

Koroideremia: ezagutza eta terapia

*Francisco Javier Olea¹, Amaia Elgezabal¹, Lourdes Solozabal^{1,2},
Aitziber Mendizabal^{1,2}, Jon Zarate^{1,3}, Manoli Igartua³, Amaia Esquisabel³,
Gorka Orive³, Gustavo Puras³, Marta Pastor³, Aiala Salvador³,
Edorta Santos³, Jesús Ciriza³, Laura Saenz del Burgo³, Enara Herrán³,
Argia Akarregi³, Garazi Gainza³, Mireia Agirre³, Edilberto Ojeda³,
Ane Garate³, Oihane Gartzandia³*

¹ Koroideremiak Kaltetutako Erakundea

² Ondarroako Batxilergo Institutua

³ NanoBioCel taldea, Farmazia Teknologia Laborategia, Farmazia Fakultatea (UPV/EHU)

ikertaldea@googlegroups.com

www.koroideremia.org

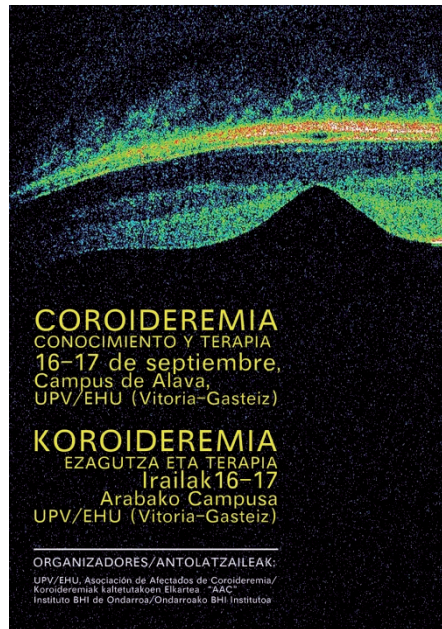
info@koroideremia.org

«Koroideremia» (CHM) X kromosomari lotutako herentzia bidez transmititzen den gaixotasun arraro bat da. Intzidentzia baxuko gaixotasuna da, 100.000 biztanletik batek pairatzen du. Gaixotasun arraro honek, koroide eta erretinaren endekapenaren ondorioz, ikusmenaren galera progresiboa eragiten du eta lehen sintomak haurtzaro eta bizitzako bigarren hamarkada bitartean agertzen dira. Gaixotasunaren lehendabiziko sintoma gaueko itsutasuna da, ondoren ikusmen periferiko eta ikus-eremuaren galera progresiboak agertzen dira eta gaixotasunak aurrera egiten duen heinean ikusmenaren galera osoa, hau da, itsutasuna.

Egoera honen aurrean amore eman beharrean eta Montpellierren (Frantzia) egindako Koroideremiari buruzko Lehen Nazioarteko Simposioan ezagututako Koroideremia elkarte atzerritarren laguntzaz, Koroideremia gaixotasuna dutenen Elkarte (AAC) sortzea erabaki genuen.

Momentu honetan, elkartearen sorreratik (2012ko otsailean) bi urte pasa direnetik, estatu mailan koroideremia duten 17 familiarekin harremanetan jarri gara eta 61 bazkide ditugu. Gainera, ikertzaileak terapia genikoan oinarritutako tratamendu bat garatu ahal izateko behar den dirua biltzeko etengabeko borrokan ari gara, gure seme-alaba eta elkarteko kideek ikusmena galdu aurretik.

Gaixotasunaren garapena gelditzeko asmoarekin, Koroideremiaren genea (CHM) falta duten koroide eta erretinako zelulek genea berreskuratu dezaten terapia genikoan oinarritutako tratamenduak garatzeko lanean ari gara.



Koroideremiaren kontrako terapia geniko eraginkor bat izan arte, gure seme-alaba eta elkarteko kideak erretinaren endekapena eta ikusmenaren galera progresiboa jasaten ari dira. Horregatik, terapia genikoaz gain, beste estrategia terapeutiko batzuk erabili ahal izateko ikerkuntza lerro berriak sustatzeko lanean ere ari gara. Horrela, erretinaren endekapen prozesua gelditu edo gutxienez moteltzea lortu nahi dugu, gaixotasuna sendatuko duen terapia eraginkor bat lortu arte.

Bide honetan eta hasiera puntu bezala, UPV/EHU-ren laguntzarekin, Koroideremiari buruzko lehenengo ikerkuntza jardunaldiak antolatu ditugu. Jarraian jardunaldiko hizlarien laburpenak azaltzen dira.

IZENBURUA:
ERRETINAKO ERITASUN NEURODEGENERATIBOEN
ANIMALIA EREDU EXPERIMENTALETATIK ABORDATZE
TERAPEUTIKOETARA

Egilea: Nicolás Cuenca.

Afiliazioa: Fisiologia, Genetica eta Microbiologiako Departamentua. Zientzia Fakultatea. Alikanteko Unibertsitatea.

Laburpena: Erretinako eritasunentzako tratamendu eraginkorren bilaketak, giza erretinako eritasunak simulatzen dituzten animalia eredu as-

koren garapena eta erretinako zelula ezberdinen isolamendu prozedurak piztu ditu. Hainbat ikerlanen arabera, erretinako eritasunen animalia ereduak giza erretinako endekapen eta berriztatze ezaugarri beretsuak dituzte- nez ikerketarako oso erabilgarriak dira. Erretinako zelulek, jatorriaren araber, kalte ezberdinen aurrean erantzuten dute zenbait seinalizazio eta bide metaboliko modifikatuz. Erretinako lesio gehienei maila zelular eta molekularrean emandako erantzuna berdina izaten da, eta normalean erretinako zelulen ezintasuna eragiten du. Erretinaren endekapena geneen akats, ingurugiro faktore eta beste motako estres edo zahartze prozesuengatik gerta daiteke. Edonola ere, faktore hauek guztiek hainbat seinalizazio zelular sortzen dituzte sarritan, bestak beste, hanturazko erantzuna, estres oxidatiboa eta bide apoptotikoen aktibazioa, bai eta aldaketak glia-zeluletan ere. Erretinako eritasun eta lesio ezberdinen atzean aurkitzen diren berriztatze asalduren inguruko ezagupen hobego bat baliagarria suertatu liteke egoera jakin bakoitzean erretina endekapena zer nolakoa den jakiteko. Honek, patologia bakoitzaren diagnosi eta prognosi zuzena erraztuko luke. Abordatze terapeutiko anitz garatu dira erretina funtzioa babestu edo ikusmena egoera patologikoetan bere onera ekartzeko. Osagai neurobabesleak, terapia genikoa, zelulen transplantea edo dispositibo artifizialak erretinaren endekapen-fase egokian aplikatu behar dira emaitza arrakastatsuak edukitzeko.

