

Metabolismo, Sistemas Modelo y Terapias para la ELA. Tercer Encuentro Internacional de Investigación en ELA en España

Metabolism, Model Systems and Therapies for ALS

Madrid, 2 de julio / July 2 2019

ABSTRACT

Modelos humanos *in vitro* para reconstruir los mecanismos patogénicos en la ELA

María Demestre

Las células madre pluripotentes inducidas (iPSC) ofrecen la oportunidad de modelar enfermedades neurodegenerativas *in vitro*, como la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), una enfermedad mortal causada por la pérdida de motoneuronas superiores e inferiores (MN). Últimamente han surgido numerosos genes ligados a la ELA. En el caso de la proteína FUS de unión al ARN, la mayoría de los estudios *in vitro* se basan en células en las que la proteína mutada se sobreexpresa; por lo tanto, la configuración del paciente, la complejidad del MN y su entorno no se recapitulan. Por lo tanto, generamos líneas iPSC humanas mediante la reprogramación de queratinocitos de un paciente de inicio tardío y dos pacientes con ELA juvenil respectivamente (FUSR521C, FUS2 R495QfsX527 FUS3 D502Tfs * 27). Como controles, utilizamos sujetos sanos de género y edad equivalentes o el control isogénico correspondiente generado a través de Crispr / Cas9. Por lo tanto, los MN derivados de iPSC proporcionaron un modelo *in vitro* para estudiar el comportamiento de las proteínas mutantes en el contexto celular y genético apropiado.

Además de los MN, la fisiopatología en la ELA también puede afectar al músculo esquelético. En una unidad motora, el MN se conecta al músculo a través de la unión neuromuscular (NMJ) y durante el desarrollo, los MN son potentes inductores del agrupamiento del receptor de acetilcolina (AChR) para formar NMJ maduros. Con ese fin, examinamos los contactos sinápticos en cultivos neuronales o de miotubos individuales y en co-cultivos de neuronas y músculos derivados de nuestras líneas iPSC. Primero, demostramos que la localización citoplásmica aberrante de FUS mutado, un sello de la patología ELA-FUS, se recapituló en MNs derivados de iPSC. Además, el FUS que estaba presente en la pre-sinapsis en las células CNTL se acumuló de manera aberrante en las sinapsis en las células de pacientes. En los cultivos de miotubos y en los co-cultivos de neuronas motoras y miotubos de pacientes con ELA-FUS se pudo detectar que la maduración de la placa terminal estaba afectada y la expresión de AChR se redujo. Los co-cultivos mostraron una toxicidad intrínseca del FUS mutante de

ELA en las neuronas motoras y los miotubos. Por lo tanto, el sistema iPSC presentado aquí representa un modelo adecuado para investigar el papel de las mutaciones FUS en la etiopatogenia ALS.