

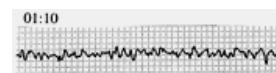
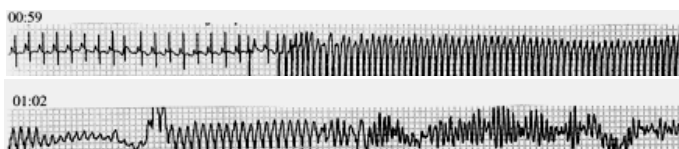


Investigación Traslacional de Arritmias Cardíacas secundarias a Canalopatías

Juan Tamargo
Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina
Universidad Complutense, Madrid

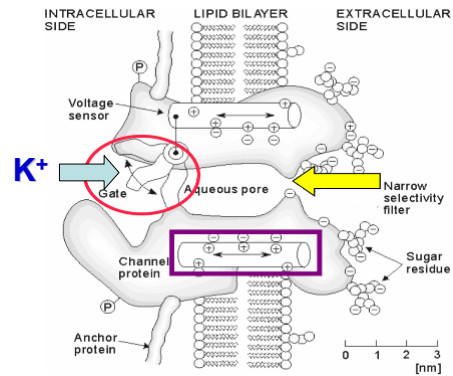
De la muerte súbita cardíaca a las canalopatías

1. Es aquella muerte natural que va precedida de la pérdida brusca de conciencia en la hora que sigue al inicio de los síntomas
 - España – 9-12.8% de las muertes (225.924 en 2015)
2. Taquiarritmias ventriculares (80-95%) o bradiarritmias (15%)
 - 80-95% se asocian a cardiopatía isquémica o insuf. Cardíaca
 - 10-15% se asocian a cardiomiopatía
3. 1-3% aparece en jóvenes (< 30 años) con corazón “normal”
 - Mutaciones en los genes que codifican las proteínas que forman los canales iónicos y/o regulan su actividad (*canalopatías*)
 - Alteran las propiedades eléctricas cardíacas - *Síndromes arritmogénicos primarios*

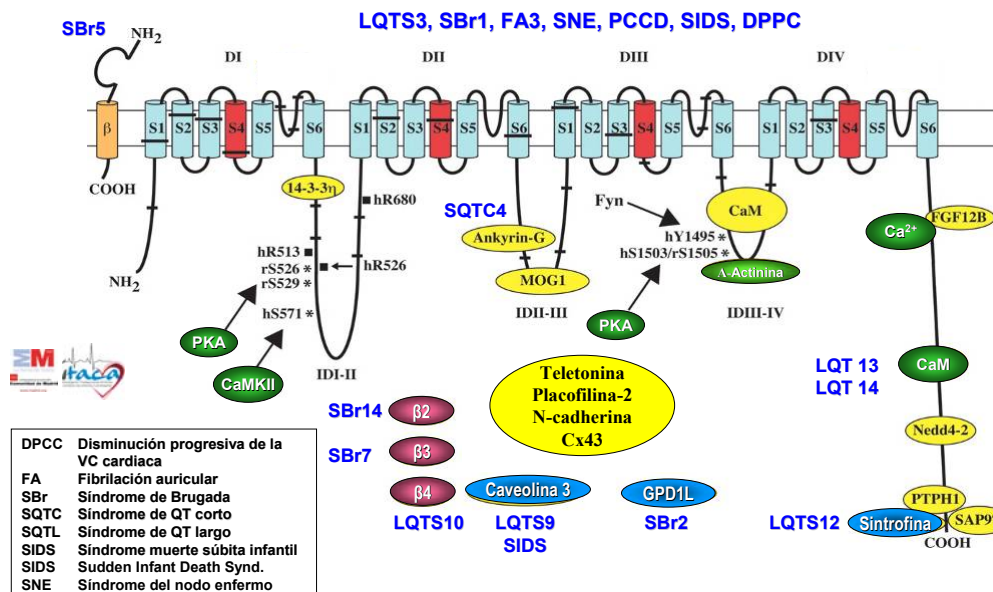


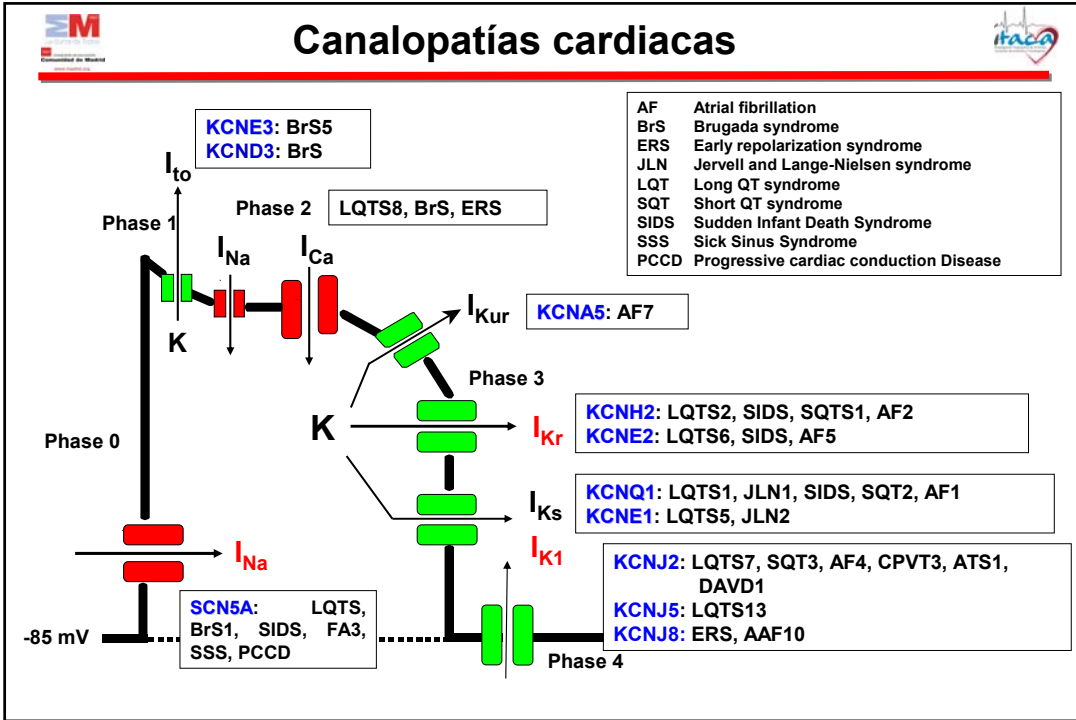
La compleja estructura de un canal iónico