Abstract: The search for effective treatments for retinal diseases has stimulated the development of a large number of animal models that mimic the different human retinal diseases, as well as the isolation of an increasing number of retinal cell lines. Many studies show that animal models of retinal diseases exhibit features of human retinal degeneration and remodeling that can be extremely useful in the study of human neurodegenerative retinal diseases. The retinal cells respond against different types of damages, regardless of their origin, by modifying various cell signaling and metabolic pathways. At the cellular and molecular level, the response to retinal injury is similar and results in impairment of retinal cells in different retinal diseases. This retinal degeneration may be triggered by gene defects, environmental factors and other types of stress or aging, but they all frequently induce a set of cell signals that lead to changes, including controlled cell death and retinal remodeling including inflammatory response, oxidative stress and activation of apoptotic pathways as well as changes in glial cells. A better knowledge of the remodeling alterations underlying the different types of retinal diseases and injuries could serve to clarify how is retinal degeneration in each particular situation, being useful for the proper diagnoses and prognoses of each pathology. Several therapeutic approaches have been developed to preserve retinal function or restore eyesight in pathological conditions. Neuroprotective compounds, gene therapy, cell transplantation or artificial devices should be applied at the appropriate stage of retinal degeneration to obtain successful results.

IZENBURUA:
AAV2/5 BIDEZKO TERAPIA GENIKOA KOROIDEREMIA DUN
GAIXOEN ERRETINAKO EPITELIO PIGMENTATUKO IPSC
ZELULETAN: KONTZEPTU FROGA.

Egileak: Nicolas Cereso¹, Marie O. Pequignot¹, Lorenne Robert¹, Fabienne Becker², Valerie De Luca¹, Nicolas Nabholz^{1,3}, Valerie Rigau⁴, John De Vos^{2,5}, Christian P. Hamel^{1,3,6} and Vasiliki Kalatzis¹

Afiliazioa: ¹Inserm U1051, Institute for Neurosciences of Montpellier, Montpellier, Frantzia; ²Inserm U1040, Institute for Research in Biotherapy, Montpellier, Frantzia; ³Department of Ophthalmology, CHRU, Montpellier, Frantzia; ⁴Department of Anatomy and Pathological Cytology, CHRU Saint Eloi, Montpellier, Frantzia; ⁵Cellular Therapy Unit, CHRU, Montpellier, Frantzia; ⁶Centre of Reference for Genetic Sensory Diseases, CHRU, Montpellier, Frantzia

Laburpena: Gaixotasunen animalia ereduekin dauden eragozpenak direla eta, koroideremiaren (CHM) giza eredu zelular egoki bat garatzea da gure ideia. Helburu hau lortzeko, CHM^{ly} gaixoen REP-1 gabeko fibroblastoak, zelula ama pluripotenzial induzitueta (iPSc) birprogramatu ditugu, eta ondoren, erretinako epitelio pigmentatura (RPE) diferentziatu ditugu. CHM iPSc tik eratorritako RPE-a morfologia klasikoa duen monokapa zelular polarizatu da, markatzaile espezifikoak espresatzen dituena, jariakinen garraiorako eta fagozitosirako funtzionala dena eta gaixoen fenotipo biokimikoa imitatzen duena. Kontrolen eta CHM RPE arteko konparaketa morfologiko eta funtzionalek gaixotasunaren patofisiologiari buruzko eza-gutza handitu dezakete. Gainera, eredu hau egokia da terapia berrien efizientziak frogatzeko, hala nola, tratamendu farmakologikoak edo terapia genikoa. Hildo honekin jarraituz, zenbait AAV bektoreen serotipoak ebaluatu genituen eta iPSc tik eratorritako RPE-ren transdukzioan AAV2/5-a efizienteena dela ikusi genuan. Gainera, CHM genearen transferentziak fenotipo biokimikoa normalizatzen du. Agian, fagozitosiak laguntzen du lorturiko trasdukzio efizientzia altu eta paregabeak lortzera, eta AAV bektore batek, *in vivo*, erretina azpiko ingurunean aurkitzen duen egoera imitatzen du. Lan honek, giza gaixotasun sistema berritzaileak animalia eredu alternatiba interesgarriak direla frogatzen du eta, tratamenduen transferentzia klinikara errazten du.

Abstract: Due to the difficulties sometimes associated with animal models of diseases, we sought to develop a pertinent human cellular model for choroideremia (CHM). To this end, we reprogrammed REP1-deficient fibroblasts from CHM^{ly} patients into induced pluripotent stem cells (iPSc), which we then differentiated into retinal pigment epithelium (RPE). The CHM iPSc-derived RPE is a polarised monolayer with a classical morphology, expresses characteristic markers, is functional for fluid transport and

phagocytosis, and mimics the biochemical phenotype of patients. Comparison of the morphology and function of control and CHM RPE can provide further insights into disease pathophysiology. Furthermore, this model is a pertinent tool to test the efficiency of novel therapeutics, such as pharmacological treatment or gene therapy. Along this line, we assayed a panel of AAV vector serotypes and showed that AAV2/5 is the most efficient at transducing the iPSc-derived RPE and that *CHM* gene transfer normalises the biochemical phenotype. The high, and unmatched, *in vitro* transduction efficiency is likely aided by phagocytosis and mimics the scenario an AAV vector encounters *in vivo* in the subretinal space. This work demonstrates that innovative human disease systems represent an interesting alternative to animal models and can facilitate clinical transfer for treatments.

IZENBURUA: ERRETINOSI PIGMENTARIOAREN KARAKTERIZAZIO MOLEKULARRA GIPUZKOAN.

Egileak: Ander Anasagasti¹; Olatz Barandika¹; Cristina Irigoyen²; Garazi Egiguren¹; Adolfo López de Munain^{1,3,4,5}; Javier Ruiz-Ederra^{1,6}

Afiliazioa: ¹Neurozientzia Saila, Biodonostia Institutoa, Donostia, Gipuzkoa, Espainia; ²Oftalmologia Saila, Donostia Unibertsitate Ospitalea, Donostia, Gipuzkoa, Espainia; ³Neurologia Saila, Donostia Unibertsitate Ospitalea, Donostia, Gipuzkoa, Espainia; ⁴CIBERNED, Centro de Investigaciones Biomédicas en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas, Carlos III Institutoa, Ekonomia eta Lehiakortasun Ministerioa, Espainia; ⁵Neurologia Saila, Donostia Unibertsitate Ospitalea, Donostia, Gipuzkoa, Espainia; eta ⁶Euskampus, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Espainia.

Laburpena: Erretinosi pigmentarioa (EP) herentziari lotutako erretinaren endekapenezko gaixotasun ohikoena da eta gutxigorabehera mundu osoan duen intzidentzia 3500-5000 biztanletik batekoa da. Erretinaren atrofia eragiten duen makula edota konoen galera progresiboa du ezaugarritzat. EP-k heterogeneotasun genetiko handia dauka eta orain arte 80 gene baino gehiago identifikatu dira. Karakterizazio molekularra erronka bat izaten ari da, oraindik EP kasuen herena karakterizatzeko geratzen direlarik.

