez@salud.madrid.org](mailto:eva.galvez@salud.madrid.org)

### Deleciones múltiples del ADN mitocondrial. Estrategia para el estudio de genes implicados en la biosíntesis y mantenimiento del ADN mitocondrial utilizando técnicas de secuenciación masiva.

L. Carreño<sup>1</sup>, M. Olive<sup>2</sup>, E. Gallardo<sup>3</sup>, J. Díaz<sup>3</sup>, G. Garrabou<sup>4</sup>, E. Vergés<sup>2</sup>, J.M. Grau<sup>4</sup>, E. Garcia Arumí<sup>1</sup>. *1Institut de Recerca Hospital Universitario Vall d'Hebron, 2Hospital Universitari de Bellvitge, 3Institut de Recerca Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, 4Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.*

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

**Otros grupos:** U722, CB06/05/0030

Los síndromes asociados a deleciones múltiples del ADN mitocondrial es un grupo heterogéneo de enfermedades autosómicas dominantes o recesivas producidas por defectos moleculares de genes involucrados en la biosíntesis del ADN mitocondrial (ADNmt) o el mantenimiento del pool de deoxinucleótidos. La identificación de la causa molecular tiene especial relevancia ante la posible aplicación de nuevas terapias.

**OBJETIVO:** Estudio de los genes implicados en la biosíntesis y mantenimiento del ADN mitocondrial en pacientes que presentan deleciones múltiples del ADNmt mediante técnicas de secuenciación masiva (NGS)

**PACIENTES Y MÉTODOS:** Se han estudiado 33 pacientes con sospecha de enfermedad mitocondrial y deleciones múltiples del ADNmt, para ello se ha diseñado un panel con 17 genes asociados a depleción/deleciones del ADNmt y se han secuenciado por NGS.

**RESULTADOS:** De los 33 pacientes estudiados se han encontrado variantes patogénicas en 16 pacientes; 5 en el gen POLG (32%), 3 en TK2 (19%), 2 en MFN2 (13%), 2 en C10orf2 (13%), 1 en RNASEH1 (7%), 1 en RRM2B (7%), 1 en SPG7 (7%) y 1 en SLC25A1 (7%). Doce de las variantes encontradas están clasificadas en bases de datos como patogénicas y 8 no se han descrito previamente; presentan una frecuencia poblacional inferior al 0.005% (EXAC), los predictores "in silico" las clasifican como patogénicas; y el fenotipo asociado a mutaciones en estos genes concuerda con el de los pacientes.

**CONCLUSIONES:** La estrategia metodológica utilizada ha permitido diagnosticar molecularmente el 48 % de los pacientes que presentaron deleciones múltiples del ADNmt. Este trabajo ha sido financiado por PI12-02149-FEDER y PI15/01428-FEDER

[elena.garcia@vhir.org](mailto:elena.garcia@vhir.org)

### Aproximación al Diagnóstico Molecular del Hipotiroidismo Congénito con Glándula en Situación Eutópica Mediante Técnicas de Secuenciación Masiva (NGS)

Fernández-Cancio M., Camats N., Clemente M., Campos A., Antolín M., García-Arumí E., Tizzano E., Yeste D., 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

El origen del hipotiroidismo congénito con glándula en situación eutópica (HCGE) es complejo y muy heterogéneo. Los estados de resistencia a la acción de TSH y los defectos en genes que participan en la regulación y/o síntesis de las hormonas tiroideas son las causas más frecuentes en ausencia de déficit ambiental de yodo y de procesos autoinmunes maternos.

**OBJETIVO:** Identificar y caracterizar la base molecular de los pacientes diagnosticados de HCGE en el cribado neonatal mediante técnicas de secuenciación masiva (NGS).

**PACIENTES Y MÉTODOS:** Se han estudiado 80 pacientes diagnosticados de HCGE confirmado por estudio gammagráfico y/o ecográfico. El panel NGS diseñado incluye 9 genes.

**RESULTADOS:** En 61 pacientes se han encontrado 80 variantes con frecuencia <1% en la población control de las que los predictores *in silico* sugieren que son patogénicas: 36,2% en TG, 17,5% en TPO, 13,8% en DUOX2, 10% en PAX8, 3,7% en IYD, 8,8% en SLC26A4, 8,8% en TSHR y 1,2% en SLC5A5. En 36 pacientes se identifican variantes en un gen: 19 heterocigotos, 1 homocigoto y 16 heterocigotos compuestos. 25 pacientes presentan variantes en más de un gen: 11 heterocigotos en más de un gen y 14 presentan dos o más alelos mutados en un gen y uno o más en otros genes.

**CONCLUSIONES:** Este programa de diagnóstico molecular nos ha permitido identificar el origen monogénico u oligogénico en un 38.7% de pacientes con HCGE. El potencial patogénico de las variantes identificadas en heterocigosis monogénica (23,8%) u oligogénica (13,8%) se establecerá mediante estudios funcionales.

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

### Análisis de un nuevo gen de reparación candidato potencialmente implicado en cáncer de mama hereditario.

*Tavera-Tapia A, de la Hoya M, Macías JA, Alonso MR, Fernández V, Pita G, Barroso A, Urioste M, Caldés T, Benítez J, Osorio A.*  
**Grupo CIBERER:** U706 Programa de Genética del Cáncer Humano, Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid

La búsqueda de nuevos genes de susceptibilidad es un tema prioritario en la investigación del cáncer de mama hereditario y se ha visto muy potenciado en los últimos años con la aparición de las técnicas de secuenciación masiva.

Mediante un estudio de secuenciación de exoma completo hemos detectado una variante claramente deletérea en una familia con cáncer de mama hereditario no asociada a ningún gen de susceptibilidad conocido (BRCA1) y con un modelo de herencia aparentemente monogénico. La variante se encuentra en un gen que participa en el proceso de reparación del ADN mediante recombinación homóloga, está relacionado con la ruta de Anemia de Fanconi y pertenece a una familia de genes entre los cuales se han descrito otros genes de susceptibilidad para cáncer de mama.

Dado el interés del hallazgo, hemos realizado una secuenciación completa del gen candidato en una serie de 700 familias BRCA1 y 700 controles. Tras el análisis de los datos, hemos encontrado dos variantes claramente deletéreas en dos familias BRCA1 que presentan un fenotipo similar a la familia en la que apareció la primera mutación, así como algunas variantes más potencialmente deletéreas.

Consideramos que el gen en estudio es un excelente candidato y que podría tratarse de un gen de alto riesgo que explicaría un pequeño porcentaje de los casos de cáncer de mama familiar y contribuiría así a dilucidar la arquitectura genética de esta enfermedad.

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

### Molecular diagnosis of patients with aplastic anemia or idiopathic pulmonary fibrosis associated to telomere shortening

*García Arias-Salgado, E (AMP) Planas, L (CIBERES), Gálvez, E. Pintado-Berninches, L. Sevilla, J. Molina, M (CIBERES) Sastre, L. Perona, R.*

**Grupo CIBERER:** U757 Laboratorio de terapias de enfermedades con defectos en telomerasa., Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols", CSIC, Madrid

**Otros grupos:** GCV14/ER/19

Telomeres are terminal structures of chromosomes required for their genetic stability. Mutations in genes that code for proteins involved in telomere elongation or telomere's chromatin structure cause a number of rare syndromes known as telomere-related diseases. Among them are cases of aplastic anemia (AA) and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) that present with abnormally short telomere length. However, the specific genes mutated in a large proportion of these patients have not been determined. A number of Spanish patients presenting AA, in some cases with dyskeratosis congenital symptoms, or IPF and telomere shortening have been recently identified. Their genotype is being studied by sequencing a panel of genes involved in haematological disorders, including all the genes presently associated to telomere-related diseases (Proyecto Intramural). The results obtained for 31 AA and 17 IPF patients will be presented. Mutations in telomere-related genes were found in heterozygosity in 19 AA patients (61.3%), including the TERT, DKC1, RTEL1, NOP10, CTC1, PARN, POT1, NHP2 and WRAP53 genes. Mutations were also found in heterozygosity in 10 IPF patients (58.8%), including the genes TERT, TERC, RTEL1, POT1, PARN and NHP2. Besides these mutations, most patients presented rare nucleotide variants that resulted in missense or nonsense mutations in genes coding for proteins involved in DNA repair by homologous recombination, always in heterozygosity. We are presently studying if the concomitant effect of heterozygous mutations in genes required for telomere function and DNA repair could be at the origin and/or evolution of aplastic anemia and idiopathic pulmonary fibrosis.

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



## SESIÓN I PRESENTACIÓN DE RESULTADOS SALA II, JUEVES 23 12:45-14:15

### Presentaciones Orales

#### Caracterización Clínica y Molecular en Población Pediátrica y Adultos Jóvenes con Diagnóstico de Adenoma Hipofisario

Martinez de LaPiscina, I. Portillo, N. Rica, I. Gaztambide, S. Castaño L.

**Grupo CIBERER:** U725 Asociación Instituto de Investigación Sanitaria de Biocruces. Barakaldo, Bilbao.

**INTRODUCCIÓN:** Los tumores hipofisarios en pacientes pediátricos son una patología rara de la que se desconoce la prevalencia. Presentan unas características clínicas y moleculares singulares, y a menudo asocian alteraciones genéticas, siendo la más frecuente mutaciones en el gen AIP y menos frecuentes en MEN1, GNAS, CDKN1B y PRKAR1A, así como recientemente descritos SDH y DICER1. El objetivo es la caracterización clínica y molecular de niños, adolescentes y adultos jóvenes con diagnóstico de adenoma hipofisario familiar o esporádico mediante NGS.

**PACIENTES Y MÉTODOS:** Se han recogido las características clínicas y analíticas al diagnóstico de 58 pacientes afectos menores de 35 años (edad media: 17,1 años; mujeres: 63%), mediante la cumplimentación de una base de datos. Estudio molecular en línea germinal utilizando la secuenciación masiva en un panel de genes. Los resultados se han confirmado por secuenciación Sanger y se ha realizado un análisis *in silico* de las variantes identificadas no descritas previamente.

**RESULTADOS:** Se han identificado alteraciones en heterozigosis en 9 pacientes que presentaban un adenoma hipofisario objetivado en RMN.

**CONCLUSIONES:-** En el 16% de los pacientes estudiados se observó una alteración genética.

- La mutación p.Arg271Trp se encuentra entre las más frecuentes del gen AIP en casos esporádicos de gigantismo.  
[idoia.martinezdelapiscinamartin@osakidetza.eus](mailto:idoia.martinezdelapiscinamartin@osakidetza.eus)

#### Diagnostic tests for Cushing's syndrome differ from guidelines. Data from ERCUSYN.

Valassi E, Santos A, Hanzu F, Aranda G, Halperin I, Webb SM, on behalf of all the Ercusyn partners.

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

**Otros grupos:** GCV11

**Objective:** Evaluate which tests are performed to diagnose hypercortisolism in patients included in the European Registry on Cushing's syndrome (ERCUSYN), and examine if their use differs from the guidelines.

**Patients and methods:** We analyzed data on the diagnostic tests performed in 1341 patients with Cushing's syndrome (CS) entered into the ERCUSYN between January 1st, 2000 and January 31st, 2016 from 57 centres in 26 European countries. 67% had pituitary-dependent CS (PIT-CS), 24% had adrenal-dependent CS (ADR-CS), 6% had CS from an ectopic source (ECT-CS), and 3% were classified as CS from other causes (OTH-CS)

**Results:** Urinary free cortisol (UFC) was performed in 78% of patients, overnight 1-mg dexamethasone-suppression test (DST) in 60%, and late-night salivary cortisol (LSaC) in 25%. Use of LSaC increased in the last five years as compared with previous years ( $p < 0.01$ ). HDDST was more frequent in the last 5 years as compared with previous years ( $p < 0.05$ ). Of the additional tests, late-night serum cortisol (LSeC) was measured in 62% and 48-h, 2 mg/day low-dose dexamethasone suppression test (LDDST) in 33% of cases. ACTH was performed in 78% of patients. Both UFC and LSeC measurements supported the diagnosis of PIT-CS and ECT-CS more frequently than ADR-CS ( $p < 0.01$ ).

**Conclusions:** Use of diagnostic tests for CS varies across Europe and differs significantly from currently available guidelines. It would seem pertinent that a European consensus be established to determine the best diagnostic approach to CS, taking into account specific inter-country differences with regard to the availability of diagnostic tools.

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

### Adenomas corticotropos silentes ¿Constituyen un subtipo de adenoma hipofisario no funcional más agresivo? Datos preliminares

*García A, Sánchez L, Sánchez R, Sottile J, Cano D, Mireia P, Venegas E, Fajardo C, Cámara R, Lamas C, Soto A, Webb SM y Picó A*  
**Grupo CIBERER:** GCV13 Fundación para la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO), Alicante.

Los objetivos 1 y 3 del proyecto de los GV de Endocrinología son identificar dentro de los adenomas hipofisarios (AH) los corticotropinomas silentes (CTS) y compararlos con corticotropinomas funcionantes (CTF) y otros subtipos de adenomas hipofisarios no funcionantes (AHNF).

En la colección de AH del HGUA (n=158) se han definido rangos de expresión de cada gen (p25-p75) de las hormonas adenohipofisarias para establecer una clasificación molecular de los AH. El estudio se ha realizado mediante RT-qPCR. Se han recogido variables demográficas y radiológicas (3 grados de tamaño tumoral: intraselar, extraselar e invasivo). Se ha realizado un descriptivo de la muestra y para la comparación entre subtipos se ha empleado el Test de Fisher o X2.

Se han identificado 22 CT (Cushing), 40 ST (acromegalia), 9 lactotropinomas (LT) y 2 tiotropinomas (TT) (hipertiroidismo) funcionantes y 85 AHNF de los cuales 18 CTS, 9 nulos, 49 gonadotropinomas (GT), 4 TT, 1 LT y 4 multi-hormonales silentes. Se comparan los CTS con los CTF, con los nulos y con los GT.

Se observan diferencias significativas en edad entre los CTS y los nulos ( $p=0.042$ ) y en el sexo entre los CTS y los GT ( $p=0.028$ ).

Se observa un mayor grado de invasividad en los CTS que en los CTF ( $p=0.002$ ), pero un mayor tamaño tumoral de los GT que de los CTS ( $p=0.043$ ).

Se confirman datos previos de la literatura acerca de un comportamiento más invasivo de los CTS que el de los funcionantes, pero no que el de otros subtipos de AHNF.

[araceli86gm@gmail.com](mailto:araceli86gm@gmail.com)

### La ablación del transportador de aminoácidos LAT2 (SLC7A8) causa hipoacusia asociada al envejecimiento en ratón

*Murillo-Cuesta S (1,2,3,\*), Espino Guarch M (4,5,6,\*), Font-Llitjós M (1,4,\*), Celaya AM (1,2), Vilches C (4), Bodoy S (1,5), Sahún I (1,7), González L (1,4), Prat E (1,4,8), Dierssen M (1,7) Palacín M (1,5,9,&), Nunes V (1,4,8,&) and Varela-Nieto I (1,2,3,&)* \* These authors contributed equally to this work & These authors share leadership (1) Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), ISCIII (U716, U730 and U731, Barcelona; U761, Madrid). (2) Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols (CSIC/UAM), Madrid. (3) Instituto de Investigación Sanitaria Hospital La Paz (IdiPAZ), Madrid. (4) Laboratorio de Genética Molecular - IDIBELL, Barcelona. (5) Instituto de Investigación en Biomedicina (IRB Barcelona), Instituto de Ciencia y Tecnología de Barcelona. (6) Sidra Medical and Research Center, Experimental Genetics, Doha, Qatar. (7) Centro de Regulación Genómica (CRG), Instituto de Ciencia y Tecnología de Barcelona., Barcelona. (8) Sección de Genética, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina Ciencia de la Salud, Universidad de Barcelona. (9) Departamento de Bioquímica y Biomedicina Molecular, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona.

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

**Otros grupos:** U730, U731, U716

El transportador de aminoácidos neutros LAT2 se expresa fundamentalmente en riñón, intestino, cerebro y placenta en ratón. La ablación de Lat2 produce una ligera aminoaciduria, cierta incoordinación motora y disminución en el reflejo de sobresalto acústico. Para profundizar en el fenotipo auditivo, se evaluaron los potenciales evocados de tronco cerebral, la citoarquitectura coclear y la expresión de marcadores específicos en ratones C5BL/6J\*129Sv Lat2 knockout, heterocigoto y wildtype, en dos grupos de edad (4-7 meses y 10-18 meses). Además se caracterizaron los niveles de transcrito y proteína LAT2 a diferentes edades en cóclea de ratones control.

Los resultados confirmaron que Lat2 se expresa en la cóclea de ratón wildtype y que los niveles de transcrito aumentan con la edad. El transportador LAT2 se localiza en ligamento espiral, limbo espiral y ganglio coclear, y sus niveles están reducidos en el heterocigoto y ausentes en el knockout. Los ratones nulos presentan una hipoacusia moderada en ambas edades, mientras que en los heterocigotos la pérdida auditiva se manifiesta sólo a la edad más avanzada y afectando principalmente a las frecuencias altas. La deficiencia en el transportador da lugar a pérdida de células ciliadas en el órgano de Corti y de neuronas del ganglio coclear, así como una desestructuración de la estría vascular, con menor expresión del canal Kir4.1

El fenotipo de ratón Lat2 knockout sugiere que la deficiencia en el transportador LAT2 ocasiona hipoacusia asociada con la edad (age-related hearing loss, ARHL). Financiado parcialmente por ACCI 2016.

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

## Mutaciones en el transportador de aminoácidos LAT2 (SLC7A8) subyacen a la hipoacusia asociada al envejecimiento (ARHL)

*Errasti- Murugarren, E1,2\*, Espino Guarch, M2,3,4\*, Giroto, G3, Vuckovic, D3, Zorzano A2,25,6, Gasparini P3&, Nunes V&,1,4,7, Palacin M1,2,5& \* These authors contributed equally to this work. &, These authors share leadership 1 Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER –CB06/07/0069 y CB06/07/0100), Instituto de Salud Carlos III. Barcelona .España 2 Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), The Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona. España. 3 Sidra Medical and Research Center, Experimental Genetics, Doha, Qatar. 4 Laboratorio de Genética Molecular – IDIBELL, Barcelona, España 5 Departamento de Bioquímica y Biomedicina Molecular, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona, España. 6 Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM). Barcelona, (CB07 / 08/0017), España. 7 Sección de Genética, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias de la Salud y Medicina, Universidad de Barcelona, España*

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

**Otros grupos:** Virginia Nunes (U730)

El fenotipo ARHL de los ratones LAT2 knockout promovió la búsqueda de variantes de secuencia en SLC7A8 en pacientes con ARHL. Se secuenció el genoma de los habitantes de dos pueblos italianos aislados geográficamente. A los habitantes de  $\geq 50$  años de edad se les realizaron audiometrías para clasificarlos en dos grupos: pacientes (66 casos) y controles (88 habitantes). En los casos de ARHL se descartaron causas no hereditarias e hipoacusias sindrómicas. Se identificaron 7 variantes de cambio de sentido en heterocigosis confirmadas por secuenciación mediante Sanger. Se encontraron 4 variantes en 4 casos ARHL (2,5% de los casos estudiados) y 3 variantes en 3 controles. La expresión de LAT2 (proteína de referencia o WT y las 7 variantes identificadas) y el transporte de aminoácidos inducidos se estudió en células HeLa transfectadas. Las cuatro variantes presentes en los casos ARHL mostraron un claro defecto en el transporte de L-tirosina (entre el 1% y el 40% de transporte de la proteína WT remanente) mientras que las 3 variantes presentes en los controles no afectaron el transporte de este aminoácido (entre el 85% y el 100% de transporte remanente). Las variantes patológicas identificadas se sitúan en dominios estructurales que afectan su tráfico a la membrana y estabilidad, el canal del sustrato o el mecanismo del ciclo de transporte. En su conjunto, los estudios en ratón y pacientes con ARHL demuestran que la pérdida de función de LAT2 ocasiona hipoacusia asociada con la edad.

Financiado parcialmente por ACCI 2016 (U730 y U731)

[manuel.palacin@irbbarcelona.org](mailto:manuel.palacin@irbbarcelona.org)

## Cystine lithiasis modulation in a cystinuria KO mouse model (Slc7a9-/-)

*Miguel López de Heredia1, Luis Lucena1, Miriam C. Fernández-Vaquero1, Belén García1, Clara Mayayo-Vallverdú1, Laura González1, Esther Prat1,2, Rafael Artuch3, Antonia Ribes4, Judit García4, Manuel Palacín5,6, Virginia Nunes1,2 U730, Human Molecular Genetics Laboratory, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. 2Genetic Unit, Physiological Sciences Departament, Health Science and Medicine Faculty, University of Barcelona, Spain. 3U703, Clinical Biochemistry Department and Institute of Research Pediatrics. Sant Joan de Déu Hospital. Barcelona, Spain.4U737, Div. Inborn Errors of Metabolism, Dpt. Biochemical and Molecular Genetics, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona, Spain.5U731, Biochemistry and Molecular Biology Department, Biology Faculty, University of Barcelona, Spain.6Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), Barcelona, Spain.*

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

**Otros grupos:** U731, U703, U737

Cystinuria is a hereditary disorder caused by a defect in the apical membrane transport system, b0,, for cystine and dibasic amino acids in renal proximal tubules and intestine, resulting in recurrent urolithiasis. Mutations in SLC3A1 and SLC7A9 genes, that codify for rBAT/b0, AT transporter subunits, cause type A and B cystinuria, respectively as are in charge of reabsorbing 90% of the excreted cystine. In humans, cystinuria treatment is based on the prevention of calculi formation and its dissolution or breakage. Persistent calculi are treated with thiols for cystine solubilization with important side-effects, causing discontinuation of treatment. In a recent study we described AGT1 (SLC7A13) as the second cystine renal transporter. Differences in lithiasis onset and progressin in both, human and mice, even when sharing mutations led us to investigate the existence of modulating genes using animal models for cystinuria. We have observed differences in cystine lithiasis onset depending on genetic background and sex. The latter could be explained, in part, by differences in the expression of AGT1. We have analyzed amino acid, and organic acids in lithiasic and non-lithiasic mice. We have also investigated the implication of a putative modulating gene in cystine lithiasis and the effect of one of the molecules it transports on lithiasis progression. In a KO mouse model for a putative modulating gene, found in a transcriptomic approach, we have observed differences in cystine lithiasis onset and a compound tested as a putative treatment showed no effect on cystine lithiasis progression.

Financed by: FIS (PI13/00121-FEDER,VN) and CIBERER (ACCI-2014,MP/VN/JG)

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

## SESIÓN DE PRESENTACIÓN DE RESULTADOS II SALA I, JUEVES 23 15:30-17:45

### Presentaciones Orales

#### WES reveals a novel mutation in the GGPS1 gene in three sisters with bisphosphonates-associated atypical femoral fractures

Roca-Ayats, N., Garcia-Giralt, N., Falcó-Mascaró, M., Martínez-Gil, N., Abril J.F., Urreizti, R., Dopazo, J., Quesada Gómez, J.M., Nogués, X., Mellibovsky, L., Prieto-Alhambra, D., Dunford, J.E., Javaid, M.K., Russell, R.G., Grinberg, D., Balcells, S., Díez-Pérez, A.  
**Grupo CIBERER:** U720 Departamento de Genética, Genética Molecular Humana, Facultad de Biología, Universitat de Barcelona, Barcelona  
**Otros grupos:** U715

Atypical femoral fractures (AFFs) are a rare but devastating type of fractures often associated with long-term bisphosphonate (BPs) therapy, the main treatment for osteoporosis and cancer-related bone disease. Unfortunately, the mechanisms underlying the pathogenesis of AFFs remain unclear. Given the low incidence of these fractures, there may be underlying genetic causes that might interact with BPs to trigger their occurrence.

We identified three sisters and three additional unrelated patients, all presenting with AFF and treated with BPs for more than 5 years. The present study explored their genetic background by whole exome sequencing. Rare non-synonymous mutations shared among the three sisters were selected, considering either a dominant or a recessive inheritance model. We detected 37 rare heterozygous mutations in 34 genes. Among them, a novel mutation was found in the gene encoding geranylgeranyl diphosphate synthase (GGPPS), an enzyme crucial for osteoclast function, which can be inhibited by BPs. Other identified variants, such as those found in the CYP1A1 and in the mevalonate pyrophosphate decarboxylase (MVD) genes, may also contribute to susceptibility to AFF. Pathway analysis among the mutated genes showed enrichment of the isoprenoid biosynthetic pathway (GO:0008299), containing these three genes (p-value 0.0006). Preliminary functional studies of the GGPS1 mutation show a reduced enzymatic activity of the mutated protein.

Our results are compatible with a model in which an accumulation of susceptibility variants (including some in relevant genes, notably GGPS1) constitutes a possible genetic component of AFF causality and may lead to novel risk assessment tools to personalize osteoporosis therapy.

[neus.roca@ub.edu](mailto:neus.roca@ub.edu)

#### Desarrollo de una plataforma para el manejo de datos de secuenciación de nueva generación: lecciones aprendidas y futuro

Dopazo J, Antiñolo G, Ayuso C, Lapunzina P, Moreno MA, Jaijo T, Millán JM, 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 y U755

A lo largo de 2016, ocho grupos CIBERER llevaron a cabo un proyecto ACCI que puede considerarse la primera iniciativa a nivel del país para desarrollar un sistema piloto que facilite el manejo de datos de secuenciación de nueva generación, especialmente orientado al diagnóstico de patologías raras. El objetivo general de este proyecto, con grandes complejidades tecnológicas, consistió en el desarrollo de un software que lee directamente los archivos de variantes (VCF) generados por el secuenciador, permitiendo la definición de paneles virtuales y su uso para la detección automática de variantes diagnósticas dentro de ellos.

Mientras que las funcionalidades fueron implementadas con relativa facilidad, los problemas más importantes detectados a lo largo del proyecto se derivaron de las dificultades de obtener ficheros VCF en los grupos que secuenciaban, que realmente siguiesen el estándar del formato VCF. Esto causó permanentes problemas de carga de datos para los que se han ensayado varias soluciones.

La colaboración con Genomics England Ltd (GEL), el proyecto de los 100.000 genomas, nos permite acceder a la tecnología de almacenamiento de datos genómicos más avanzada actualmente, de la que se beneficiará la nueva versión de la plataforma en la que estamos trabajando.

Este proyecto aunó los esfuerzos de siete grupos experimentales y uno bioinformático, siendo una de las ACCI más colaborativa y ha sentado las bases para el desarrollo de un nuevo sistema más robusto y escalable y con mayor versatilidad de uso.

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

## Interpretando cambios en expresión génica o mutaciones en términos de actividad funcional o metabólica con modelos de actividad de pathways.

Hidalgo, MR, Salavert, F, Cubuk, C, Carbonell-Caballero, J, Dopazo J.