- * Ensamblaje de varias proteínas (*subunidades*)
- * Forman “*poros hidrofílicos*” que permiten la difusión de iones a través de la membrana a favor de su gradiente electroquímico (10^8 vs 10^3 ions/s)
- * *Filtro de selectividad* (Na^+ , Ca^{2+} , K^+)
- * Pueden abrirse-cerrarse (*gating*) en respuesta a cambios de voltaje (potencial de membrana), ligandos (neurotransmisores/moduladores) y fuerzas físicas (presión, estiramiento)
- * Mucho más complejo - *Canalosome*

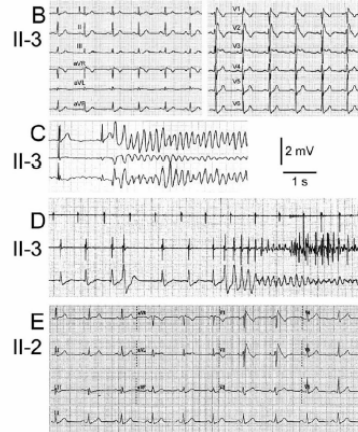
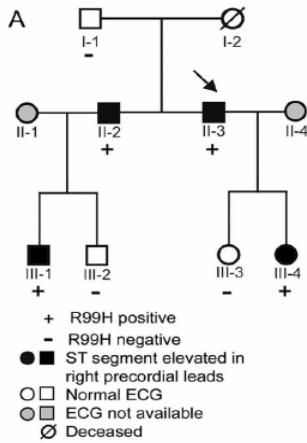


Complejo protéico del canal de sodio (Nav1.5 + SCN1B)



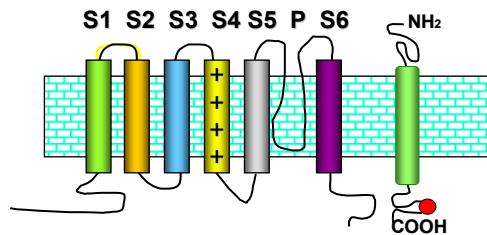


- 105 probandos con SBr
- *SCN5A*, *KCNQ1*, *KCNH2*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNE3*, *KCNE4*, *KCNE5*, *CACNA1C*, *CACNB2b*, *GPDH-1*, *KCND3*, *KCHIP2* and *SCN1B*



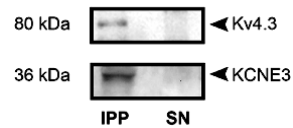
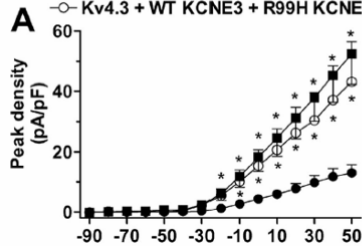
Delpón et al. *Circ Arrhythmia Electrophysiol.* 2008;1:209-218

Mutaciones en el gen KCNE3 producen Sínd. de Brugada



- *KCNE3* (*MiRP2*) R99H + *KCNE3* aumenta marcadamente la I_{to}
- En el miocardio humano *Kv4.3* y *KCNE3* (*MiRP2*) coimmunoprecipitaban
- **NOVEDAD:** primer canal de K^+ y en la subunidad β (SBr6)

- *Kv4.3* + WT *KCNE3* (n=10)
- *Kv4.3* + R99H *KCNE3* (n=7)
- *Kv4.3* + WT *KCNE3* + R99H *KCNE3* (n=8)

