



Fundació
La Marató de TV3

21è SIMPOSIUM
Malalties del cor



AVALUACIÓ PATOFISIOLÒGICA I TERAPÈUTICA DE CARDIOMIÒCITS DERIVATS DE CÈL·LULES MARE INDUÏDES PLURIPOTENTS (IPS) PROVINENTS DE PACIENTS

Fabiana Silvia Scornik Gerzenstein

Centre de Genètica Cardiovascular – Universitat de Girona

1. Resum

L'objectiu principal d'aquest projecte era avaluar la utilitat dels cardiomiòcits derivats de cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPS-CM) com a model per a l'estudi de les malalties arritmogèniques hereditàries (ICA, pel nom en anglès). A més, es proposava investigar el possible impacte del rerefons (*background*) genètic i dels components cel·lulars cardíacs sobre els efectes de mutacions localitzades al canal de sodi cardíac sobre l'activitat del corrent de sodi. Això es basa en la premissa que la relació entre el genotip i el fenotip a les ICA és complexa i està dictada, en principi, per factors específics del teixit i del rerefons genètic del pacient.

En aquest projecte ens vam centrar en una família en què es va identificar una mutació del gen SCN5A (el qual codifica pel canal de sodi cardíac) associada a la síndrome dels Brugada (BrS). Aquest canal és responsable de la fase de despolarització del potencial d'acció cardíac (PAC). S'ha vist que mutacions en aquest canal provoquen anormalitats en el PAC que resulten en l'electrocardiograma (ECG) característic de la BrS. Aquest ECG, caracteritzat per una elevació del segment ST en les derivacions V1, V2 i V3, constitueix un substrat arritmogènic i pot produir la mort sobtada. El nostre objectiu era detectar possibles diferències en les característiques del corrent de sodi cardíac entre els membres de la família d'estudi. Per fer-ho, vam utilitzar iPS-CM obtinguts de mostres de pell de quatre membres de la família, tres dels quals són portadors de la mateixa mutació (c. 4573 G>A; Nav1.5_p.V1525M) i un que no n'és portador. A més a més, vam comparar les característiques del corrent de sodi d'aquests iPS-CM específics de pacient amb el corrent resultant de la transfecció heteròloga del canal de sodi amb i sense mutació en cèl·lules de ronyó tSA201. Els experiments realitzats han demostrat que la mutació Nav1.5-V1525M produeix una reducció dràstica del corrent de sodi en dues de les línies d'iPS-CM específiques del pacient respecte al pacient no portador, mentre que la tercera línia específica del pacient no presenta canvis en el corrent. D'altra banda, tot i que la mutació va provocar una pèrdua de funció del canal de sodi en cèl·lules tSA201 transfectades, aquesta reducció del corrent no va ser tan gran com l'observada en els iPS-CM específics del pacient. Aquesta troballa dona suport a la nostra hipòtesi que l'expressió fenotípica de les mutacions al canal de sodi associades a la síndrome dels Brugada està determinada o bé modulada pel tipus cel·lular i el fons genètic específic de cada individu.

Aquesta troballa és important per entendre la penetrància incompleta i l'expressivitat variable que habitualment s'associa a les ICA, ja que dos individus amb la mateixa mutació podrien presentar diferents fenotips cel·lulars depenent d'altres variacions que puguin portar als gens específics del cor.

Amb aquesta mateixa idea vam estudiar una altra mutació, localitzada al gen SCN1B. Aquest gen codifica per a dues isoformes de proteïnes reguladores del canal de sodi cardíac, les subunitats $\beta 1$ i $\beta 1b$. Aquesta mutació es va identificar en un nen que presentava al mateix temps signes de malaltia del neurodesenvolupament i disfunció cardíaca. La mutació 308 A > T en SCN1B provoca un canvi d'aminoàcid, p.D103V, tant a la subunitat $\beta 1$ com a la $\beta 1b$. Aquestes subunitats regulen canals de sodi cardíacs i neuronals. Per això, i atès que el pacient presenta símptomes neurològics i cardíacs, vam estudiar els efectes de les subunitats $\beta 1$ i $\beta 1b$ mutades sobre el corrent de sodi de cèl·lules tSA201 que expressaven el canal neuronal ($Na_v1.1$) o cardíac ($Na_v1.5$). En aquest cas, no vam poder obtenir mostres de pell del pacient, però vam observar en el nostre model de transfecció heteròloga que la mutació produeix una pèrdua de funció en tots dos tipus de canal de sodi. La mutació del nen en el gen SCN1B la va heretar del pare. A més, el nen és portador de dues mutacions en el gen POLR1C, una heretada del pare i l'altra de la mare. Ni el pare ni la mare del nen presenten cap tipus de simptomatologia neurològica o cardíaca. En canvi, una germana del pacient, portadora, com el nen, de les tres variants (les dues a POLR1C i la variant a SCN1B) va tenir diagnòstic fetal de bradicàrdia, bloqueig AV postnatal i mort postnatal primerenca per fallada multiorgànica. Els nostres resultats suggereixen que l'expressivitat fenotípica de la mutació a SCN1B depèn de la combinació amb altres variants presents en el genoma del nen i de la seva germana, però no en els pares.

2. Resultats

Els nostres resultats demostren que els efectes de les mutacions al gen SCN5A sobre l'activitat del corrent de sodi en iPS-CM tenen característiques que no són evidents en estudis realitzats en models d'expressió heteròloga. Això implica que el fenotip cel·lular d'una mutació depèn tant de components específics del tipus de cèl·lula com de les variants genètiques (patogèniques o no) específiques de cada individu. Aquest resultat

no havia estat demostrat amb relació a la síndrome dels Brugada i va ser possible de publicar gràcies a l'ajuda de la Fundació La Marató de TV3.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Aquest resultat pot ser de gran utilitat en el diagnòstic genètic de les arrítmies hereditàries relacionades amb mutacions al canal de sodi. En aquest treball no s'han estudiat quins són els components cel·lulars que modifiquen l'expressió fenotípica cel·lular d'una mutació. No obstant això, en un futur la identificació d'aquests components pot servir per predir el grau de patogenicitat individual d'una mutació. El nostre treball demostra la necessitat i la utilitat de cercar aquests factors modificadors.

4. Bibliografia científica generada

Publicacions en revistes científiques indexades

Selga E, Sendfeld F, Martinez-Moreno R, Medine CN, Tura-Ceide O, Wilmot 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 revisió.

Presentacions en congressos nacionals i internacionals

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 febrer de 2020.

Presentació 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. Càceres, 15-17 de maig 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. Girona, 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 setembre 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 d'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 (Segòvia), octubre del 2016.