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

Recientemente hemos desarrollado modelos que permiten transformar datos de expresión génica o de mutaciones en valores de actividad de los circuitos que transmiten la señal desde las proteínas receptoras a las efectoras (que desencadenan funciones celulares) dentro de los pathways de señalización. Por medio de estos modelos es posible estimar cambios en la actividad de las funciones celulares, que explican mecanismos de enfermedad y son más fáciles de relacionar con fenotipos que las actividades de los genes. Hemos demostrado en distintos casos de uso que dichas actividades realmente están relacionadas con fenotipos complejos como supervivencia de pacientes o respuesta a fármacos. Hemos extendido estos modelos al cálculo de la actividad metabólica con resultados similares. Finalmente hemos desarrollado software de uso intuitivo para facilitar su aplicación.

Buscamos colaboraciones con grupos que trabajen con enfermedades en los que la señalización o el metabolismo sean relevantes. También buscamos otros sistemas biológicos que sean susceptibles de ser modelizados de manera similar.

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

## EpiDisease. Innovación en diagnóstico in vitro basada en epigenética.

García-Giménez, J.L.; Mena Mollá, S.; Peiró-Chova, L.; Ibañez-Cabellos, S., Seco-Cervera, M., Romá-Mateo, C., García-López E., González D., Soro P., Beltran-García J., Pérez-Machado G., Pallardó, F.V.

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

Recientemente nuestro grupo ha estudiado eventos epigenéticos asociados a la variabilidad fenotípica en algunas enfermedades que podrían tener una aplicación directa en la práctica clínica. Además, hemos descrito las características que debería tener un potencial biomarcador epigenético y como este tipo de biomarcadores puede contribuir a mejorar la medicina de precisión.

Con este afán de generar nuevas herramientas de diagnóstico in vitro basadas en la epigenética y transferir conocimiento al sector biosanitario nace EpiDisease en 2014. EpiDisease S.L., la primera Spin-Off del CIBER (ISCIII), es una compañía de investigación e innovación basada en tecnología de base epigenética que tiene como objetivo desarrollar y comercializar una cartera de productos propios para el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades humanas con especial foco en las patologías de baja prevalencia. 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 y sus familias.

En esta comunicación presentamos dos de las tecnologías patentadas por el CIBER en el que ha participado el equipo de investigación de la U733 y EpiDisease, que consisten en un kit de diagnóstico de la escoliosis idiopática en adolescentes basado en una firma de microARNs y un kit para el diagnóstico y pronóstico del shock séptico basado en la detección de histonas circulantes.

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

## Systemic view of the comorbidity of rare diseases

Moya-García A.A., Rojano E., Moreno F., Medina M.A., Sánchez-Jiménez F., Ranea J.A.G.

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

Comorbidity—the coexistence of two or more diseases in the same individual—assumes a correct disease definition and diagnosis, which is especially difficult to achieve in rare diseases and rare syndromes <sup>(1)</sup>. Thus, comorbidity relationships between diseases involve uncertainty in diagnosis and treatment of rare diseases.

Rare diseases and syndromes emerge from the complex molecular interactions in various pathological processes. These network-based relationships between genes and diseases are systematically mapped in diseasesomes, which explain how diseases are linked at the molecular level <sup>(2)</sup>. Diseasesomes offer an indirect perspective of comorbidity relationships by assuming that diseases sharing molecular mechanisms co-occur in the same patients.

In this communication, we present a phenotype network that overcomes this limitation of diseasesomes, and offer insights on the direct comorbidity relationships between diseases. We linked together pathological phenotypes if

they are annotated to the same patients in DECIPHER<sup>(3)</sup>. We mapped rare diseases from Orphanet ([www.orpha.net](http://www.orpha.net))—considered as sets of phenotypes—onto the phenotype network, to show how rare diseases form groups of interconnected pathological phenotypes. The phenotype network offers a systematic perspective of rare diseases comorbidity, with potential use in disease classifications and diagnosis.

1. Hu et al. Network biology concepts in complex disease comorbidities. *Nature* 17, 615–629 (2016).
2. Barabási et al. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nature* 12, 56–68 (2011).
3. Firth et al. DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. *Am. J. Hum. Genet.* 84, 524–533 (2009).

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

### Sistemas de predicción como apoyo a la investigación de enfermedades raras

Rojano E., Seoane P., Bueno A., Perkins, J.R, Ranea, J. A.

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

**Otros grupos:** CB06/07/0010

El 80% de las enfermedades raras tienen origen genético. Las alteraciones en distintas regiones del genoma pueden afectar a genes causantes de los fenotipos patológicos observables en el paciente. La asociación de regiones afectadas con fenotipos patológicos podría ayudar a clínicos e investigadores a esclarecer los motivos por los cuales tienen lugar las enfermedades raras. Nuestro grupo de investigación, a través del estudio de redes, se ha centrado en el desarrollo de sistemas de asociación utilizando información obtenida de la base de datos Databases of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (DECIPHER), que incluye información de pacientes que padecen enfermedades raras y sus regiones genómicas afectadas. En base a los datos de asociación obtenidos, actualmente estamos desarrollando un sistema de predicción que ayude a una mejor comprensión de estas enfermedades. A partir de una lista de fenotipos patológicos clínicamente observados y anotados en un sistema jerárquico como es la Human Phenotype Ontology, nuestra herramienta predice las regiones genómicas que tienen un mayor nivel de asociación con los fenotipos patológicos consultados. Con esta información, además se pueden localizar los genes posicionados en las regiones afectadas y de esta manera ver su relación con los fenotipos patológicos observados, convirtiendo este sistema en una herramienta útil de apoyo en la investigación de este tipo de enfermedades.

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

### Efficacy of Network-Based Computational Strategies in the Diagnosis and Novel Gene Identification for Inherited White Matter Disorders

Ruiz M, Schlüter A, Verdura E, Rodríguez-Palmero A, Homedes C, Martínez JJ, O'Callaghan M, Quintáns B, Sobrido MJ, Artuch R, González L, Macaya A, López de Munaín A, Casasnovas C 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

**Otros grupos:** U703, U711, GCV6, GCV8, GCV9

Leukodystrophies and Hereditary spastic paraplegias (HSPs) are neurodegenerative diseases manifesting frequently with similar clinical pictures, i.e. chronic progressive spasticity, due to common underlying causes and physiopathological mechanisms. Although the genetic basis is partly understood, only a small fraction of cases receives a definitive genetic diagnosis using targeted approaches (either single gene or metabolic screening) nowadays. Whole exome sequencing (WES) may ameliorate diagnostic yield and identify novel causative genes for this group of disorders. To improve efficacy of our GATK-based pipeline, we have developed a global, network-based computational method designed to prioritize disease genes based on their network of protein-protein interactions. Following strictly the ACMG criteria (Richards et al, *Genet Med* 2015) for interpretation of variants, our diagnostic yield from 66 WES cases is as follows: i) positive diagnosis in 71% (pathogenic, likely pathogenic or vus variants); ii) novel candidate genes in 9%; and iii) Inconclusive cases in 20%. Our analysis links HSP and leukodystrophy to other neurodegenerative disorders and may facilitate gene discovery and mechanistic understanding of white matter and cortical motor neuron diseases.

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

### RNA-seq data analysis in the miR-96 mutant mouse *Diminuendo* reveals the nasal epithelium as a target tissue to explore drug-based therapeutic approaches

*Morín M1, Lewis M2, García F3, Borreguero L1, Barca V1, Ajenjo M1, Dopazo J3, Steel KP2 and Moreno-Pelayo MA1*  
1 Genetics Department, Hospital Ramón y Cajal-IRYCIS-CIBERER-U728, Madrid, Spain; 2 Wolfson Centre for Age-Related Diseases, King's College London, UK; 3 Genomic Unit, Centro de Investigación Príncipe Felipe, CIBERER-U715, Valencia, Spain.

**Grupo CIBERER:** U728 Unidad de Genética Molecular, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio Madrileño de Salud, Madrid  
**Otros grupos:** U715

Point mutations in miR-96 cause DFNA50 hearing loss in human and in the *Diminuendo* mouse (Dmdo). In Dmdo the sensory hair cells crucial for hearing fail to develop fully and retain immature characteristics, suggesting that miR-96 is important for coordinating hair cell maturation. In this study we have: 1) explored if the potential networks/genes controlled by miR-96 in the inner ear are also expressed in the nasal epithelia and; 2) if the *diminuendo* mutation affects the gene expression profile in either the heterozygous and homozygous states. RNA-seq analysis was carried out in nasal epithelium samples of *Diminuendo* mice (3 homozygotes and 3 heterozygotes) and 3 wild-type littermates. The primary analysis confirmed that more than 28,000 genes are expressed in the nasal epithelia of the three genotypes and differences in expression levels were detected between the wt and either of the mutant states ( $p$ -value  $<0.05$ ). Since miR-96 was also readily detected by RNA-seq analysis, we assumed that the miR-96 mutation affects the regulatory role of this microRNA in the nasal epithelium. We could reproduce simple gene pathways in nasal epithelium similar to those obtained from cochlea. We also have confirmed that the key genes identified in the regulatory networks of miR-96 in the inner ear are also present in the nasal epithelium and some of them (Trp53, Myc, Nr3c1 and Fos) are candidates for therapeutic intervention. Altogether, these data make possible the use of the nasal epithelium as an easy-access target tissue to explore drug-based therapeutic approaches in DFNA50 patients.

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

## SESIÓN II PRESENTACIÓN DE RESULTADOS SALA II, JUEVES 23 15:30-17:45

### Presentaciones Orales

#### Depolarization causes the formation of a ternary complex between GlialCAM, MLC1 and CIC-2 in astrocytes: implications in Megalencephalic leukoencephalopathy

*Hector Gaitan-Peñas, Sònia Sirisi, Xabier Elorza-Vidal, Tanit Arnedo, Mercedes Armand-Ugón, Gerard Callejo, Xavier Capdevila-Nortes, Tania López-Hernández, Uwe Schulte, Alejandro Barrallo-Gimeno, Virginia Nunes, Xavier Gasull, Raúl Estévez, Sònia Sirisi*

**Grupo CIBERER:** U750 Departamento de Ciencias Fisiológicas II, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona  
**Otros grupos:** U730

Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts (MLC) is a rare type of leukodystrophy caused by mutations in either MLC1 or GLIALCAM.

GlialCAM is necessary for the correct targeting of MLC1, but also for the targeting of the Cl<sup>-</sup> channel CIC-2. Furthermore, GlialCAM modifies CIC-2 functional properties in vitro. However, in vivo studies in GlialCAM<sup>-/-</sup> mice have shown that the modification of CIC-2 activity only occurs in oligodendrocytes, despite GlialCAM and CIC-2 being expressed in astrocytes.

Thus, the relationship between GlialCAM, MLC1 and CIC-2 in astrocytes is unknown. Here, we show that GlialCAM, CIC-2 and MLC1 can form a ternary complex in cultured astrocytes, but only under depolarizing conditions. We also provide biochemical evidences that this ternary complex also exist in vivo. The formation of this complex changes CIC-2 localization in the membrane and its functional properties. CIC-2 association with GlialCAM/MLC1 depends on calcium flux through L-type calcium channels and activation of calcium-dependent calpain proteases. Based on these studies, we propose that the chloride influx mediated by GlialCAM/MLC1/CIC-2 in astrocytes may be needed to compensate an excess of potassium, as it happens in conditions of high neuronal activity. We suggest that a defect in this compensation may contribute to the pathogenesis of MLC disease.

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

### Application of CRISPR/Cas9 technology in zebrafish to understand the possible function of CDON in eye and kidney malformations

Gallardo V., Letelier J., Sandonis A., Cardozo, M., Ayuso C., Martínez-Morales, JR; Cortón-Perez M.; Bovolenta P.

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

**Otros grupos:** U704

Patterning of the vertebrate optic vesicle into proximal/optic stalk and distal/neural retina involves midline-derived Hh signalling, which promotes stalk specification. In the absence of Hh signalling, the stalk is not specified, forming a single cyclopic eye. However, work from our laboratory has shown that the cell adhesion molecule Cdon presents a complementary expression pattern to the canonical Hh receptor Ptc and acts as a negative Hh signalling regulator during the formation of the eye in zebrafish. At the neural retina/optic stalk border Cdon binds Hh, serving as a decoy receptor to protect the neural retina from Hh activity, likely preventing its diffusion and limiting its long-range signalling. In Cdon absence, embryos develop eye coloboma. How Cdon controls Hh dispersion shaping the gradient responsible for the correct P-D patterning of the eye remains unknown. Furthermore, mutations in children and fetuses affected by kidney defects (in cases associated to eye malformations) have been found in humans, suggesting that Cdon function might be relevant to kidney development. To address both questions we have used CRISPR/Cas9 technology to generate a series of cdon zebrafish mutant lines. We will present the data of the ongoing phenotypic characterization of these lines using a combination of morphological studies and expression analysis of markers commonly used to study eye and kidney development.

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

### Generation of mouse models with large, moderate and small deletions by CRISPR/Cas9 to study retinal gene function

Marfany, G. López-Iñiesta, M<sup>a</sup> J. González-Duarte, R.

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

**Otros grupos:** ACCI-2015, ACCI-2016

Mutations in over 200 genes are associated to inherited monogenic retinal degenerative diseases (prevalence 1:3000 worldwide), but we are still far from completely understanding their ethiopathology. Therefore, animal models are an essential tool to complement in vitro and cell culture assays. We aimed to generate two different mouse models by genome editing of Cerkl and Nr2e3, two retinal dystrophy genes, to dissect and characterize their precise role in photoreceptor cells. We have generated mouse models by the new CRISPR genome approach, with the Cas9 nickase variant. For Cerkl, we designed and obtained the full gene deletion (approx. 100 kb). For Nr2e3, we aimed to delete some of the functional domains of this transcription factor, and thus, moderate (600-800nt deletions) and small deletion alleles (few base pairs) were also obtained. After zygote injections and embryo transfer, mosaic pups were genotyped to characterize the modified alleles and used as founder animals to obtain heterozygous and homozygous mice in subsequent matings. We have stable lineages in which viability studies and phenotypic assessment of the retinal morphology is being assessed. The comparison between these new genetically modified strains to other knock-out and knock-down animal models will provide relevant insights of the role of CERKL and NR2E3 in visual disorders.

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

### Generación y análisis de nuevos modelos animales de diferentes tipos de albinismo mediante la tecnología CRISPR

Josa S, Fernández A, Cantero M, Fernández J, Montero A, Robles I, de Lara C, López-Mancheño Y, Montoliu L

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

La tecnología de edición génica mediada por las herramientas CRISPR ha revolucionado la biomedicina, permitiendo generar modelos celulares y animales más precisos e ilustrativos de las correspondientes mutaciones diagnosticadas en humanos. En el laboratorio hemos aplicado la tecnología CRISPR para generar nuevos modelos animales, en ratón, de diversos tipos de albinismo. Se conocen actualmente hasta 20 genes cuyas mutaciones están asociadas con algún tipo de albinismo, una enfermedad rara caracterizada por un déficit visual importante y muy discapacitante, que puede presentarse simultáneamente con alteraciones en



la pigmentación en la piel, ojos y pelo, pero que sin embargo no aparecen en todos los casos ni, si lo hacen, se manifiestan con igual intensidad. Mediante CRISPR hemos generado diversos alelos mutantes del gen de la tirosinasa (Tyr) en los que hemos inactivado diferentes regiones reguladoras y establecido su relevancia para la expresión correcta del locus. Igualmente hemos generado variantes alélicas de Tyr cuya patogenicidad no está plenamente establecida, y otras variantes alélicas de otros genes de albinismo asociados a mayor predisposición a padecer distintos cánceres de piel y/o detectados en la población a través de nuestra estrategia de diagnóstico Albinochip. También estamos usando la tecnología CRISPR para acotar y determinar el gen implicado en uno de los tipos de albinismo, asociado a una región cromosómica del genoma en la que aparecen diversos genes candidatos. En esta presentación compartiremos el estado actual de nuestras investigaciones en los diversos modelos de ratón editados genéticamente que están siendo generados y analizados en el laboratorio.

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

### Identification and characterization of variants and a novel rare 4bp deletion in the regulatory region of SIX6, a risk factor for Primary Open Angle Glaucoma

*Bovolenta P., Shah M.S., Tabanera N., Krishnadas S.R., Pillai M. and Sundaresan P.*

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

Primary open-angle glaucoma (POAG) is a complex disease of multigenic inheritance and the most common subtype of glaucoma, which is the second leading cause of blindness worldwide. Previous studies showed a significant genetic association between the SIX6 locus and POAG and there is a hint that changes in SIX6 expression might also be relevant. We sequenced the SIX6 locus in a cohort of south Indian POAG patients and matched controls, identifying two known rare and two common variants in the SIX6 locus. Contrary to previous studies, we could not establish a significant genetic association between the two common rs10483727 and rs33912345 variants and POAG in Indian ethnicity. However, patients carrying the variants risk alleles exhibited a dose-dependent reduction of the peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and a significant increase of the vertical cup disc ratio, two parameters used to diagnose POAG. Notably, we also identified a novel rare 4bp deletion in conserved enhancer region that we previously characterized as important for six6 retinal expression in medaka fish. Using transgenesis in zebrafish and luciferase assays, we demonstrated that this deletion significantly reduces reporter expression in cells of the retinal ganglion and amacrine layers, where human SIX6 is expressed, suggesting SIX6 haploinsufficiency in the retina of patients carrying this deletion. Altogether our data further supports the implication of SIX6 variants as POAG risk factors and implicates that reduced levels of SIX6 gene expression might be a rare but relevant cause of POAG pathogenesis.

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

### Caracterización de los Patrones de Expresión de las Isoformas A y B del Gen NIPBL en Tejidos Adultos y Fetales, y Fenotipo Leve por Mutación de la Isoforma A

*Ramos Fuentes FJ, Puisac Uriol B, Teresa-Rodrigo ME, Hernández-Marcos M, Gil-Rodríguez MC, Baquero-Montoya C, Bueno Martínez I, López-Triguero S, Gil-Clavero S, Santiago-Arcos FJ, García Ortín J, Pié Juste 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 (CdLS) es un trastorno congénito del desarrollo caracterizado por dismorfia craneofacial, retraso del crecimiento, discapacidad intelectual, y malformaciones de extremidades sobre todo superiores. El 60% de los pacientes tienen mutaciones en el gen NIPBL, del que se conocen seis isoformas, la A y la B son las más largas y sólo difieren en la región C-terminal. En este trabajo, a partir de paneles comerciales de cDNA y mediante qPCR, se ha realizado la primera evaluación de los patrones de expresión de estas variantes en tejidos adultos y fetales. Aunque ambas isoformas parecen encontrarse en todos los tejidos, la isoforma A es la dominante. Curiosamente, la expresión en los tejidos fetales es mayor que en los adultos, especialmente en el cerebro y el músculo esquelético. Se describe también una nueva mutación (c.8387A> G, p.Y2796C) del gen NIPBL en dos hermanos con fenotipo leve y atípico de SCdL y sensibilidad de daño al DNA normal. La mutación está localizada al final del gen afectando solo a la isoforma A.

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

## Mutaciones somáticas en PIK3CA causan el síndrome CLAPO

Rodríguez-Laguna, L; Ibañez, K; López-Gutiérrez, JC; Ruiz-Perez, VL; Gordo, G; Lapunzina, P; Martínez-Glez, V.

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

**Otros grupos:** CB06/07/1029

**Introducción:** CLAPO es un síndrome vascular y de sobrecrecimiento complejo y de causa desconocida. Se caracteriza por malformación capilar de labio inferior, malformación linfática en región cervico-facial, asimetría facial y sobrecrecimiento parcial o generalizado. Debido al patrón de distribución de los tejidos afectados, así como a su solapamiento fenotípico con los síndromes de sobrecrecimiento asociados a PIK3CA (PROS), decidimos estudiar 13 pacientes con CLAPO bajo la hipótesis de que también podía estar causado por mutaciones activantes en forma de mosaico somático en el gen PIK3CA.

**Materiales y Métodos:** Se desarrolló un panel custom de NGS y un algoritmo bioinformático para detectar mosaicos bajos en muestras pareadas sangre/tejido disponibles en 9 de los 13 pacientes. Las variantes candidatas fueron validadas según su porcentaje de lecturas: Sanger >15%, pirosecuenciación >5% y ddPCR <5%. Para validar el efecto de ganancia de función (GOF) de variantes en PIK3CA no descritas previamente se realizó mutagénesis dirigida, transfección y western blot para medir fosforilación de AKT, su diana natural.

**Resultados:** Identificamos 5 diferentes mutaciones en mosaicismo somático bajo (5-16%) en PIK3CA en el tejido afecto de 6/9 pacientes. Tres de las mutaciones habían sido descritas en PROS. Las otras 2 mostraron GOF comparadas con wt.

**Conclusiones:** Describimos que las mutaciones GOF en mosaico en el gen PIK3CA son causantes de CLAPO y sugerimos incluir este síndrome en el espectro PROS. Estos hallazgos permitirán un mejor diagnóstico del síndrome, que también se beneficiará de cualquier posible tratamiento futuro dirigido a la vía PI3K-AKT-mTOR.

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

## Espectro molecular y diagnóstico diferencial en pacientes con osteogénesis imperfecta identificados como esporádicos o con herencia recesiva

Cristina Estañ, Caparros-Martin JA, Aglan M, Temtamy S, Otaify GA, Valencia M, Nevado J, Vallespin E, Del Pozo A, Prior de Castro C, Calatrava-Ferreras L, Gutiérrez P, Bueno A, Sagastizabal B, Guillen-Navarro E, Ballesta-Martinez M, Gonzalez V, Martínez-Glez V, Heath KE, Lapunzina P, Ruiz-Perez VL

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

**Otros grupos:** U753, GCV14/ER11

La Osteogénesis imperfecta (OI) es una enfermedad caracterizada por fracturas recurrentes cuya prevalencia es 6-7/100.000. Aunque la mayoría de casos presentan herencia dominante y portan mutaciones heterocigotas en *COL1A1* y *COL1A2*, recientemente ha habido una explosión en el número de genes causantes de formas tanto recesivas como dominantes de OI. Con la intención de identificar qué genes están mutados en pacientes de OI sin antecedentes familiares de esta enfermedad, estudiamos una cohorte de 42 casos, de los que 20 eran hijos de padres no emparentados y 22 eran descendientes de parejas con diverso grado de consanguinidad. Los pacientes de padres no-consanguíneos presentaron predominantemente mutaciones de novo en *COL1A1/2*, y en menor grado en *IFITM5* (n=3), excepto un paciente que fue identificado con una mutación heterocigota de expresividad variable en *WNT1* y otro que resultó ser un heterocigoto compuesto para mutaciones en el gen recesivo *SERPINF1*. Por el contrario, los casos consanguíneos mostraron mayoritariamente variantes patogénicas en genes recesivos (*CRTAP*, *FKBP10*, *LEPRE1*, *PLOD2*, *PPIB*, *SERPINF1*, *TEMEN38B* y *WNT1*). No obstante, dos casos consanguíneos resultaron tener mutaciones de novo en *COL1A1*, indicando que en familias consanguíneas no se puede descartar la presencia de alteraciones en *COL1A1/2*. Asimismo, el análisis de exoma completo de pacientes negativos para los loci de OI conocidos de esta cohorte reveló la presencia de variantes deletéreas en dos genes de insensibilidad al dolor *NTRK1* y *SCN9A* y en el gen del síndrome Fanconi-Bickel *SLC2A2*, por lo que estas patologías deben ser consideradas en el diagnóstico diferencial de OI.

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

## Caracterización funcional de mutaciones en EVC asociadas a manifestaciones clínicas tipo disostosis acrofacial de Weyer

Adrian Palencia-Campos, Maria Abancens, Maria Valencia, Victor L Ruiz-Perez

**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) es una displasia condroectodérmica de carácter autosómico recesivo causada por mutaciones en cualquiera de las dos subunidades del complejo ciliar EVC-EVC2. Los pacientes con esta enfermedad presentan extremidades y costillas cortas, polidactilia postaxial bilateral, múltiples frénulas, displasia de uñas y dientes y en el 60% de los casos defectos en la formación del tabique atrioventricular. Aunque la mayoría de mutaciones en EVC o EVC2 son recesivas, existen cambios específicos en el último exón de EVC2, que en heterocigosis dan lugar a una forma menos grave de la enfermedad denominada disostosis acrofacial de Weyer (Weyers). Aquí presentamos dos pacientes con fenotipo leve, similar a Weyers, pero originado por mutaciones recesivas en EVC. La caracterización molecular y funcional de estas mutaciones, incluyendo su impacto en la vía de señalización de hedgehog en fibroblastos de pacientes, permite explicar la menor gravedad de las características clínicas de estos pacientes, expandiendo así el espectro de fenotipos asociados a mutaciones recesivas en EVC-EVC2.

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

## SESIÓN III PRESENTACIÓN DE RESULTADOS SALA I, JUEVES 23 18:15-19:00

### Programa CIBERER de Enfermedades raras No Diagnosticadas (ENoD): Contribución al diagnóstico molecular preciso de pacientes no resueltos mediante una aproximación colaborativa

S.D. Tatu, A. Medrano, M.J. Ballesta-Martínez, J. Dopazo, S. García-Miñaur, B. Gener, E. Guillén, F. Ramos, J. Rosell, A. Sánchez, F. Santos, I. Tejada, M. Milà, L.A. Pérez-Jurado

**Grupo CIBERER:** U735 Unidad de Genética, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona  
**Otros grupos:** U726; U753; U715

Las enfermedades raras (ERs) son un grupo importante de patologías de muy difícil diagnóstico, en un alto porcentaje (>80%) de causa genética. La discapacidad intelectual (DI), los trastornos del espectro autista (TEA), y la epilepsia (E), son fenotipos complejos, interrelacionados y asociados a diversas ERs. Presentan una alta heterogeneidad y una mayor dificultad diagnóstica, con tasas de éxito inferior a 1/3 de los casos. Aunque disponibles, las técnicas moleculares avanzadas (cariotipado molecular y ultrasecuenciación) no son rutina diagnóstica, muchos profesionales de la salud implicados adolecen de una base sólida en Medicina Genómica y la imputación de causas genéticas suele ser un proceso anárquico. Desde el CIBERER se ha establecido un programa para contribuir al diagnóstico de ERs no diagnosticadas (ENoD) con una fase piloto focalizada en DI/TEA/E y los siguientes objetivos:

1. Establecer una cohorte de casos bien estudiados y sin diagnóstico causal, registrados en una base de datos común, para la revisión cruzada de expertos colaboradores y la selección para aplicar nuevas técnicas diagnósticas.
2. Optimizar protocolos de estudio, algoritmos bioinformáticos de análisis, y establecer guías clínicas.
3. Compartir libremente los datos generados.
4. Contribuir a la formación de profesionales de la salud en Medicina Genómica.

Actualmente la base de datos tiene registrados cerca de 100 casos, cuya evaluación y re-análisis están en curso.