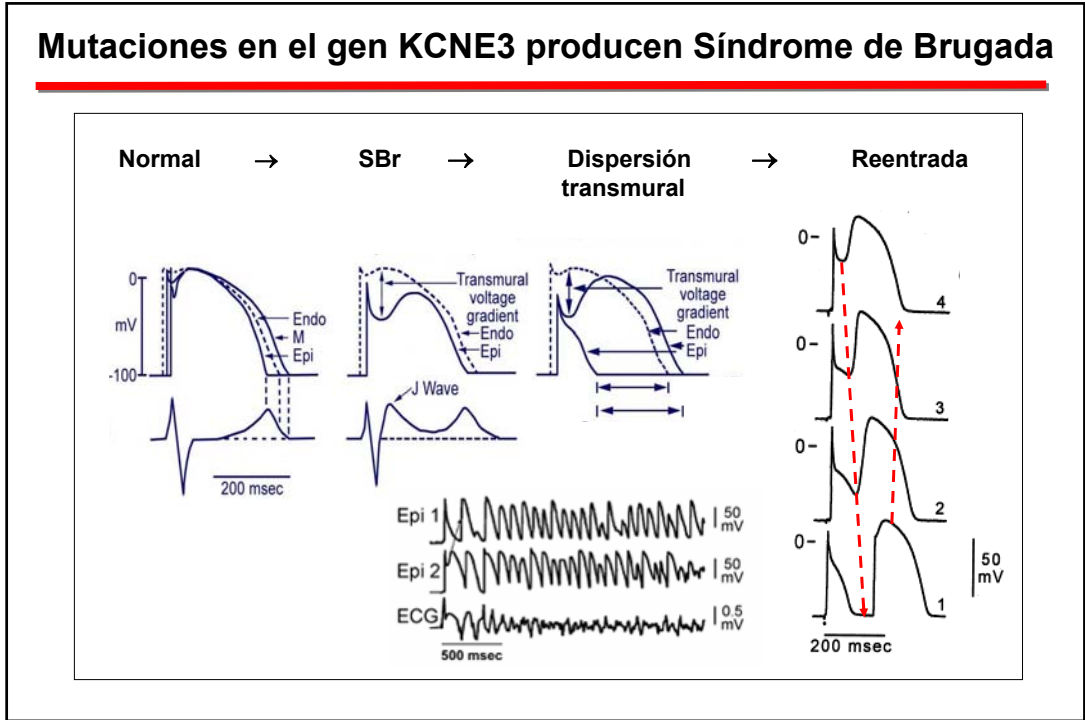


Genetic basis for the Brugada syndrome

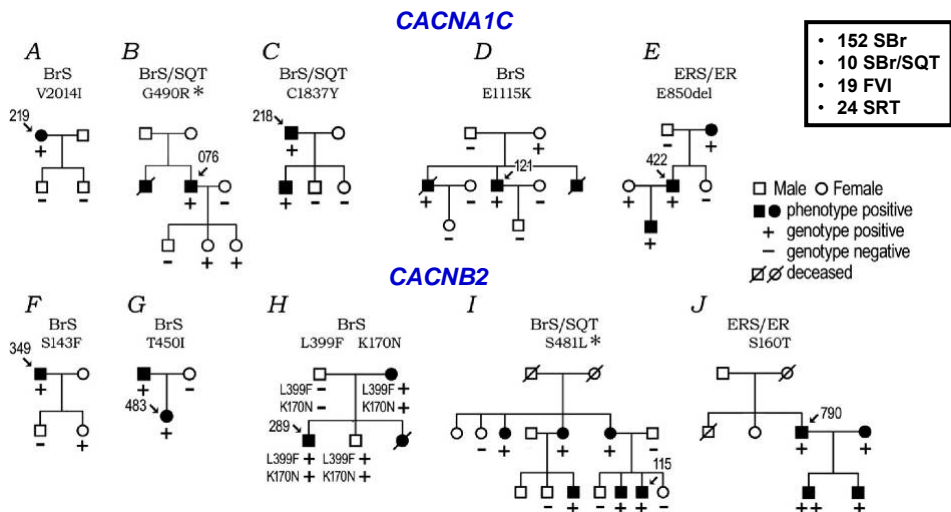
Study	Type	Locus	Ion channel	Gene	Protein	Incidence, %
Chan et al. [8]	BrS1	3p21	I_{Na}	<i>SCN5A</i>	$Na_v1.5$	15'
London et al. [14]	BrS2	3p24	I_{Na}	<i>GPD1L</i>	—	Rare
Antzelevitch et al. [17]	BrS3	12p13.3	I_{Ca}	<i>CACNA1C</i>	$Ca_v1.2$	6.6'
Antzelevitch et al. [17]	BrS4	10p12.33	I_{Ca}	<i>CACNB2b</i>	$Ca_v\beta_{2b}$	4.8'
Watanabe et al. [9]	BrS5	19q13.1	I_{Na}	<i>SCN1B</i>	$Na_v\beta_1$	1.10%
Delpón et al. [90]	BrS6	11q13-q14	I_{to}	<i>KCNE3</i>	<i>MiRP2</i>	Rare

Delpón et al. *Circ Arrhythmia Electrophysiol.* 2008;1:209-218

Mutaciones en el gen KCNE3 producen Síndrome de Brugada



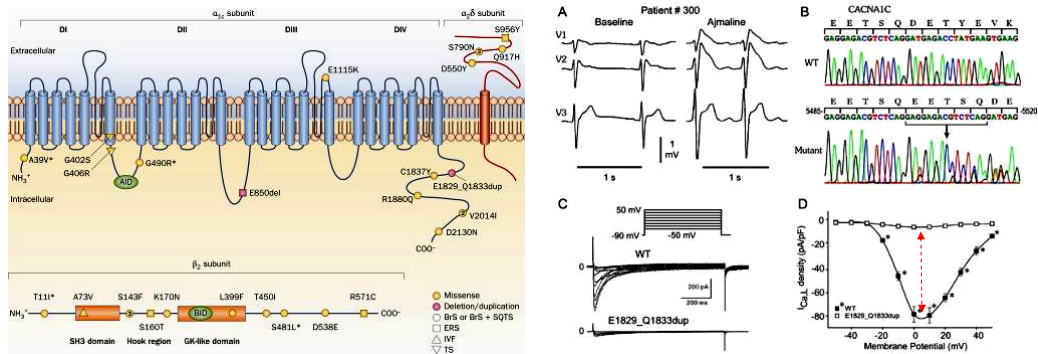
Árbol de las familias con mutaciones en el canal de Ca²⁺ tipo-L



BrS = síndrome de Brugada; BrS/SQT = SBBr con QT corto; ER = síndrome de repolarización temprana. IVF = FV idiopática. + = heterocigoto. ++ = homocigoto.

Burashnikov et al. Heart Rhythm 2010;7:1872-82

Mutaciones del canal de Ca²⁺ tipo-L en pacientes con síndromes “con onda J” (SBr y SRT) y muerte súbita cardiaca



CACNA1C

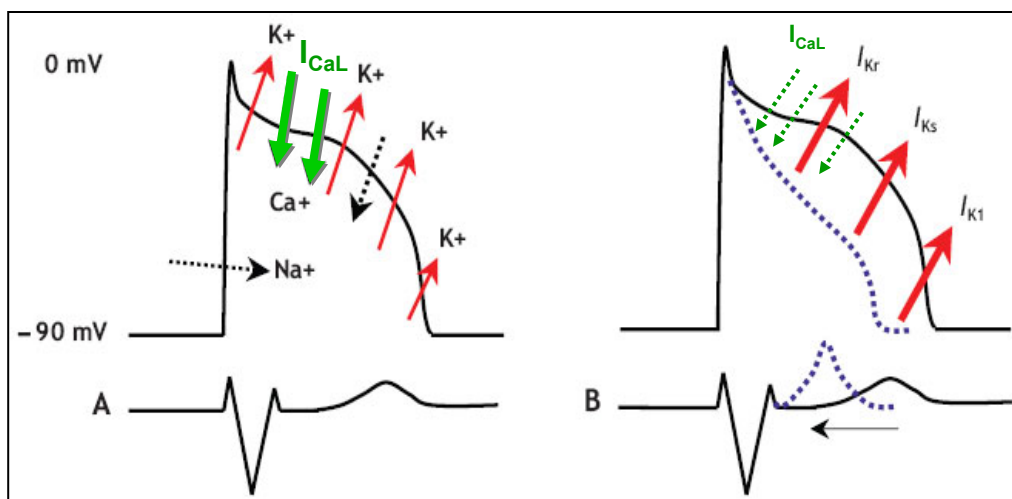
La duplicación de 5 aa en Cav1.2 y la mutación CACNA1C p.V2014I producen una pérdida de función y un síndrome de Brugada (asociado a un QTc corto, QTc = 346 ms)