Giza Genoma Proiektuak eragin handia izan du, *next generation sequencing* edo NGS bezala ezagutzen diren sekuentziazio masiborako teknika berrien garapean, gaixotasun genetiko konplexuen diagnostikorako aurrerapen erritmoa nabarmenki areagotzea ahalbidetuz. Hala ere, NGS plataforma hauetan sortzen diren datu kantitate altuaren ondorioz, jatorri genetikoaren identifikazioa (diagnostikoa) zaila izaten ari da. Honi aurre egiteko, NGS tekniken bidez, eskala handiko aukeraketa genetikozko tekniken konbinazioan oinarritutako estrategia desberdinak erabili izan ditugu.

Lan metodologia honek, RP duten 112 gaixoen artetik, 49 paziente desberdinen ($\approx 40\%$) patogenia azaldu dezaketen 37 mutazio aurkitzea ahalbidetu digu.

Abstract: With a worldwide prevalence of approximately 1 of each 3.500-5.000 people, Retinitis Pigmentosa (RP) is the most common form of inherited retinal degeneration. It is characterized by the progressive loss of rods and /or cones, which leads to the atrophy of the retina. RP has a great genetic heterogeneity, with more than 80 genes identified to date. The molecular characterization is still a challenge, leaving more than a third of RP cases to characterize.

The Human Genome Project has had a great impact on the development of new massive sequencing techniques, known collectively as next generation sequencing or NGS, allowing increasing the rate of progress in the diagnosis of complex genetic diseases. However, the identification of the genetic cause (diagnosis) remains complex due to the large amount of data generated in these NGS platforms. To solve this issue, we have been using a number of strategies based on the combination of genetic screening techniques on a large-scale with NGS techniques.

This methodology has enabled the detection of 37 mutations that could explain the pathogenesis in 49 different RP patients in a total of 122 affected ($\approx 40\%$).

IZENBURUA: TERAPIA ZELULARRA NEUROENDEKAPENEZKO GAIXOTASUNETAN

Egileak: Andres G. Fernandez¹, Daniela Sanges², Marta Nicolas¹ and Maria Pia Cosma^{2,3}.

Afiliazioa: ¹Ferrer Advanced Biotherapeutics, Ferrer, Bartzelona (Espainia), ² Center for Genomic Regulation (CRG), Bartzelona, Espainia, ³Instituto Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Bartzelona, Espainia.

Laburpena: Zelula-amen aplikazio klinikoak etorkizun handikoak dira Parkinsona, esklerosi anizkoitza, alboko esklerosi amiotrofikoa eta Alzheimerra bezalako neuroendekapenezko gaixotasunetan. Hala ere, kalte-tutako nerbio-ehunaren erreskatatze edo/eta birsortzean zelula-amen baliore terapeutikoa guztiz frogatzeko asko falta da. Erretinaren neuroendekapenezko gaixotasunen arloa oso baliagarria bilakatzen ari da terapia hauen onurak ebaluatzeko. Erretina, nerbio-sistema zentrallean zehaztasun handiarekin ezagutzen den zonaldea da. Begia organo itxi eta immunologikoki pribilegiatua da eta erretinaren neuroendekapenezko gaixotasun gehienek ez daukate tratamendu eraginkorrik.

Duela gutxi, kaltetutako erretinako zelulak erreskatatu eta birsortzeko planteamendu berri bat deskribatu dute (Lluis et al. PNAS 2011; Ombrato et al. Cell Cycle 2012; Sanges et al. Cell Reports 2013). *In vivo* ezarritako zelula-amek zelula somatikoekin bat egin eta gero, Wnt/beta-kateninen seinaleen bidez, zelula somatikoekin erreprogramazioa eta erretinaren birsortzea eragiten dute. Wnt seinaleen aurre-aktibazioak *in vivo* eratu berriko zelula-hibridoak lerro neuroektodermora proliferatu eta ezberdintzea ahalbidetu zuen transplantatutako HSPC-etan, eta azkenik guztiz ezberdintutako neuronak lortu ziren. Honek, kaltetutako erretina ehuna partzialki birsortzea ahalbidetu zuen, funtzioaren erreskatea ahalbidetuz. Animalietan lortutako datuek kaltetutako erretinako neuronon birprogramazioa Wnt-aktibatutako HSPC-ekin *in vivo* elkartu eta gero planteamendu terapeutiko potentzial bat izan daitekeela iradokitzen dute.

Abstract: Clinical applications of stem cells (SC) in neurodegenerative disorders like Parkinson disease, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis and Alzheimer disease are highly promising. However, the therapeutic value of SC-based therapies in rescuing and/or regenerating damaged neuronal tissue is far from being fully demonstrated. Retinal degenerative disorders are an emerging and valuable field to assess the benefits of such therapies. The retina is one of the best-characterized regions of the central nervous system, the eye is a closed and immune-privileged organ and most of the retinal degenerative disorders lack any effective treatment. Recently, a brand new approach to rescue and regenerate damaged retinal cells has been described (Lluis et al. PNAS 2011; Ombrato et al. Cell Cycle 2012; Sanges et al. Cell Reports 2013), demonstrating that *in vitro* activation of Wnt/beta-catenin signaling triggers somatic cell reprogramming and retinal regeneration after fusion of SC with somatic cells. Pre-activation of Wnt signaling in transplanted HSPCs led the newly *in vivo*-formed cell hybrids able to proliferate and differentiate towards a neuroectodermal lineage, and finally into terminally differentiated neurons. These latter can partially regenerate the damaged retinal tissue, resulting in functional rescue. Cumulative animal data suggest that *in vivo* reprogramming of damaged retinal neurons after fusion with Wnt-activated HSPCs can be a potential new therapeutic approach for retinal regeneration.

IZENBURUA:
EZAUGARRI KLINIKO ETA GAISOTASUNAREN PROGRESIOA
KOROIDEREMIA PAIRATZEN DUTEN PAZIENTEENGAN

Egileak: Nicolas Nabholz, Béatrice Bocquet, Annie Lacroux, Pierre-André Duval, David Baux, Anne-Françoise Roux, Vasiliki Kalatzis, Isabelle Meunier, Christian P. Hamel.

Afiliazioa: INSERM Montpellier, Frantzia.

Laburpena: Montpellierreko (Frantzia) 49 koroideremia pazien-teri ohiko azterketa oftalmikoa, fundus argazki, fundus autofluoreszen-tzia, erretina OCT eskanerra, Goldmanen ikus eremuaren azterketa, ISCEV elektroerretinograma eta optika egokitzapen probak egin zitzaizkien. Bataz besteko adina 35 urtekoa (2-69 urteko tartea) eta bataz besteko jarraipena 6 urtekoa izan zen (1 eta 18 urte artekoa). Paziente gehienek miopia edo miopiarekiko joera zuten. Erretinosi pigmentarioa zuten 681 pazienteen ka-suan, ordea, miopia joerarik ez zen antzeman. Ikusmen zolitasuna aldako-rra izan zen pazienteen artean, baina ez zen aldaketa nabarmenik nabaritu 50 urte bete artean, orduan galera bizkorra sufritzen zuten. Bestalde, adi-narekin ikusmen periferikoa apurka gutxituz zihoan. Bizitzaren lehen ha-markadan argi urdin ilunari erantzun eskotopikoaren b-uhinaren anplitu-dea murrizten joan zen. 30-Hz-tako kinada fototopikoaren erantzuna ordea, 5-40 urte artean pixkanaka gutxiuz joan zen. Konoen mosaikoak egitura ez-ohikoak erakutsi zituen ikusmenaren zolitasunaren beherapena baino lehen. Beraz, koroideremia pazienteek tarte zabala dute itsutasuna eman aurretik, hortaz denbora dago tratamendu farmakologikoa, gene terapia edota zelula terapia bidez esku-hartzeko.

