

BRAINPURE FOR GANGLIOSIDOSIS: Medicina De Precisión Personalizada Para Las Enfermedades Lisosomales GM1 Y GM2

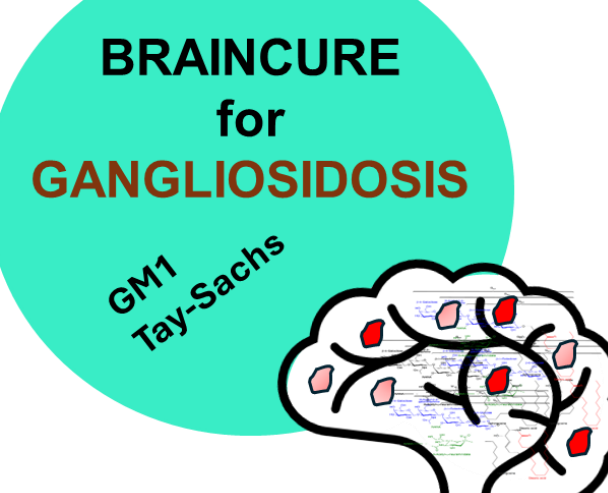
Alejandra López-Cabrera, Mónica Álvarez-Córdoba, Rocío Piñero-Pérez, Diana Reche-López, Ana Romero-González, David Gómez-Fernández, José Manuel Romero-Domínguez, Paula Cilleros-Holgado, Lola de la Villa-Galán, Paulo González-Tirado, y José Antonio Sánchez-Alcázar

Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular - Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD - CSIC - Universidad Pablo de Olavide). Datos de contacto: Alejandra López-Cabrera alopcab2@alu.upo.es

Las **enfermedades de depósito lisosomal** (EDL) son un grupo de más de 70 enfermedades metabólicas congénitas, secundarias a deficiencias de las proteínas lisosomales, incluidas las enzimas lisosomales y las proteínas de la membrana lisosómica. La deficiente función lisosomal impide la degradación normal de sustancias como lípidos, azúcares complejos (glucosaminoglicanos), o proteínas, causando su acumulación tóxica en los lisosomas y el daño progresivo de células y órganos.

OBJETIVOS

Caracterización de los mecanismos fisiopatológicos y evaluación de la efectividad de una librería de compuestos farmacológicos en la recuperación de las alteraciones patológicas en los fibroblastos y células neuronales de los pacientes, a través del cribado farmacológico de 6 compuestos seleccionados.



RESULTADOS

❖ Las proteínas mutadas en GM1 y GM2 muestran niveles de expresión alterados que mejoran tras el tratamiento con diferentes compuestos.