Burashnikov et al. Heart Rhythm 2010;7:1872-82

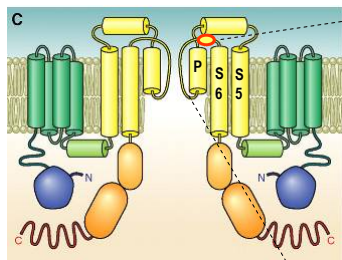


Mutaciones del canal de Ca²⁺ tipo-L en pacientes con síndromes “con onda J” (SBr4 y SRT3) y muerte súbita cardiaca





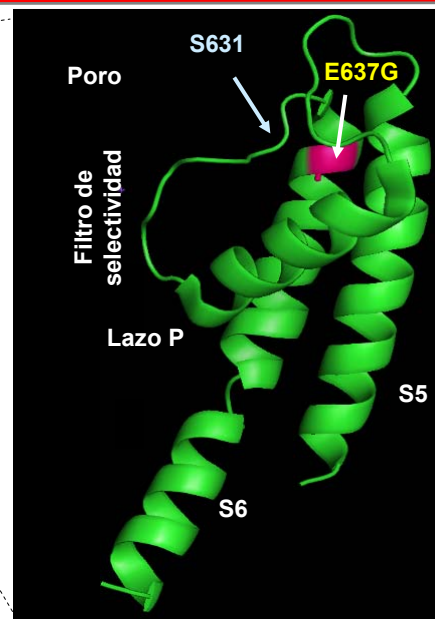
Modelado molecular de S5 y S6 del canal Kv11.1 (HERG)



Channel	S6 domain sequence
hKv1.5	492 GGKIVGSLCAIAGVLT I ALP V RVIVSNF 519
hKv2.1	389 LGKIVGGLCCIAGVL V IALP I PIIVNNF 416
hKv3.1	412 SGMVLVGCALAGVLT I AMP V PVIVNNF 439
hKv4.2	382 AGKIFGSICSLSGVL V IALP V PVIVSNF 409
hKCNQ1	229 VGTKTIASCFSVFAIS F IALP A GILGSGF 256
hKv11.1	636 SEKIFSI C VMLIGSLM V AS I FGN V SAII 663

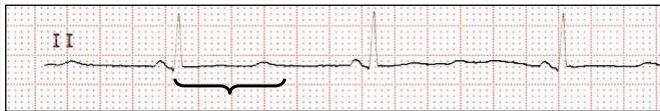
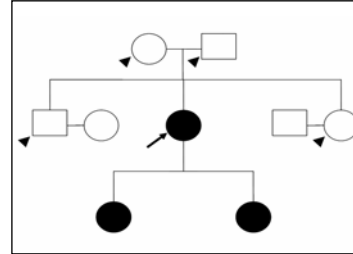
637

G: glycine, E: glutamic acid



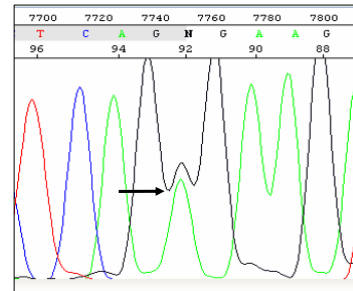
Paciente #2 – Un error frecuente

- Mujer de 49 años diagnosticada de epilepsia a los 11 años. Responde mal a antiepilépticos
- Síncopes en respuesta a estímulos auditivos (!!)
- Hospitalizada en 2010 por un cuadro de FV desencadenado por el despertador
 - Marcada prolongación del QTcB (610 ms).
 - Sus 2 hijas también
- Análisis genético – mutación con pérdida de sentido en el nucleótido 1910 (A→G) del gen KCNH2
 - Sustitución de ácido glutámico por glicina en posición 637 (E637G)

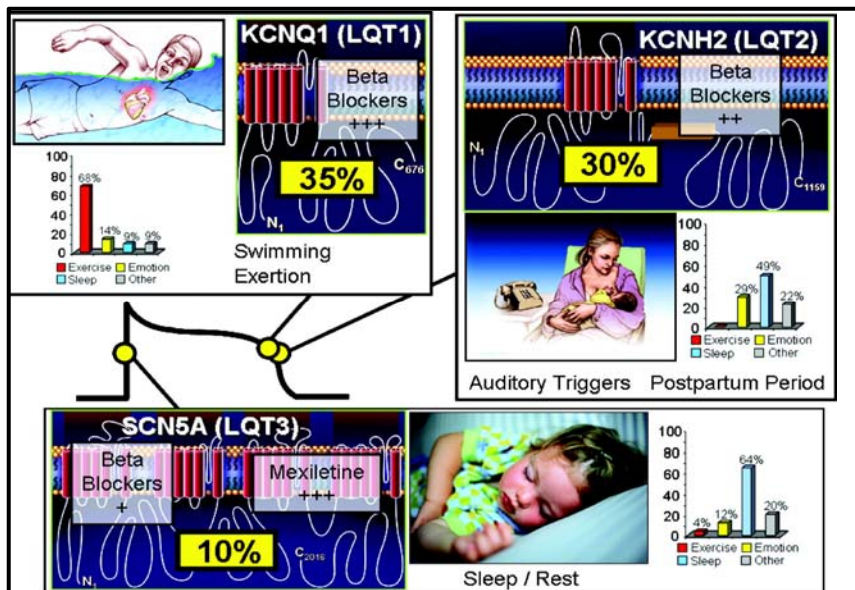


QTc = 610 ms

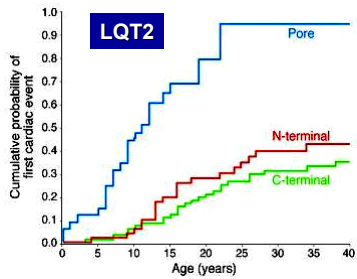
Amorós et al. Heart Rhythm 2011;8:463-470