Esta aproximación colaborativa facilitará el estudio integral de pacientes con ERs, contribuyendo a la implementación de la Medicina Genómica y mejorando las tasas de éxito.

[sorina.tatu@ciberer.es](mailto:sorina.tatu@ciberer.es)

### RD-Connect platform: A useful tool for the undiagnosed rare diseases program SpainUDP

López, E; Laurie, S; Beltrán, S; Bermejo, E; Hens, M; Martínez-Delgado, B; Gómez-Mariano, G; Alonso, FJ; Monzón, S; Cuesta, I; Thompson, R; Dawson, J; Lochmuller, H; Gut, I; Posada, M

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

**PURPOSE:** Description of the usefulness of the RD-Connect platform for SpainUDP (Spanish Undiagnosed Rare Diseases Program), which has been implemented by the Institute of Rare Diseases Research (IIER) of the ISCIII.

**METHODS:** SpainUDP aims to offer a multidisciplinary approach to those patients who have long sought a diagnosis without any success. As IIER is a full member of RD-Connect, it is contributing with their undiagnosed cases to the platform of this project.

**RESULTS:** In a first phase of the approach, cases sent to SpainUDP are required to provide all clinical information available. If actions carried out during this phase are not enough to achieve a diagnosis, genetic analyses are performed and genotype-phenotype correlation is managed by using the RD-Connect platform.

Raw genomic data from sequencing experiments is realigned and reprocessed through a standard pipeline and held in the central RD-Connect database. The processed data is available for online analysis through a user-friendly interface and it is combined with phenotypic information by using a HPO-based software called PhenoTips. Also, the system allows to push data to Phenome Central (PC), a central repository that facilitates the matching of cases with similar clinical profiles.

**CONCLUSIONS:** RD-Connect platform enables a comparison of patient data from SpainUDP across multiple projects submitting data to the platform, as well as an analysis with sophisticated bioinformatic tools. Also, the possibility of pushing data to PC allows to communicate specific case details within larger shared international networks. Furthermore, RD-Connect is participating in the Matchmaker Exchange initiative, a federated platform to facilitate the matching of similar cases.

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

### Simultaneous analysis of single nucleotide and structural variants through NGS using a targeted panel of genes involved in ocular congenital malformations

Aguilera-García, D. Rodrigues Jacy da Silva, L. Tarilonte, M. Ramos, P. Gómez, A. Villaverde, C. Rosell, J. López, V. Ballesta, M.J. Guillén, E. Trujillo-Tiebas, M.J. Blanco-Kelly, F. Ayuso, C. Corton, M.

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

**Objectives:** Implementation of CNVs detection using a targeted NGS gene panel for the characterization of ocular congenital malformations (OCM).

**Materials&Methods:** A cohort of 88 patients with OCM was analyzed, including 6 control cases with previously known pathogenic variants and CNVs. The remaining 82 uncharacterized patients had variable phenotypes: 31 with anophthalmia-microphthalmia (A/M), 22 with coloboma, 17 with optic nerve anomalies and 12 with anterior segment dysgenesis. A set of 150 genes were selected and included in a custom gene panel (Haloplex). SNVs were analyzed following an in-house bioinformatic pipeline. CNVs identification was performed prioritizing statistically significant regions in the read depth. Custom CGH-arrays (180K, Agilent) are being used for validation purposes.

**Results:** A total number of 19 pathogenic SNVs spanning 14 different genes and 13 additional VUS were identified, validated and segregated in the families. Our specific bioinformatic method in combination with the high depth of coverage (>400X) allowed the detection of the 2 control cases included in the panel, carrying multi-exon deletions of *PAX6*. Additionally, 5 new structural variants were detected: a duplication of *GDF3* and complete deletions of *FOXC1*, *GJA8*, *HPS5* and *OTX2-SIX6*.

**Conclusions:** This study allowed the characterization of 24% of the patients (40% of the patients with A/M). Our results have shown that a NGS panel is a good strategy for the genetic analysis of OCM patients since it permits the co-detection of SNVs and CNVs in a single design when a homogeneous coverage between samples is ensured.

[domingo.aguilera@quironsalud.es](mailto:domingo.aguilera@quironsalud.es)

## SESIÓN III PRESENTACIÓN DE RESULTADOS SALA II, JUEVES 23 18:15-19:00

### EVERREST Trial: DoEs Vascular Endothelial gRowth factor gene theRapy safEly improve outcome in Severe early-onset feTal growth restriction?

*Crovetto F(1), Crispi F(1), Figueras F(1), Spencer R(2), David AL(2), Gratacos E(1). (1)BCNatal, Hospital Clinic and Hospital Sant Joan de Deu, University of Barcelona, CIBERER and IDIBAPS, Barcelona, Spain. (2)Institute for Women's Health, University College London and NIHR University College London Hospitals Biomedical Research Centre, London, UK.*

**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

**Background:** Severe early onset fetal growth restriction (FGR) is a rare condition affecting 1/500 pregnancies. The fetus usually has to be delivered very prematurely to avoid a stillbirth or damage. These babies are at risk of short- and long-term health problems, for the prematurity and the restriction. The main cause of severe FGR is placental insufficiency. At the moment there is no treatment. We are presenting a European collaborative project that aims to improve fetal growth by improving placental vasculature based on gene therapy. The project has demonstrated efficacy and security in animal models (rodents and sheep) and we are about to start a trial in humans.

**Aim:** The EVERREST project proposes to deliver an adenoviral vector into the placenta in order to introduce a gene encoding for the protein Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and promote the growth of placental vasculature. The primary outcome for the trial is to improve fetal growth and to determine safety and tolerability to the mother and fetus.

**Methods:** Phase I/IIa of the clinical trial will assess the safety and efficacy of VEGF gene therapy in the maternal uterine arteries. This will take place at four European centers of excellence. Inclusion criteria are pregnancies with an estimated fetal weight <3rd centile between 20 0 and 26 6 weeks of gestation. Adenovirus VEGF will be administered to the maternal uterine arteries using minimally invasive techniques by interventional radiology. The Adenovirus VEGF will be infused directly into the uterine artery, through a cuffed balloon micro catheter.

[franci.crovetto@gmail.com](mailto:franci.crovetto@gmail.com)

### Translational research and the screening for novel oestrogen related HAE-causing F12 mutations

*López-Lera, A; Quesada, M; Garrido, S; 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 type III (or estrogen-related HAE, HAE3) is a rare contact system (CS) disorder causing periodical, life-threatening edema flares in any body location. It affects mostly women and manifests or exacerbates under high estrogen levels (pregnancy, menstruation, oral contraception...). To date, no routine techniques have been implemented for the diagnosis of HAE3, the only known association being the presence of the founder-effect T328K mutation in coagulation F12 in less than 40% of cases. This makes the diagnosis of most HAE3 cases a difficult task based on recognition of symptoms, presence of familial history and lack of response to allergic treatments. Our aim was to develop a biochemical and genetic pipeline for the identification and functional testing of potential HAE3 causing mutations.

From a cohort of 205 HAE3-suspected pedigrees, we found the T328K mutation in 60 (29%) of them. All symptomatic patients were females except one man with a rather mild phenotype. T328K-negative cases were subjected to genetic screening of the full F12 heavy chain. Those presenting possibly deleterious variants were analyzed for CS overactivation by anti-FXII immunoblot, measurement of FXIIa generation upon 50kDa dextran sulphate (DXS) triggers (S-2302) and C1INH-FXIIa complexes by a novel in-house ELISA. To date, two rare variants have been selected for cloning and expression in HEK293 cells: A343P (2families) and S368F. These variants are linked to high DXS-induced FXIIa generation (concentration- and time-dependant assays), variable levels of spontaneous circulating FXIIa and increased plasma C1INH:FXIIa complexes.

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

### Rare variants of genes involved in N-glycosylation increase the risk for fetal alcohol syndrome under prenatal alcohol exposure.

de la Morena-Barrio ME, Ballesta-Martínez MJ, López-Gálvez R, Antón AI, López-González V, Martínez-Ribot L, Padilla J, Miñano A, García-Algar O, Del Campo M, Corral J, Guillén-Navarro E, Vicente V.

**Grupo CIBERER:** U765, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Murcia

**Otros grupos:** GCV14/ER/1

Diverse pathophysiological mechanisms have been proposed to underlie fetal alcohol syndrome (FAS), a common pattern of growth deficits, dysmorphic features and brain anomalies caused by maternal alcohol consumption during pregnancy, but none of them completely clarify this disorder. The clinical features of these patients and the fact that alcohol interferes the N-glycosylation, encourage including FAS among other disorders of glycosylation, even though no abnormal glycosylation has been found in these patients. The identification of adults with transient disorder of glycosylation caused by a single mutation in a gene involved in the N-glycosylation pathway and moderate alcohol consumption stimulate to think that the same mechanism might underline some FAS. To test this hypothesis, a panel of 75 genes directly or indirectly involved in N-glycosylation was sequenced in 25 FAS patients and 20 controls with prenatal alcohol exposure. Transferrin glycoforms were evaluated by HPLC. Antithrombin activity was determined by a chromogenic assay. Rare (MAF<0.009) missense/splice site variants of genes involved in N-glycosylation were associated with FAS (80% vs 55%; OR: 4.29; 95%CI: 1.1-17.2; p= 0.036). Remarkably, 3 patients but no control carried variants with functional effects also identified in patients with congenital disorders of glycosylation. Family studies support the role that the combination of a genetic defect and alcohol consumption during pregnancy might have in the development of FAS. Finally, no deficiency of antithrombin or hypoglycosylation was detected in FAS patients. Our study supports that rare variants of genes involved in N-glycosylation could predispose to develop FAS under prenatal alcohol exposure.

[uge2985@hotmail.com](mailto:uge2985@hotmail.com)

## SESIONES EN PARALELO DE FORMACIÓN JUEVES 23 19H00-20H15

Genomic toolbox ready to use! – BIER – *Francisco García, U715*

Aplicación del Human Phenotype Ontology - HPO – *Víctor Martínez-Glez, U753*

Fenotipado de animales en Enfermedades Raras – *Silvia Murillo, U761*

## SESIONES ORALES, VIERNES 24

### SESIÓN IV PRESENTACIÓN DE RESULTADOS SALA I, VIERNES 24 11:45-14:00 BIOMARCADORES Y TERAPIAS

#### Nintedanib es efectivo como agente antifibrótico en un modelo preclínico de distrofia muscular de Duchenne

Piñol Jurado, P.; Gallardo Vigo, E.; de Luna Salvà, N.; Lleixà Rodríguez, C.; Gómez Gálvez, P.; Escudero Cuadrado, L.M.; de la Oliva Muñoz, N.; Martínez Muriana, A.; Navarro Acebes, X.; Illa Sendra, I.; Díaz Manera, J.

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

**Introducción:** Las distrofia muscular de Duchenne (DMD) es una enfermedad genética caracterizada por una progresiva destrucción músculo esquelético y su sustitución por tejido graso y fibrótico. Nintedanib es un fármaco antifibrótico aceptado para diversas enfermedades sistémicas como la fibrosis pulmonar o la esclerodermia. Nuestro objetivo es valorar la efectividad de nintedanib en un modelo murino de Duchenne.

**Material y métodos.** Hemos realizado experimentos in vitro con fibroblastos humanos para conocer si nintedanib influencia su proliferación, migración y expresión génica. Hemos tratado un grupo de 8 ratones mdx de 10 meses de

edad durante 30 días con nintedanib y hemos comparado pruebas de función muscular, electromiografía y características histológicas de los músculos con ratones mdx no tratados y ratones controles.

**Resultados:** Nintedanib disminuye de forma significativa la proliferación in vitro de los fibroblastos humanos así como la migración de estas células mediada por PDGF-AA. Nintedanib reduce la expresión de colágenos I y III y del factor de crecimiento CTGF in vitro. Los experimentos in vivo han mostrado una mejoría en la amplitud de los potenciales de acción nerviosos obtenido mediante EMG. El estudio histológico ha demostrado la reducción en la presencia de colágeno I y III presente en el músculo confirmado mediante inmunofluorescencia y WB.

**Conclusión:** Nintedanib es un nuevo fármaco antifibrótico efectivo en el tratamiento de la fibrosis en un modelo animal de Duchenne que debería ser considerado en futuros ensayos clínicos en paciente con esta enfermedad.

[jdiazm@sanpau.cat](mailto:jdiazm@sanpau.cat)

### Nuevo biomarcador del estatus serotoninérgico en pacientes con deficiencia de aminas biógenas: 6-sulfatoximelatonina en orina

*Molero-Luis, M Batllori, M Arrabal, L De las Heras, J Fernandez-Ramos, JA González, L Ibáñez-Micó, S Domingo, R Campistol, J Zouvelou, B Ormazabal, A Sedel, F Opladen, T Pons, R Garcia-Cazorla, A Lopez-Laso, E Artuch, R.*

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

**INTRODUCCIÓN:** La melatonina se sintetiza a partir de la serotonina y se excreta como 6-sulfatoxi-melatonina en orina. Recientemente se ha reportado que la 6-sulfatoxi-melatonina en orina podría ser un buen biomarcador del estado cerebral de la serotonina.

**OBJETIVOS:** Evaluar la utilidad de la 6-sulfatoxi-melatonina en orina en una cohorte de pacientes con mutaciones en genes relacionados con la biosíntesis de serotonina.

**METODOLOGÍA:** Se analizaron orinas de 65 sujetos sanos y de 28 pacientes con defectos genéticos. De éstos, 18 fueron estudiados en condiciones basales: 14 tenían deficiencia de guanosina trifosfato ciclohidrolasa (D-GTPCH) de forma dominante o recesiva, 3 con deficiencia de sepiapterin reductasa (D-SR) y un paciente con deficiencia de la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (D-AADC). De los 28, 11 pacientes fueron estudiados post-tratamiento (precursores de serotonina, inhibidores de monoaminoxidasa, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina o cofactores facilitadores de la síntesis de serotonina): 5 con D-AADC, 1 con D-SR, 3 con deficiencia de dihidropteridin reductasa y 2 con deficiencia de 6-piruvoltetrahidropterin sintasa.

**RESULTADOS:** De los pacientes sin tratamiento serotoninérgico, 6 presentaron valores bajos de 6-sulfatoxi-melatonina mientras que la mayor parte de pacientes con D-GTPCH presentaron valores normales. De los pacientes con tratamiento, 5 presentaron valores bajos de 6-sulfatoxi-melatonina en orina.

**CONCLUSIONES:** Aquellos pacientes con deficiencias genéticas severas presentaron una muy baja excreción de 6-sulfatoxi-melatonina mientras que en los pacientes con D-GTPCH no se encontró un perfil concluyente.

La melatonina puede ser un buen biomarcador para estimar el estatus de la serotonina cerebral, y especialmente para monitorizar el estatus serotoninérgico en aquellos sujetos con tratamiento.

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

### Repurposing propranolol as a drug for the treatment of retinal hemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease

*Albiñana V, Jiménez-Escribano R, Soler I, Rodríguez-Padial, Recio L, Villar K and Botella LM*

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

Von Hippel-Lindau (VHL) is a rare disease with an incidence of 1:36,000, characterized by the growth of different types of tumors. Hemangioblastomas in the central nervous system and retina, renal carcinoma and pheochromocytomas are the commonest. The absence of treatment for VHL leads to repeated surgeries as the only option for these patients. Targeting VHL-derived tumors is urgent to avoid CNS surgeries. Recent reports have shown that propranolol, a  $\beta$ -blocker used for the treatment of hypertension is the best option for infantile hemangioma (IH). Propranolol could be an efficient treatment to control hemangioblastomas in VHL due to antiangiogenic and proapoptotic effects as shown in our previous studies.

Propranolol effects were assessed in vitro in primary cultures of hemangioblastoma cells. In addition, a clinical trial (EudraCT Number: 2014-003671-30) with seven VHL patients with juxtapapillary or peripheral hemangioblastomas was carried out

In vitro results showed that viability of cells decreased up to 40%, while caspase 3/7 activity increased after 100µM propranolol treatment. Quantitative PCRs proved that the expression of HIF target genes, decreased after propranolol treatment.

In the clinical trial all tumors remained stable, and no new tumors appeared. There was reabsorption of retinal exudation in two patients suffering it. Levels of VEGF and miRNA 210 were monitored in plasma of patients as biomarkers of VHL. Both of them decreased in all cases from the first month of treatment.

The results of this work led to the designation of propranolol as orphan drug for the treatment of VHL disease in January 2017.

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

### Primeras evidencias de reconstitución y ventaja proliferativa de células madre hematopoyéticas corregidas por terapia génica en pacientes con anemia de Fanconi

*Río, P; Navarro, S; Guenechea, G; Galy; Sánchez, R; Lamana, ML; Yañez, R; Casado, JA; Segovia, JC; Surrallés, J; López, R; García de Andoain, N; Ruiz, P; Catalá, A; Mavilio, F; Díaz de Heredia, C; Sevilla, J; Bueren, JA*

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

**Otros grupos:** U745; GCV19; GCV18

La anemia de Fanconi (AF) es la enfermedad hereditaria en la que se desarrolla fallo de médula ósea (FMO) con mayor frecuencia. Como primer paso en el desarrollo de un ensayo de terapia génica de pacientes con AF del subtipo A (AF-A), los pacientes se trataron con filgrastim y plerixafor para movilizar y recoger cantidades clínicamente relevantes de células madre hematopoyéticas (CMHs; CD34). En promedio, se recogieron 5 millones de células CD34 /Kg de peso del paciente, claramente superiores a lo recogido en estudios previos. Tres de estos pacientes han sido infundidos con sus células CD34 purificadas y corregidas genéticamente, sin acondicionamiento previo del paciente. Los productos celulares infundidos variaron entre 0,5 y 1,4 millones de células CD34 /kg de peso del paciente, y el número de copias del vector por célula osciló entre 0,17 y 0,45. En los tres pacientes tratados se ha detectado la presencia de células corregidas en sangre periférica. En el paciente en el que se infundió un mayor número de células corregidas (0,45 copias/célula) se ha observado un aumento progresivo de células marcadas en sangre, que ha alcanzado la cifra aproximada del 15% del total de las células de la sangre en el último seguimiento (9 meses post-infusión), y con evidencias de marcado genético tanto en el linaje mieloide como en el linfocitario. Nuestros resultados demuestran por primera vez la capacidad de reconstitución, así como la ventaja proliferativa de células madre hematopoyéticas de pacientes con AF tras su corrección genética.

[juan.bueren@ciemat.es](mailto:juan.bueren@ciemat.es)

### Development of a hematopoietic stem cell model of X-linked dyskeratosis congenita

*Carrascoso-Rubio, C., Zittersteijn, H., Pintado-Berninches, L., Lozano, ML., Sastre, L., Bueren, J.A., Perona, R.\*; Guenechea, G.\**

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

**Otros grupos:** U757

Dyskeratosis congenita (DC) is an inherited bone marrow failure syndrome. In particular, X linked DC (X-DC) is caused by mutations in *DKC1* gene which encodes dyskerin nucleolar protein. These mutations reduce telomerase activity that results in premature telomere length attrition. Clinically, DC is characterized by hepatic and renal insufficiency, pulmonary fibrosis and bone marrow failure (BMF), which is the main cause of death in DC patients (more than 70% of cases). So far, allogeneic hematopoietic stem cell (HSC) transplant is the only curative treatment for the BMF characteristic of DC patients. However, risks derived from conditioning regimes and the difficulties to find a compatible donor suggest that gene therapy may constitute a promising alternative to treat DC patients. Because of the difficulties to use primary HSCs from DC patients for experimental studies, this study was focused on the generation of a HSC model which mimics X-DC HSCs using different shRNA against *DKC1* gene. Based on the inhibition of *DKC1* gene expression, we selected 3 shRNA among 7 designed shRNAs. Interfered HSCs showed a decrease in telomerase activity, clonogenic potential and hematopoietic reconstitution in immunodeficient NSG mice, together with an increase in DNA damage and senescence. This HSC model will facilitate the understanding of the molecular basis of the HSC defects characteristic of DC, as well as the development of new experimental therapies for the treatment of the BMF of DC patients.

\*These authors supervised equally this work.

[carlos.carrascoso@externos.ciemat.es](mailto:carlos.carrascoso@externos.ciemat.es)



### Dried blood spot screening of Lysosomal acid lipase deficiency (LALD) and confirmatory studies in Spanish LALD suspected patients

*Cebolla, JJ; Irún, P; Gonzalez-Dieiguez, L; Del Valle Loarte, P; Barba-Romero, MA; Garcia-Jimenez, I; Ros Arnal, I; Ortega Gil, D; Tomasini, R; Aldámiz-Echeverría, L; De las Heras, J; Plana, N; Ibarretxe, D; Giraldo, P*

**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

**Otros grupos:** GCV10

Lysosomal acid lipase deficiency (LALD) is a lysosomal storage disorder, triggering accumulation of cholesteryl esters and/or triglycerides. Dyslipidaemia, liver alterations, cardiovascular disease and gastrointestinal disturbances are prevalent. Screening is performed from dried blood spots samples (DBS), however confirmatory studies must be mandatory to assess LALD status and focus family studies. The purposes of this work were to perform DBS screening in LALD clinically compatible probands; identify potentially affected and confirm LALD status through LIPA gene mutations characterization and accomplish family studies. Probands were recruited according to clinical findings. LAL DBS activity were assessed using a fluorescence based enzyme assay with slightly modifications; Null/almost null activity were considered LALD potentially patients and required confirmatory studies including LIPA gene characterization. A total of 331 subjects were referred: 226 non-overweighed paediatrics (PED) and 105 overweighed adults (AD). Most common findings (PED% vs AD%) were dyslipidaemia [c-LDL (23.0 vs 15.0); c-HDL (17.0 vs 18.0)], steatosis (10.0 vs 19.0) and transaminasemia (15 vs 14.0). LAL DBS activity [median(25th-75th percentile) nmol/punch/h] significant differences ( $p$ -value<0.001) were found between PED 1.12(0.80-1.47) and AD 0.78(0.57-1.15). Nine PED and six AD showed LAL activity <0.05 nmol/punch/h. In those, LIPA gene sequencing allow us to identified 20 p.delS275\_Q298 (E8SJM) alleles, 6 p.H129R alleles and 4 novel pathogenic alleles in LALD. Family studies identified 18 carriers and 3 affected. In conclusion, these results support the efficiency of this screening approach, allowing us to identify 15 LALD patients. Furthermore, family studies leading us to identify 3 more patients and 18 carriers.

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

### Unraveling genotype-phenotype associations by complete functional characterization of the disease-associated variants found in the CFH gene

*Martín Merinero, H. Pinto García, S. García Fernández, J. Arjona, E. Tortajada, A. Rodríguez de Córdoba, S.*

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

Over the past 15 years, genetic analysis in hundreds of aHUS and C3G patients have provided an excellent understanding of genetic drivers of disease and have informed genotype-phenotype correlations which support an individualized approach to patient management and treatment. In this context, it is critical to know the functional consequences of the rare genetic variants identified in the genetic analysis. However, evidence supporting that the genetic variants have a causal relationship with the pathology is not available for a large percentage of them. This is a potential cause of misinterpretations with important consequences for the patients and their relatives. Here we present the development of an analytical procedure for the routine analysis of genetic variants in the CFH gene, the commonest genetic alteration associated with aHUS and C3G, and its application to the functional characterization of 28 CFH variants. Our experimental strategy combines allele specific ELISAs, novel hemolytic assays and state of the art SPR studies. All the variants were categorized as benign or pathogenic, and in this latter group the nature of the pathogenicity was fully documented. Not surprisingly, some FH variants predicted to be benign resulted in having a very significant functional impairment, which provides further insights into the functional/structural understanding of the FH molecule. As a whole, this work represents a significant step towards a complete functional characterization of the genetic variability in the CFH gene and illustrates the importance of these analyses to establish a true causal relationship of the CFH variants with the pathologies.

[hector.mm4@gmail.com](mailto:hector.mm4@gmail.com)

### Autoinmunidad cerebral tras la encefalitis por el virus herpes simple (HSE): 100 casos

*Armangue T, Ariño H, Secondi G, Alsina L, Spatola M, Petit M, Sabate L, Planagumà J, PhD; Mannara F, Rodes M, Aguilar M, Martínez-Hernández E, Juan M, Saiz A, Rosenfeld M, Graus F, Dalmau J, en representación del grupo de estudio de encefalitis herpética español*

**Grupo CIBERER:** U764 Servicio de Neurología, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Corporació Sanitària Clínic, Barcelona

**Objetivo:** Reportar la relevancia clínica de los autoanticuerpos desencadenados por HSE en una cohorte de 100 pacientes.

**Antecedentes:** Anticuerpos contra NMDAR y menos frecuentemente contra otros antígenos de superficie neuronal se han identificado en pacientes que presentan encefalitis autoinmune post-HSE.

**Métodos:** Identificación prospectiva de pacientes partir de un estudio nacional multicéntrico que incluye todos los casos recientemente diagnosticados de HSE (nHSE), y de casos remitidos a nuestro laboratorio por AE post-HSE. Identificación de anticuerpos mediante inmunohistoquímica en tejido cerebral de rata, cultivos de neuronas y ensayos basados en células.

**Resultados:** Se identificaron 100 pacientes (50 <18 años); 47 fueron nHSE, y 53 fueron AE post-HSE. 26% de los nHSE también desarrollaron EA. Todos los niños  $\leq 3$  años desarrollaron coreoatetosis con o sin convulsiones, mientras que los pacientes  $>3$  años mostraron alteración de comportamiento ( $p < 0,001$ ). Ningún paciente tenía anticuerpos en el momento del diagnóstico de HSE. En el momento de AE, 56/65 (86%) pacientes habían desarrollado anticuerpos: NMDAR ( $n = 40$ ; 2 con anticuerpos GABAAR coexistentes), 15 antígenos de superficie neuronal desconocidos y 1 GAD65. Identificamos anticuerpos en 14/35 (40%) pacientes que no desarrollaron EA (3 NMDAR, 10 de superficie neuronal desconocido, 1 GAD65); con frecuencia transitorios. La detección de anticuerpos NMDAR post-HSE aumentó el riesgo de AE (OR 14, IC95% 3-75,  $p < 0,01$ ).

**Conclusiones:** El 26% de los pacientes con HSE desarrollan EA. Estos pacientes a menudo tienen varios autoanticuerpos, entre los cuales NMDAR es el más frecuentemente. La detección de anticuerpos NMDAR post-HSE, predice aparición de AE.  
[armangue@clinic.cat](mailto:armangue@clinic.cat)

### Alteraciones Cromosómicas Identificadas en la Serie de Recién Nacidos del ECEMC (Estudio Colaborativo Español De Malformaciones Congénitas).

