



Fundació
La Marató de TV3
21º SIMPOSIUM
Enfermedades del corazón



EVALUACIÓN PATOFISIOLÓGICA Y TERAPÉUTICA DE CARDIOMIOCITOS DERIVADOS DE CÉLULAS MADRE INDUCIDAS PLURIPOTENTES (IPS) PROCEDENTES DE PACIENTES

Fabiana Silvia Scornik Gerzenstein

Centre de Genètica Cardiovascular – Universitat de Girona

1. Resumen

El objetivo principal de este proyecto era evaluar la utilidad de los cardiomiocitos derivados de células pluripotentes inducidas (iPS-CM) como modelo para el estudio de enfermedades arritmogénicas hereditarias (ICA, por su nombre en inglés). Además, se propuso investigar el posible impacto del acervo (*background*) genético y los componentes celulares cardíacos sobre los efectos de las mutaciones localizadas en el canal de sodio cardíaco (NaV1.5) sobre la actividad de la corriente de sodio. Esto se basa en la premisa de que la relación entre el genotipo y el fenotipo de las ICA es compleja y está dictada, en principio, por factores específicos del tejido y el acervo genético del paciente.

En este proyecto nos hemos centrado en una familia en la que se encontró una mutación en el gen SCN5A (el cual codifica el canal de sodio cardíaco), asociado al síndrome de Brugada (BrS). Este canal es responsable de la fase de despolarización del potencial de acción cardíaco (PAC). Se ha visto que las mutaciones en este canal provocan anomalías en el PAC que resultan en un electrocardiograma (ECG) característico del BrS con una elevación en el segmento ST en las derivaciones V1, V2 y V3, y constituye un sustrato arritmogénico. Nuestro objetivo era estudiar la corriente de sodio en iPS-CM derivados a partir de biopsias de piel de cuatro miembros de la familia de estudio, tres de los cuales son portadores de la misma mutación (c. 4573 G> a; NaV1.5_p.V1525M) y uno no es portador, y detectar posibles diferencias en las características de la corriente de sodio. Además, comparamos las características de la corriente de sodio de estas iPS-CM específicas de paciente con la corriente resultante de la transfección heteróloga del canal de sodio mutado y no mutado. Los experimentos realizados han demostrado que la mutación NaV1.5-V1525M produce una reducción drástica de la corriente de sodio en dos de las líneas específicas de paciente de iPS-CM respecto al paciente no portador, mientras que la tercera línea específica de paciente no presenta cambios en la corriente. Por otro lado, aunque la mutación provocó una pérdida de función del canal de sodio en células tSA201 transfectadas, esta reducción en la corriente no fue tan grande como la observada en los iPS-CM específicos de paciente. Este hallazgo sostiene nuestra hipótesis sobre que la expresión fenotípica de las mutaciones en el canal de sodio, asociadas al síndrome de Brugada, se encuentra determinada, o bien modulada, por el tipo celular y el acervo genético específico de cada individuo.

Este resultado es importante para entender la penetrancia incompleta y la expresividad variable de las ICA, ya que dos individuos con la misma mutación podrían presentar diferentes fenotipos celulares dependiendo de otras variaciones que puedan tener en genes que afecten la actividad del corazón. Además, sugiere que el efecto de una mutación depende de la interacción del canal con proteínas reguladoras, propias de los cardiomiocitos.

Sobre esta misma idea estudiamos otra mutación, el gen SCN1B, que codifica dos isoformas de proteínas reguladoras del canal de sodio cardíaco, las subunidades $\beta 1$ y $\beta 1b$. Esta mutación se encontró en un niño que presentaba anomalías del neurodesarrollo y una disfunción cardíaca. La mutación en el SNC1B, 308 A > T provoca un cambio de aminoácido, p.D103V, tanto en la subunidad $\beta 1$ como en la $\beta 1b$. Por ello, y porque estas subunidades son reguladoras de canales de sodio cardíacos y neuronales, y debido a que el paciente presentaba síntomas neurológicos y cardíacos, estudiamos los efectos de las subunidades $\beta 1$ y $\beta 1b$ mutadas sobre la corriente de sodio de células tSA201 que expresaban los canales NaV1.1 o NaV1.5. En este caso no pudimos obtener muestras de piel del paciente, pero observamos en nuestro modelo de transfección heteróloga que la mutación produce una pérdida de función en ambos tipos de canal de sodio. La mutación del niño en el gen SCN1B fue heredada del padre. Además, el niño es portador de dos mutaciones en el gen POLR1C, una heredada del padre y otra de la madre. Ni el padre ni la madre del niño presentan ningún tipo de sintomatología neurológica o cardíaca. En cambio, una hermana del paciente, portadora, como el niño, de las tres variantes (dos en la POLR1C y la variante en SCN1B) tuvo diagnóstico fetal de bradicardia, bloqueo AV postnatal y muerte postnatal temprana por fallo multiorgánico. Nuestros resultados sugieren que la expresividad fenotípica de la mutación en SCN1B depende de la combinación de otras variantes presentes en el genoma del niño y su hermana, pero no en los padres.