Abstract: A cohort of 49 choroideremia patients from Montpellier (France), underwent standard ophthalmic examination, fundus photogra-phy, fundus autofluorescence, OCT scanning of the retina, Goldman visual field testing, ISCEV electroretinogram and adaptive optics. Mean age of the patients was 35 (range 2-69) and the mean follow up duration was 6 years (range 1-18). Most patients were myopic and showed a skew towards myo-pia in comparison with the refraction of 681 cases of retinitis pigmentosa. Visual acuity was variable among cases but did not change significantly un-til 50 years of age, at which time it decreased rapidly. Conversely, the pe-ripheral field gradually decreased with age. The b-wave amplitude of the dim blue scotopic responses decreased in the first decade of life, while that of the 30-Hz flicker photopic responses decreased more gradually between 5 and 40 years of age. The cone mosaic showed abnormal structure before the decrease of visual acuity was observed. In conclusion, choroideremia patients show a large window before undergoing blindness, leaving time to test pharmacological, gene and cell therapy interventions.

IZENBURUA: KARAKTERIZAZIO ETA DIAGNOSTIKO GENETIKOA KOROIDEREMIA DUTEN 33 FAMILIA ESPAINIARRENGAN

Egileak: Carmen Ayuso eta Rosa Riveiro.

Afiliazioa: Servicio de Genética. Hospital Universitario Jiménez Díaz (IIS-FJD, UAM), Madril, CIBERER. ISCIII, Madril.

Laburpena: Koroideremia X kromosomari lotutako distrofia korio-erretinala da. Lehen sintoma gau-itsutasuna da eta jarraian ikus-eremu periferikoaren galera gertatzen da; guzti hau, bizitzaren lehen edota bigarren hamarkadan gertatzen da. Gaitz hau CHM genearen mutazioarengatik gertatzen da. Gene hau Xq21.2 kromosoman kokatzen da, 15 exoi ditu eta 653 aminoazidodun nonahi expresatzen den proteina kodifikatzen du, Rab Protein1 (REP1). REP1 proteina rab geranylgeranyltransferasa (RGGTase) konplexu katalitikoaren ezinbesteko osagaia da, eta konplexu honek zelulako trafiko besikularrean erregulazioan parte hartzen du. CHM geneak zenbait erregio polimorfiko ditu nagusiki 5.9 eta 14 introeitan kokatutakoak. Erregio hauen azterketak mutazioekin lotutako haplotipoak zehaztea ahalbideratzen du eta horrela mutazioen jatorria eta segregazioa finka daiteke. CHM geneak paira ditzakeen mutazioak anitzak dira, beregituratzeko genomiko handiak (gene oso baten edo bat edo zenbait exoiren delezioa edo translokazioa), irakurtze jarraibidearen asaldurak edo *frameshift*, geldiera kodoia (nonsense), splicing edo kasu arraroagoetan missense-a.

Kasu urritan CHM genea Xq21 erregioaren barneko delezio gogorrago baten parte izan daiteke, non X kromosomara lotutako gortasunarekin erlazionaturiko POU3F4 genea ere kokatzen den. Guk aztertutako erretinako distrofia zuten espainiar familien taldean koroideremia diagnostiko klinikoa zuten 45 familia zeuden. Hauetatik 33 familia (%73) aztertu ahal izan ziren honako teknika desberdin hauek erabiliaz: Sanger sekuentziazioa edo panel gene bitarteko sekuentziazio masiboa (NGS), exoi sekuentziazioa osoa (WES), RNA azterketa, azterketa kromosomikoaren analisia eta CGH array.

Aurkitutako mutazioak hauek izan ziren:

- 4 kromosoma eta X kromosoma arteko translokazio bat.
- CHM genea barne duen X kromosomaren delezio bat.
- CHM genearen delezio osoak, bi.
- 10-Exoi bat edo zenbait exoiren delezioak, hamar. Zenbait kasutan erregio promotorea barne zuten.
- *Frameshift* bat.
- Hamalau nonsense.
- Hiru splicing.
- Missense bat.

Koroideremia duten pazieentent mutazio kausalak aztertzekeko protokoloaren azterketa ezinbestekoa da gaixotasunaren diagnostiko eta pronostiko egokirako. Hortaz gain, mutazioen azterketak ahalbidera dezake familiari aholku genetiko egokia ematea, ugaltze aukerak izatea eta gene-menpeko-tasuna duten entsegu klinikoetarako sarbide egokia.

Abstract: The choroideremia (CHM) is a hereditary X chromosome-linked chorio-retinal dystrophy which first symptoms are night blindness fol-

low with the lost of peripheral visual area, in general between first or second decade of life.

La coroideremia (CHM) es una distrofia corio-retinal hereditaria ligada al cromosoma X cuyos primeros síntomas son ceguera nocturna seguida de pérdida de campo visual periférico, generalmente entre la primera y segunda década de la vida. Está causada por mutaciones en el gen CHM, localizado en el cromosoma Xq21.2, contiene 15 exones y codifica para una proteína de expresión ubicua de 653 aminoácidos: Rab Escort Protein1 (REP1). REP1 es un componente esencial del complejo catalítico rab geranylgeranyltransferasa (RGGTase) que interviene en la regulación del tráfico celular vesicular. El gen CHM tiene varias regiones polimórficas localizadas mayoritariamente en los intrones 5, 9 y 14 cuyo estudio permite establecer haplotipos ligados a mutaciones para indicar el origen y segregación de algunas mutaciones. El espectro de mutaciones descritas en el gen CHM es bastante amplio incluyendo grandes reestructuraciones genómicas (deleciones del gen completo o de uno o varios exones, duplicaciones, o translocaciones) así como mutaciones que alteran la pauta de lectura o frameshift, de codón de parada (nonsense), de splicing y más raramente mutaciones missense. En raras ocasiones la CHM puede ser parte de una deleción más severa que incluye la región Xq21, entre los que se incluye el gen POU3F4 asociado a un tipo de sordera ligado al cromosoma X.

En nuestra cohorte de familias españolas con distrofias de retina se estudiaron a 45 familias con el diagnóstico clínico de coroideremia, utilizando diversas aproximaciones de estudio que incluyen secuenciación Sanger o masiva mediante paneles de genes (NGS) e incluso secuenciación de exoma completo (WES), análisis de RNA, estudio de análisis cromosómico y estudio mediante CGH-array

Se pudieron caracterizar 33 familias (73%). Entre las mutaciones identificadas se han encontrado: 1 translocación entre el cromosoma 4 y el cromosoma X 1 deleción de una región del cromosoma X incluyendo el gen CHM 2 deleciones completas del gen CHM 10 deleciones de uno o varios exones, incluyendo en algún caso región promotora

1 frameshift 14 nonsense 3 splicing 1 missense

El protocolo de estudio para la identificación de la mutación causal en pacientes con CHM es esencial para un correcto diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, dar un adecuado consejo genético a los familiares, tener opciones reproductivas, así como para acceder a ensayos clínicos de terapia gen-dependiente.