*Martínez-Fernández ML1,2, MacDonald AH2, Cuevas L1,2, Grupo periférico del ECEMC1,2, Bermejo-Sánchez E1,2,3, Martínez-Frías ML2. 1CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER). U724. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía, Industria y Competitividad. 2Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas (ECEMC). 3Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER). Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía, Industria y Competitividad.*

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

Las alteraciones cromosómicas son la causa del ~15% de los defectos congénitos (DC) detectados en el primer año de vida en Europa y se asocian al 25% de muertes perinatales. Presentamos el estudio de las alteraciones cromosómicas detectadas en recién nacidos consecutivos con DC, que integran la base de datos del ECEMC entre los años 1980 y 2014. El objetivo del trabajo es analizar la frecuencia de las distintas alteraciones cromosómicas y comprobar si hay diferencia entre sexos y entre cromosomas.

De un total de 9.116 pacientes estudiados, el 40,45% presentó una alteración cromosómica, hecho influido por la mayor tendencia a realizar el estudio citogenético tras la sospecha clínica de cromosomopatía. Las alteraciones numéricas fueron 8 veces más frecuentes que las estructurales (88,5% vs. 11,04%). Un tercer grupo, que incluía sólo 17 pacientes, presentaba dos alteraciones diferentes. En cuanto al sexo, el 50,61% de las alteraciones se observaron en varones, siendo las estructurales más frecuentes en niñas (51%). Se estudiaron separadamente una serie de síndromes con fenotipos bien establecidos, detectando diferencias (por ejemplo, el Prader-Willi es más frecuente en varones). Los cromosomas en los que con mayor frecuencia se detectaron alteraciones estructurales son el 22, 4 y 5, hecho influido por los indicios fenotípicos y la disponibilidad de pruebas encaminadas a su detección específica en tales casos.

A pesar de la existencia de estudios genómicos de gran complejidad, es claro que las técnicas citogenéticas, combinadas con algunas pruebas moleculares, permiten detectar un buen número de alteraciones con un coste relativamente bajo.

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

## SESIÓN PRESENTACIÓN DE RESULTADOS III SALA II, VIERNES 24 11:45-14:00

### Estudio Comparativo de Patogenicidad de dos Mutaciones en el Gen *MT-ATP6* en una Familia con Síndrome de Leigh

Blázquez A(1), Rufián L(1), Serrano-Lorenzo P(1), González-Quintana A(1), Moreno-Fernández MA(2), Arenas J(1), Ugalde C(1), Gallardo ME(2), Morán M(1), Martín MA(1). Laboratorio de enfermedades mitocondriales y neuromusculares. U723 (1). Dpto. Bioquímica, Facultad Medicina, Universidad Autónoma UAM. U717 (2). Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (i+12) (1,2), Madrid.

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

**Otros grupos:** U717

**Introducción:** El síndrome de Leigh de herencia materna (MILS) se asocia fundamentalmente con mutaciones en la subunidad mitocondrial ATP6 de la ATP sintasa (Complejo V -CV-), siendo las más frecuentes m.8993T>G/C y m.9176T>C.

Presentamos una familia con dos mutaciones en *MT-ATP6* y el estudio de sus consecuencias funcionales OXPHOS.

**Métodos y Resultados:** Se identificó la mutación homoplásmica m.9176T>C y una nueva variante m.8959G>A; p.Glu145Lys heteroplásmica (90% en músculo) en haplogrupo H mediante secuenciación masiva (NGS) a alta profundidad del mtDNA completo en un paciente con LS. Su madre, asintomática, resultó homoplásmica para m.9176T>C y heteroplásmica (29%) para la variante m.8959G>A en sangre. Se establecieron dos líneas isogénicas de híbridos transmitocondriales: doble homoplásmica (DH), y homoplásmica m.9176T>C (SH); y una línea control de haplogrupo H (HP). Se observó descenso de la actividad del CV, retraso en el crecimiento, reducción en el consumo de oxígeno, leve descenso de ATP y niveles disminuidos de ATP6 y ATP8 en DH respecto a SH y HP. Estudios mediante electroforesis nativa mostraron un efecto acumulativo de los niveles de CV en ambas líneas de híbridos mutantes que secundariamente conducían a una disminución de los niveles de CIV y de ensamblaje del respirasoma.

**Conclusiones:** Los datos clínicos y genéticos, junto a los hallazgos funcionales a nivel celular sugieren que la variante m.8959G>A contribuye de manera predominante al fenotipo clínico y bioquímico en esta familia. La secuenciación completa del mtDNA y estudios funcionales adicionales pueden ayudar a reevaluar la patogenicidad de mutaciones mtDNA previamente establecidas.

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

### Fisiopatología mitocondrial en axonopatías: Vulnerabilidad neuronal selectiva

Domínguez L, Civera A, Cantarero L, Juárez E, López D, Hoenicka J, Palau F

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

Existe una creciente necesidad de conocer los mecanismos que subyacen a la degeneración axonal y al daño neuronal selectivo en las enfermedades neurodegenerativas, como un elemento crítico para la modulación de programas intrínsecos de regeneración axonal y la búsqueda de dianas terapéuticas. Para avanzar en esta dirección, proponemos un estudio comparativo in vivo con modelos murinos de tres enfermedades neurodegenerativas que presentan axonopatía de inicio temprano, caracterizadas por la afectación de diferentes subtipos neuronales y con distinta topología: la neuropatía de Charcot-Marie-Tooth, relacionada con *GDAP1*; la paraplegia espástica hereditaria, debida a mutaciones en el gen *SPG7* que codifica paraplegina; y la enfermedad de Parkinson asociada a mutaciones en el gen *SNCA* (*PARK1*) que codifica  $\alpha$ -synucleína. Estas enfermedades tienen como denominador común mutaciones en genes de proteínas localizadas en el dominio mitocondria-MAM (Membranas Asociadas a Mitocondrias). Nuestro estudio se centra en el análisis comparativo del perfil celular y molecular de este dominio, desentramando las implicaciones de la ausencia de las proteínas de interés (*GDAP1*, paraplegina y  $\alpha$ -synucleína) en procesos bioquímicos y celulares relacionados con la funcionalidad del dominio mitocondria-MAM y su conexión con el retículo endoplasmático en modelos murinos. Proponemos el estudio comparativo de la regulación de la señalización de calcio intracelular, metabolismo energético mitocondrial, metabolismo de lípidos, autofagia, y procesos de transporte y dinámica mitocondrial. Esta aproximación experimental podrá revelar diferencias en estos procesos que pueden ser únicas en relación al tipo neuronal, que contribuyan al entendimiento de la vulnerabilidad neuronal selectiva y la fisiopatología del axón en neurodegeneración.

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

### La depleción aguda de DKC1 y NOP10 produce estrés oxidativo.

*Ibáñez-Cabellos, JS; Pérez-Machado, G; García-Giménez, JL; Seco-Cervera, M; Berenguer-Pascual, E; González, D; Soro, P; Beltrán-García, J; Peiró-Chova, L; Pallardó, FV.*

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

Existen diversas enfermedades genéticas causadas por alteraciones en el mantenimiento telomérico (telomeropatías), que comparten varias manifestaciones clínicas y mecanismos moleculares. Sin embargo nuevos genes/mecanismos se van identificando como relevantes en su etiopatogenia. La ciencia básica ha hecho importantes contribuciones en este sentido y con ello al progreso en el diagnóstico y terapéutica de estas patologías.

El presente estudio, utilizando el ARN de interferencia, se propuso dilucidar si la depleción aguda de genes esenciales para el mantenimiento del telómero, produce un desequilibrio redox independiente del acortamiento telomérico.

El éxito del modelo fue confirmado por medio del análisis la expresión (ARNm y proteína) de los genes DKC1, NOP10 y TIN2, así como de los genes del complejo telomerasa TERC y TERT. Los resultados del estudio de longitud telomérica, actividad telomerasa, reacción de pseudouridilación y biogénesis ribosomal fueron otros elementos confirmativos. La depleción de las H/ACA ribonucleoproteínas (DKC1 y NOP10) disminuyó la actividad telomerasa via TERC, y produjo alteración en la pseudouridilación y biogénesis ribosomal. Se apreció un incremento en el ratio GSSG/GSH, de las proteínas carboniladas y la peroxirredoxina oxidada. Las enzimas antioxidantes MnSOD, Trx1 y Trx2 mostraron una sobreexpresión. Se detectaron incrementos en los niveles de PARilación y en la expresión de la enzima PARP1. El silenciamiento de TIN2 no produjo estos efectos. Estos hallazgos nos permiten concluir que el estrés oxidativo es un evento temprano en el caso de la depleción de DKC1 y NOP10, y una consecuencia del acortamiento telomérico en el caso del gen TIN2 del complejo telosoma.

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

### Los factores genéticos y constitucionales son determinantes de la hiperecogenicidad de la sustancia negra

*Vázquez Costa, JF; Tembl, JI; Fornés-Ferrer, V; Cardona, F; Morales-Cava, L; Pérez-Tur, J; Sevilla, T.*

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

**Introducción:** La hiperecogenicidad de sustancia negra (HSN) es un hallazgo frecuente en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Parkinson (EP) y otros trastornos del movimiento (OTM), cuyo significado es incierto.

**Objetivo:** Analizar la contricución de distintos factores a la HSN.

**Material y métodos:** Se midió la HSN en 108 pacientes de ELA, 102 EP, 91 con OTM y 91 controles y se recogieron variables demográficas. En pacientes de ELA se recogieron también variables clínicas y se midieron los niveles de ferritina. Se analizó la expansión C9ORF72 en todos los pacientes de ELA y se estudiaron otras mutaciones en aquellas formas familiares que no presentaban la expansión. Se clasificó a los pacientes de ELA en forma genética o esporádica según los resultados genéticos y la historia familiar.

**Resultados:** Los pacientes de ELA, EP y OTM mostraron hiperecogenicidades mayores que los controles. La HSN izquierda y el sexo masculino, pero no la edad, se asociaron a mayor HSN en pacientes y controles. Los pacientes de ELA familiar mostraron mayor HSN que los esporádicos y ésta fue la única variable que se asoció a mayor HSN en el análisis multivariante.

**Conclusiones:** Nuestros resultados sugieren que la HSN se asocia a factores genéticos (ELA familiar) y constitucionales (sexo masculino y dominancia manual), que predisponen a ciertas enfermedades neurodegenerativas. Esto apoya la idea de HSN como un marcador innato de vulnerabilidad neuronal.

[juan.vazquez.neuro@gmail.com](mailto:juan.vazquez.neuro@gmail.com)

### IPS Cells as Disease Model for Defects in the Mitochondrial Propionate Oxidative Pathway

*Richard E, Brasil S, Alonso-Barroso E, Briso-Montiano A, Ugarte M, Desviat LR and 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

The understanding of the cellular and molecular mechanisms underlying inherited metabolic disorders (IMDs) is essential for devising new strategies for their prevention and treatment. The difficulty to obtain a unique model for all the genotypes observed in IMDs and the upcoming of personalized medicine has prompted the emergence of new models. The aims of this work were the generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from patient-derived fibroblasts with defects in the mitochondrial propionate oxidative

pathway and subsequent differentiation into hepatocytes for disease modeling to evaluate therapies such as pharmacological chaperones.

Fibroblasts from patients bearing loss-of-function or hypomorphic destabilizing mutations in the MMAB or PCCA genes were reprogrammed using the commercial CytoTune Sendai vectors, alone or combined with valproic acid. The iPSCs were characterized and presented the appropriate hallmarks: positive alkaline phosphatase staining, expression of pluripotency-associated markers, demethylation of the OCT4 and NANOG promoters, absence of genetic instability and the capacity to in vitro differentiate into the three germ layers. Finally, an iPSC cell line bearing a pharmacological chaperone responsive mutation p.I96T in the MMAB gene was differentiated in vitro into definitive endoderm and then incubated with specific factors, aimed at hepatocyte differentiation. Preliminary results showed the efficacy of pharmacological chaperones increasing the residual activity of the mutant MMAB hepatocytes. Hence, our findings provide an experimental suitable model for the investigation of the pathogenesis of these severe diseases serving also as ex vivo platform for therapeutic applications.

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

### Characterization of the metabolic proteome in muscle of Progressive external ophthalmoplegia and MELAS syndrome patients.

*Laura Torresano, Fulvio Santacatterina, Montserrat Olive, Eduard Gallardo, Elena García-Arumí, Alberto Blázquez, Adrián González-Quintana, Miguel Ángel Martín and José. M Cuezva*

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

**Otros grupos:** U701, U723 y U762

Mitochondrial diseases are a clinically heterogeneous group of disorders that arise as a result of dysfunction of the mitochondrial respiratory chain. They can be caused by mutations in genes encoded by either nuclear DNA or mitochondrial DNA (mtDNA). While some mitochondrial disorders only affect a single organ (i.e., Progressive external ophthalmoplegia, PEO), many involve multiple organ systems (i.e., MELAS syndrome). PEO is characterized by slow progressive paralysis of extraocular muscles and is associated with single and multiple deletions of mtDNA. Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS) syndrome is a multi-organ disease with broad clinical manifestations.

Major breakthroughs have been made in the molecular genetics of PEO and MELAS syndromes. However, specific protein signatures of metabolism that could provide tentative biomarkers for therapeutic interventions remain unknown in these syndromes.

Within the framework of the ACCI-2015 we have collected two different cohorts of muscle biopsies derived from genetically diagnosed PEO and MELAS patients and healthy controls. Protein expression of enzymes of metabolism and of the anti-oxidant response was analyzed in the biopsies using reverse phase protein microarrays and specific antibodies. The result in the two cohorts of patients are highly reproducible. Overall, the findings indicate that the two mitochondrial pathologies show an increased expression of enzymes of glycolysis, some components of OXPHOS, the oxidation of fatty acids and of the cytosolic scavenging of oxygen radicals when compared to controls. Remarkably, the mitochondrial superoxide dismutase (SOD2) and catalase are highly reduced in MELAS patients when compared to controls and PEO patients.

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

### El miR-323-3p circulante es un buen biomarcador de cardiomiopatía, capaz de identificar la variabilidad fenotípica de pacientes con ataxia de Friedreich.

*Seco-Cervera M.; González-Rodríguez D.; Ibáñez-Cabellos, J.S.; Peiró-Chova, L.; González-Cabo P.; García-López E.; Vilchez J.; Sanz-Gallego I.; Pallardó F.V.; García-Giménez J.L.*

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

**Otros grupos:** U763

Los microARNs (miARNs) son ARNs no codificantes que contribuyen en la modulación de la expresión de genes, regulando así importantes rutas celulares. La mayoría de las investigaciones en FRDA se han centrado en entender la función de la frataxina en la mitocondria de modo que pocos grupos han intentado realizar un análisis completo de las rutas moleculares alteradas en la FRDA.

En este trabajo se llevó a cabo la secuenciación de pequeños ARNs, para determinar una serie de miARNs circu-

lantes en plasma, de pacientes con ataxia de Friedreich (FRDA). Hemos detectado 7 miARNs que se expresan de manera diferencial en pacientes FRDA, obteniendo una firma de miARNs capaz de diferenciar entre sujetos FRDA y sanos. Proponemos que estos miARNs participan en la modulación de varias rutas que regulan la fisiopatología de la enfermedad. En este contexto, los miARNs nos pueden servir para la caracterización de variaciones fenotípicas dentro de la enfermedad, como por ejemplo, estratificando el riesgo a desarrollar una miocardiopatía. De esta manera, hemos identificado el miR-323-3p como marcador candidato que permite diferenciar fenotípicamente aquellos pacientes FRDA que sufren miocardiopatía. Nuestra propuesta es implementar el uso de miARNs dinámicos como biomarcadores para la caracterización fenotípica en FRDA y su pronóstico.

[J.Luis.Garcia@uv.es](mailto:J.Luis.Garcia@uv.es)

### Mutation affecting the proximal promoter of Endoglin as the origin of hereditary hemorrhagic telangiectasia type 1

*Albiñana V, Zafra MP, Zarrabeitia R, Recio-Poveda L, Olavarrieta L, Pérez-Pérez J, Bernabeu C and Botella LM*

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

Hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT) is a vascular multi-organ system disorder. Its diagnostic criteria include epistaxis, telangiectases in mucocutaneous sites, arteriovenous malformations (AVMs), and familial inheritance. HHT is an autosomal dominant condition, caused in 85% of cases by mutations in either Endoglin (ENG) or Activin receptor-like kinase (ACVRL1/ACVRL1/ALK1) genes. Pathogenic mutations have been described in exons, splice junctions and, in a few cases with ENG mutations, in the proximal promoter, creating new ATG start sites. However, no mutations affecting transcription regulation had been described to date.

A single nucleotide change, c.-58G>A, in the proximal ENG promoter co-segregated with HHT clinical features in an HHT family. This mutation was present in the proband and in 2 other symptomatic members. Analysis of RNA from activated monocytes from the probands and the healthy brother revealed reduced ENG mRNA expression in the HHT patient ( $p=0.005$ ). Site-directed mutagenesis of the ENG promoter resulted in a three-fold decrease in luciferase activity of the mutant c.-58A allele compared to wild type ( $p=0.005$ ). Finally, gel shift assay identified a DNA-protein specific complex

The novel ENG c.-58G>A substitution in the ENG promoter co-segregates with HHT symptoms in a family and appears to affect the transcriptional regulation of the gene, resulting in reduced ENG expression. ENG c.-58G>A may therefore be a pathogenic HHT mutation leading to haploinsufficiency of Endoglin and HHT symptoms. To the best of our knowledge, this is the first report of a pathogenic mutation in HHT involving the binding site for a transcription factor in ENG promoter.

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

### Bases Estructurales de las Basalopatías Por Afectación Del Colágeno Tipo IV

*Casino, P\*(1), Gozalbo Rovira R(1), Rodríguez-Díaz J(1), Rubio V\*\*(2), Saus J(1), Cervera J\*\*(2) y Marina A\*\*(2) \*Ex-contratada y \*\*Adscritos CIBERER en el grupo 739 (1) Universitat de Valencia (2) Instituto de Biomedicina de Valencia*

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

Las membranas basales (BM), componentes fundamentales de los epitelios y endotelios, con grandes superficies en el alveolo pulmonar y en el glomérulo renal, se construyen sobre un andamiaje tridimensional de colágeno tipo IV. Cada cadena de colágeno tipo IV consta de un fleco N-terminal corto, un dominio típico de hélice de colágeno de unos 1400 aminoácidos, y un dominio globular C-terminal de unos 300 aminoácidos llamado NC1. Mientras los extremos proveen las conexiones para formar la red, la triple hélice intermedia actúa de viga conectora internodos. Las basalopatías (ORPHA:93550) incluyen al menos dos patologías raras que tienen al colágeno IV como diana, el síndrome autoagresivo de Goodpasture (OMIM 233450) debido a anticuerpos, y el síndrome genético de Alport (OMIM 301050 y 203780). El antígeno de Goodpasture es parte del NC1 de dos de las 6 (1 a 6) isoformas de colágeno tipo IV codificadas por genes diferentes, mientras que la enfermedad de Alport puede afectar a las cadenas 3, 4 y 5, incluyendo su dominio NC1. Nuestro conocimiento estructural del dominio NC1 era muy limitado, y así lo era también nuestra comprensión de estas enfermedades, particularmente del síndrome de Goodpasture. Con la finalidad de aclarar esta cuestión a nivel estructural, hemos producido recombinantemente los dominios colagenosos de las cadenas 1 a 5 de colágeno tipo IV y los hemos cristalizado y determinando sus estructuras. Esta presentación resumirá los rasgos principales de estas estructuras cristalinas, estableciendo inferencias para la comprensión de su mecanismo de plegamiento y de las basalopatías.

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

## SESIÓN PÓSTERES, VIERNES 24

### PÓSTERES RECORRIDO I. MEDICINA MITOCONDRIAL Y NEUROMUSCULAR

#### 1 **Terapia Génica del MNGIE: Comparación del Uso de Diferentes Vectores Adeno-Asociados en el Modelo Preclínico de la Enfermedad.**

*Cabrera-Pérez R, Torres-Torronteras J, Vila-Julà F, Martí R.*

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

El MNGIE es una enfermedad rara de herencia autosómica recesiva causada por mutaciones en el gen TYMP, que codifica la timidina fosforilasa (TP). La TP cataliza el primer paso del catabolismo de los nucleósidos timidina y desoxiuridina. En pacientes de MNGIE, la disfunción enzimática provoca acumulación sistémica de estos nucleósidos, lo cual resulta tóxico para la función mitocondrial.

Las opciones terapéuticas para los pacientes de MNGIE son actualmente el trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas y el trasplante hepático, ambas limitadas por la disponibilidad de donantes compatibles y por presentar un riesgo no desdeñable para la vida de los pacientes. Estudios preclínicos realizados en nuestro grupo han demostrado la efectividad del uso de un vector lentiviral dirigido al tejido hematopoyético y de un vector adeno-asociado (AAV) transcripcionalmente dirigido al hígado, en el restablecimiento de la actividad enzimática.

En este trabajo hemos estudiado el efecto del uso de diferentes promotores (TBG, PGK, HLP y AAT) y configuraciones genómicas (ADN de cadena sencilla o auto-complementario) en la expresión del gen TYMP tras ser introducido en un AAV de serotipo 2/8. Para ello se han estudiado varias dosis de las diferentes construcciones en el modelo murino de la enfermedad. Los resultados muestran que, aunque todos los vectores son capaces de restituir la actividad enzimática en hígado y reducir la concentración de nucleósidos, el promotor AAT debería ser considerado en futuros ensayos clínicos, ya que ha sido el único efectivo en todos los animales tratados con la dosis más baja ( $5 \cdot 10^{10}$  genomas víricos/kg).

[raquel.cabrera@vhir.org](mailto:raquel.cabrera@vhir.org)

#### 2 **Comorbidity and common molecular links between diabetes and sporadic inclusion body myositis**

*Catalán-García M<sup>1</sup>, Moreno P<sup>1</sup>, Alcarraz-Vizán G<sup>2</sup>, de Pablo S<sup>2</sup>, Guitart-Mampel M<sup>1</sup>, Morén C<sup>1</sup>, González-Casacuberta I<sup>1</sup>, Juárez-Flores DL<sup>1</sup>, Garrabou G<sup>1</sup>, Cardellach F<sup>1</sup>, Novials A<sup>2</sup>, Grau JM<sup>1</sup>.*

**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:** 1. U722 CIBERER; 2. CIBERDEM

**Background:** Type 2 diabetes mellitus (T2D) is a lifelong condition that causes metabolic deregulation via insulin resistance. This disease is associated to abnormal protein accumulation in pancreatic cells, with  $\beta$ -cells being replaced by amyloid protein deposits at late stages. We aimed to investigate the potential clinical and molecular links and common features between T2D and sporadic inclusion body myositis (sIBM), an inflammatory myopathy characterized by abnormal protein accumulation and muscle protein depots.

**Methods:** A cohort composed by 9 sIBM patients was included for this study. Disease severity was measured through a validated test for sIBM (IBMFRS). Anthropometrical data was collected and glucose tolerance test (GTT) and blood glucose metabolism profile were performed. Insulin and amylin blood levels were also measured in plasma from these patients. In addition,  $\beta$ -amyloid protein was analyzed in muscle from sIBM patients through immunocytochemistry.

**Results:** Regarding GTT analysis, 6 out of 9 patients presented signs of metabolic impairment. Two of them presented IFG (impaired fasting glucose), 3 of them presented IGT (impaired glucose tolerance) and one of them presented T2D. Three of them also presented high plasmatic concentration of glycated haemoglobin. In addition, 2 out of 5 muscles presented signal for  $\beta$ -amyloid accumulation in muscle fibers.

**Conclusions:** Preliminary data suggests metabolic disarrangements in sIBM patients characteristic of a pre-diabetic state. To confirm comorbidity between T2D and sIBM and common molecular links between both pathologies, further studies should be conducted to assess insulin resistance in muscle from sIBM patients and implication of abnormal protein deposition in observed features.

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

### 3 An innovative strategy to clone positive modifier genes of defects caused by mtDNA mutations: MRP18C as suppressor gene of m.3946G>A mutation

Rodríguez-García, M.E. Martínez-Azorín, F.

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

We have developed a new functional complementation approach to cloning modifier genes which overexpression is able to suppress the biochemical defects caused by mtDNA mutations (suppressor genes). This strategy consists in transferring human genes into respiratory chain-deficient fibroblasts, following by a metabolic selection in a highly selective medium. We used a normalized expression cDNA library in an episomal vector (pREP4) to transfect the fibroblasts, and a medium with glutamine and devoid of any carbohydrate source to select metabolically. Growing the patient's fibroblasts in this selective medium, the deficient cells rapidly disappear unless they are rescued by the cDNA of a suppressor gene. The use of an episomal vector allows us to carry out several rounds of transfection/selection (cyclical phenotypic rescue) in order to enrich the rescue with true clones of suppressor genes. By using fibroblasts of a patient with the m.3946G>A (p.E214K) mutation in the MT-ND1 gene, several candidate genes were identified and one of them was characterized functionally. Thus, overexpression of MRPS18C gene suppressed the molecular defects produced by this mtDNA mutation, recovering the complex I activity and reducing the ROS produced by this complex to normal levels. We suggest that modulation of MRPS18C expression may be an effective therapeutic strategy for the patients with this mutation.

[fmartinez@h12o.es](mailto:fmartinez@h12o.es)

### 4 Xenobiotics that affect oxidative phosphorylation alter differentiation of human adipose-derived stem cells at concentrations that are found in human blood

Llobet L., Toivonen JM., Montoya J., Ruiz-Pesini E., López-Gallardo E.

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

Adipogenesis is accompanied by differentiation of adipose tissue-derived stem cells to adipocytes. As part of this differentiation, biogenesis of the oxidative phosphorylation system occurs. Many chemical compounds used in medicine, agriculture or other human activities affect oxidative phosphorylation function. Therefore, these xenobiotics could alter adipogenesis. We have analyzed the effects on adipocyte differentiation of some xenobiotics that act on the oxidative phosphorylation system. The tested concentrations have been previously reported in human blood. Our results show that pharmaceutical drugs that decrease mitochondrial DNA replication, such as nucleoside reverse transcriptase inhibitors, or inhibitors of mitochondrial protein synthesis, such as ribosomal antibiotics, diminish adipocyte differentiation and leptin secretion. By contrast, the environmental chemical pollutant tributyltin chloride, which inhibits the ATP synthase of the oxidative phosphorylation system, can promote adipocyte differentiation and leptin secretion, leading to obesity and metabolic syndrome as postulated by the obesogen hypothesis.

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

### 5 Diseño y caracterización de modelos celulares para el estudio del Síndrome de Pearson

Hernández-Ainsa, C., Bayona-Bafaluy, P., Barrios, J., Ruiz-Pesini, E., Montoya, J., Emperador, S.

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

El síndrome de Pearson (PS, OMIM-557000) es una enfermedad rara, caracterizada principalmente por anemia sideroblástica y disfunción pancreática exocrina, aunque se pueden ver implicados otros sistemas como el renal. Se debe a la presencia de una única delección grande en el mtDNA, o SLSMDs (single large-scale mtDNA deletion), en un alto porcentaje de heteroplasmia. Suele ser más abundante en sangre que en otros tejidos. El tratamiento es sintomático y se basa en transfusiones y reemplazamiento de enzimas pancreáticas. A pesar de ello, los pacientes suelen morir en la infancia y aquellos que sobreviven desarrollan síndrome de Kearns-Sayre (KSS), que conlleva afectación multiorgánica y fallecimiento antes de los 20 años.

