

Póster

## Modelo celular de retinitis pigmentaria basado en células de pluripotencia inducida



García Delgado AB., Lukovic D., Bhattacharya S.

Departamento de Terapia Celular y Medicina Regenerativa/CABIMER (Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa), Sevilla, España

*Palabras clave:* Distrofias retinianas hereditarias; Células de pluripotencia inducida; Epitelio pigmentario de retina

### RESUMEN

**Motivación:** La retinitis pigmentaria (RP) se caracteriza por una degeneración de los fotorreceptores y de las células del epitelio pigmentario (RPE) que se manifiesta con ceguera nocturna seguida por constricción del campo visual y posterior pérdida global de la visión. El mecanismo molecular de esta y otras distrofias retinianas hereditarias es desconocido por la escasez de material humano y la poca fiabilidad de los modelos animales debido a las diferencias fisiológicas y estructurales entre la retina humana y la de los roedores.

El desarrollo de células de pluripotencia inducida (iPSC) nos ofrece una oportunidad sin precedentes para obtener células de pacientes con la enfermedad específica debido a su alta capacidad de expansión y diferenciación a cualquier tipo celular humano. Esta tecnología se ha usado para crear el modelo de RP in vitro que reproduce el fenotipo clínico. Las células iPSC derivadas de fibroblastos de paciente de RP e individuo sano se han caracterizado y diferenciado a RPE. El paciente es portador de la mutación en el gen MERTK(Ser331fs), responsable de la transmisión de la señal en la fagocitosis de los segmentos exteriores de los fotorreceptores, una actividad que realizan las células RPE diariamente, por lo que esperamos que las células RPE de paciente resulten defectuosas en el ensayo de fagocitosis.

**Métodos:** Las células iPSC de paciente e individuo sano se caracterizaron por inmunocitoquímica para marcadores de pluripotencia y su capacidad de diferenciación en las tres capas germinales mediante el ensayo de teratoma en ratones inmunodeprimidos. Las iPSC se han diferenciado hacia células RPE mediante protocolo de diferenciación espontánea observándose la morfología típica de células RPE. La expresión de genes y proteínas específicos de RPE se detectó mediante RT-PCR y Western blott.

**Resultados:** Las iPSC de ambos pacientes fueron teñidas con marcadores de pluripotencia y han sido capaces de desarrollar las tres capas germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo) en el ensayo de teratoma, no encontrando diferencias entre ambas. Una vez diferenciadas en RPE (iPS-RPE) se observó la diferencia en la expresión de la proteína MERTK, mientras las demás proteínas están expresadas igualmente en ambos.

**Conclusiones:** Hemos conseguido obtener células RPE específicas de paciente que carecen de la expresión de la proteína MERTK. En los siguientes ensayos, esperamos ver defectos en fagocitosis con las iPS-RPE de paciente.

### BIBLIOGRAFIA

- Wright LS, Phillips MJ, Pinilla I, Hei D, Gamm DM. Induced pluripotent stem cells as custom therapeutics for retinal repair: Progress and rationale. *Exp Eye Res* (0).
- Idelson M, Alper R, Obolensky A, Ben-Shushan E, Hemo I, Yachimovich-Cohen N, et al. Directed Differentiation of Human Embryonic Stem Cells into Functional Retinal Pigment Epithelium Cells. *Cell Stem Cell* 2009 10/2;5(4):396-408.