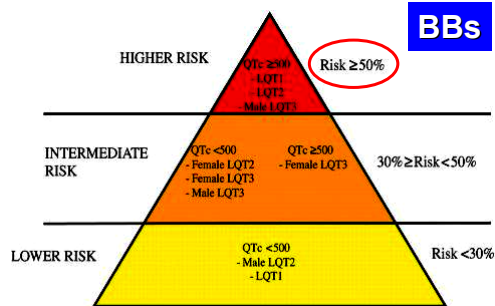
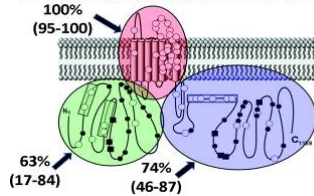
Importancia del factor desencadenante



Distinguishing pathogenic mutations from benign variants



KCNH2 estimated Predictive Values



Predictors of cardiac events	RR	P
QTc > 500 ms (in therapy)	2.01 (1.16-3.51)	0.01
Genetic locus LQT2 vs LQT1	2.81 (1.50-5.27)	0.001
LQT3 vs LQT1	4.0 (2.45-8.03)	<0.001

Moss et al. Circulation 2002; Kapa S et al. Circulation 2009; Cerrone M, Priori SG. Eur Heart J 2011



Investigación Traslacional de Arritmias Cardíacas secundarias a Canalopatías



Programas de actividades de I+D entre grupos de investigación de la Comunidad de Madrid en Biomedicina 2010

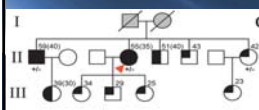
Difícil pero los conseguimos


BOCM
28/12/2011
ORDEN 6680/2011




GRUPO COORDINADOR
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. FACULTAD DE MEDICINA. DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

PARTICIPANTES
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO CLÍNICO SAN CARLOS
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HCSC. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN CARDIOVASCULAR
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GETAFE
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO

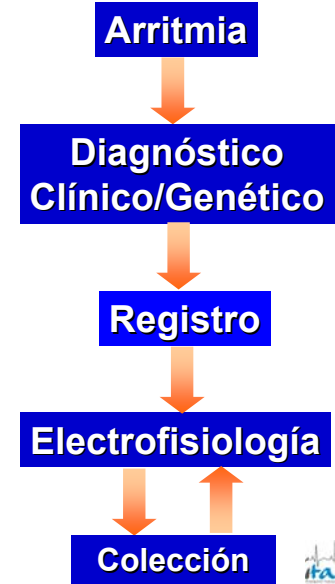




CONSORCIO ITACA - OBJETIVOS





1. **Diagnosticar** a los pacientes (probandos) y sus familiares directos afectados por arritmias cardiacas sospechosas de ser producidas por una canalopatía (SAPs)
2. **Genotipar** a los probandos y sus familiares directos
3. Crear un **registro** de pacientes con SAPs (HPH y H120)
4. Estudiar las **alteraciones funcionales** producidas por las mutaciones
5. Crear una **colección** de ADN
6. Diseñar una web nacional/internacional (<http://www.itaca.edu.es/>) para divulgar información sobre los SAPs




```

graph TD
    A[Arritmia] --> B[Diagnóstico Clínico/Genético]
    B --> C[Registro]
    C --> D[Electrofisiología]
    D --> E[Colección]
    E --> D
    
```


Las cosas hay que hacerlas según la normativa

- Uno de los objetivos de esta propuesta era la creación de una colección de muestras según las directrices establecidas por la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica
- Pasar los Comités Éticos de los 6 hospitales no es tarea fácil a pesar de estar a menor de 10 km de distancia
- Información al paciente sobre el proyecto Itaca
- Acuerdo de depósito de muestras
- Asentimiento informado general para el almacenamiento y uso de muestras en la Colección de Itaca (14-17 años)
- Consentimiento informado general para el almacenamiento y uso de muestras en la Colección de Itaca



www.itaca.edu.es

**INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL DE ARRITMIAS
CARDIACAS SECUNDARIAS A CANALOPATÍAS
ITACA-CM S2010/BMD-2374**



english
Presentación
Participantes
Actividades
Coordinación
Reuniones
Documentos
Difusión
Infraestructuras
Plan de formación

información para pacientes

información para especialistas


Noticias


Enlaces


Ofertas de empleo


CONTACTO


Documentos


Consentimiento informado general para el almacenamiento y uso de muestras en el Biobanco ITACA 

Consentimiento informado general para el almacenamiento y uso de muestras en el Biobanco ITACA (Padre/Tutor) 

Asentimiento informado general para el almacenamiento y uso de muestras en el Biobanco ITACA 

Acuerdo de depósito de muestras 

Hoja de información al paciente 

Protocolo para recogida de muestras 

**User: itaca
Password: ucm12**

Protocolo de recogida de muestras

1. Tenemos establecido un sistema de recogida
2. A su llegada a la UCM la muestra recibirá una nueva codificación: “código de muestra en la colección”
 - La codificación se asigna mediante un programa informático (**Bio-e-bank** software, VSF-BEB0010)
3. La muestra de sangre se alicuota:
 - Se almacena la sangre heparinizada
 - Se extrae el DNA y se guardan las alícuotas de DNA
 - El procesado de la sangre, el almacenamiento de las muestras se hace en un laboratorio que hemos creado con **otra financiación**

Menú principal - Windows Internet Explorer
 https://www.bioebank.com/principal.aspx

Aplicación validada para el manejo de muestras en biobancos acreditados
Alta seguridad, criterios muy estrictos para mantener la seguridad de acceso
Incluye el almacenamiento de datos