Actualmente, estamos generando y caracterizando distintos modelos celulares para estudiar si la dinámica de propagación de las SLSMDs se podría ver afectada por factores como su tamaño y localización, el porcentaje de heteroplasmia, el fondo genético nuclear o mitocondrial, el estado celular proliferativo o no proliferativo, el tipo celular maduro o las condiciones de cultivo. En primer lugar, estamos realizando estudios genéticos y bioquímicos con fibroblastos obtenidos a partir de biopsias de piel de dos pacientes PS, con delecciones de distinto tamaño, y de un



paciente control. También se han obtenido cíbridos por fusión de fibroblastos enucleados o plaquetas de pacientes, con la línea celular de osteosarcoma 143b rho0. Hemos conseguido cíbridos con diferentes porcentajes de heteroplasma, lo que permitirá hacer estudios comparativos.

También se está trabajando en el desarrollo de células pluripotentes inducidas (iPSCs) a partir de fibroblastos de pacientes PS.

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

## 6 El Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER): un modelo traslacional en el ámbito hospitalario

*Palau F, Serrano M, Martínez-Monseny A, Bolasell M, Armstrong J, Yubero D, Dorado M, Alvarez-Cabado L, Domínguez L, Casado M, Ormazabal A, Fernández G, Maynou J, Roldan M, Jou C, Artuch R, Hoenicka J.*

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

**Otros grupos:** 703

El Instituto Pediátrico de Enfermedades Raras (IPER) es la respuesta que el Hospital Sant Joan de Déu ofrece a los más de 14.000 niños con patologías poco frecuentes que son seguidos en el centro, facilitando la coordinación de la atención clínica y de la investigación de estas enfermedades. Los objetivos generales del IPER son: (i) facilitar el diagnóstico, (ii) centrar la asistencia en el paciente e (iii) impulsar la investigación traslacional de las enfermedades raras. La actividad del IPER se articula en a través de 5 ejes que afectan a los aspectos asistenciales, científicos, diagnóstico genómico, relación con pacientes y familiares, y registros y manejo de la información, incluyendo la incorporación del número Orpha en la codificación de los pacientes.

En el Eje Diagnóstico trabajamos actualmente con enfermedades raras neurológicas, incluyendo el análisis clínico/fenotípico y el estudio genético y celular para establecer la patogenicidad de las variantes de los genes candidatos hallados en el estudio del exoma de pacientes. Nuestra actividad está enfocada en tres niveles: (1) Desarrollo Clínico incorporando la aproximación ontológica en el análisis fenotípico de las manifestaciones clínicas en pacientes con o sin diagnóstico clínico aplicando la 'Human Phenotype Ontology'; (2) Desarrollo Tecnológico para la búsqueda de genes mutantes (secuenciación NGS), y su validación mediante biomarcadores metabólicos (sistema UPLC) y patrones celulares e histopatológicos (microscopía confocal de superresolución); (3) Desarrollo Científico para la validación de variantes genéticas y genes candidatos en modelos celulares que sobre-expresen proteínas mutantes o con un genoma editado con la tecnología CRISPR/Cas9.

[fpalau@sjdhospitalbarcelona.org](mailto:fpalau@sjdhospitalbarcelona.org)

## 7 Aplicación de metodología de la calidad al Registro nacional multicéntrico de enfermedades Neuromusculares (NMD-ES).

*Segovia Simón, S.; Illa Sendra, I; grupo participante en el Registro Nacional de Enfermedades Neuromusculares (NMD-ES).*

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

**Introducción:** La calidad de los registros de enfermedades se define como la capacidad que tienen de recoger los datos que sean necesarios para cumplir su objetivo (datos mínimos necesarios y datos correctos). El control de calidad asegura la identificación de los errores para poder aplicar soluciones.

**Objetivo:** Analizar la calidad de los datos del Registro NMD-ES mediante indicadores de proceso y resultado.

**Metodología:** Se aplicó esta metodología a tres de los registros del proyecto NMD-ES. Se definieron indicadores de proceso e indicadores de resultado. Los indicadores han sido medidos con una periodicidad mensual.

**Resultados:** Se definieron: Indicadores de resultado: 1. Actualización .2. Falta de datos. 3. Datos mal introducidos .Indicadores de proceso: 4. Protocolo de recogida de datos. 5 Período de formación.

Para los tres registros los dos indicadores de proceso se cumplían al 100%. Los resultados para el indicador 1 muestran un resultado del 93% de pacientes actualizados. Para los indicadores 2 y 3 no alcanzan el estándar, si bien se observaba una tendencia a la mejora en el tiempo.

**Conclusiones:** Medir la calidad de los registros mediante indicadores nos proporciona información sobre la situación real de los procesos implicados en su funcionamiento. La representación con gráficos CEP permite detectar las variaciones que se producen y detectar causas asignables. Esta metodología es extensible al resto de registro del proyecto NMD-ES ya a otros registros de características similares.

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

## 8 Estrategia experimental para la búsqueda de biomarcadores en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica.

*De Luna N., Carrasco A., Gallardo E., Illa I., Rojas-García R.*

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

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa de la neurona motora, progresiva y uniformemente fatal que se caracteriza por la muerte de la segunda neurona motora en el tronco del encéfalo y la médula espinal y de la primera neurona motora en el córtex motor, causando atrofia muscular progresiva, debilidad y espasticidad. El 90% de los casos es esporádico, y la causa es desconocida. No existe un test diagnóstico específico para el diagnóstico de la enfermedad, se utilizan los Criterios del Escorial, criterios formales para ensayos clínicos. Los exosomas son nanovesículas formadas a partir de compartimentos endosomales internos que pueden contener proteínas, mRNAs, miRNAs y pueden ser transportados y ser activos en las células diana. Los miRNAs tienen la capacidad de regular la expresión de otros genes mediante diversos procesos, utilizando para ello la ruta de ribointerferencia. Una de las áreas prioritarias en la investigación sobre ELA es la identificación y estandarización de biomarcadores presintomáticos y de diagnóstico. Para ello, aislamos los exosomas de líquido cefalorraquídeo y mediante proteómica identificamos 16 proteínas diferencialmente expresadas. Las que obtuvieron la clasificación más elevada fueron testadas por ELISA. Se analizó también el perfil de expresión de miRNA en suero de pacientes con ELA. De todas las proteínas detectadas mediante proteómica, sólo una presentaba diferencias significativas mediante ELISA. Obtuvimos un patrón de expresión de miRNAs diferencialmente expresado entre pacientes con ELA y controles.

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

## 9 Actividades para garantizar la viabilidad y sostenibilidad de un registro de enfermedades raras (ER).

*Segovia Simón S., Jiménez Mallebrera C, Nascimento Osorio A., Illa Sendra, I; grupo participante en el Registro Nacional de Enfermedades Neuromusculares (NMD-ES).*

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

**Introducción:** Se ha demostrado la utilidad de los registros de ER en la realización de proyectos de investigación: estudios de historia natural de la enfermedad, estudio de factores pronóstico y calidad de vida o localización de pacientes para ensayos clínicos. Hay factores que influyen positivamente en la viabilidad y sostenibilidad de los registros y que deben ser tenidos en cuenta antes y durante la implementación de un registro.

**Objetivo:** Definir las actividades y pasos a seguir en la creación e implementación de un registro de enfermedades neuromusculares para garantizar su viabilidad y sostenibilidad.

**Metodología:** Se aplican medidas estándares obtenidas de la bibliografía, con modificaciones basadas en la propia experiencia en la gestión del Registro nacional de Enfermedades Neuromusculares (NMD-ES). Este registro cuenta con la figura de la "curator" encargada de la conservación de los datos de manera óptima, asegurando su calidad.

**Resultado:** Hemos definido actividades a seguir en la creación de registros: 1. Definición de objetivos de manera clara y específica. 2. Selección de campos de información que contesten al objetivo. 3. Diseño de fácil manejo. 4. Plan de calidad: protocolo de recogida de datos, formación, control de calidad (indicadores de calidad). 5. Implicación de las partes interesadas. 6. Comunicación regular con los participantes.

**Conclusiones:** La experiencia obtenida de la gestión de los diferentes registros que forman el proyecto NMD-ES nos ha permitido desarrollar un plan de trabajo que puede ser aplicable a otros registros de enfermedades raras con características similares y que favorecen la viabilidad de los registros y su sostenibilidad.

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

## 10 Anticuerpos contra Caspr2 y receptores de Netrina-1 en pacientes con neuromiotonía y timoma

*Torres-Vega E, Mancheño Franch N, Cebrián-Silla A, Herranz-Pérez V, López-Cuevas R, Moris G, Sevilla T, Vílchez J, Dalmau J, Graus F, García-Verdugo JM, Bataller L.*

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

**Otros grupos:** Josep Dalmau. Hospital Clínic- U764

**Objetivo:** Identificar nuevos anticuerpos de superficie en pacientes con neuromiotonía y describir las principales asociaciones clínicas.

**Métodos:** Utilizamos el suero de 3 pacientes con timoma, neuromiotonía y miastenia gravis para inmunoprecipitar e identificar antígenos de la superficie neuronal. Evaluamos la significancia clínica de los anticuerpos contra las proteínas identificadas en 98 pacientes (46 con neuromiotonía, 52 con miastenia gravis, 42 con timoma, 33 de ellos con síndromes solapados) y 219 controles (individuos sanos, con otras enfermedades neurológicas o cáncer).

**Resultados:** Los estudios de inmunoprecipitación y ensayos con células identificaron 3 antígenos: *Contactin-associated protein-like 2* (Caspr2) y los receptores de Netrina-1: *Deleted in colorectal carcinoma* (DCC) y *Uncoordinated-5A* (UNC5A). Nueve pacientes tenían anticuerpos contra receptores de Netrina-1 (de ellos, 7 con anticuerpos anti-Caspr2 adicionales) y otros 5 tenían anticuerpos anti-Caspr2 aislados. Solamente un paciente (con episodios de mielitis recurrente) de los 219 controles estudiados, tenía anticuerpos anti-Caspr2. Los anticuerpos anti-Caspr2 y anti-receptores de Netrina-1 coexistían en pacientes con timoma, miastenia gravis y neuromiotonía, a veces con síndrome de Morvan ( $p=0.009$ ). Además, los anticuerpos anti-receptores de Netrina-1 o anti-Caspr2 predecían el timoma en los pacientes con neuromiotonía y/o miastenia gravis ( $p<0.05$ ). También comprobamos la expresión de los antígenos Caspr2, DCC y UNC5A en el timoma de los pacientes y timos sanos estudiados.

**Conclusión:** Los anticuerpos anti-Netrina-1 (DCC y UNC5A) y Caspr2 a veces coexisten y se asocian con la presencia de un timoma en pacientes con neuromiotonía y miastenia gravis.

[estefania.torres.vega@gmail.com](mailto:estefania.torres.vega@gmail.com)

## 11 Contribution of the NGS analysis to the HyperCKemia

P. Martí, N. Muelas, T. Jaijo, I. Azorin, L. Gomez, C. Millan, JJ. Vilchez

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

**Otros grupos:** U755

Genetic study using new generation techniques (NGS) is a tool that is increasingly being used in the diagnosis of myopathies. However, its usefulness in hyperCKemia (HCK) is not known. The aim is to evaluate the diagnostic performance of a panel of genes potentially involved in HCK. We studied 138 patients that remained undiagnosed after performing all the steps of the EFNS guidelines over a series of 371 cases with pauci-or-asymptomatic HCK. Ion Torrent technology was applied to a home design panel of 40 genes (LGMD / myofibrillar / glycosylation), which allows to study the gene coding and intronic flanking regions.

Significant changes were found in 45% of patients; 16% of them were of pathological significance (reported mutations or new/uncertain variants expressing biopsy marker); the other 29% represented possible pathogenic changes (heterozygous dominant and recessive mutations as well as new or uncertain variants without biopsy marker). As a whole this NGS procedure increment on a 6-16% the rate of 30% of detection yielded by the classical EFNS algorithm applied to the total series of HCK patients. This increment corresponds mainly to genes not screened by conventional methods.

This study proves that the NGS is a very useful tool in HCK investigation. It can permit to change the algorithm of HCK investigation increasing the rate of diagnoses and reducing the proportion of muscle biopsies when used as first tier. However this procedure provides a deal of raw data that requires expertise and sometimes biological analysis on tissue or cells to confirm pathogenicity.

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

## 12 Deficient glucose and glutamine metabolism in Aralar/AGC1/Slc25a12 knockout mice leads to altered visual function

Contreras L, Ramirez L, Du J, Hurley JB, Satrústegui J, de la Villa P.

**Grupo CIBERER:** U743 "Departamento de Biología Molecular, Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO) CSIC-UAM, Madrid."

Mitochondrial diseases often cause retina dysfunction as efficient visual function requires stringent glutamate homeostasis and elevated energy investment, which relies mainly on energy produced in respiration. Aralar/Slc25a12/AGC1, the mitochondrial glutamate/aspartate carrier mutated in the human disease "global cerebral hypomyelination", plays a pivotal role in oxidative metabolism of glucose in neurons and photoreceptors. In the retina, Aralar also 1) provides glutamate protection from oxidation after recapture into photoreceptors and 2) is required for aspartate flux from photoreceptors to Müller cells where it acts as both carbon and ammonium donor in de novo synthesis pathways for glutamine/glutamate homeostasis in the retina. The metabolic disturbances in aralar-knock out mice affect normal physiology in retina as observed in decreased light-evoked activity in dark-adapted retinas of aralar- knock out mice, in spite of normal retina histology. The difference between aralar-knock out and control retina responses is reduced after a brief illumination period; consistent with the energy deficit especially in darkness. The effect of glutamate homeostasis disturbance in aralar knock out is readily observed as a striking reduction in b-wave component when two flashes are applied in fast succession in dark-adapted aralar-deficient retinas. This visual deficit could be used as an additional diagnostic tool for the associated human disease (Global cerebral hypomyelination OMIM # 612949), helping to obtain an accurate diagnosis for early treatment of the disease.

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

## PÓSTERES RECORRIDO II. MEDICINA METABÓLICA HEREDITARIA

### 13 Contribution of the novel renal cystine transporter AGT1 in cystinuria

Clara Mayayo-Vallverdú<sup>1</sup>, Laura González<sup>1</sup>, Esther Prat<sup>1,2</sup>, Rafael Artuch<sup>3</sup>, Miguel López de Heredia<sup>1</sup>, Virginia Nunes<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>U730, Human Molecular Genetics Laboratory, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. <sup>2</sup>Genetic Unit, Physiological Sciences II Departament, Medicine Faculty, University of Barcelona, Spain. <sup>3</sup>U703, Clinical Biochemistry Department and Institute of Research Pediatrics. Sant Joan de Déu Hospital. Barcelona, Spain.

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

**Otros grupos:** U703

Cystinuria (OMIM #220100) is a rare inherited disease, with a prevalence of 1:7000 births, characterized by urine hyperexcretion of cystine and dibasic amino acids (lysine, arginine and ornithine). Its clinical manifestation is cystine lithiasis in the urinary system due to the low solubility of cystine at physiological urine pH that induces its precipitation and, as a consequence, stone formation. Cystinuria is the most common primary inherited aminoaciduria and, to date, genetic alterations in the renal amino acid transporters, *SLC7A9* (b<sup>0</sup>, AT) and *SLC3A1* (rBAT) have been identified as responsible for this manifestation. However, the lack of genotype/phenotype correlation in cystinuria patients induced the search of modulating genes. Recently, we described AGT1, encoded by *SLC7A13*, as the second cystine renal transporter. AGT1 also heterodimerizes with rBAT in the renal apical membrane where mediates efflux of anionic amino acids in exchange for cystine. To study AGT1 contribution in amino acid reabsorption, urine aminograms of WT and mutant (*Slc7a9*<sup>-/-</sup>) mice of both sexes were compared. Significant results were observed in cystine, aspartate and glutamate urine concentration when compared genders. In addition, *SLC7A13* gene was sequenced in patients diagnosed of cystinuria with one or two unexplained *SLC7A9* alleles. c.745G>A probably a damaging variation in *SLC7A13* was found in heterozygosis in five families. No significance could be achieved when compared human urinary amino acid excretion of compound (*SLC7A9*<sup>-/-</sup> *SLC7A13*<sup>-/-</sup>) with single (*SLC7A9*<sup>-/-</sup> *SLC7A13*<sup>+/+</sup>) heterozygous cystinuria patients. Work financed by: Spanish Health Institute Carlos III, FIS (PI13/00121-FEDER, VN)

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

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

Bodoy S, Sotillo F, Zorzano A, Artuch R, Sebastio G and Palacín M

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

**Otros grupos:** U703

Lysinuric protein intolerance (LPI, MIM 222700) is an inherited aminoaciduria caused by defective cationic amino acid (CAA) transport mainly, at the basolateral membrane of epithelial cells in kidney, and also intestine. LPI is caused by mutations in the *SLC7A7* gene, which encodes  $\gamma$  LAT1 transporter. Hallmarks of LPI are intestinal and renal impairment of CAA that cause a urea cycle dysfunction.

Moreover, major and life threatening complications are immune-related disorders in which  $\gamma$  LAT1 contribution is still unknown. Because null *Slc7a7* mice are lethal, a ubiquitous and tamoxifen-inducible ablation of *Slc7a7* in mouse has been generated. LPI patients treatment, low-protein diet and citrulline supplementation, is needed to maintain *Slc7a7*<sup>-/-</sup> mice alive. As in humans, mouse CAA plasma concentration is reduced. This lower availability of urea cycle substrates, the hyperglutaminemia, hyperammonemia and orotic acid hyperexcretion denotes a urea cycle dysfunction that could be the cause of brain edema in *Slc7a7*<sup>-/-</sup>. As in humans, hyperferritinemia, hematological imbalance and clonal expansion defect, are present in the model. Finally, a life threatening immunity alteration in LPI patients is pulmonar alveolar proteinosis (PAP).

Approximately 1/3 of *Slc7a7*<sup>-/-</sup> develops PAP 90 days after induction. At the basis of the disease, alveolar macrophages (AM) play a main role and appear foamy and full of surfactant. The loss of  $\gamma$  LAT1 expression in macrophages could contribute to its malfunction.

In summary, the first LPI animal model is an excellent tool to study the unknown mechanisms of pathophysiology of LPI and improve treatment and health care of patients

[susanna.bodoy@irbbarcelona.org](mailto:susanna.bodoy@irbbarcelona.org)

## 15 Mutaciones en NDUFAF4 asociadas a dismorfia, cardiomiopatía y aciduria 3-metilglutacónica

Tort F, Ugarteburu O, García-Silva MT, Sanjurjo P, García-Villoria J, Ferrer X, Arias A, Briones P, Ribes A

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

**Otros grupos:** GCV14

En este estudio describimos dos hermanos hijos de padres consanguíneos que durante el período neonatal presentaron convulsiones, irritabilidad, dismorfia facial, leucodistrofia y cardiomiopatía hipertrófica. Los estudios metabólicos mostraron niveles elevados de lactato y  $\alpha$ -alanina en plasma. El perfil de ácidos orgánicos en orina mostró un incremento en los niveles de lactato, succinato, fumarato, 2-cetoglutarato y 3-metilglutacónato (3-MGA). Las actividades de la cadena respiratoria y del complejo PDH fueron normales en músculo. La excreción de 3-MGA y las características dismórficas de los pacientes sugirieron el análisis de genes asociados a aciduria 3-metilglutacónica. El estudio realizado mediante "next generation sequencing" (NGS) utilizando un panel de genes diseñado por nuestro grupo excluyó mutaciones en *TMEM70*, *OPA3*, *TAZ*, *ATP5E*, *ATPAF2*, *SERAC1* y *DNAJC19*. La secuenciación del exoma completo identificó una mutación "nonsense" en homocigosis en *NDUFAF4* (c.558G> T; p.Glu160\*). Este gen codifica para un factor de ensamblaje del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. En concordancia con los datos genéticos el estudio de la expresión de la proteína *NDUFAF4* mediante western-blot mostró una ausencia total de expresión en fibroblastos de estos pacientes. Además, el análisis mediante BN-PAGE evidenció una clara deficiencia del ensamblaje del complejo I. Desde la primera descripción en 2009 (Saada et al, Am J Hum Genet. 2009) no se han reportado otros pacientes con mutaciones en *NDUFAF4*. En este trabajo destacamos la importancia de una detallada caracterización bioquímica para dirigir e interpretar los datos generados mediante NGS.

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

## 16 Alteración del metabolismo de las cardiolipinas en pacientes con trastornos del metabolismo energético mitocondrial asociados a aciduria 3-metilglutacónica

Texidó L, Arias A, García-Villoria J, Girós M, Ribes A

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

El incremento de ácido 3-metilglutacónico en orina es un biomarcador que se encuentra asociado a enfermedades mitocondriales causadas por mutaciones en genes codificantes para proteínas localizadas en las membranas mitocondriales. Estas enfermedades suelen presentar alteraciones de la cadena respiratoria mitocondrial y, en algunos casos, afectación del metabolismo de los fosfolípidos mitocondriales. En pacientes con mutaciones en *TAZ* (síndrome de Barth), *SERAC1* (síndrome de MEGDEL) y *DNAJC19* (síndrome de DCMA) se han descrito niveles anormales y/o una composición alterada de algunas subespecies de cardiolipina (CL).

La CL, fosfolípido clave de la membrana mitocondrial interna, actúa en gran variedad de procesos esenciales para el mantenimiento de la estructura y función de la mitocondria. Las alteraciones encontradas en pacientes con un metabolismo anormal de las CLs sugieren que las proteínas alteradas son importantes para el mantenimiento de la composición e integridad de los fosfolípidos mitocondriales.

En este trabajo analizamos los niveles de CLs en fibroblastos de pacientes con aciduria 3-metilglutacónica (3-MGA-uria) y mutaciones en genes previamente asociados a alteraciones en el metabolismo de los fosfolípidos mitocondriales (*TAZ*, *SERAC1*, *DNAJC19*) mediante UPCL-MS/MS. Se estudió también un paciente con mutaciones en *TIMM50*, recientemente asociado a 3-MGA-uria, cuyo perfil lipídico no ha sido descrito previamente.

Nuestros resultados muestran que el paciente con mutaciones en *TIMM50* presenta niveles anormales de ciertas CLs, al igual que los pacientes *TAZ*, *SERAC1* y *DNAJC19*, sugiriendo que la alteración del metabolismo de los fosfolípidos mitocondriales podría ser un factor clave para determinar la fisiopatología de algunas enfermedades del metabolismo energético mitocondrial, especialmente aquellas asociadas a 3-MGA-uria.

[laura.texido@ciberer.es](mailto:laura.texido@ciberer.es)

## 17 Microbiome engineering: a palliative approach to rare metabolic diseases

*Serrano-Morales, José Joaquín; Bejines, Paco; Urdiales, José Luis; Medina-Torres, Miguel Ángel; Sánchez Jiménez, Francisca; Montañez, Raúl.*

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

The medicine of tomorrow will consider human being as a human-microbe symbiotic supraorganism and in part it will be focused on how to leverage the knowledge regarding microbiome as a tool to heal <sup>[1,2]</sup>. Data comes from more and more frequent connections between the onset and progression of particular diseases and a particular dysbiosis <sup>[1,3]</sup>. Microbiota has changed the way we consider a wide range of chronic and incurable diseases and the consequences of long-lasting dysbiosis. In-depth microbiota analysis is opening broad fields of investigation for improving human and animal health and will be a source of major therapeutic innovations for tackling currently unmet medical needs. This brand new interaction provides an unexplored and attractive field of research for the treatment of rare metabolic disorders through rational design of a healthy microbiome able to promote the recovering of the metabolic homeostasis. In this communication, we propose a set of palliative treatments based on healthy faecal transplants enhanced with synthetically engineered microorganisms.

1. H. K. Pedersen et al. *Nature* 535, 376–381 (2016)

2. Y. Sanz et al. *Pediatric Research*. 77, 236–244 (2015)

3. L. Drew *Nature*. 540, S109–S112 (2016)

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

## 18 Invasion and metastasis of neuroblastoma: a mathematical approach

*Serrano-Morales, José Joaquín Urdiales, José Luis Sánchez Jiménez, Francisca Medina-Torres, Miguel Ángel Montañez, Raúl.*

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

It has been argued that malignant tumors represent complex dynamic and self-organizing ecosystems <sup>[1-3]</sup>. Furthermore, there is increasing evidence that collective cell migration occurs during invasion and metastasis. Such a collective cell migration is now recognized as being an important (and often the predominant) mode of invasion in a wide range of tumors. Our hypothesis is that neuroblastoma may be capable of developing multicellular collective patterns, based on a cooperative behaviour and that the level of cooperativity can be evaluated from the neuroblastoma front propagation behaviour. Here, we propose a mathematical model showing how these properties could arise in tumors and why the emergence of such swarm-like patterns would confer advantageous properties to the spatiotemporal expansion of tumors. Consequently, this model illustrates why understanding and ultimately targeting such collectivity should be of interest for basic knowledge and clinical treatment of rare pediatric tumors like neuroblastoma.

1. T.S. Deisboeck & I.D. Couzin, *BioEssays* 31, 190 (2009)

2. E. Khain et al. *Physical Rev. E* 83, 031920 (2011)

3. F.C. Bidard et al. *Cancer & Metastasis Rev.* 27, 1 (2008)

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

## 19 Experimental approaches to study angiogenesis in angiogenesis-related rare diseases

*Ocaña, M.C. Carrillo, P. Quesada, A.R. Medina, M.A.*

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

Deregulated and persistent angiogenesis is related to many pathological conditions, including cancer, ophthalmic, cutaneous and inflammatory diseases, as well as a number of rare diseases. In the last two decades our group has characterized multiple modulators of angiogenesis using a well-established set of in vitro, in vivo and ex vivo experimental procedures. An interest on the relationship between angiogenesis and endothelial metabolism has emerged, and some treatments able to modulate both angiogenesis and metabolism have been proposed. Our group is incorporating additional experimental approaches to study in deep endothelial metabolism and to test if well-characterized anti-angiogenic compounds are also able to modulate metabolism. The whole set of procedures and tools our group uses for studies on angiogenesis can be useful for the study of angiogenesis-related rare diseases. [Our research is supported by funds from Grant BIO2014-56092R (MINECO and FEDER), P12-CTS-1507 (Andalusian Government and FEDER) and funds from group BIO-267 (Andalusian Government)].