2. Resultados

Nuestros resultados demuestran que los efectos de las mutaciones en el gen SCN5A sobre la actividad de la corriente de sodio de iPS-CM tienen características que no son evidentes en estudios realizados en modelos de expresión heteróloga. Esto implica que el fenotipo celular de una mutación depende tanto de componentes específicos del tipo de célula como de las variantes genéticas (patogénicas o no) específicas de cada individuo. Estos resultados no habían sido demostrados en relación al síndrome de Brugada y su obtención fue posible gracias a la ayuda de la Fundació La Marató de TV3.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Estos resultados pueden ser de gran utilidad en el diagnóstico genético de las arritmias hereditarias relacionadas con mutaciones en el canal de sodio. En este trabajo no se han estudiado cuáles son los componentes celulares que modifican la expresión fenotípica celular de una mutación. Sin embargo, en un futuro, la identificación de estos componentes puede servir para predecir el grado de patogenicidad individual de una mutación. Nuestro trabajo demuestra la necesidad y la utilidad de buscar estos factores modificadores.

4. Bibliografía científica generada

Publicaciones en revistas científicas indexadas

Selga E, Sendfeld F, Martinez-Moreno R, Medine CN, Tura-Ceide O, Wilmut I, Pérez GJ, Scornik FS, Brugada R, Mills NL.

Sodium Channel Current Loss of Function in Induced Pluripotent Stem Cell-derived Cardiomyocytes from a Brugada Syndrome Patient.

J Mol Cell Cardiol. 2018 114:10-19. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.10.002. Epub 2017 Oct 9.

Sendfeld F, Selga E, Scornik FS, Pérez GJ, Mills NL, Brugada R.

Experimental Models of Brugada syndrome.

Int J Mol Sci. 20(9). 2019, pii: E2123. doi: 10.3390/ijms20092123.

Martínez-Moreno R, Selga E, Riuró H, Parnes MS, Srinivasan C, Wangler MF, Pérez GJ, Scornik FS, Brugada R.

An SCN1B variant affects both cardiac-type (Na V 1.5) and brain-type (Na V 1.1) sodium currents and contributes to complex concomitant brain and cardiac disorders.

En revisión.

Presentaciones en congresos nacionales e internacionales

2019-2020

Martinez-Moreno R, Selga E, Sarquella-Brugada G, Brugada R, Perez GJ, Scornik FS.
Comparative study of the effects of an SCN5A mutation within a family diagnosed with brugada syndrome using iPSC-CM.

64th Annual Meeting of the Biophysical Society, 19 de febrero de 2020.

Presentación oral.

Martinez-Moreno R, Selga E, Sarquella-Brugada G, Brugada R, Perez G, Scornik FS.
Cardiac Sodium Current is Severely Impaired in Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes from Brugada Syndrome Patients.

Biophysical Journal 116(3):390a-391a, 2019. DOI: 10.1016/j.bpj.2018.11.2114.

2018-2019

Martinez-Moreno R, Selga E, Carreras Gorgals D, Sarquella Brugada G, Brugada R, Pérez G, Scornik FS.

Cardiac sodium current is severely impaired in induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes from Brugada Syndrome patients.

VII Congreso de la Red Española de Canales Iónicos. Cáceres, 15-17 de mayo de 2019.

Martinez-Moreno R, Riuró H, Selga E, Wangler MF, Brugada R, Pérez GJ, Scornik FS.
An SCN1B Variant Found in a Child Diagnosed with Epilepsy and Brugada Syndrome Modifies Brain-Type (NaV1.1) and Cardiac-Type (NaV1.5) Sodium Currents.

Biophysical Journal, 114: 490^a, 2018.

Selga E, Carreras D, Martínez R.

Induced pluripotent stem cells as a model to study cardiac arrhythmogenic diseases.

III reunió Cardionet: reunió conjunta del grup de treball Recerca Bàsica i Translació Clínica de la Societat Catalana de Cardiologia i de Salut Cardiovascular en Enfermedades Raras. Gerona, 18 de novembre de 2018.

2017-2018

Martínez-Moreno R, Riuró H, Selga E, Wangler M, Brugada R, Pérez GJ, Scornik FS. *An Scn1b Variant Found in a Child Diagnosed with Epilepsy and Brugada Syndrome Modifies Both Brain-Type (Nav1.1) and Cardiac-Type (Nav1.5) Sodium Currents.* VI Congreso de la Red Española de Canales Iónicos. Santiago de Compostela, 6-8 de septiembre de 2017.

Selga E, Brugada R, Pérez G, Scornik FS.

Introduction of single point mutations using a CRISPR-Cas9 double nicking strategy and ssODNs.

Cell Symposia, CRISPR: from Biology to Technology and Novel Therapeutics. Sitges, 22-24 de octubre de 2017.

2016-2017

Martínez-Moreno R, Riuró H, Selga E, Wangler MF, Brugada R, Pérez GJ, Scornik FS. *SCN1B variant affecting the Ig-like domain of $\beta 1$ subunit produces cardiac sodium channel loss of function through $\beta 1a$ but not $\beta 1b$ subunit isoform.*

Red de Excelencia SICI Consolider, International Workshop. Torrecaballeros (Segovia), octubre de 2016.