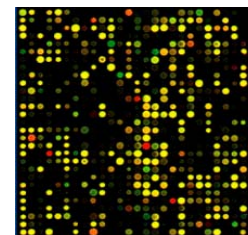
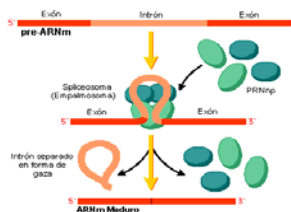
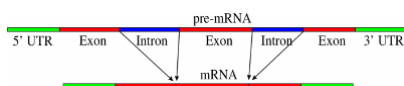

 bio-e-bank

Registro		Procesos		Almacenes		Explotación	
Registro		Procesos		Gestión de espacios		Estadísticas	
Informes Ptes.		Pdtes. de procesar	0	Nivel 1		Búsquedas	
Donaciones totales	2	Pdtes. de almacenar	0	Nivel 2		Solicitudes	
Donaciones provisionales	1	Almacenadas totales	0	Nivel 3		Pet. Provisión	0
Don. con cuestionarios abiertos	2			Cajas		Pet. Custodia	0
Informes pdtes. de procesar	0			Muestras		Pet. Procesado	0
Donaciones pdtes. de cerrar	2			Pend. de desechar		Pet. Pdt. Aprobar	0
Intercambio de muestras				Almacenadas el ...		Pet. Pdt. Envío	0
Poid. de recibir				Posiciones totales	243	Sol. Pdt. Anexos	0
				Posiciones disponibles	243		
				Posiciones ocupadas	0		

Objetivo 3. Programa ITACA

Genotipar a los probandos y sus familiares directos buscando mutaciones en los genes candidatos en función del fenotipo de los pacientes

1. Diseñamos un chip de secuenciación para análisis de 79 genes que desarrolló la empresa Nimgenetics (**CARDIONIM**)
2. Se analizan los exones de dichos genes y parte de algunos intrones
3. Secuenciación de exoma completo. Se analizan exones de unos 1900 genes (datos de 110-112)



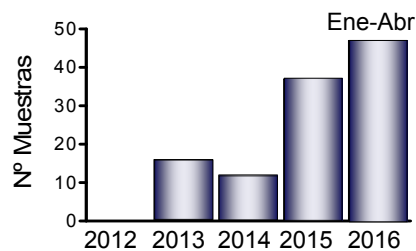
Genes incluidos en CARDIONIM

ABCC9	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 9	KCNH2	potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 2
ACE	angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 1	KCNIP2	Kv channel interacting protein 2
ADRB1	adrenergic, beta-1-, receptor	KCNJ11	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 11
ADRB2	adrenergic, beta-2-, receptor, surface	KCNJ12	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 12
AKAP9	A kinase (PRKA) anchor protein (yotiao) 9	KCNJ2	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2
ANK2	ankyrin 2, neuronal (ankyrin-B)	KCNJ3	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 3
CACNA1C	calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit	KCNJ4	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 4
CACNA1D	calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1D subunit	KCNJ5	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 5
CACNA1G	calcium channel, voltage-dependent, T type, alpha 1G subunit	KCNJ8	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 8
CACNA1H	calcium channel, voltage-dependent, T type, alpha 1H subunit	KCNM3	potassium intermediate/small conductance Ca-activated channel, subf N, member 3
CACNA2D1	calcium channel, voltage-dependent, alpha 2/delta subunit 1	KCNQ1	potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1
CACNB2	calcium channel, voltage-dependent, beta 2 subunit	KCNV1	potassium channel, subfamily V, member 1
CASQ2	calsequestrin 2 (cardiac muscle)	NCS1	neuronal calcium sensor 1
CAV3	caveolin 3	NOS1	nitric oxide synthase 1 (neuronal)
CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	NOS1AP	nitric oxide synthase 1 (neuronal) adaptor protein
CDKN1C	cyclin-dependent kinase inhibitor 1C (p57, Kip2)	PITX2	paired-like homeodomain 2
CHRM2	cholinergic receptor, muscarinic 2	PLN	phospholamban
DLG1	discs, large homolog 1 (Drosophila)	PRKAG2	protein kinase, AMP-activated, gamma 2 non-catalytic subunit
DPP6	dipeptidyl-peptidase 6	PRKA	protein kinase C, alpha
FGF13	fibroblast growth factor 13	PRMT3	protein arginine methyltransferase 3
GATA4	GATA binding protein 4	PRMT5	protein arginine methyltransferase 5
GJA1	gap junction protein, alpha 1, 43kDa	RANGRF	RAN guanine nucleotide release factor
GJA5	gap junction protein, alpha 5, 40kDa	SCN10A	sodium channel, voltage-gated, type X, alpha subunit
GPC5	glypican 5	SCN1B	sodium channel, voltage-gated, type I, beta subunit
GPBD1L	glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like	SCN2B	sodium channel, voltage-gated, type II, beta subunit
HAND1	heart and neural crest derivatives expressed 1	SCN3B	sodium channel, voltage-gated, type III, beta subunit
HCN1	hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated potassium channel 1	SCN4B	sodium channel, voltage-gated, type IV, beta subunit
HCN2	hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated potassium channel 2	SCNSA	sodium channel, voltage-gated, type V, alpha subunit
HCN3	hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated potassium channel 3	SCN8A	sodium channel, voltage gated, type VIII, alpha subunit
HCN4	hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated potassium channel 4	SLMAP	sarcolemma associated protein
IRX5	iroquois homeobox 5	NTA1	syntrophin, alpha 1 (dystrophin-associated protein A1, 59kDa, acidic component)
KCNM4	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 4	STRN	striatin, calmodulin binding protein
KCNM5	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 5	TBX20	T-box 20
KCNM7	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 7	TBX3	T-box 3
KCNB1	potassium voltage-gated channel, Shab-related subfamily, member 1	TBX5	T-box 5
KCNB2	potassium voltage-gated channel, Shab-related subfamily, member 2	TRPM4	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 4
KCNB3	potassium voltage-gated channel, Shal-related subfamily, member 3		
KCNB4	potassium voltage-gated channel, Shal-related subfamily, member 4		
KCNE1	potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 1		
KCNE1L	KCNE1-like		
KCNE2	potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 2		
KCNE3	potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 3		
KCNE4	potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 4		

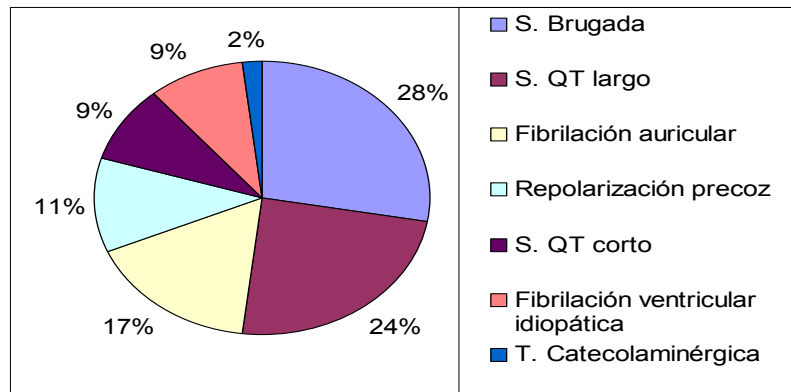
- En azul los genes cuyas variaciones ya se habían relacionado con canalopatías
- En rojo aquellos genes que no se habían relacionado con canalopatías