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

## 20 Using phenotype-loci network analysis in undiagnosed clinical cases of patients with rare genomic disorders

Bueno, A., Rodríguez-Lopez R., Reyes-Palomares A., Corpas, M. Nevado J., Lapunzina P., Sánchez-Jimenez F., Ranea, JA.  
**Grupo CIBERER:** U741 Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga  
**Otros grupos:** U753

Copy Number Variations (CNVs) are genomic structural variations (deletions, duplications or translocations) frequently observed in healthy individuals, but they can also lead to disease, being the etiology of many known genetic/genomic disorders. Array-comparative genomic hybridization (aCGH) and single nucleotide polymorphisms arrays (SNParrays) are the main technologies used to interrogate CNVs. These technologies have enabled the identification of novel imbalances in individuals with intellectual disability, autistic disorders and congenital malformations in the past recent years. The continuous use of microarrays has enhanced the development of different freely available databases of CNVs. We built tripartite networks with thousands of phenotype-patient-genotype associations using a dataset of 10,324 patients with low prevalent genomic disorders associated to de novo CNVs from DECIPHER database. These networks included 14,227 CNVs and 2,583 HPO different phenotypes. We then aimed to identify new significant pathological associations in mutated regions to assess the potential of this network approach to assist in the diagnosis of novel cases in the genetic clinical routine and to better define the relationships between phenotypes and specific loci.

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

## 21 Comparison of glucosylsphingosine concentration and chitotriosidase activity as surrogated biomarkers in gaucher disease, the Spanish experience.

Irún Pa,b, Cebolla JJ a,b,c, López de Frutos Lb,d, Giraldo Pa,b,d aCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER U752), Zaragoza; bInstituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), Zaragoza; cUniversidad de Zaragoza. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Zaragoza; dFundación Española para el Estudio y Terapéutica de la Enfermedad de Gaucher y otras Lisosomales (FEETEG), Zaragoza.

**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

Recently, the glucosylsphingosine (lyso-Gb1) has emerged as a sensitive and high specific biomarker for diagnosis and monitoring Gaucher disease (GD). Our aims were to evaluate its utility in a historical group of GD patients (GD-P) and carriers (GD-C) comparing with levels in controls and patients with other LSDs, as well as compare it with the classical chitotriosidase activity (ChT) biomarker. We have analyzed both biomarkers in plasma stored samples (-80°C) in 133 subjects: 42 controls, 36 GD-P, 20 GD-C, 10 Niemann-Pick C (NPC), 9 Niemann-Pick A/B (NPAB), 10 Lysosomal Acid Lipase Deficiency (LALD) and 6 Fabry disease (FD) patients. Statistical analysis was performed using SPSS v22.0 package. No overlapping in lyso-Gb1 levels ( $p < 0.001$ ) were observed between GD-P ( $160.03 \pm 114.77$  ng/mL) and controls ( $0.24 \pm 0.18$ ), GD-C ( $0.19 \pm 0.30$ ), NPC ( $0.44 \pm 0.60$ ), NPAB ( $0.01 \pm 0.04$ ), LALD ( $0.13 \pm 0.18$ ) and FD ( $0.20 \pm 0.37$ ). Despite of the differences on ChT activity between GD-P and the other LSDs were significant ( $p < 0.001$ ), an overlapping was observed between GD-P with lower activities ( $11,009.36 \pm 7,065.72$  nmol/mL/h) and NPC ( $633.60 \pm 552.40$ ), NPAB ( $750.00 \pm 366.44$ ) and LALD ( $385.67 \pm 241.44$ ). A positive correlation was observed between lyso-Gb1 and ChT ( $\rho = 0.806$ ;  $p < 0.001$ ). The optimal cut-off value for lyso-Gb1 (AUC=1) was 4.70 ng/mL and 290 nmol/mL/h for ChT (AUC=1, excluding patients with null ChT). In conclusion, the determination of lyso-Gb1 concentration allows us to discriminate GD-P versus GD-C, NPC, NPAB, LALD and FD. Apparently, both biomarkers seem to be equally powerful to distinguish affected from healthies, excluding patients with null ChT activity which can only be follow by lysoGb1.

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

## 22 Structure and mechanism of a bacterial asc, structural and functional homologue of the human asc1 transporter

Joana Fort\*, Paola Bartoccioni\*, Ekaitz Errasti-Murugarren\*, Lucía Díaz, Xavier Carpena, Els Pardon, Antonio Zorzano, Christine Ziegler, Jan Steayert, Juan Fernandez-Recio, Ignacio Fita and Manuel Palacín

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

Heteromeric Aminoacid Transporters (HATs) are amino acid antiporters that exchange amino acid substrates through the plasma membrane and are expressed in all human tissues. The light subunit is the actual transporter and they are LAT family members which homologues could be traced to prokaryotes. The relevance of HATs is highlighted by their role in several pathologies as inherited aminoacidurias cystinuria, lysinuric protein intolerance and autism spectrum disorder. Moreover, some of them are overexpressed in tumors and system asc (asc1/CD98hc) is considered a pharmacological target for schizophrenia because is the major transporter of D-serine in brain.

We solved the structure of the bacterial Alanine Serine Transporter (BasC) at 2.9 Å resolution by X-ray crystallography in apo inward-facing conformation. It is a prokaryotic LAT homolog that shares around 30% identity with human LATs. We demonstrated that it exchanges neutral and short amino acids with a substrate profile very similar to human Asc1. BasC was crystallized in complex with a VHH nanobody (NB74) in the space group P41212. It contains 12 TMs, with TM1 and TM6 each with a central unwound segment, in a LeuT folding. Moreover, a second crystal structure of BasC-NB74 with the amino acid analogue amino isobutyrate (AIB) has been solved at 3.4 Å resolution. This work reveals the first structure of a LAT transporter and the substrate binding site on the inward facing conformation. It is useful to the understanding of the LAT transport mechanism and can help to the developing of pharmacological ligands of human LATs homologues.

[joana.fort@irbbarcelona.org](mailto:joana.fort@irbbarcelona.org)

## PÓSTERES RECORRIDO III. MEDICINA PEDIÁTRICA Y DEL DESARROLLO, PATOLOGÍA NEUROSENSORIAL Y MEDICINA ENDOCRINA

### 23 A mouse model of DYRK1A-related intellectual disability syndrome shows altered gliogenesis and defects in myelination

*Barallobre, MJ1; Pijuan, I1,2; Balducci, E1; Fernández E3, Arbonés ML1,2.*

**Grupo CIBERER:** U716 Laboratori de Teràpia Gènica, Institut de Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDI-BAPS), Barcelona

Individuals with de novo mutations in DYRK1A present microcephaly and intellectual disability (ID), in most cases accompanied with astrogliosis and hypomyelination. Human DYRK1A is located in chromosome 21 and its triplication contributes to the neurological alterations associated to Down syndrome (DS). DYRK1A encodes a protein kinase with a conserved function across evolution in the developing brain where it regulates neurogenesis and neuronal survival and differentiation. There is evidence that the overexpression of DYRK1A contributes to the astrogliosis associated to DS. However, the role of DYRK1A in gliogenesis or glial cell function has not been studied. Here we show that adult haploinsufficient *Dyrk1a* *-/-* mice phenocopy the ID-related DYRK1A syndrome exhibiting an increased number of astrocytes in the telencephalon and altered myelination of the corpus callosum, alterations that arise early in development. Neural progenitors isolated from *Dyrk1a* *-/-* embryos show an altered capacity to differentiate into astrocytes and oligodendrocytes. In vivo, an excess of cortical astrocytes in the *Dyrk1a* *-/-* model is evident one week after birth. In contrast, at perinatal stages, there is a deficit of oligodendrocyte precursors in the corpus callosum, which is due to a reduced embryonic oligodendrogenesis. After the second postnatal week the population of oligodendrocytes reaches normal numbers in *Dyrk1a* *-/-* mice. However, they show a defect in myelination that persists in the adult. Our results suggest a new role of DYRK1A in glial cell development that could contribute to the ID and other neurological problems in patients carrying heterozygous mutations in the DYRK1A gene.

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

### 24 Genomic expression differences between cutaneous cells from red hair color individuals and black hair color individuals based on bioinformatic analysis.

*Gimenez-Xavier P, Puig-Butille JA, Tell-Marti G, Visconti A, Nsengimana J, Garcia-García F, Escamez MJ, Newton-Bishop J, Bataille V, Del Río M, Dopazo J, Falchi M, Mila 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 Clínica, Barcelona

**Otros grupos:** U714, U715

The MC1R gene plays a crucial role in pigmentation synthesis. Loss-of-function MC1R variants, which impair protein function, are associated with red hair color (RHC) phenotype and increased skin cancer risk. Cultured cutaneous cells bearing loss-of-function MC1R variants show a distinct gene expression profile compared to wild-type MC1R cultured cutaneous cells. We analysed the gene signature associated with RHC co-cultured melanocytes and keratinocytes by Protein-Protein interaction (PPI) network analysis to identify genes related with non-functional MC1R variants. From two detected networks, we selected 23 nodes as hub genes based on topological parameters. Differential expression of hub genes was then evaluated in healthy skin biopsies from RHC and black hair color (BHC) individuals. We also compared gene expression in melanoma tumors



from individuals with RHC versus BHC. Gene expression in normal skin from RHC cutaneous cells showed dysregulation in 8 out of 23 hub genes (CLN3, ATG10, WIPI2, SNX2, GABARAPL2, YWHA, PCNA and GBAS). Hub genes did not differ between melanoma tumors in RHC versus BHC individuals. The study suggests that healthy skin cells from RHC individuals present a constitutive genomic deregulation associated with the red hair phenotype and identify novel genes involved in melanocyte biology.

[pgimenez@clinic.cat](mailto:pgimenez@clinic.cat)

## 25 Identificación de un nuevo “enhancer” de SHOX específico del crecimiento de las extremidades y su implicación en la displasia discondrosteosis de Léri-Weill.

*Benito Sanz S, Skuplik I, Bobick B, Aza Carmona M, Rosin JM, Cobb J, Heath KE.*

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

**Introducción:** SHOX codifica un factor transcripcional implicado en el crecimiento. Previamente, identificamos una delección recurrente de 47,5kb en pacientes con discondrosteosis de Leri-Weill (DLW). Estudios funcionales incluyendo 3C en embriones de pollo y ensayos de luciferasa, nos llevaron a identificar un “enhancer” de SHOX, ECR1. Sin embargo, la penetrancia de dicha delección es variable.

**Objetivo:** Estudio de la expresión tejido-específica de ECR1 y la secuencia delecionada de 47,5kb “downstream” de SHOX.

**Metodología:** Estudio de expresión tejido-específica y actividad transcripcional mediante ratones transgénicos y ensayos de luciferasa en células U2OS. Rastreo de variantes en 124 pacientes con probable DLW mediante secuenciación y MLPA (diseño propio). Estudio de las variantes de interés mediante ensayo de luciferasa.

**Resultados:** Hemos delimitado una región (930pb) con expresión en las extremidades de embriones de ratón que no incluye ningún “enhancer” conocido de SHOX ni presenta secuencias evolutivamente conservadas. Confirmamos su actividad “enhancer” independientemente de su orientación y localización mediante ensayos de luciferasa. Identificamos 11 SNPs en nuestra cohorte y demostramos que rs60406052 disminuye la actividad transcripcional.

**Conclusiones:** Identificamos la primera secuencia no conservada con actividad “enhancer” y expresión tejido-específica de SHOX. Esta secuencia está localizada en la delección recurrente de 47,5kb identificada en pacientes con DLW. Aunque ECR1 es un “enhancer” de SHOX, parece que no es específico del desarrollo de extremidades, por tanto, la pérdida del nuevo “enhancer” pudiera ser la causa del fenotipo en nuestros pacientes. El SNP rs60406052 podría ser la primera variante que afecta la actividad transcripcional de un “enhancer” de SHOX.

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

## 26 Cambios en la Mortalidad por Enfermedad de Huntington en Europa 2001-2012

*Arias-Merino G (1), Sánchez-Díaz G (1), Hens M (1,2), Villaverde-Hueso A (1,2), Posada de la Paz M (1,2), Alonso-Ferreira V (1,2) (1) Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER) (2) Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER)*

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

La Enfermedad de Huntington (EH), es un desorden neurodegenerativo, que se encuentra dentro del grupo de Enfermedades Raras. El **objetivo** de este estudio es analizar las tendencias y la variabilidad geográfica de mortalidad por EH en Europa.

**Material y Método:** Se seleccionaron las defunciones con el código G10 (CIE-10) de la base WHO-UE. Se calcularon las tasas de mortalidad ajustadas por edad (TAE) y la razón de mortalidad estandarizada (RME). Las tendencias temporales se evaluaron mediante el análisis de regresión joinpoint.

**Resultados:** Se identificaron 11342 defunciones por EH (48% hombres, 52% mujeres), siendo la TAE media Europea de 1.96 x 1000000. La mortalidad por EH incrementó en un 1.98% anual en Europa. Se observaron tendencias crecientes en Alemania, Croacia, España y Rumanía en ambos sexos. En cuanto a la variabilidad geográfica, Malta tiene el riesgo más alto de defunción por EH en Europa (RME 7.12), seguido de Reino Unido y Noruega con RMEs > 1.50. Dinamarca, Holanda, Bélgica, Suecia, Alemania y Francia también tienen riesgos elevados (RMEs 1.07-1.34). Al este de Europa (RMEs 0.13-0.69), en Finlandia (0.48), España (0.75) y Suiza (0.81), se encontraron riesgos inferiores.

**Conclusiones:** La mortalidad por EH ha aumentado en Europa, probablemente por el mejor diagnóstico y/o el incremento de la prevalencia. La distribución geográfica muestra riesgos más altos en la mayoría de países del norte, oeste de Europa y Malta. Esta heterogeneidad puede estar relacionada con la variabilidad genética, un posible efecto fundador, poblaciones aisladas, u otros factores, que deberán analizarse en mayor profundidad en estudios posteriores [anavillaverde@isciii.es](mailto:anavillaverde@isciii.es)

## 27 Atlas Nacional de Mortalidad debida a Enfermedades Raras

*Sánchez-Díaz G, Escobar Martínez F, Arias-Merino G, Villaverde-Hueso A, Posada de la Paz M y Alonso V*  
**Grupo CIBERER:** U758 Instituto de Investigación en Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid

**Objetivo:** La información de base poblacional sobre enfermedades raras (EERR) es aún escasa. Las estadísticas oficiales de mortalidad permiten seleccionar casos relacionados con EERR y hacer un estudio detallado para España. Los objetivos del "Atlas Nacional de Mortalidad debida a Enfermedades Raras" son analizar la variabilidad temporal y espacial del riesgo de defunción asociado a EERR, y mostrar gráficamente los resultados para facilitar su interpretación.

**Material y Método:** Según las estadísticas de defunciones del INE, se han extraído aquellos códigos que corresponden a EERR desde 1999 a 2013: Clasificación Internacional de Enfermedades 10ª revisión (CIE-10). Se calcularon las tasas ajustadas por edad para cada año y se analizaron los cambios temporales en el riesgo de defunción. La variabilidad geográfica se evaluó mediante el cálculo de Razones de Mortalidad Estandarizada y su suavización espacial representando los resultados en mapas a nivel provincial, comarcal y/o municipal.

**Resultados:** En 12 capítulos y 250 páginas, se ofrece un estudio detallado sobre las tendencias temporales de mortalidad por EERR en España y su variabilidad geográfica. Los resultados se presentan para el total de EERR, por capítulos CIE-10 y 15 ejemplos de enfermedades o grupos de EERR. Se presenta una batería de gráficos, textos, fotografías y mapas en formato libro que permite visualizar rápidamente esta información epidemiológica, facilitando su manejo y consulta.

**Conclusiones:** La publicación del atlas en 2017 ofrecerá una visión de la mortalidad debida a EERR en España, que servirá como base de investigaciones futuras y toma de decisiones para la planificación sanitaria.

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

## MEDICINA ENDOCRINA

## 28 SGPL1, nuevo gen recesivo cuyas mutaciones inactivadoras provocan un síndrome que asocia insuficiencia adrenal primaria y síndrome nefrótico corticorresistente

*Camats, N, Fernández-Cancio, M, Clemente, M, Audí, L, Yeste, D, Campos, A, Prasad, R, Metherell, LA, Carrascosa, A*  
**Grupo CIBERER:** U712 Servicio de Pediatría, Hospital Universitari Vall d'Hebron - Institut de Recerca, Institut Català de la Salut, Barcelona

La insuficiencia adrenal primaria (PAI) congénita y familiar consiste en un déficit de producción de hormonas esteroideas adrenales que puede manifestarse con hiperpigmentación, retraso del crecimiento, hipoglucemia, pérdida salina e hipotensión. Puede ser fatal y manifestarse asociada a otros trastornos. Tiene un origen genéticamente heterogéneo.

La paciente índice presentó un síndrome nefrótico corticorresistente (SNCR) antes del año de vida (2 trasplantes renales). Fue diagnosticada de PAI a los 9 años al ingresar con hipoglucemia e hipotensión, deficiencia de cortisol y andrógenos adrenales y aumento del ACTH. Además, la paciente presenta ictiosis, hipotiroidismo primario (12 años). Se le detectó una mutación en homocigosis en el gen *SGPL1* (sphingosine-1-phosphate lyase): c.7dupA, p.S3Kfs\*11. Los padres (consanguíneos) son portadores no afectados. Otros 2 miembros consanguíneos de la familia están afectados (1 con SNCR y otro con PAI y SNCR). Esta familia forma parte de un estudio multicéntrico<sup>(1)</sup> (inicialmente mediante WES) que demuestra que mutaciones en *SGPL1* (vía de los esfingolípidos) provocan afectación adrenal y renal. Este estudio demuestra que *SGPL1* se expresa en glándulas adrenales humanas normales adultas (córTEX) y fetales. Los ratones *Sgpl1*<sup>-/-</sup> presentan glándulas adrenales y riñones con morfologías anómalas, afectación de la zonación adrenocortical, déficit de expresión de enzimas de la esteroidogénesis e histología renal con fenotipo glomerular. En conclusión, presentamos una familia consanguínea con PAI, SNCR y otras afectaciones causadas por una mutación en homocigosis en nuevo gen: *SGPL1*. La deficiencia de *SGPL1* puede producir un defecto multisistémico.

((1) Prasad et al. J Clin Invest 2017)

[nuria.camats@vhir.org](mailto:nuria.camats@vhir.org)

## PATOLOGÍA NEUROSENSORIAL

### 29 Estudio farmacogenético de la respuesta a largo plazo del metilfenidato en el trastorno del déficit de atención e hiperactividad en niños de la población española.

Gómez Sánchez, CI Carballo Belloso, JJ Riveiro Álvarez, R Soto Insuga, V Rodrigo Moreno, M Mahillo Fernández, I Abad Santos, F Dal Ré, R Ayuso García, C

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

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad es una alteración del neurodesarrollo con una alta proporción de casos que no responden al tratamiento. Realizamos un estudio observacional con el objetivo de evaluar el papel de las variantes genéticas de riesgo en la eficacia al tratamiento con metilfenidato (MPH)

Se estudiaron 144 pacientes entre 6 y 17 años. La eficacia se midió con las siguientes escalas: evaluación clínica global de severidad (ICG-S) y evaluación clínica global (CGAS). Se recogieron datos en la visita basal, a los 3, 6 y 12 meses. Se genotiparon 32 polimorfismos localizados en 16 genes. El efecto de estos polimorfismos en la respuesta al tratamiento se evaluó mediante modelos lineales de efectos mixtos.

Para ambos modelos, la respuesta al tratamiento se asoció con el tiempo y la liberación retardada /terapia combinada del MPH, y con las siguientes variantes: *LPHN3* rs2305339 y *GFOD1* rs552655. Para el modelo CGAS, se encontró un efecto adicional en el gen *DRD4*. Se encontraron las siguientes interacciones con la evolución temporal en la respuesta: *SLC6A3* intrón 8 y *ADRA2A* rs553668 (escala ICG-S); *DRD2* rs1800497 y *GRM7* rs3792452 (escala CGAS). La proporción de varianza explicada para ambos modelos fue del 13%.

Señalamos la importancia del gen *LPHN3*, apoyando resultados previos. Además, encontramos una nueva asociación no descrita previamente con el gen *GFOD1*. El estudio del papel de este gen candidato como posible diana terapéutica podría ayudar al desarrollo de nuevas aproximaciones en el tratamiento.

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

### 30 Localization of CERKL, a Retinitis Pigmentosa gene, in the retina: association to RNA-stress granules

Domènech E.B. Andrés, R. Marfany, G. González-Duarte, R.

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

*CERKL*, a retinitis pigmentosa and cone-rod dystrophy gene, shows a high transcriptional complexity, with many isoforms produced by alternative splicing and alternative promoters. The *CERKL* protein displays lipid kinase and mRNA binding domains, as well as nuclear localization and nuclear export signals. The precise physiological function of *CERKL* is still being elucidated, but it is related to cell resilience to stress since its overexpression protects cells from the apoptosis triggered by oxidative stress. In vitro studies on cultured cells showed that *CERKL* binds mRNA and contributes to the formation of stress granule complexes. These in vitro results have been further confirmed in murine isolated retinal neurons (retinal ganglion cells and photoreceptors) as well as in human retinal epithelium cells, 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.

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

### 31 DFNA15 caused by POU4F3 mutations is one of the most frequent forms of hereditary deafness in Spain with different underlying pathogenic mechanisms

Matias Morín<sup>1</sup>, Luciana Serrao-de-Castro<sup>1</sup>, Fernando Mayo<sup>1</sup>, Lucía Borreguero<sup>1</sup>, Irene Valenzuela<sup>2</sup>, Ignacio del Castillo<sup>1</sup>, Miguel Angel Moreno-Pelayo<sup>1</sup> <sup>1</sup> Servicio de Genética-Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), CIBERER U728, Madrid, Spain. <sup>2</sup> Unitat de Genètica Clínica, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona, Spain.

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

POU4F3 is a POU domain transcription factor that is required for hearing. Mutations in this gene are involved in autosomal dominant (AD) progressive hearing loss (DFNA15). It is expressed in hair cells in the inner ear and is essential for hair cell maturation. Mutation analysis by dHPLC of the POU4F3 gene in 80 patients suffering from dominantly inherited hearing impairment revealed

five novel missense mutations: p.R230S, p.W251Cfs\*65, p.W251X, p.F293L and p.F322L. Moreover, p.G225X change was identified in a large Spanish family by genome-wide SNP genotyping using the Illumina linkage panel with 6090 SNPs. To test the potential effects of the human POU4F3 mutation we performed a series of experiments in NIH3T3 cells. Whereas wild-type POU4F3 is found exclusively in the nucleus, we show that the mutant proteins exhibited several patterns; while p.R230S, p.F293L and p.F322L mutants were localized both in the nucleus and the cytoplasm, p.W251Cfs\*65 exhibited a wild-type pattern. Analysis of the protein sequence revealed that a new nuclear localization signal had been generated in this mutant. Cytoplasmic clumps were observed in p.W251X mutant, while p.G225X was dispersed into the cytoplasm. Western blot analysis showed that POU4F3 protein levels were reduced in all mutants. In this study, we report six novel mutations in POU4F3 gene; it accounting for at least 7% of AD cases in Spanish population. Our results indicate that POU4F3 is one of the most prevalent genes to be screened in a routine molecular diagnosis of AD non-syndromic deafness in Spanish population.

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

## 32 Avances en el diagnóstico genético de las distrofias hereditarias de retina

*García-García, G., Rodríguez-Muñoz, A., Fuster-García, C., Hernán, I., Riveiro-Álvarez, R., Ávila-Fernández, A., Carballo, M., Ayuso, C., Barranco, H., Gallego-Pinazo, R., Jaijo, T., Aller, E., Millán, J.M.*

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

Las distrofias hereditarias de retina (DHR) engloban un grupo de enfermedades caracterizado por la muerte progresiva de fotorreceptores. Debido a la gran heterogeneidad genética y clínica de las DHR el abordaje del diagnóstico genético por los métodos tradicionales es inviable. El objetivo de este estudio es el diagnóstico genético en pacientes con DHR mediante secuenciación masiva.

Se ha diseñado un panel de 117 genes y 5 mutaciones intrónicas. Hemos utilizado el protocolo SureSelectQXT (Agilent) para la construcción de la librería y la plataforma MiSeq (Illumina) para la secuenciación. El análisis de datos se realizó mediante los programas SureCall (Agilent) y wANNOVAR (WGLab). Para validar el panel se analizaron 8 casos con mutaciones distintas, localizadas en 8 genes responsables de DHR.

El panel diseñado tuvo un tamaño de 490 kbp. El 67% de lecturas mapearon en nuestras regiones de interés. La profundidad media ha sido de 228x y el 98% de las bases tienen una profundidad de >50x. Se han detectado el 100% de las mutaciones de los casos control: 1 mutación de splicing, 2 missenses, 5 frameshifts y una delección de 5 exones; localizadas en los genes: NR2E3, ABCA4, RPGR, RHO, PRPF8, CHM, PRPH2 y USH2A.

Los resultados obtenidos en la secuenciación de los casos control (cobertura, profundidad de las lecturas, así como la detección de las mutaciones) valida esta estrategia de análisis para el diagnóstico molecular de las DHR. Una vez validado el panel, hemos empezado a secuenciar una cohorte de 100 pacientes clasificados clínicamente de DHR.

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

## 33 Perfil de expresión de Hif-1 $\alpha$ y factores inflamatorios durante la progresión de la degeneración retiniana en un modelo murino de retinosis pigmentaria

*Olivares-González, L; Martínez-Fernández de la Cámara, C; Hervás, D; Millán, J.M; Rodrigo, R.*

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

La retinosis pigmentaria (RP) constituye un grupo de degeneraciones retinianas de origen genético que se caracteriza por la pérdida progresiva de la visión, debida a la muerte de las células fotorreceptoras. La degeneración retiniana empieza con la muerte de los bastones, provocada por defectos genéticos y progresa con la muerte de los conos, probablemente a causa de los cambios metabólicos que se inician tras la degeneración de los bastones. Numerosos estudios en ratones y pacientes con RP sugieren que el daño oxidativo y la inflamación contribuyen a la muerte de los fotorreceptores.

El factor inducible por hipoxia HIF-1 $\alpha$  es un factor de transcripción que responde a bajas concentraciones de oxígeno aumentando la expresión de determinados genes de supervivencia celular. En el caso de la RP, la muerte de los bastones, principales consumidores de oxígeno en la retina, podría provocar un aumento en la concentración de oxígeno, que implicaría una reducción en el contenido de Hif-1 $\alpha$  y con él sus genes diana, contribuyendo así al daño oxidativo.

Analizamos el perfil de expresión de HIF-1 $\alpha$ , y sus genes dianas así como de genes implicados en la inflamación en distintos momentos de la progresión de la RP en la retina de ratón rd10. Los resultados muestran una alteración en los niveles de HIF-1 $\alpha$  y sus dianas así como un aumento de los mediadores inflamatorios ya en estadios tempranos de la enfermedad.