Choroideremia (CHM) is an inherited retinal disease of the X-chromosome that affects mainly to the choroids and retina. First symptoms occur during the first and second decade of life, and include among others night blindness, and progressive loss of the peripheral vision. Mutation in the CHM gene placed in Xq21.2 chromosome, which contains 15 exons, hampers the production of the omnipresent Rab escort protein (REP1), which contains 653 aminoacids. REP1 is an essential component of the catalytic geranylgeranyltransferasa (RGGTase) system that regulates vesicular traffic inside the cells. CHM gene holds many polymorphisms placed mainly at the 5, 9 and 14 introns, which detailed study is mandatory to explain the origin and evolution of many mutations. The spectrum of mutations associated to the CHM gene is quite wide and include among others genomic restructurations (total or partial gene deletions, duplications, and translocations) and mutations that directly affect to the frameshift. In many extraordinary cases, CHM can be developed as consequence of a more severe deletion of the xq21 region, which includes the POU3F4 gene. This gene is frequently linked to a special type of deafness associated to the X-chromosome. We studied a cohorte of 45 Spanish families affected by retinal dystrophies which were clinical diagnosed as choroideremia. Different approach were used such as the massive or Sanger's sequentation (NGS) through gene panels, and even whole exome sequencing (WES), RNA analysis, chromosome analysis, and CGH-array studies. 33 families were characterized (73%). Among identified mutations we found: One translocation between chromosome 4 and chromosome X, one deletion of a chromosome X region, which includes CHM gene, two full deletions of the CHM gene, 10 deletions of one or more exons, including in some cases the promoter region, 1 frameshift 14 nonsense 3 splicing 1 missense. The detailed study of the protocol for the identification of mutations in patients affected by CHM is essential in order to obtain a right diagnosis and prognosis of the disease. Additionally, it is necessary to provide an adequate genetic advice to the patient's family, to have reproducibility options and the possibility to access to gene-dependent clinical trials.

IZENBURUA:
ERRETINAREN DISTROFIAK:ULERTUZ SENDATZEN

Egilea: Enrique J. de la Rosa.

Afiliazioa: Centro de Investigaciones Biológicas-CSIC.

Laburpena: Erretinaren distrofia hereditarioak 250 gene baino gehiagoren mutazioengatik sortutako gaixotasun genetikoak dira. Nahiz eta jatorri konplexua eduki, ohikoa da gaixotasunaren garapenak prozesu komun batzuk izatea, hala nola pixkanakako ikusmenaren edota fohartzaila eta argiarekiko sentikorrak diren zelulen galera.

Gure taldea erretina distrofikoan gertatzen diren prozesuen ikerkuntzan dago interesatua, zehazki neurobabesean oinarritutako terapia aringarri (paliatibo) posibleak garatzeko helburuarekin. Modu honetan mutazio ezberdinak pairatzen dituzten gaixoak tratatu ahalko lirateke. Gure ikerlanen bidez neurobabesa berezko helmuga bat izateaz gain, mutazio ezberdinentzat ere komunak diren itu terapeutiko berriak ezartzeko tresna erabilgarri bat dela konturatu gara.

Nire hitzaldian proinsulinaren estrategia neurobabeslea azalduko dut, baita gaixotasuna ulertzen ari garen heinean arakatzen gabiltzan bide berriak ere.

Abstract: Inherited retinal dystrophies comprise a group of genetic diseases that are caused by the mutations in more than 250 genes. Although its complex origin, the progress of the disease frequently includes common processes such as the loss of photoreceptors, light sensitive cells, and the gradual vision loss.

Our research group is interested in studying the processes that occur in the dystrophic retina in order to develop palliative therapies based, concretely, in the neuroprotection. This way it would be possible to treat patients affected by several mutations. During our studies we realize that neuroprotection, apart from being a target itself, is a useful tool to highlight new therapeutic targets which are common for different mutations.

In my talk I will explain the neuroprotective strategy with proinsulin, as well as the new procedure that we are investigating according to what we understand about the disease.

IZENBURUA: ERRETINAREN ENDEKAPENEZKO GAIXOTASUNEN TRATAMENDURAKO OSAGAI AKTIBOAK ASKATZEKO SISTEMA MIKROPARTIKULATUAK

Egilea: Dra. Rocio Herrero-Vanrell.

Afiliazioa: Universidad Complutense, Madril.

Laburpena: Erretinaren endekapenezko gaixotasunek ikusmenean kalte larriak eragiten dituzte eta gehienek ikumenaren galera garrantzitsua eragiten dute. Era honetako patologietarako existitzen diren aukera terapeutikoen artean agente neurotrofikoak (La Vail et al., 1992, Ogilvie et al., 2000), antiapoptotikoen (Holtzman et al., 1997) eta antioxidatzaileen erabilera dago. Osagai aktibo hauek bakarrik edo konbinatuz erabili daitezke.

Hala ere, agente hauekin eginkorren terapia eraginkorra izan dadin ezibestekoa da osagai aktiboa erretinan kaltetutako zonetara helaraziko du-

ten administrazio formak garatzea. Farmakoa erretinatik ahalik eta hurbilen uzteko aukera bat beirakara barnean administratzea da, horrela kontrako eragin sistemiko gehienak ere sahiestuko lirateke (Ruiz-Moreno et al., 2007). Hala ere, beirakara barneko bideak baditu hainbat eragozpen, besteak beste, endoftalmitisa, kataratak edota erretinaren askapena eragin ditzake. Horrez gain, beirakara barneko administrazioa «bolus» eran egiten da eta gaitz kronikoetarako ez da nahikoa, zeren eta eragin lekuan substantzia aktiboaren kontzentrazio jarraiak behar dira denbora epe luzean.

Biodegradagarriak diren sistema mikropartikularrek substantzia aktiboa denbora-epe luzean zehar askatzeko gai direnez, begi barnean administratzeko sistema oso interesgarriak dira. Sistema hauek kirurgia beharrianik gabe injektatu daitezke. Gainera biodegradagarriak izanik, administratu eta denbora batera desagertu egiten dira eta farmakoa modu progresiboan askatzen dutenez, aplikazio kopurua murriztea lortu daiteke, batetik bestera hilabete batzuk pasatu daitezkelarik.

Sistema hauek eratzeko materialen aukeraketa oso garrantzitsua da, izan ere, farmakoaren askapena kontrolatzeko gai izateaz gain biobateragarriak eta toxizitate gabekoak izan behar dira, Baita materialaren degradazio produktuak ere. Hau guztiagatik, erabili daitezkeen materialen zerrenda murrizta da.