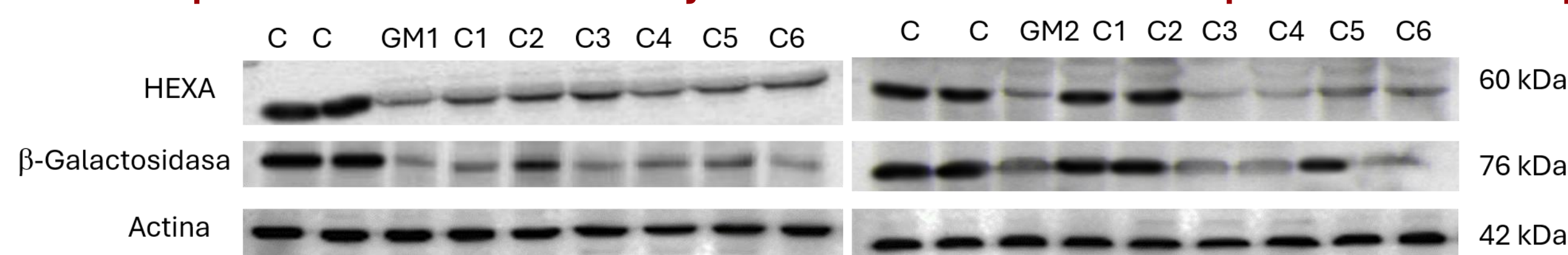
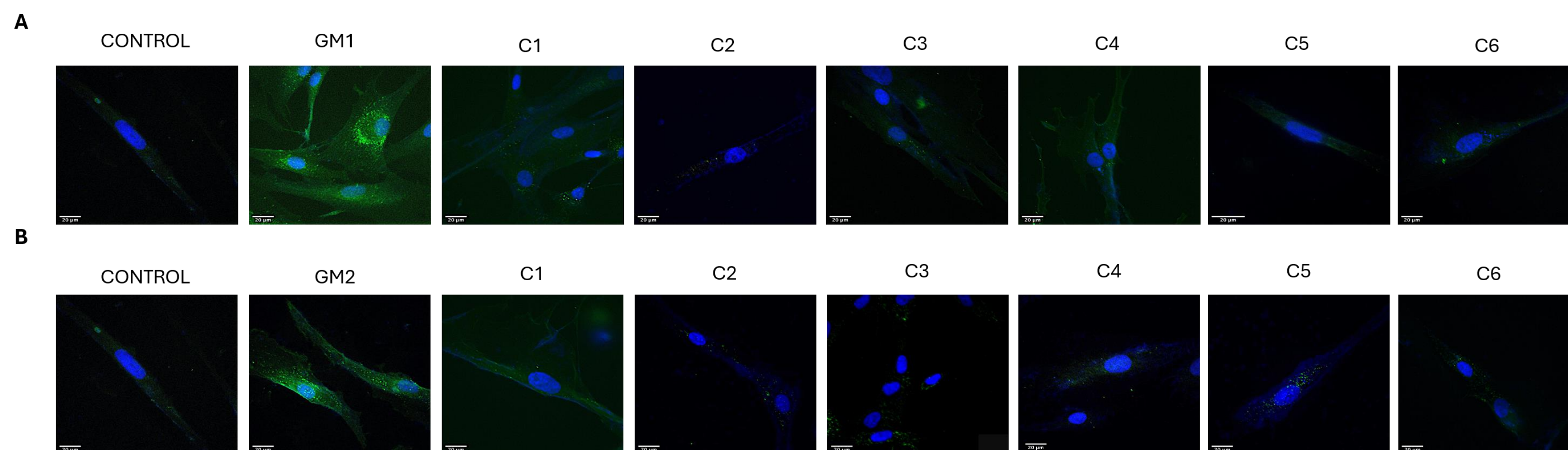


Figura 1. Niveles de expresión de HEXA y β -Galactosidasa en fibroblastos derivados de los pacientes con gangliosidosis GM1 y GM2. Resultado del análisis de inmunoblot de los extractos celulares de los controles (C1 y C2) y de los pacientes con gangliosidosis GM1 y GM2 sin tratar y tratados con 6 los compuestos diferentes seleccionados para el cribado farmacológico. Los niveles de expresión de actina se utilizaron como control de carga del experimento.

❖ La acumulación de gangliósido presentada por los fibroblastos derivados de pacientes con GM1 y GM2 mejora tras el tratamiento con diferentes compuestos.

Figura 2. Evaluación de la acumulación de gangliósidos mediante microscopía de fluorescencia. Células control y derivadas de pacientes sin tratar y tratadas, fueron marcadas para la detección de gangliósidos utilizando el kit de la subunidad B de la toxina colérica conjugada con fluoróforo (señal en color verde), los núcleos fueron marcados con DAPI. (A) Imágenes representativas del paciente con gangliosidosis GM1. (B) Imágenes representativas del paciente con gangliosidosis GM2. Barra de escala: 20 μ m



❖ La acumulación de hierro presentada por los fibroblastos derivados de pacientes con GM1 y GM2 mejora tras el tratamiento con diferentes compuestos.