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

### 34 Actualización del diagnóstico genético de albinismo mediante la estrategia albinochip

Fernández A(1), Torres M(2), Zurita E(1), Cantero M(1), Sobrino B(2), Cortón M(3), Trujillo MJ(3), Ayuso C(3), Carracedo A(2), Montoliu L(1) 1.- U756 2.- U711 3.- U704

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

**Otros grupos:** U711 y U704

El albinismo es una condición genética rara, que afecta a uno de cada 17,000 nacimientos, aproximadamente, y del que se conocen actualmente hasta 20 genes cuyas mutaciones están asociadas con algún tipo de albinismo. Esta enfermedad rara está caracterizada por problemas visuales importante que pueden coincidir con alteraciones en la pigmentación en la piel, ojos y pelo. Existen tipos de albinismos no sindrómicos, tradicionalmente llamados oculocutáneos (OCA1-7) u oculares (OA1) y sindrómicos (Hermansky-Pudlak, HPS1-10; y Chediak-Higashi, CHS), con alteraciones graves adicionales en otros tipos celulares. A través de una estrategia de diagnóstico genético masivo basada en el equipo Sequenom, y en colaboración con la unidad U711 dirigida por Ángel Carracedo, hemos podido procesar más de 500 muestras, incluyendo a pacientes y familiares, de las cuales hemos podido concluir un diagnóstico genético en un porcentaje de las mismas. Para el resto hemos aplicado estrategias de secuenciación masiva (exomas completos, en colaboración con el Instituto Sanger y el CNAG, en base a una convocatoria reciente) y estrategias complementarias basadas en paneles de genes relacionados con el albinismo, disponibles en la U711, o con genes relacionados con retinopatías y/o alteraciones oftalmológicas, en colaboración con la U704. En esta presentación actualizaremos el trabajo realizado y los resultados conseguidos, agrupando los pacientes diagnosticados por tipos de albinismo y por tipo de mutación. Mediante este tipo de aproximaciones de diagnóstico genético sistemático pretendemos lograr analizar un mayor número de las personas con albinismo de nuestro país que, actualmente, siguen sin estar diagnosticadas.

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

### 35 Modelos animales y celulares del déficit humano en la acción del IGF-1

Lourdes Rodríguez-de la Rosa, Silvia Murillo-Cuesta, Ángela García Mato, Blanca Cervantes, Lluís Montoliu e Isabel Varela-Nieto

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

**Otros grupos:** U756

El factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) y su receptor de alta afinidad IGF1R, así como varias de sus dianas intracelulares, son elementos vitales en el desarrollo y funcionalidad del receptor auditivo. En consecuencia, su deficiencia está asociada con varias enfermedades de muy baja prevalencia, frecuentemente síndromes que incluyen la pérdida auditiva. Para profundizar en el conocimiento de la fisiopatología del sistema IGF hemos estudiado el fenotipo auditivo de ratones modificados genéticamente para permitir la delección del IGF1R en el ratón adulto. Hemos utilizado cruces de ratones en los que el gen *Igf1r* se ha modificado para estar flanqueado por secuencias fl con ratones que expresan CRE dirigida por un promotor ubicuo, en los cruces la delección es estimulada por tratamiento con tamoxifeno (UBC-CreERT2; *Igf1r<sup>fl/fl</sup>*). En paralelo, hemos caracterizado la respuesta al IGF-1 y la expresión de los elementos del sistema IGF en la línea de células auditivas de ratón HEI-OC1 (House Ear Institute-Organ of Corti 1), como primer paso para evaluar los efectos de la delección del gen *Igf1* en estas células utilizando la tecnología CRISPR/Cas9. A este fin también se han identificado las secuencias génicas que una vez editadas reproducirían en este modelo celular la sordera sensorial sindrómica causada por delecciones y mutaciones en el gen IGF1.

**Agradecimientos:** SAF2014 (53979-R) y ACCI2016 (ER16P5AC7091). AGM disfruta de una Ayuda CIBERER para el inicio de tesis doctoral en ERs. LR-dIR y SM-C son contratados CIBERER.

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

## PÓSTERES RECORRIDO IV. MEDICINA GENÉTICA

### 36 Potential genes related with Hirschsprung disease through the determination of DNMT3b targets by ChIP-seq assay in enteric precursor cells.

Villalba-Benito, L; Torroglosa, A; Luzón-Toro, B; Fernández, RM; Ruíz-Ferrer, M; 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

Hirschsprung disease (HSCR) is attributed to a failure of neural crest cells (NCCs) to migrate, proliferate, differentiate and/or survive in the bowel wall during embryonic Enteric Nervous System (ENS) development. ENS formation is the result from a specific gene expression pattern regulated by epigenetic events, such DNA methylation by the DNA methyltransferases (DNMTs), among other mechanisms. Specifically, DNMT3b de novo methyltransferase is associated with NCCs development and has been shown to be implicated in ENS formation and in HSCR. Aiming to deep into the specific gene expression pattern established by epigenetic mechanisms during these processes, we have performed a study based on the identification of DNMT3B target genes in enteric precursor cells (EPCs) from mice, through a chromatin immunoprecipitation coupled with massively parallel sequencing analysis (ChIP-seq). In addition we have applied several bioinformatic tools to determine the potential target genes. This approach led us to find 20 genes whose expression could be maintained at basal levels by DNMT3b in EPCs. These target genes may be part of the signaling pathways required for the proper ENS formation. Therefore this finding leads us to propose that a failure in their expression might contribute to the onset of HSCR.

[berta.luzon.exts@juntadeandalucia.es](mailto:berta.luzon.exts@juntadeandalucia.es)

### 37 Retinosis Pigmentaria autosómica recesiva asociada a mutaciones en SYNE2: una nueva asociación gen-enfermedad.

Méndez-Vidal, C; Bravo-Gil, N; González-del Pozo, M; Romero-Pérez, L; Martín-Sánchez, M; Rodríguez-de la Rúa, E; 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

**Objetivos:** Identificar el defecto genético asociado a la Retinosis Pigmentaria (RP) autosómica recesiva en una familia española (RP184), en la que se había excluido previamente la presencia de mutaciones en 64 genes de retina.

**Material y Método:** Se realizó la secuenciación de exoma completo en la familia RP184 y la secuenciación dirigida de 68 genes de retina en 163 casos no resueltos de RP. Además, se realizaron estudios de expresión mediante PCR cuantitativa, y de localización mediante inmunohistoquímica e inmunofluorescencia.

**Resultados:** En la familia RP184, se identificaron dos mutaciones en heterocigosis compuesta (c.20140G>A y c.20339G>A) en SYNE2, un gen no relacionado previamente con RP. El rastreo mutacional de SYNE2 en casos de RP no resueltos, permitió identificar dos mutaciones distintas (c.3235A>G y c.15800A>T), que co-segregaban con la enfermedad en una familia no relacionada (RP26). Estudios previos en dos modelos de ratón, *Syne2*<sup>-/-</sup> y *Syne2*<sup>cpfl8</sup>, indican que los defectos de retina observados en estos animales se deben a la presencia de una delección y una mutación espontánea en *Syne2*, respectivamente. Nuestros estudios muestran que SYNE2 se localiza principalmente en la región perinuclear de células hTERT-RPE1 y que se expresa abundantemente en la retina humana, principalmente en el epitelio pigmentario de la retina, fotorreceptores, capa nuclear interna y capa de células ganglionares.

**Conclusiones:** Estos resultados vinculan por primera vez al gen SYNE2 con la aparición de RP. Consideramos que el rastreo mutacional de este gen en individuos afectados de RP, debería ser tenido en cuenta para asegurar el correcto diagnóstico molecular en estos pacientes.

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

### 38 Estrategias de secuenciación NGS para el estudio de las enfermedades neuromusculares congénitas

Gonzalez-Quereda L, Pariente A, Alias L, Rodriguez MJ, Baena M, Diaz-Manera J, Gallardo E, Gallano P

**Grupo CIBERER:** U705 Servicio de Genética, Instituto de Investigación Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona  
**Otros grupos:** U762 (CB06/05/0030)

**INTRODUCCIÓN:** Las enfermedades neuromusculares congénitas son desórdenes del músculo de precoz caracterizadas por una gran heterogeneidad clínica y genética. Por ello, conseguir un diagnóstico genético preciso representa aún un reto.

**OBJETIVOS:** Evaluar la ventaja diagnóstica mediante diferentes aproximaciones con tecnología NGS en una cohorte de enfermedades neuromusculares congénitas.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se han analizado muestras de gDNA de 62 pacientes con sospecha clínica de enfermedad neuromuscular congénita. Para ello se emplearon el exoma clínico (TruSight One, Illumina) y un panel de diseño propio que incluye 118 genes candidatos (Nextera Rapid Capture, Illumina). Los datos de secuenciación fueron analizados mediante Variant Studio y DNA Nexus.

Todas las variantes candidatas se confirmaron mediante secuenciación Sanger y su patogenicidad fue evaluada utilizando Alamut Software (Interactive Biosoftwares) y la base de datos LOVD.

**RESULTADOS:** La causa genética fue identificada en 28 de 48 muestras (58%) analizadas mediante el panel de diseño propio y en 11 de 25 muestras (44%) analizadas mediante el exoma clínico. Once muestras mostraron la mutación causativa mediante el panel de diseño propio habiendo sido previamente analizadas mediante exoma clínico sin mostrar resultados positivos.

Las mutaciones en RYR1 fueron las más frecuentes en nuestra cohorte. Se identificaron variantes en genes relacionados con Síndromes Miasténicos Congénitos en 8 pacientes, lo cual fue clave para la aplicación del tratamiento, que depende del defecto molecular.

**CONCLUSIONES:** El panel de diseño propio ha mostrado ser una herramienta más efectiva que el exoma clínico en la identificación del defecto molecular en las enfermedades neuromusculares congénitas.

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

### 39 Implementación de la secuenciación masiva para la mejora en el diagnóstico de las neuropatías motoras hereditarias distales

*Alías L, Bernal S, Munell F, González-Quereda L, March F, Sánchez E, Gallano P, Tizzano EF*

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

**Introducción:** Las neuropatías hereditarias son un grupo de trastornos genéticos minoritarios que afectan a los nervios sensitivos, motores o a ambos a la vez, de manera que los síntomas de estas enfermedades son muy heterogéneos y en muchos casos existe un solapamiento que dificulta el diagnóstico clínico. Además, se han identificado numerosos genes asociados a estas patologías que presentan distintos patrones de herencia, este hecho dificulta aún más el abordaje molecular de este grupo de enfermedades.

**Material y métodos:** Secuenciación masiva (NGS) mediante paneles *TruSight One (Illumina)* de muestras de ADN procedentes de tres pacientes con sospecha clínica de atrofia muscular espinal (AME) no-5q. Las variantes resultantes fueron analizadas mediante el software *VariantStudio (Illumina)*. Los filtros aplicados permitieron seleccionar aquellas variantes con carácter patogénico detectadas en los genes asociados a neuropatías motoras hereditarias distales (NHMD). Los resultados obtenidos por NGS fueron validados mediante la secuenciación Sanger.

**Resultados:** En uno de los pacientes se detecta una mutación *nonsense* en homocigosis (NM\_002180.2:c.2362C>T) en el gen *IGHBMP2* previamente descrita por Grohmann et al 2003. Este provocará la aparición de un codón stop prematuro (p.Arg788\*) de la proteína codificada por el gen *IGHBMP2*. Mediante secuenciación Sanger se valida la detección de dicha variante genética tanto en homocigosis en el caso índice como en heterocigosis en ambos progenitores asintomáticos.

**Comentarios:** Las nuevas tecnologías de NGS permiten el abordaje de patologías con amplia heterogeneidad genética y solapamiento clínico. El resultado molecular de uno de los tres pacientes mediante esta estrategia ha permitido una reclasificación clínica como atrofia muscular espinal con dificultad respiratoria (SMARD).

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

### 40 Caracterización de una mutación en 5'UTR de Endogлина causante de telangiectasia hemorrágica hereditaria.

*Ruiz-Llorente, L; Wooderchak-Donahue, W; McDonald, J; Bayrak-Toydemir, P y Bernabeu, C.*

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

**Antecedentes:** La telangiectasia hemorrágica hereditaria (HHT) es una enfermedad vascular caracterizada por epistaxis, malformaciones arteriovenosas y telangiectasias. La mayoría de los pacientes presentan una mutación en la región codificante del gen de receptor de activina A tipo II-1 (ACVRL1) o Endogлина (ENG). Sin embargo, en apro-

ximadamente el 15% de los casos, el análisis de secuenciación y las pruebas de delección / duplicación no logran identificar mutaciones en las regiones codificantes de estos genes. Trabajos anteriores del grupo han resaltado la importancia de la necesidad de incluir el estudio de mutaciones de la región génica 5' no traducida (UTR) de ENG en las pruebas clínicas (Damjanovich et al., 2011; Fontalba et al., 2013).

**Metodología y resultados:** La secuenciación de la región 5'UTR de ENG de un paciente varón caucásico de 48 años con malformaciones arteriovenosas pulmonares y epistaxis con frecuencia 1-2 semanales, reveló la presencia de una mutación (c.-142A>T) que crea un nuevo codón de iniciación que podría modificar el inicio de la traducción y por tanto cambiar el marco de lectura. Los estudios de expresión in vitro confirmaron que una construcción con esta mutación altera la traducción y disminuye el nivel de la proteína endoglina.

Se han realizado estudios de segregación familiar y se han encontrado otros miembros con sintomatología característica de HHT que portan esta variante génica.

**Conclusiones:** Nuestros resultados refuerzan la necesidad de la ampliación del estudio de la región 5'UTR de ENG en las pruebas diagnósticas.

[lruiz.llorente@cib.csic.es](mailto:lruiz.llorente@cib.csic.es)

## 41 Caracterización de patrones de estratificación a escala local: comparación de variantes comunes y raras

*Cruz, R.; Rey-Gonzalez, Danel; Martínez-Calvo, L.; Brión, María; Quintela, Inés; Riancho, Jose Antonio; Carracedo, Ángel*  
**Grupo CIBERER:** U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña

La estructura genética poblacional, importante tanto desde el punto de vista evolutivo como epidemiológico, tradicionalmente ha sido evaluada utilizando variantes comunes. Sin embargo, los cada vez más numerosos estudios de secuenciación y arrays de zonas codificantes, han volcado la atención sobre las variantes raras. Dichas variantes, probablemente de origen más reciente y con frecuencias específicas de población, se espera que muestren patrones de estratificación diferentes a los mostrados por variantes comunes, si bien hay estudios contradictorios.

En este trabajo estudiamos la estructura poblacional observada analizando variación común (SNPs, minor allele frequency (maf)>0.05) y variación rara (maf<0.006) a escala local, en 250 individuos de cinco poblaciones españolas, genotipadas con el Axiom® Exome 319 Genotyping Array de Affymetrix. Con cada grupo de marcadores caracterizamos la estratificación poblacional utilizando DAPC (Discriminant Analysis of Principal Components) y a continuación analizamos la distribución de las variantes más informativas a lo largo del genoma.

Nuestros resultados indican que la estratificación en variantes raras es claramente más fuerte que la observada en variantes comunes, apuntando la necesidad de evaluar la aplicabilidad de los métodos de corrección. Los marcadores comunes más discriminantes se concentraron claramente en la zona del complejo HLA en el cromosoma 6, una región ya conocida por sus fuertes gradientes geográficos. Por su parte, las variantes raras responsables de la diferenciación poblacional aparecieron diseminadas por todo el genoma, lo que estaría acorde con su aparición más reciente, de forma que incluso aquellas variantes potencialmente deletéreas pueden no haber sido eliminadas aún por selección natural.

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

## 42 Aplicación de la secuenciación de exoma en el diagnóstico de Paraparesia espástica complicada

*Brea-Fernández, AJ; Quintas-Rey, R; Caamaño Vara, P; Dacruz, D; Eiris, J; Carracedo, A; Barros, F.*  
**Grupo CIBERER:** U711 Grupo de Medicina Xenómica, Facultad de Medicina, Universidad de Santiago de Compostela, A Coruña

El presente estudio recoge el caso de un varón de 10 años con retraso global del desarrollo, espasticidad generalizada con predominio en miembros inferiores, microcefalia adquirida, hipoplasia de cuerpo caloso, displasia cerebelosa, disminución de sustancia blanca occipital bilateral y rasgos dismórficos menores: pabellones auriculares con anteversión en zona inferior, hendiduras palpebrales antimongoloides, sindactilia parcial del segundo y tercer dedos de los pies, uña del pulgar ancha, labios gruesos y ptosis palpebral derecha. A pesar de que la clínica parece ajustarse a la del síndrome de Mowat-Wilson, resulta comprometido descartar que el paciente padezca alguna de las patologías que afectan a la sustancia blanca (Xantomatosis, síndrome de Krabbe, Adrenoleucodistrofia ligada a X, síndrome de Alexander) o una enfermedad peroxisomal. Debido a esta gran complejidad diagnóstica, y en base a la eficacia demostrada por la tecnología de secuenciación masiva, se decidió secuenciar el exoma del paciente en busca de la causa genética subyacente a su enfermedad. Tras la secuenciación, se identificaron 2 variantes heterocigotas en el



gen *AP4M1*: una frameshift que origina un codón de terminación prematuro y una missense potencialmente patogénica según predicciones *in silico*. La presencia de ambas variantes en *AP4M1* parece explicar el fenotipo del paciente y permite encuadrar el presente caso en un diagnóstico de Paraplejía espástica tipo 50 de herencia autosómica recesiva (OMIM612936). Finalmente, mediante la secuenciación de exoma se ha logrado orientar el diagnóstico del paciente, no incluido entre los barajados inicialmente.

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

## 43 Actividad colaborativa de la plataforma BiER en 2016

*García-García F., Aleman, 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 2016, la plataforma BiER ha mantenido su intensa labor colaborativa con grupos del CIBERER, proporcionando servicio de asesoramiento y soporte tecnológico-bioinformático en 26 proyectos procedentes de 16 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 secuenciación de nueva generación, abordando principalmente estudios genómicos (exomas y paneles de genes) pero también transcriptómicos. Desde el BiER 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 3 investigadores y se realizó la actividad formativa “NGS course: from reads to candidate genes” a la que asistieron 22 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, Hipathia.

Los resultados de estos análisis y desarrollos bioinformáticos han generado 11 publicaciones científicas colaborativas.

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

## 44 Metabolic reprogramming involved in the pathomechanisms of OXPHOS diseases related to hypomodification of mitochondrial tRNAs

*R. Boutoual, S. Meseguer, M. Villarroya, C. Aguado, M. Casado, E. Knecht 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:** U723

Defective mitochondrial translation is a recognized cause of human diseases associated with severe dysfunction of oxidative phosphorylation (OXPHOS). However, it is unclear how this type of alterations may lead to different nosological entities. Thus, mutations in nuclear and mitochondrial genes involved in mitochondrial translation are cause of encephalopathies, myopathies, cardiomyopathies, liver failure, etc. We hypothesize that retrograde signaling from mitochondria to nucleus is different in each entity, thus generating a tissue-specific maladaptive response that is responsible of the clinical phenotype. To test this, we have characterized the retrograde signaling in cell models of the MTO1 and GTPBP3 defects. The nuclear encoded proteins MTO1 and GTPBP3 are jointly involved in the post-transcriptional modification of mitochondrial tRNAs and mutations in the respective genes lead to hypomodification of mt-tRNAs, impairment of mitochondrial translation, OXPHOS dysfunction and infantile hypertrophic cardiomyopathy.

We demonstrate that the MTO1 defect triggers the inactivation of the AMPK/UCP2 retrograde signaling, which drastically affects the expression of metabolic genes, and leads both to the uncoupling of OXPHOS from glycolysis and to an impairment of fatty acid oxidation. Strikingly, this response is different from that found after stable or transient silencing of GTPBP3, which is represented by an AMPK-mediated induction of UCP2 and, accordingly, of fatty acid oxidation.

Our results support the idea that MTO1 has a second function, which would explain the different nuclear expression pattern observed between the MTO1- and GTPBP3-defective cells. If so, MTO1 and GTPBP3 mutations trigger different pathogenic mechanisms leading to a similar clinical phenotype.

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

## 45 Transport of laforin between nucleus and cytosol

*Lahuerta M., Fatinajafabadi A., Knecht E., Aguado C.*

**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

Lafora disease (LD), a fatal progressive myoclonus epilepsy, is characterized by the accumulation of cytosolic aggregates called Lafora bodies in neurons and cells with high glucose metabolism. They contain polyglucosans, an insoluble, hyperphosphorylated and poorly branched form of glycogen. Mutations in one of two genes, EMP2A and EMP2B, encoding, respectively, laforin or malin, account for  $\approx 95\%$  of all LD cases, which display similar phenotypes. In spite of much work, the role of both proteins has not been fully established. Most work has investigated a cytosolic role (glycogen metabolism or intracellular protein degradation defects). However, malin was mainly detected in the nucleus. Therefore, we started work in another direction, namely the possible roles of laforin/malin in the nucleus.

Under basal conditions, laforin is localized in the cytosol, but in the absence of glucose part of it reversibly translocates into the nucleus, where malin remains. To investigate the molecular details of this transport, we co-expressed RFP-laforin and the nuclear import inhibitor YFP-Bimax2 and followed the localization of laforin. Its exit from the nucleus was analyzed using CRM1 inhibitors. We found that part of laforin enters the nucleus by the classical pathway mediated by importin  $\alpha/\beta$  and leaves it by the CRM1-dependent pathway. Once in the nucleus, laforin is monoubiquitinated. These results suggest that in the absence of glucose both proteins colocalize in the nucleus, which may be relevant for the pathogenesis of LD.

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

## 46 Huan endoglin as a potential new partner involved in platelet-endothelium interactions

*Rossi E, Pericacho M, Bachelot C, Pidard D, Gaussem P, Poirault-Chassac S, Blanco FJ, Langa C, González-Manchón C, López-Novoa JM, Smadja DM, Bernabeu C*

**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:** 707

Hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT) is characterized by a bleeding tendency that is postulated to be a consequence of telangiectasia fragility rather than a platelet defect, since platelets display normal functions in vitro in this disease. HHT type 1 (HHT1) patients present heterozygous mutations in the endoglin gene resulting in a loss of expression of membrane endoglin on endothelial cells (EC). We previously reported that endothelial endoglin is involved in inflammation via its RGD motif, through integrin-mediated leukocyte adhesion and transmigration. These data prompted us to hypothesize that endoglin may act as an adhesion molecule involved in the interaction between EC and platelets through integrin recognition. Here we find that the extracellular domain of human endoglin promotes specific platelet adhesion under static conditions and confers resistance of adherent platelets to detachment upon exposure to flow. Also, platelets adhere to confluent EC in an endoglin-mediated process. Remarkably, CHO cells ectopically expressing the human  $\alpha IIb\beta 3$  integrin acquire the capacity to adhere to myoblast transfectants expressing human endoglin, whereas platelets from Glanzmann's thrombasthenia patients lacking the  $\alpha IIb\beta 3$  integrin are defective for endoglin-dependent adhesion to EC. Furthermore, the bleeding time, but not the prothrombin time, is significantly prolonged in endoglin-haplodeficient (Eng  $-/-$ ) mice compared to Eng  $/$  animals. These results suggest a new and critical role for endoglin in  $\alpha IIb\beta 3$  integrin-mediated adhesion of platelets to the endothelium, and may provide a better understanding on the basic cellular mechanisms involved in hemostasis and thrombo-inflammatory events.

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

## 47 Impaired Cellular Respiration in a Neuronal Model of Progranulin deficient Frontotemporal Lobar Degeneration

*Fernando Bartolomé, Ana de la Encarnación, Carolina Alquézar, Gracia Porras, Ángeles Martín-Requero*

**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

Loss-of-function mutations in the GRN gene cause frontotemporal lobar degeneration with TDP-43 inclusions (FTLD-TDP). Here we have investigated the consequences of GRN depletion in cell bioenergetics in a neuronal model based on GRN silencing in SH-SY5Y neuroblastoma cells (GRNKD). These cells recapitulate essential features of FTLD-TDP as reduced levels of progranulin (PGRN), increased vulnerability and higher levels of phosphorylated and

truncated TDP-43. The influence of mitochondrial dysfunction on cell survival has been investigated by determining the oxygen consumption rate (OCR). In addition, we had evaluated the mitochondrial membrane potential and ROS generation upon PGRN deficiency.

Our results demonstrate that PGRN deficiency reduced basal and stimulated respiration, induced the loss of DYm and reduced both mitochondrial and glycolytic ATP. These changes were accompanied by a significant increase in the levels of ROS generation in GRNKD cells. These findings provide a mechanism whereby PGRN deficiency leads to increased cell vulnerability, and could therefore contribute to FTLD-TDP pathogenesis.

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

## 48 Nuevas aproximaciones terapéuticas a la Enfermedad de Huntington mediante el uso de modelos animales

*Sanchis, A. García-Gimeno, M.A. Vázquez-Manrique, R. Sanz, P.*

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

**Otros grupos:** U755

La enfermedad de Huntington (HD) es una enfermedad neurodegenerativa rara, de herencia autosómica dominante, que conduce a alteraciones en la coordinación motora y deterioro progresivo de la función cognitiva. Los pacientes con HD tienen una mutación expansiva de tripletes CAG en el gen huntingtina (*htt*), que codifica una proteína citosólica, la huntingtina (HTT), cuya función es todavía desconocida. A diferencia de otras enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer...), en HD es posible anticiparse a ella mediante un diagnóstico genético, incluso en ausencia de síntomas. Esto hace posible una intervención temprana, antes de que la sintomatología se produzca, y la convierte en un buen modelo para investigar terapias potenciales que alivien el desarrollo de la misma.

La proteína HTT mutante (mHTT) es propensa a formar agregados, por lo que estimular vías encargadas del aclaramiento de mHTT en cualquiera de sus formas (especies solubles tóxicas o agregados de proteínas), como la autofagia, puede ser beneficioso para la función y supervivencia neuronal.

Entre los activadores de la autofagia disponibles destacan los activadores de serina/treonina proteína quinasa activada por AMP (AMPK). Se ha descrito que el uso de estos compuestos puede aliviar el fenotipo presente en modelos HD en *C. elegans*. Con el fin de confirmar estos datos en el modelo de ratón zQ175 que recapitula la enfermedad, hemos utilizado la metformina, un activador de AMPK de uso en otras patologías. Los resultados preliminares muestran que la metformina reduce los defectos motores y cognitivos presentes en estos ratones zQ175.