Duela hogeita hamar urtetik azido laktiko eta glikolikoaren eratorriak (PLGA edo PLAGA), beraien biobateragarritasun bikaina eta degradazio produktuen toxikotasun eza medio, biomedikuntzan aplikaziorik gehien dituzten biomaterialak dira, batez ere, azido laktiko-ko-glikolikoaren kopolimero eratorria (Herrero-Vanrell et al., 2001, 2013). Adibidez, merkatuan badago kopolimero honekin prestatutako begi barnean administratzeko gailua (Ozurdex[®]).

Substantzia aktibo bat edo gehiagoz betetako mikroesfera biodegradagarrien garapenak faktore anitzen menpe dauden erretinako gaitz kronikoen tratamendu eraginkorra bermatu dezake etorkizunean.

Abstract: The retina degenerative diseases are devastating and are associated to a significant loss of vision. Within the different therapeutic approaches of these pathologies are the uses of different active substances like the neurotrophic agents (La Vail et al., 1992, Ogilvigie et al., 2000) antiapoptotics agents (Holtzman et al., 1997) and antioxidant agents that can be administered alone or in combination.

However, the effective therapy for these pathologies requires the development of different administration via that will let the delivery of the active agent to the affected areas of the retina. In this way, the intravitrea administration let the drug to be deposited close to the affected area, eliminating most of the systemic secondary effects (Ruiz-Moreno et al., 2007).

Nevertheless, this route is not exempted of problems because of its association with secondary effects like endophthalmitis, cataracts and retinal detachment, among others. In addition, another problem related to this route of administration is that is administered in «bolus», resulting in a deficient treatment for chronic treatments that require constant concentrations of the active substance in the affected area for long periods.

The biodegradable microparticles systems of controlled release are becoming an interesting alternative to the development of formulations that are administered via intraocular due to their capacity to release the active substance during a long period of time. These systems can be administered with a conventional injection, without any type of surgery. Moreover, because they are biodegradables, they disappeared in the administration regions over the time and, due to progressive release of the drug, it can reduce considerably the number of administration periods, even for several months.

The selection of the materials that are use to prepare these systems are very important because not only have to be able to modulate the release of the drug, but they have to be highly biocompatibles and extent of toxicity, characteristics that should be applied to the biodegradable products too. These facts reduce, considerably, the number of used materials.

Since 30 years ago, the polymers derived from the lactic acid and glycolic (PLGA o PLAGA) are one of the biomaterials with mayor biomedical application and specifically, the copolymer derived from the lactic acid coglycolic. This fact is due to the excellent biocompatibility of this biomaterial along with their absence of toxicity of their degradation products (Herrero-Vanrell et al., 2001, 2013). Actually, there is a commercialized intraocular biodegradable administration device (Ozurdexâ) prepare from this polymer.

The development of biodegradable microspheres loaded with one or several active substances will allow in a near future the effective treatments of multifactorial and chronic pathologies during long time periods.

Bibliografía

- Herrero-Vanrell, R., Refojo, M.F. 2001. «Biodegradable microspheres for vitreoretinal drug delivery». *Adv Drug Del. Rev.* 52(1), 5-16.
- Herrero-Vanrell, R., Bravo-Osuna, I., Andrés-Guerrero, V., Vicario-de-la-Torre, M., Molina-Martínez, I.T. «The potential of using biodegradable microspheres in retinal diseases and other intraocular pathologies». *Prog Retin Eye Res.* 2014 May 10. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.04.002.
- LaVail, M.M., Unoki, K., Yasumura, D., Matthes, M.T., Yancopoulos, G.D., Steinberg, R.H. 1992. «Multiple growth factors, cytokines, and neurotrophins res-

- cue photoreceptors from the damaging effects of constant light». *Proc Natl Acad Sci USA*. 89:11249-53.
- Ogilvie, J.M., Speck, J.D., Lett, J.M. «Growth factors in combination, but not individually, rescue rd mouse photoreceptors in organ culture». 2000. *Exp Neurol*. 161:676-685.
- Ruiz-Moreno, J.M., Montero, J.A., Bayon, A., Rueda, J., Vidal, M. 2007. «Retinal toxicity of intravitreal triamcinolone acetonide at high doses in the rabbit». *Exp Eye Res*. 84(2), 342-348.

Eskerronak: MAT2010-18242, PANOPTES (project number 246180) under the 7th Research Framework Programme of the European Union, Grupo de investigación UCM 920415, RETICS Oftared (RD12/0034).

IZENBURUA: KOROIDEREMIAREN TRATAMENDURAKO TERAPIA GENIKO ETA ZELULARREAN OINARRITUTAKO IKUSPEGI BERRIAK

Egileak: Sara Maia¹, Cristiana F. Pires^{1,2}, Miguel C. Seabra^{1,3}.

Afiliazioa: ¹CEDOC, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa, 1169-056, Lisbon, Portugal. ²Program in Areas of Basic and Applied Biology, Abel Salazar Biomedical Sciences Institute, University of Porto, Porto, Portugal. ³Molecular Medicine, National Heart and Lung Institute, Imperial College London, London, United Kingdom.

Laburpena: Koroideremia X kromosomari loturiko gaixotasuna da eta erretinaren endekapena sortzen du. Hasiera eta progresio moteleko gaixotasuna da, eta erdi-adineko gizonezkoek izaten dute patologia hau jasateko aukera gehiago. Koroideremian, erretinako pigmentua duen epitelioren (RPE) funtzioak eta gainontzeko erretinaren atalak minduta daude, Rab Escort 1 proteinaren (REP1) funtzio faltaren ondorioz. Proteina hau ezinbestekoa da zelula barneko garraioa erregulatzeko.

Azken urteotan, Koroideremiaren tratamenduan aurrerapen eta ikuspuntu berri eta esanguratsuak garatu dira, gaixotasun honen patofisiologia hobeto ulertzen laguntzen dutenak.

Gure ikerketa taldeak, jakintza zabala dauka RPE zelulen funtzio eta ezaugarri biologikoetan, bai egoera fisiologiko eta patologikoetan. Hain zuzen ere, Koroideremiaren patogenia ikertzen dugu, terapia genikoa erabiliz tratamendu berriak ezarriz. Lehenengo faseetan dauden entsegu klinikoan emaitzek adierazten dutenez, zenbait gaixoetan, erretinako kono eta bastoi zelulen funtzioaren aurreratzea ikusi da, ikusmenaren hobekuntza ondorio izanik. Duela gutxi, Koroideremiaren tratamendurako terapia zelularrean gabilta, zelula ama pluripotenteak (iPS) garatuz. Zelula hauek gure

laborategian garatutako Koroideremia aurkezten duen xagu transgeniko batetik lortzen ditugu. Gaur egun iPS zelulak, gure laborategian karakterizatu eta RPE zeluletara bereizten ditugu.

Abstract: Choroideremia (CHM) is an X-linked form of retinal degeneration of slow onset and progression, with affected males suffering blindness by middle age. In CHM, the physiological function of retinal pigment epithelium (RPE), and other components of the retina, is affected due to lack of function of Rab Escort Protein 1 (REP1), an essential regulator of intracellular trafficking.

In the last years, significant progresses have been made in the development of novel approaches to treat CHM and to better understand the pathophysiology of CHM.