Muestras Proyecto ÍTACA

- Durante el período Enero 2012-Abril 2016 hemos recibido muestras de sangre de 112 pacientes (>130)
- 76 probandos:
 - 34 muestras ya secuenciadas:
 - 23 muestras analizadas por el panel Cardionim (5 muestras reanalizadas por EXOMA)
 - 11 muestras analizadas por EXOMA
 - 42 muestras para secuenciar próximamente
- 36 muestras de familiares para estudios de co-segregación

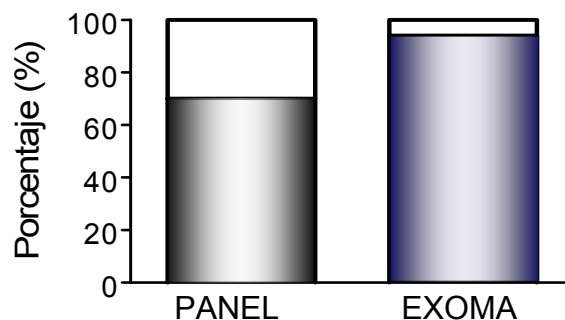


Distribución de muestras por patologías



El $\approx 70\%$ de las muestras pertenecen a pacientes con Síndrome de Brugada, QT largo y Fibrilación Auricular Familiar

Porcentaje de análisis positivos



Análisis "positivo": identificación de variantes que dan lugar a cambios en un aminoácido o en el marco de lectura y que teóricamente pueden producir un efecto deletéreo en la proteína codificada (predicciones bioinf)

- El **70%** de las muestras secuenciadas mediante el CardioNIM
- El **94%** de las muestras secuenciadas mediante EXOMA

Genes asociados a S. Brugada

1. Relación dudosa con el fenotipo:

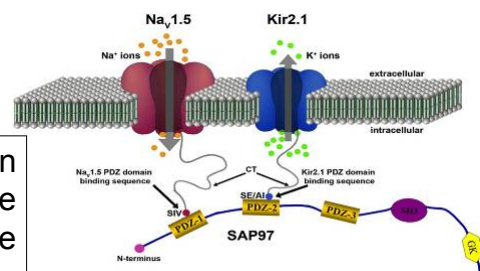
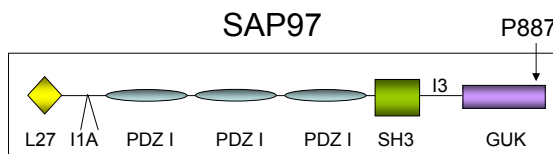
- ECA (Enzima convertidora de Ang II)
- FLNC (Filamina C)

2. Posible relación pero mecanismo desconocido:

- ANK2 (Ankirina-2 ó ankirina-B)
- **DLG1 (SAP97)** → **Estudio funcional en marcha (K-in)**
- KCNN3 (dudoso papel en ventrículo)
- PRRX1 (*Paired related homeobox 1 transcription factor*)
- SYNE2 (*Spectrin Repeat Containing, Nuclear Envelope 2*)
- **TBX5 (T-box transcription factor 5)** → **Estudio funcional en marcha (iPSCs)**