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

## 49 Phenotypic characterization of a new EPM2A mutation (N163D) related to slow progression of Lafora disease

*García-Gimeno, MA; Rodilla-Ramírez, PN; Viana, R.; Rubio-Villena, C; Sanchez-Martin, P; Brewer, MK; Gentry, MS; Sanz, P.*

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

Lafora disease (LD, OMIM 254780) is a fatal rare disorder characterized by epilepsy and neurodegeneration. In the vast majority of cases LD is related to mutations in either the EPM2A gene (encoding the glucan phosphatase laforin) or the EPM2B gene (encoding the E3-ubiquitin ligase malin). Alterations in these genes are spread all over the laforin and malin protein sequences and it remains to be shown whether they correlate with the severity of the disease. We have recently gained access to a primary fibroblast sample from a compound heterozygous EPM2A patient (Y112X/N163D), who shows a slow progression of the disease. As the Y112X mutation is related to regular progression of the disease and to our knowledge the laforin N163D mutation is novel, here we have carried out the phenotypic characterization of the laforin N163D mutation. Purified laforin N163D protein made in bacteria showed no major changes in phosphatase activity towards complex phosphorylated carbohydrates. The mutant protein was also as stable as wild type when expressed either in bacteria or in mammalian cells. However, it showed a severe impairment in the interaction with regular laforin partners, as laforin itself, malin, and glycogenic substrates (R5/PTG and R6). We also show evidence indicating that primary fibroblasts from the patient presented higher levels of ER-stress markers and impairment in mitochondrial function. These results indicate that a form of laforin in which the phosphatase activity against complex carbohydrates is preserved, is still pathogenic mainly because it has lost its ability to interact with its corresponding partners.

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

## 50 Identificación de modificadores genéticos del fenotipo clínico de la enfermedad de Lafora

López-Pérez SE, Guerrero-López R, Mínguez P, Laurie S, Bertrán S, Sánchez-Martín G, Díaz E, Giráldez BG, Serratos JM.  
**Grupo CIBERER:** U744 Laboratorio de Neurología, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid

La enfermedad de Lafora es un tipo de epilepsia mioclónica progresiva caracterizada por la presentación de crisis generalizadas intratables que se inicia en la adolescencia y conlleva un rápido y progresivo deterioro neurológico. La enfermedad de Lafora es causada por mutaciones en los genes *EPM2A* y *NHLRC1*. Las diferencias en la presentación clínica en pacientes con mutaciones en *EPM2A* o *NHLRC1* o incluso entre hermanos afectados de una misma familia han sugerido la existencia de factores modificadores.

Con el fin de identificar factores modificadores del fenotipo clínico y dilucidar las posibles diferencias derivadas del *background* genético específico de cada individuo, hemos analizado (mediante secuenciación exómica) dos hermanos afectados de la enfermedad de Lafora, con mutaciones en *EPM2A* y fenotipo discordante (severo y leve). Para ambos casos, se mapearon los genes con variantes candidatas contra el interactoma humano y se construyeron las redes de interacción proteína-proteína. Mediante análisis de enriquecimiento funcional y topológico se compararon ambos entornos genéticos estableciendo como nodo central los genes *EPM2A/EPM2B*.

Los resultados preliminares revelan diferencias en el entorno genético de cada individuo, estableciéndose una red con diferentes proteínas en cada caso.

Este tipo de aproximación podría sugerir la contribución de un entorno genético característico de cada individuo como el responsable de las diferencias en la presentación clínica.

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

## 51 Autoantibodies against adipocytes on acquired lipodystrophies

Corvillo, F; Aparicio, V; Garrido, S; De Miguel, MP; 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

**Background:** Lipodystrophies are a heterogeneous group of rare diseases characterized by variable loss of body fat. The loss of body fat can result from autoimmune mechanisms (acquired lipodystrophies). Acquired partial lipodystrophy (APL) is an extrarenal manifestation on some cases of C3 glomerulopathy. APL patients have complement alternative pathway (AP) abnormalities, associated frequently to the presence of C3 nephritic factor (C3NeF). On the other hand, in acquired generalized lipodystrophy (AGL) data relating to complement alterations are poor. However, the pathogenic mechanism that leads loss of adipose tissue in both diseases remains unclear.

**Objectives:** To analyse the complement profile and the existence of antibodies against human adipocytes in patients with acquired lipodystrophies.

**Results:** Complement abnormalities were found exclusively in APL patients. Low C3 levels were found in 75% of patients and classical pathway abnormalities were present in 37.5% of patients. Regarding to autoantibodies that dysregulated AP, C3NeF was present in 67.5% of patients, although other autoantibodies against AP proteins or regulators were detected. To detect autoantibodies we used immunofluorescence techniques in frozen sections of human adipose tissue, resulting IgG reactivity around the adipocyte in patients of both diseases. Moreover, we confirmed the presence of autoantibodies in western blot assays using adipose tissue extracts, and the results showed a complex pattern of bands, but clearly distinguishable between AGL and APL patients.

**Conclusions:** Our data confirms the existence of autoantibodies against adipocytes proteins, but further studies are necessary to identify the antigen and to characterize the effect of these autoantibodies in adipocyte viability.

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

## 52 Perfiles cuantitativos del factor H y las proteínas FHRs del Complemento y susceptibilidad a patología renal

Gómez, I Clemente, F 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

Los niveles absolutos y relativos del regulador del Complemento factor H (fH) y las proteínas homólogas Factor H-Related Proteins (FHRs) pueden contribuir a la predisposición a patologías renales raras como el Síndrome-Hemolítico Urémico atípico (SHUa) y las glomerulopatías C3 (C3G), y quizá también a la nefropatía por IgA (IgAN), mucho más frecuente. Aprovechando nuestra experiencia en el análisis de fH y FHRs mediante Western-blot, hemos

determinado los niveles relativos de cada una de estas proteínas respecto a una muestra control, y comparado los resultados obtenidos en muestras de pacientes de SHUa, C3G e IgAN y en familiares sanos. Aunque no se observan diferencias significativas en los niveles de fH y proteínas FHRs entre pacientes y familiares, sí parece que algunas proteínas FHR, en especial FHR-1 y FHR-3, son más abundantes en los 3 grupos de pacientes que en el grupo de familiares. Por otro lado, el perfil cuantitativo de una muestra (i.e. la concentración relativa de cada una de las proteínas) difiere bastante de unas muestras a otras. Aunque no hay perfiles específicos de una determinada patología, SHUa y C3G comparten unos mismos perfiles mayoritarios, diferentes de los del grupo de familiares. Para comprobar estos resultados mediante la cuantificación directa, independiente de anticuerpos, de fH y proteínas FHRs, hemos diseñado un ensayo SRM de espectrometría de masas que actualmente es capaz de detectar péptidos proteotípicos de estas proteínas en muestras de plasma previamente deplecionadas de albúmina e inmunoglobulinas, que esperamos optimizar para su uso en muestras de plasma sin deplecionar.

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

## PÓSTERES RECORRIDO V. CÁNCER HEREDITARIO, ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS Y DERMATOLÓGICAS

### 53 Modeling molecular factors for predicting metastatic risk in Pheochromocytoma and paraganglioma patients

*Inglada-Pérez L., Calsina B., Torres R., Currás-Freixes M., Remacha L, 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 very rare neuroendocrine tumors that arise from the adrenal medulla and paraganglial system, respectively. Approximately 10% of the PPGLs are metastatic with a poor prognosis (5-years survival: 20-50%). While extensive clinical and genetic characterization over the last years has greatly improved our knowledge about the genetic basis underlying PPGLs, there is a lack of molecular markers for predicting metastases, which could improve the clinical management of these patients. In previous studies we identified specific hypermethylated genes that could be used for stratifying patients according to the risk of developing a metastatic event (de Cubas et al CCR 2015).

In this study, we explored microRNA in 3 well-characterized cohorts of PPGLs, in order to identify metastatic related markers. The series were composed of 176, 132 and 92 tumors, including 8, 19 and 19% metastatic patients respectively. Moreover a validation series comprising 49 tumors was available.

Eleven miRNAs were differentially expressed among metastatic and non-metastatic tumors in the 3 primary series. Among them, 6 miRNAs were validated, being miR-202-5p, and miR-183-5p ( $P=0.002$ ,  $P=0.007$  respectively) the most relevant associations with metastatic disease. Time to progression and integration of the validated miRNAs and their potential targets was also performed. Finally, among the 6 miRNAs validated, we identified a 2 miRNA-based classifier that discriminated metastatic individuals ( $AUC=0.61$ ,  $P<0.05$ )

This study identifies markers, which could be used for classifying patients according to risk of developing metastasis

DNA Methylation Profiling in Pheochromocytoma and Paraganglioma Reveals Diagnostic and Prognostic Markers. de Cubas AA, et al. Clin Cancer Res. 2015.

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

### 54 Mesenchymal stromal cells avoid graft failures in clinically relevant models of autologous transplantation

*Fernández-García M, Hernando-Rodríguez M, Yañez R, Sánchez-Domínguez R, Segovia JC, Bueren J, Lamana M*

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

Co-transplantation of human mesenchymal stromal cells (MSC) and hematopoietic stem cells (HSC) has been reported to reduce graft failure risk in patients subjected to determined allogeneic HSC transplants. It is unknown whether the MSC's engraftment facilitating role is also maintained in an autologous transplantation setting, like the one considered in HSC gene therapy. Using a congenic mouse transplantation model, we have observed that the co-infusion of low numbers of purified LSK cells with MSC significantly improved the hematopoietic engraftment in sublethally irradiated recipients. This improvement was due to an increased homing of the LSK cells in recipient's bone marrow. With the aim of approaching to a more clinically relevant model, we have conducted similar experiments using Fanconi anemia A (Fanca<sup>-/-</sup>) or WT LSK cells into Fanca<sup>-/-</sup> recipient mice. First, LSK cells of Fanca<sup>-/-</sup> mice were analyzed,

observing a higher proportion of LSK cells in the G1 phase of the cell cycle and a lower proportion of long-term HSCs in Fanca<sup>-/-</sup> mice compared to WT mice. Additionally, the infusion of low numbers of Fanca<sup>-/-</sup> LSK cells on Fanca<sup>-/-</sup> recipients resulted in 80% of graft failure, while 30% of graft failure was observed when low numbers of WT LSK cells were transplanted. In contrast, when the same number of WT LSK cells was co-infused with 106 mAd-MSCs all the transplanted animals showed significant hematopoietic engraftments. Taken together, our results demonstrate the hematopoietic facilitating engraftment potential of Ad-MSCs, not only in an allogeneic context, but also in clinically relevant models of autologous transplantation.

[miriamhernando@ciemat.es](mailto:miriamhernando@ciemat.es)

## 55 Flow Cytometry Characterization of hematopoietic samples from Pyruvate Kinase deficient patients

*Sanchez-Dominguez R., Alberquilla O., López-Manzaneda S., Quintana-Bustamante O., Bianchi P., Mañú M.M., Vives-Corróns J.L., Badell I., Sevilla J., Bueren J.A., Navarro S., Segovia J.C.*

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

**Otros grupos:** GCV-19, GCV-20

Pyruvate Kinase Deficiency (PKD) is an autosomal recessive disease caused by mutations in the PKLR gene. PKD produces chronic non-spherocytic hemolytic anemia, which can be fatal during early childhood. The only curative treatment for this disease is allogeneic bone marrow transplantation, making PKD a good scenario for gene therapy. Our lab has developed a therapeutic Orphan Drug lentiviral product (EMA:EU-3-14-1330; FDA: DRU-2016-5168) for the treatment of PKD and is working to develop an efficient and safe gene therapy clinical trial for the treatment of PKD. In order to improve this new treatment, a more deep knowledge of the disease and its associated pathophysiology is necessary. To characterize the hematopoietic profile of this disease, we have standardized flow cytometry protocols to perform both a qualitative and quantitative study of different subset populations. The analyzed populations included subsets of the hematopoietic stem cell compartment, myelo-erythroid progenitors, proerythroblasts, basophilic erythroblasts, orthochromatic erythroblast, reticulocytes and mature erythrocytes. Human samples for PKD studies consisted on peripheral blood, apheresis products, bone marrow aspirates and cord blood. Flow cytometry analysis are also being performed in a PDK mouse model to improve our knowledge on the pathophysiology and the deleterious effects of pklr gene mutations on the enzyme structure and function (i.e. apoptosis and oxidative stress studies).

[rebeca.sanchez@externos.ciemat.es](mailto:rebeca.sanchez@externos.ciemat.es)

## 56 Piel Autóloga Bioingenierizada para la Cobertura de Lesiones Quirúrgicas tras Resección de Nevus Melanocíticos Congénitos Gigantes (NMCG)

*Llames, S; López, E; Gutierrez, P; García-Pérez, E; Pevida, M; Robla, D; Conti, C; Meana, A; 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, Madrid

El NMCG (Orpha626) es una lesión pigmentada de la piel de un diámetro mayor de 20 cm, derivada de la proliferación benigna de melanocitos. La incidencia del NMCG se estima entre 1/50.000 y 1/500.000 nacidos vivos y aunque la tasa de malignización es controvertida, tiene gran impacto en la calidad de vida del paciente debido a su apariencia estética. El tratamiento convencional es mediante extirpación simple de la lesión. Esta resección puede verse limitada cuando el nevus es extenso y no existe suficiente piel sana donante para el autoinjerto. Ante este problema, surgen las técnicas de ingeniería tisular que permiten fabricar piel autóloga en cantidad suficiente para el trasplante.

En este trabajo presentamos los resultados obtenidos con nuestro modelo de piel bioingenierizada en el tratamiento de 5 pacientes con NMCG.

El proceso consiste en generar un cultivo autólogo tanto de queratinocitos como de fibroblastos y producir con ellos el equivalente cutáneo, donde los queratinocitos forman la epidermis sobre una matriz de fibroblastos dérmicos embebidos en un scaffold derivado de plasma humano.

El porcentaje de prendimiento de los injertos alcanzó un 95% en algunos pacientes. Debido a que la mayor parte de los NMCG son resecaados durante la infancia, la piel bioingenierizada injertada debe de ser capaz de adaptarse al crecimiento de los pacientes. En este trabajo mostramos como, un vez injertada la piel, no se observaron pérdidas de la epitelización en ningún paciente, tras un periodo de seguimiento que en algunos casos alcanzó hasta los 14 años.

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

## 57 Common and specific transcriptomic profile, molecular pathways and signaling circuits in three rare skin disorders: XPC, SK and EBDR.

Díaz, F.\*; León, C.\*; García, F.\*; Escámez, M.J., Guerrero, S., Conti, C., García, M., García, A., Larcher, F., Duarte, B., Mencía, A., Holguín, A., Llamas, S., Pévida, M., Carbonell, J., Dopazo, J.\*\*y 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, Madrid

**Otros grupos:** U715

The genetic bases of many rare skin diseases have been elucidated in the past years, but the mutations of the causal genes do not always explain the vast array of phenotypic manifestations of these pathologies. Recessive dystrophic Epidermolysis Bullosa (RDEB), Kindler syndrome (KS) and Xeroderma Pigmentosum C (XPC) are three rare genodermatoses that share a number of phenotypic traits, like the predisposition to cancer, whose mechanisms are not yet fully understood. In this project, the RNA-Seq transcriptome analysis of fibroblasts from biopsies of nine different RDEB patients, three XPC patients and three SK patients have been compared among them and also with the transcriptomic profile of three healthy volunteers. The analysis included a thorough examination of the differentially expressed genes, a functional pathway single enrichment analysis and the study of the affected signaling circuits using the web tool hiPathia. The results showed a total of 227 genes and 42 signaling circuits that are significantly altered in all three conditions versus the healthy volunteers, as well as other differential characteristic aspects of the pathologies. Most of these common circuits have been related to cancer and could potentially explain some of the underlying signaling mechanisms behind tumor development in these genodermatoses. In conclusion, this approach to the study of SK, EBDR and XPC global expression profile gives some interesting insights into the signaling circuits explaining some of the characteristic phenotypic traits of these three rare diseases.

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

## 58 Biallelic mutations in the ubiquitin ligase RFWD3 cause Fanconi anemia

Ramírez MJ, Knies K, Inano S, Ishiai M, Surallés J, Takata M, Schindler D

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

The WD40-containing E3 ubiquitin ligase RFWD3 has been recently linked to the repair of DNA damage by Homologous Recombination (HR). We show that an RFWD3 mutation within the WD40 domain is connected to the genetic disease Fanconi anemia (FA). We have found a patient with congenital abnormalities characteristic for FA. Cells from the patient, carrying the compound heterozygous mutations c.204\_205dupCC and c.1916T>A in RFWD3, show increased sensitivity to DNA interstrand cross-linking agents in terms of increased chromosomal breakage, reduced survival and cell cycle arrest in G2 phase. The cellular phenotype is mirrored in genetically engineered human and avian cells by inactivation of RFWD3 or by introduction of the patient-derived missense mutation, and is rescued by expression of wildtype RFWD3 protein. HR is disrupted in RFWD3 mutant cells, caused by impaired relocation of mutant RFWD3 to chromatin and defective physical interaction with RPA. Rfwd3 knockout mice exhibit increased embryonic lethality, are sub-fertile, show ovarian and testicular atrophy and have a reduced life span in which they resemble other FA mouse models. Taking all the results into account, we can conclude that RFWD3 is a member of the FA/BRCA pathway and we propose RFWD3 as a novel FA gene, FANCW.

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

## 59 Biallelic mutations in FANCM cause a FA-like cancer predisposition syndrome

Bogliolo M, Bluteau D, Lespinasse J, Pujol R, Vasquez N, Dubois d'Enghien C, Stoppa-Lyonnet D, Leblanc T, Soulier J and Jordi Surrallés

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

**PURPOSE:** Mutations in genes involved in Fanconi Anemia (FA)/BRCA DNA repair pathway cause cancer susceptibility diseases including familial breast cancer and Fanconi Anemia (FA). A single FA patient with biallelic FANCM mutations was reported in 2005 but concurrent FANCA pathogenic mutations precluded assignment of FANCM as a FA gene. Here we report three individuals with biallelic FANCM truncating mutations that developed early on-set cancer and toxicity to chemotherapy but did not present congenital malformations or any hematological phenotype suggestive of FA.

**METHODS:** Chromosomal breakages, interstrand cross-links (ICLs) sensitivity and FANCD2 monoubiquitination were assessed in primary fibroblasts. Mutation analysis was achieved through Sanger sequencing. Genetic complementation of patients-derived cells was performed by lentiviral mediated transduction of wt FANCM cDNA followed by functional studies.

**RESULTS:** Patient-derived cells exhibited chromosomal fragility, hypersensitivity to ICLs and impaired FANCD2 monoubiquitination. We identified two homozygous mutations (c.2586\_2589del4; p.Lys863Ilefs\*12 and c.1506\_1507insTA; p.Ile503\*) in FANCM as the cause of the cellular phenotype. Patient-derived cells were genetically complemented upon wt FANCM cDNA expression.

**CONCLUSION:** Loss of function mutations in FANCM cause a cancer predisposition syndrome clinically distinct from bona-fide FA. Care should be taken with chemotherapy and radiation treatments in these patients due to expected acute toxicity.

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

## 60 Valoración del índice de fragilidad cromosómica (cfi) como marcador de la estabilidad hematológica en pacientes con anemia de Fanconi

*Pujol R., Casado J.A., Bueren J., Surrallés J.*

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

**Otros grupos:** U710

El test de fragilidad cromosómica se basa en la hipersensibilidad específica de las células de pacientes AF a agentes inductores de enlaces cruzados en el DNA como el diepoxibutano (DEB) o la mitomicina C (MMC). Este ensayo (DEB test) se considera el "gold standard" para diagnosticar a estos pacientes. Desde 2001 hasta finales del 2016, en nuestro laboratorio hemos realizado más de 500 DEB test y diagnosticado un total de 195 pacientes, de los cuales 36 (18%) eran mosaicos por reversión somática. El mosaicismo somático es un fenómeno que afecta de un 15 a un 25 % de los pacientes con AF y se debe a la aparición espontánea y posterior expansión clonal de progenitores hematopoyéticos mutacionalmente revertidos. El CFI (Chromosome Fragility index) se define como el producto del porcentaje de células con aberraciones cromosómica (células aberrantes) y el de roturas por célula multiaberrante. Este índice nos ayuda a distinguir entre los diferentes grupos de pacientes: AF completos, AF mosaicos y no AF. Un total de 17 pacientes han sido reevaluados tras un intervalo de entre 1 y 15 años (7 años de promedio) con el test de fragilidad. Los resultados indican que el índice es dinámico y, en muchos casos, correlaciona con la clínica hematológica de los pacientes con AF. La variabilidad de este índice a lo largo del tiempo puede ayudar a valorar a los pacientes con estabilidad hematológica que pueden evolucionar de AF completo a AF mosaico e incluso a negativizar completamente el diagnóstico.

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

## 61 Impact of FADD expression, phosphomimetic and nonphosphorylatable FADD mutants in T-cells.

*Marín-Rubio, JL, Delgado-Wicke, P, Fernández-Piqueras, J and Villa-Morales, M*

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

FADD phosphorylation status seems to determine its participation in non-apoptotic functions, as cell cycle or proliferation. Alterations in FADD levels and FADD phosphorylation are involved in the development of murine T-cell lymphoblastic lymphoma, affecting both the apoptotic and non-apoptotic functions. To unveil the molecular mechanisms whereby FADD phosphorylation is involved in such nonapoptotic functions, and how the alteration of this process can intervene in human precursor T-cell neoplasms, we have generated JURKAT-derived stable cell lines deficient for FADD, or constitutively expressing wild-type, nonphosphorylatable S194A or phosphomimetic S194D FADD.

Using them, we have confirmed that the phosphorylation status of FADD does not influence its apoptotic capacity. However, we have observed that FADD re-expression drives to a significant increase in cell proliferation. Moreover, we have determined that FADD phosphorylation is involved in the cell cycle of JURKAT T cells, and that constitutive expression of nonphosphorylatable FADD mutant can bypass the pharmacologically-induced G2/M arrest. This may be particularly relevant for the clinical management of tumors exhibiting phospho-FADD reduction, which might resist the treatment since some of the drugs used in current therapy are such inducers of G2/M arrest.

Finally, to further explore the consequences of FADD expression and phosphorylation in T-cells, we have analyzed the activation of 43 phospho-proteins involved in some of the main signaling pathways of the cell in the above-mentioned stable cell lines. Our results indicate that FADD re-expression correlates with molecular changes associated with cell proliferation, like the activation of STAT5.

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



## 62 The CDKN1C-E2F1-TP53 axis is altered in human primary T-cell lymphoblastic lymphomas

López-Nieva, P, Santos, J, Vaquero, C, Fernández-Navarro, P, Villa-Morales, M, Cobos-Fernández, MA, López-Lorenzo, JL, Llamas, P, Malumbres, M and Fernández-Piqueras, J

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

Precursor T-cell lymphoblastic leukaemia/lymphoma (T-ALL/T-LBL) are rare aggressive haematological malignancies that mainly develop in children. As in other cancers, the loss of cell cycle control plays a prominent role in the pathogenesis in these malignancies that is primarily attributed to loss of CDKN2A (encoding protein p16INK4A). However, the impact of the deregulation of other genes such as CDKN1C (which encodes p57/KIP2 protein), E2F1, and TP53 (a main downstream effector of E2F1) remains to be clarified. Interestingly, experiments in mouse models have proven that conditional T cell-specific deletion of Cdkn1c gene accelerates the development of thymic lymphomas in the absence of the Tp53 gene, therefore establishing a potential nexus between these genes. In this manuscript, we demonstrated that the simultaneous deregulation of CDKN1C, E2F1, and TP53 genes by epigenetic mechanisms and/or the deregulation of specific microRNAs, together with additional impairing of TP53 function by the expression of dominant-negative isoforms, are a common feature in T-LBLs. Our results support the existence of an CDKN1C-E2F1-TP53 axis in T-LBL that could be useful to predict tumour aggressiveness, and provides the basis toward the development of potential therapeutic strategies.

[pilar.lopez@cbm.csic.es](mailto:pilar.lopez@cbm.csic.es)

## 63 Down-regulation of FBXW7 by specific microRNAs in T-cell lymphoblastic lymphoma development

Vázquez-Domínguez, I, González-Sánchez, L, López-Nieva, P, Cobos-Fernández, MA, Fernández-Navarro, P, Roncero, AM, Sastre, I, Malumbres, M, Graña, O, Santos, J, Llamas, P, López-Lorenzo, JL and Fernández-Piqueras, J

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

FBXW7 is a driver gene that plays an important role in T-cell lymphoblastic leukaemia/lymphoma (T-ALL/T-LBL) acting through the proteasome degradation of key proto-oncogenes such as NOTCH1, CCNE1 and C-MYC. Contrary to what had been expected targeted-deep-sequencing analyses in a sample series of human T-LBL revealed complete absence of inactivating FBXW7 mutations. However, massive sequencing by RNA-Seq evidenced a significant reduction in the amount of mRNA of one of the three FBXW7 isoforms ( $\beta$ ) in all but one-tumour, indicating that down-regulation of FBXW7 expression is a common feature in the pathogenesis of these diseases. Here, we showed that upregulation of a pool of microRNAs contributes significantly to the down-regulation of FBXW7. Applying stringent criteria, we selected three miRNAs, miR-101-3p, miR-223-3p and miR-195-5p, as the main candidates. Experimental validation of the effect of miRNA up-regulation over FBXW7 and three specific targets was assessed by transfecting selected cell lines (JURKAT, MOLT-4 and SUP-T1) with miRvana-miRNA mimics. Results showed that down-regulation of FBXW7 is able to mitigate the degradation of NOTCH1, CCNE1 and C-MYC oncoproteins in a cell-dependent manner. Interestingly, each lymphoma exhibited specific combinations of deregulated miRNAs, therefore underlining the necessity of an individualized precision medicine in the management of these haematological malignancies.

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

## 64 El Biobanco del CIBERER como plataforma de servicio a la investigación

Martí, S. (1), Rubio-Solsona, E. (2), Torres, J. (3), Corrochano, V. (1,2), Millán, JM. (1,4), Palau, F.

**Grupo CIBERER:** U799 CIBERER Biobank, Valencia

El Biobanco del CIBERER (CBK) centraliza la recepción de muestras de alto valor biológico para investigación en el campo de las enfermedades raras (ER) en España, procesando, almacenando y cediendo estas muestras, asegurando un tratamiento seguro y eficaz de las mismas así como de sus datos asociados. Sin embargo, la actividad del CBK no está limitada a las tareas de biobanking sino que, además, ofrece diferentes tipos de servicios a los grupos CIBERER y trabaja en la implementación de nuevos protocolos que den soporte a la investigación en ER. Los servicios que ofrece el CBK actualmente son: extracción de ADN, cultivo de fibroblastos, immortalización de linfocitos B, cultivo de mioblastos, extracción y control de calidad de ADN, detección de micoplasma y retrotranscripción. En este sentido, con el fin de ampliar su oferta y dar cobertura a las necesidades técnicas más demandadas y económicamente factibles, el CBK está trabajando en la implementación, a petición de varios grupos CIBERER, de un protocolo de immortalización de fibroblastos al tiempo que colabora con el Departamento de Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física de la Universidad de Valencia en la generación de células madre pluripotentes inducidas (células iPS). El notable incremento en el número de solicitudes de servicio recibidas en el CBK en los últimos dos años junto con la colaboración activa del CBK en diferentes proyectos, pone de manifiesto la importancia del CBK como plataforma de apoyo a los diferentes grupos CIBERER, contribuyendo así a la investigación traslacional.

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