Our group has extensive knowledge on the biological and functional properties of RPE cells both under physiologic and pathological conditions. In particular, we have been studying CHM pathogenesis and establishing new treatments, namely through gene therapy. The initial results of the phase 1/2 clinical trial indicate, for some patients, an improvement in the function of rod and cone retinal cells, which translated into a gain of visual acuity. More recently, we have been developing cell-based therapies for CHM by generating induced pluripotent stem (iPS) cells from a CHM mouse model developed in our laboratory. These iPS cells are currently being characterized and differentiated into RPE in our laboratory.

IZENBURUA: ABIAN DAUDEN ENTSEGU KLINIKOAK

Egilea: José M. Millán Salvador.

Afiliazioa: Genetika Unitatea, La Fe Unibertsitate Ospitalea; Gaixotasun neurosensorialen ikerketa taldea, IIS-La Fe; CIBERER.

Laburpena: Koroideremia erretinaren distrofia hereditario arraro bat da eta 1,5/100.000 biztanleko prebalentzia du. X kromosomari lotutako herentziazko gaixotasuna da eta REP-1 (Rab Escort Protein 1) proteinaentzat kodifikatzen duen *CHM* genearen mutazioen ondorioz sortzen da.

Orain arte, ez dago tratamendurik koroideremiarentzako. Dena den, gaixotasun honentzat terapia egoki eta zentzuzko bat aurkitzeko ahalegin handiak egiten ari dira.

Momentu honetan gizakietan abian dauden entsegu kliniko experimentalek terapia farmakologia, erretina protesiak edo mikrochipak eta terapia aurreratuak biltzen dituzte. Gainera, ikuskapen-entsegu interesgarriak burutzen ari dira erretinan gertatzen diren aldaketak modu ez inbasibo batean monitorizatzeko.

Aurkezpenean hurbilketa terapeutiko guzti hauek aztertuko dira, erretinan adenobirusen bidez *CHM* genearen transfekzioan oinarritutako terapia genikoan interes berezia izanik. Izan ere, koroideremia *CHM* genearen ga-beziaren edo funtzioaren galera eragiten duten mutazioen ondorioz sortzen da, gainera bere cDNA-ren tamaina txikia da eta gaixotasunaren bilakaera geldo samarra. Ondorioz, terapia genikoa koroideremiarentzako etorkizun handiko estrategia terapeutikoa dela esan genezake.

Abstract: Choroideremia is a rare inherited dystrophy of the retina with an estimated prevalence of 1.5 /100,000. It presents an inheritance pattern linked to the X chromosome and it is caused by mutations in the CHM gene that encodes the REP-1 protein (Rab Escort Protein 1).

To date, choroideremia does not have treatment. However, they are making huge efforts to find a suitable and rational therapy for the disease. Experimental clinical trials in humans that are currently underway include pharmacological therapy, retinal microchips and the advanced therapies. In addition, there are being carried out very interesting observational studies to the monitoring of changes in the retina by a non-invasive way.

They will address all these therapeutic approaches with special interest in gene therapy based on the delivery of the CHM gene in the retina mediated by adeno-associated viruses. Due to the fact that the choroideremia is caused by mutations that cause a loss of function of CHM, the small size of the cDNA and the relatively slow progress of the disease, make gene therapy a very promising therapeutic approach.

IZENBURUA: KOLIRIO PERTSONALIZATUAREN GARAPENA ETA EBALUAZIOA BEGIKO GAITZETARAKO

Egileak: Eduardo Anitua eta Gorka Orive.

Afiliazioa: Eduardo Anitua Fundazioa eta NanoBioCel UPV/EHU.

Laburpena: Hazkuntza faktoreetan aberatsaren den plasma (PRGF) teknologia norberaren odoletik eskuratutako plaketaz aberasturiko plasman datza. Plasma hori kaltzio kloruroarekin aktibatuta, biologikoki eraginkorrak diren plaketetako proteina erreserben askapena gertatzen da. Honek hainbat prozesu biologiko sustatzen ditu, hala nola, erakarpen zelularra, hazkuntza eta diferentziazioa. Begiaren gainazaleko zaurien sendaketa hazkuntza faktore ezberdinen bidez ematen denez, PRGF teknologiak duen erregenerazio gaitasuna eta propietate antifibrotikoak aztertu genituen. Gure emaitzek erakutsi zuten estrategia autologo honek bai keratinozito zein fibroblasto konjuntiboen proliferazioa eta migrazioa modu esanguratsuan areagotzen duela. Bestalde, PRGF-ak prebenitu eta inhibitzen du

TGF- β 1-ek eragindako miofibroblastoen diferentziazioa. PRGF-ak egonkortasun biologikoa mantentzen du 6 hilabetez eta era adierazgarri batean hobetzen ditu suero ez-komertzial autologoaren emaitzak. «PRGF kolirio» berriak fibrosia eta inflamazioa murrizten ditu eta begi gainazalean zauri sendaketa estimulatu du. Horrela, PRGF-a proposatzen dugu begi zainketarako odol deribatuen soluzio estandar bezala.

Abstract: Plasma rich in growth factors (PRGF) technology is an autologous platelet-enriched plasma obtained from patient's own blood, which after activation with calcium chloride allows the release of a pool of biologically active proteins that influence and promote a range of biological processes including cell recruitment, growth and differentiation. Since ocular surface wound healing is mediated by different growth factors, we decided to explore the potential of PRGF technology in stimulating the biological processes related with fibroblast-induced tissue repair. Furthermore, the anti-fibrotic properties of PRGF were also studied. Our results show that this autologous approach enhances significantly proliferation and migration of both keratocytes and conjunctival fibroblasts. In addition, PRGF prevents and inhibits TGF- β 1-induced myofibroblast differentiation. PRGF maintains the biological stability during 6 months and improves significantly the biological outcomes of home-made autologous serum. The new PRGF eye-deopros reduces scarring and inflammation while stimulate wound healing in ocular surface. We propose PRGF as the standardized solution to hematic derived in the care of the eye.

IZENBURUA: RNAI KONPOSATUEN GARAPENA BEGIKOGAIXOTASUNEN TRATAMENDURAKO

Egileak: Covadonga Pañeda, Victoria González, Tamara Martínez, Verónica Ruz, Beatriz Vargas and Ana Isabel Jiménez.

Afiliazioa: Sylentis SAU.

Laburpena: Gaixotasun asko proteina zehatz batzuen funtzio edo kopuru aldaketengatik sortzen dira. Gaitz hauek tratatzeko planteamendu terapeutiko berritzaileek gene-adierazpena aldatzea dute helburu, proteinen kalitatearen edo kopuruaren akatsak zuzentzeko asmoz. Interferentziako RNA (RNAi), geneak isiltzeko zelula eukariotoek duten mekanismo endogeno bat da, proteina zehatzen sintesia eragozten duena. Mekanismo hau kanpotik emandako kate bikoitzeko interferentziako RNA laburrei (siRNA) esker hasten da. Gero, zelulen RNAi-makinariak si-RNA hau prozesatu eta erabiltzen du. RNAi-n oinarritutako terapien abantailak honako hauek dira: gero eta ituterapeutiko tratagarri gehiago daudela, espezifikotasuna handia dela eta tratamendua gaixotasuna eragiten duten aleoetara zehazki zuzentzen dela.