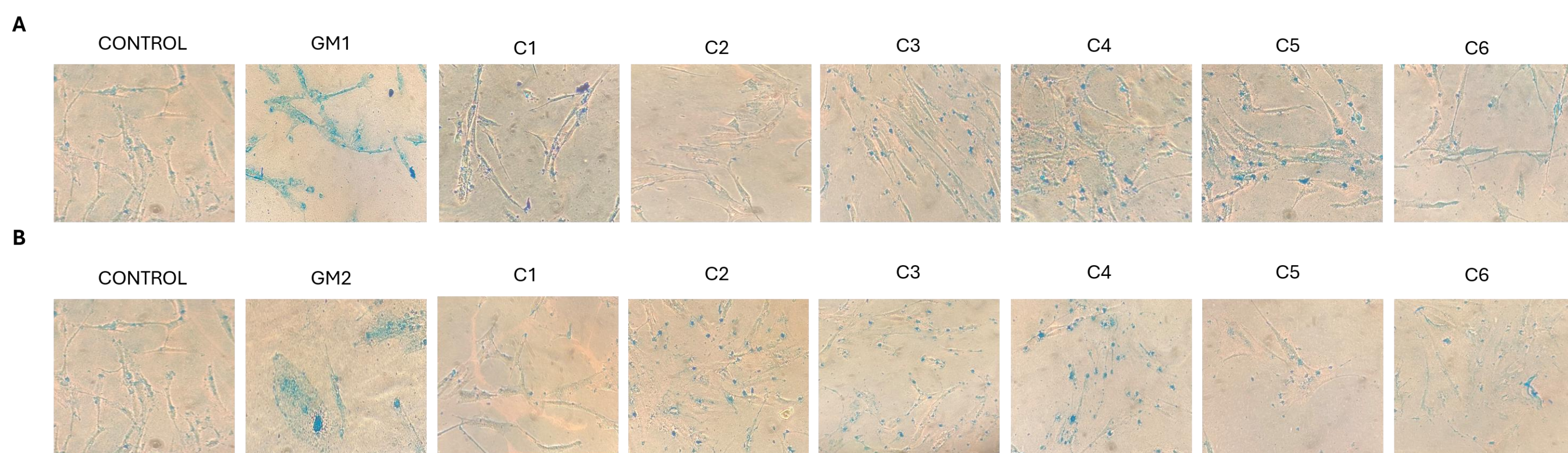
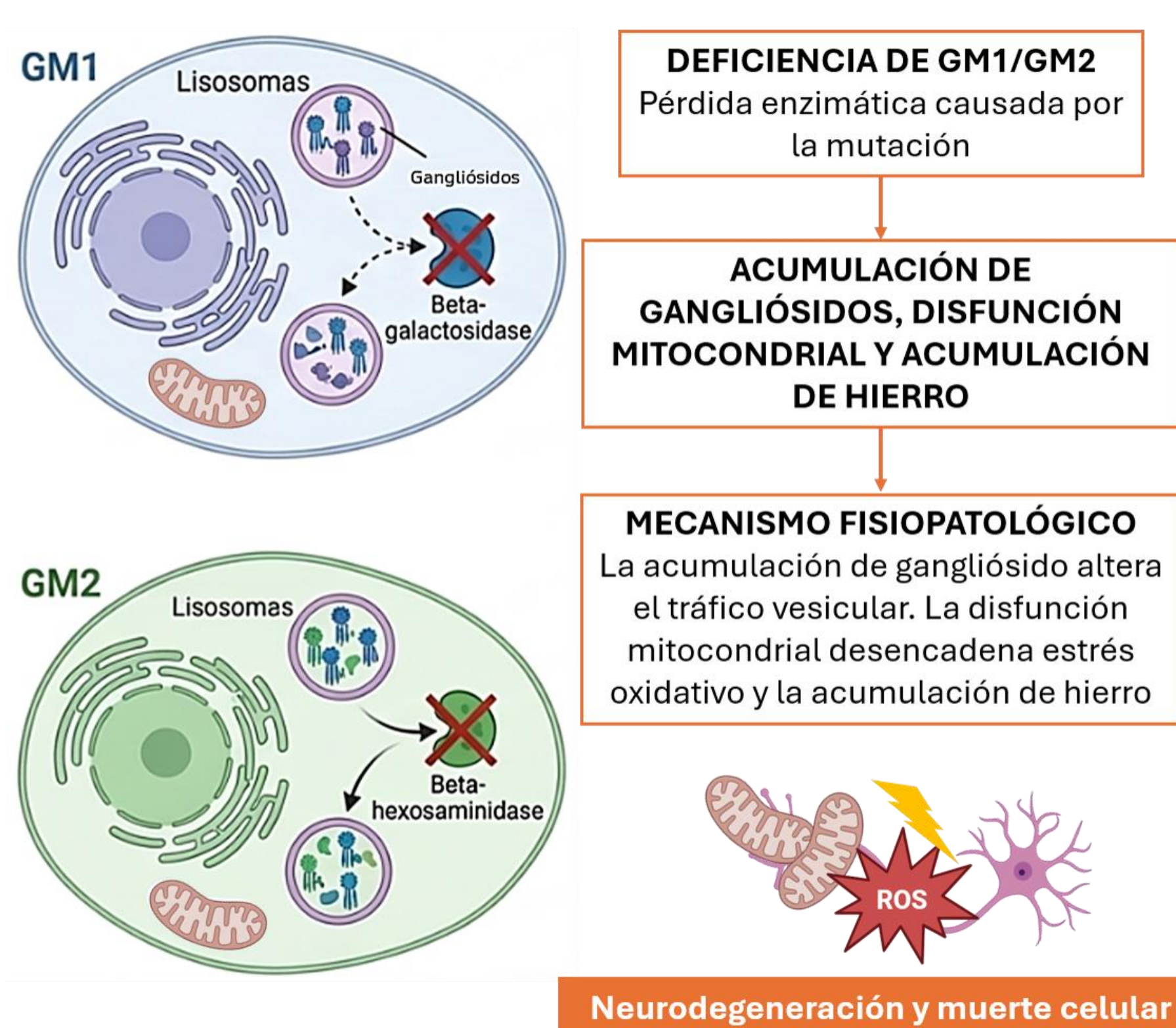