Sylentis Espainiako konpainia farmazeutiko bat da, begien gaixotasunak tratatzeko RNAi-n oinarritutako konposatuak garatzen dituena. Sylentis-ek bi konposatu ditu entsegu klinikoetan begietako gaixotasunak tratatzeko, glaukoma eta begiko mina hain zuzen ere. Terapia berri bat klinikara eramateak hainbat erronka legal ditu, banan-banan aztertu behar direnak garatzen ari den terapia espezifikoaren arabera. Saio honetan terapia berritzaileak garatzeko gainditu beharreko oztopoak eta agentziek gaixotasun arraroetarako konposatuak garatzean eskaini behar dituzten erregulazio abantaila nagusiak laburtuko ditugu.

Abstract: Many diseases are caused by malfunction or changes in the amount of specific proteins. Innovative therapeutic approaches to treat these ailments aim to correct defects in the quality or quantity of proteins by altering gene expression. RNA interference (RNAi) is an endogenous mechanism present in all eukaryotic cells that mediates gene silencing by interfering with the synthesis of specific proteins. This mechanism is initiated by the action of double stranded short interference RNAs (siRNAs) that are exogenously administered and are thereafter processed and used by the cell RNAi machinery. Advantages of RNAi-based therapeutics include increasing the number of «druggable» targets, specificity and targeting specifically disease-causing alleles.

Sylentis is a Spanish pharmaceutical company focusing on the development of RNAi based compounds for treating ocular conditions. Sylentis has two compounds in clinical trials for ocular indications: glaucoma and ocular pain. Taking an innovative therapy into the clinic has several regulatory challenges that need to be individually addressed depending on the specific type of therapy under development. In this session we will overview the main issues that need to be addressed when developing innovative therapies and the main regulatory advantages that agencies have to offer when developing compounds for rare diseases.

IZENBURUA:
TERAPIA GENIKO EZ-BIRALA KOROIDEREMINAREN
TRATAMENDURAKO ESTRATAGIA GISA

Egileak: ^{1,2}Puras, G.; ^{1,2}Ojeda, E.; ^{1,2}Agirre, M.; ^{1,2}Zárate, J.; ^{1,2}Pedraz, J.L.

Afiliazioa: ¹NanoBioCel Group, University of Basque Country, Vitoria-Gasteiz, Espainia, ²Networking Research Centre of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN).

Laburpena: Koroideremia (CHM) prebalentzia baxuko gaixotasun genetiko bat da, bereziki koroidesa eta erretina erasotzen duena. CHM ge-

neak kodifikatzen duen REP-1 proteinaren gabezia da gaixotasun honen eragilea. Etiologia konplexuagoko beste gaixotasun genetikoekin alderatuz, terapia genikoa arrakastatsua izan daiteke koroideremiaren tratamenduan. Gaur egun martxan dauden entsegu klinikoetan, erretinan injektatzen diren bektore biralak erabiltzen dituzte eta emaitza itxaropentsuak lortzen ari dira. Guk, gaixoez erraztasun handiagoz beteko duten eta seguruagoa den tratamendu bat proposatzen dugu, bektore ez-biralen erabilera hain zuzen ere. Oligokitosanoen (polimero biodegradagarrien) eta formulazio lipidikoetan oinarritutako niosomen erabiliera proposatzen dugu, REP-1 proteina kodifikatzen duen plasmidoa erretinara bideratzeko. Formulazio hauek karakterizatu egiten dira transfekzio efizientzian eragiten duten zenbait parametro fisikokimiko, molekular eta biogiko determinatzeko, in vivo entseguen hasi aurretik. Formulazio hauen propietateen ezagutza ezinbestekoa da hain inbasiboak ez diren eta jasangarriagoak diren estrategia berrien garapenerako, koroideremiaren tratamendurako bektoreen administrazio topikoaren garapena adibidez.

Abstract: Choroideremia is a low prevalence genetic disease that affects mainly to the retina and choroides. Different alterations in the CHM gene hamper the production of the REP-1 protein. Compared with other more complex inherited retinal diseases, choroideremia is a great candidate to be successfully treated by gene therapy approaches. Actually, clinical assays performed use viral vectors injected directly into the retina, with some promising and exciting results in some cases. Our proposal is to aboard this dramatic disease through a more safe and friendly technique which includes the use of non-viral vectors. Basically, we use biodegradable cationic polymers such as oligochitosans and cationic niosomes to deliver the therapeutic plasmid into the retina. Previous to initiate in vivo experiments, mentioned formulations are characterized in our lab to analyze some physicochemical, molecular and biological parameters that influence directly on the transfection efficiency. The detailed knowledge of the formulation characteristics is mandatory in order to elaborate safer, more efficient and friendly affordable therapies for patients such as the topical application.

IZENBURUA: ERRETINAREN PLASTIKOTASUNA TERAPIA GENIKOAREN ONDOREN

Egilea: Elena Vecino.

Afiliazioa: Biologia zelularrean katedraduna (UPV/EHU).

Laburpena: Erretina oso espezializatuta dauden neurona eta gliaz osaturitako egitura konplexu laminatua da. Zelulen arteko interkonexioak

oso zehatzak dira eta hauek helduak direnean aldaketa gutxi gertatzen dira. Hala ere, RP65 mutazioa duten txakurretan lortutako emaitzekin ezusteko handia hartu genuen. Patologia honetan gertatzen diren aldaketa molekularrak ikertu genituen, hala nola, ikusmenaren endekapena. Terapia genikoaren ondoren erretinan espresio molekularren berriztapen ia osoa aurkitu genuen, baita funtzioaren berreskuratzea ere.

RP65 mutazio duten txakurretan burututako ikerlanek gizakietan lehenengo terapia genikoaren garapena suposatu dute. Gaur egun Gustavo Aguirre eta William Beltran doktoreek X kromosomari lotutako patologientzat trapia geniko berriak garatzen ari dira Filadelfian.

Guzti honekin, erretinak ikusmena berreskuratzea ahalbidetzen duten mekanismo molekularren berriztapenerako plastikotasuna daukala esan daiteke. Hala ere, erretinaren konektibitatea mantendu beharko litzateke funtzioa berreskuratu ahal izateko.

Abstract: The retina is a complex laminated structure constituted by much-specialised neurons and glia. The interconnections of the cells are very precise and in adults little changes take place on them. However, our findings after gene therapy in dogs affected by RP65 mutation brought about a considerable advance in the field of research. We studied molecular changes that take place, as the degeneration of the vision progress in this pathology and after gene therapy; we found an almost complete restoration of the molecular expression within the retina, and consequently, the restoration of the function.

The studies developed in dogs with RP65 mutation have opened the development of the first gene therapy in humans. Dr. Gustavo Aguirre and Dr. William Beltran in Philadelphia are at present developing new gene therapies to pathologies linked to chromosome X.

In conclusion, the retina has the plasticity to regenerate the molecular mechanisms that allow vision to be recovered. However, the connectivity of the retina should be preserved in order to restore the function.