Figura 3. Detección de la acumulación de hierro intracelular mediante tinción de azul de Prusia. Imágenes representativas de microscopía de campo claro de fibroblastos control, fibroblastos de pacientes con gangliosidosis GM1 y GM2 sin tratar y tratados. Las áreas con precipitados de color azul intenso indican la presencia de depósitos intracelulares de hierro férrico (Fe^{3+}). Barra de escala: 20 μ m.

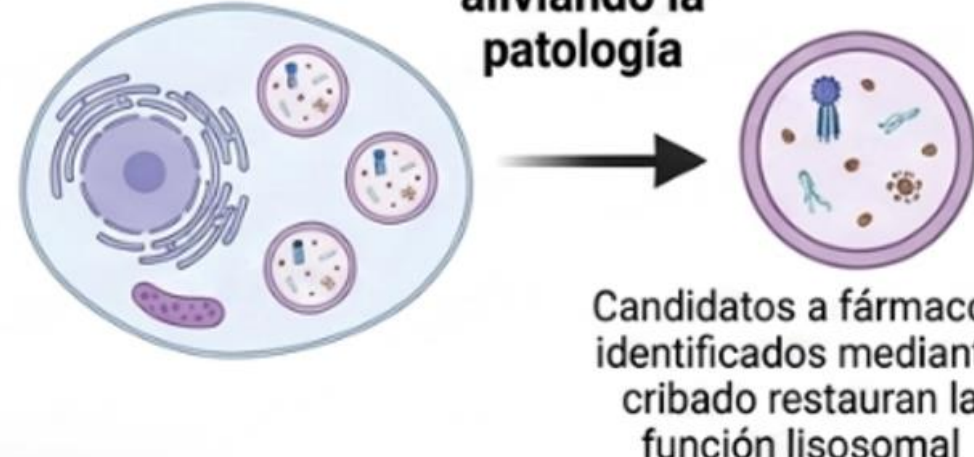
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES



Cribado Farmacológico: 6 Compuestos



El tratamiento elimina gangliósidos y hierro, aliviando la patología



- Para la caracterización fisiopatológica de la enfermedad evaluamos la acumulación de gangliósidos y sus efectos a nivel celular.
- Identificamos compuestos capaces de revertir los efectos fisiopatológicos de la enfermedad (C1 y C2), principalmente mediante el aumento de los niveles de expresión de la proteína mutada; esto podría restaurar parcialmente los niveles deficientes de expresión enzimática y reducir la acumulación intracelular de hierro.
- Demostramos que algunos compuestos son eficaces para eliminar la acumulación de gangliósidos, lo que puede contribuir a mejorar la bioenergética celular. Estos tratamientos también disminuyeron la peroxidación lipídica, reduciendo así el daño oxidativo en las células. Además, la reducción de la acumulación de hierro puede disminuir el estrés oxidativo y mejorar la homeostasis celular.

BIBLIOGRAFÍA

- Poswar, F. O., Vairo, F., Burin, M., Michelin-Tirelli, K., Brusius-Facchin, A. C., Kubaski, F., Souza, C. F. M., Baldo, G., & Giugliani, R. (2019). Lysosomal diseases: Overview on current diagnosis and treatment. *Genetics and molecular biology*, 42(1 suppl 1), 165–177. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2018-0159>
- Matsushita, K., Numakawa, T., Odaka, H., Kajihara, R., Soga, M., Ozasa, S., Nakamura, K., Mizuta, H., & Era, T. (2019). Presynaptic dysfunction in neurons derived from Tay-Sachs iPSCs. *Neuroscience*, 414, 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.06.026>