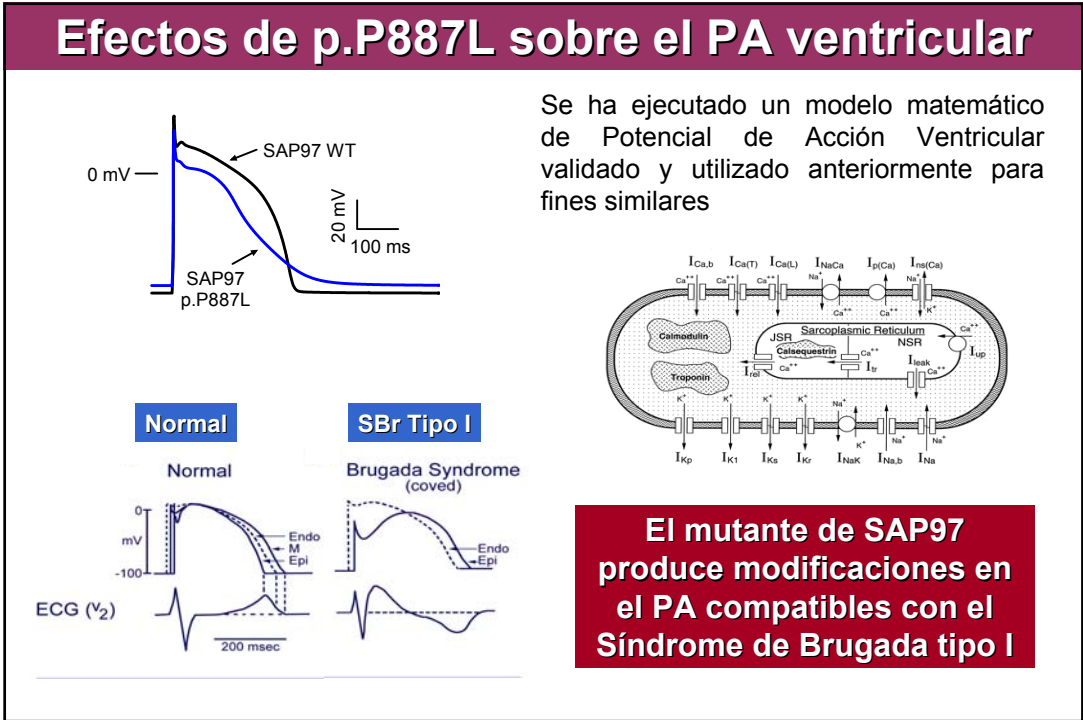
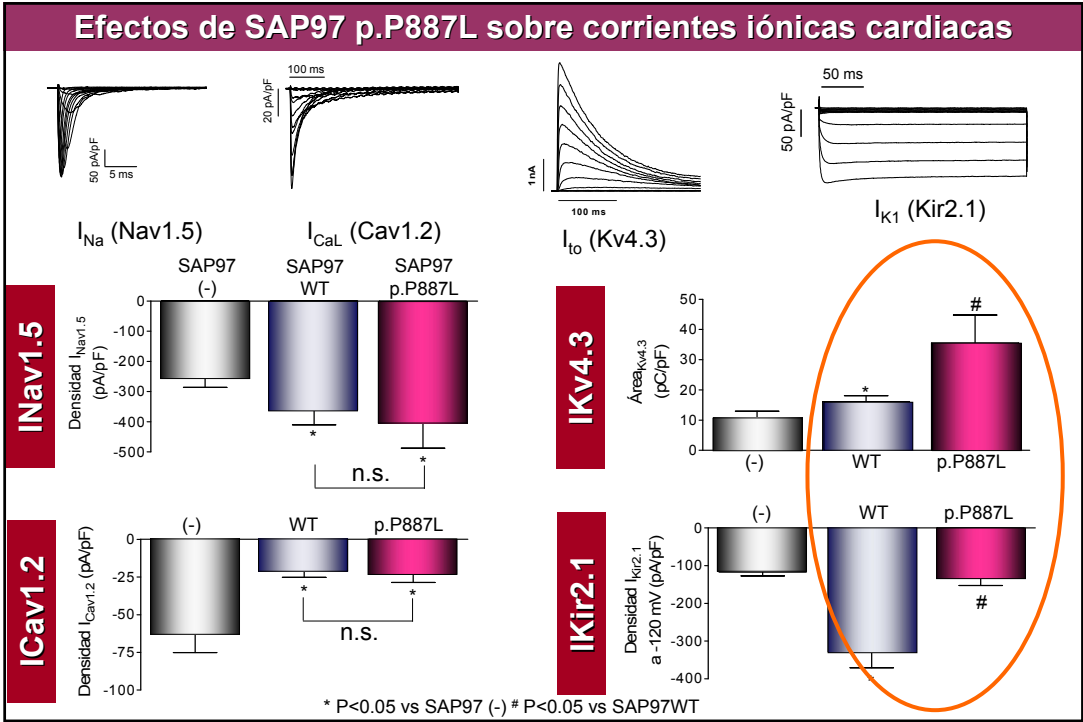
Variantes asociadas a S. Brugada (DLG1)

- Se identificó una variante en DLG1 (SAP97) en 1 paciente de 45 años que había sufrido una muerte súbita y que fue diagnosticado de Síndrome de Brugada tipo 1
- La mutación (p.Pro887Leu) se localiza en el extremo C-terminal
- SAP97 es una proteína de anclaje de la familia MAGUK involucrada en la formación de complejos macromoleculares de señalización y de canalosomas (Nav1.5 y Kir2.1)



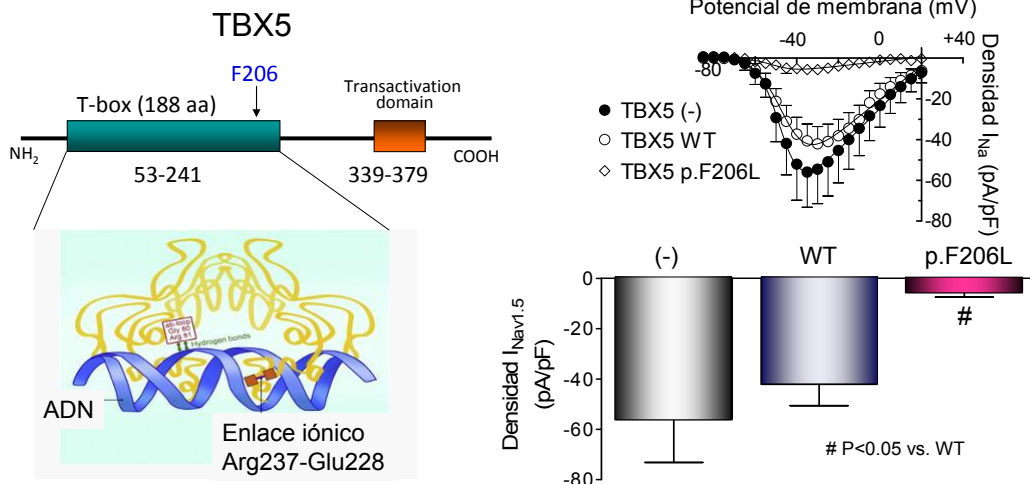
¿Afectará la mutación en SAP97 a algún canal cuya pérdida o ganancia de función dé lugar al Síndrome de Brugada?

Milstein et al. 2012 / Matamoros et al. 2016



Variantes asociadas a S. Brugada (TBX5)

- En este mismo paciente se identificó una variante en TBX5
- La mutación (p.Phe206Leu) se localiza en la región de interacción del factor de transcripción con el ADN (T-box)



Genes asociados a S. QT largo

1. Relación dudosa con el fenotipo:

- FLNB (Filamina B)
- FLNC (Filamina C)

2. Posible relación pero mecanismo desconocido:

- KCNN3 (dudoso papel ventricular)
- TBX5 (*T-box transcription factor 5*)
- **TBX20 (*T-box transcription factor 20*)** → **Estudio funcional finalizado (?)**
- TRPM4 (*Transient Receptor Potential cation channel*)

3. Genes ya descritos:

- ANK2 (Ankirina-2 ó ankirina-B)
- CACNA1C (subunidad α 1c canal de calcio tipo L)
- KCNH2 (canal HERG)

Genes asociados a F. Auricular

1. Genes ya descritos pero mecanismo desconocido:

- ANK2 (Ankirina-2 ó ankirina-B)
- **HCN4** → **Estudio funcional en marcha**
- ZFH3 (*Zinc Finger HomeoboX 3 transcription factor*)

Genes asociados a S. QT Corto

1. Relación dudosa con el fenotipo:

- FLNB (Filamina B)
- PKP3 (Placofilina 3)

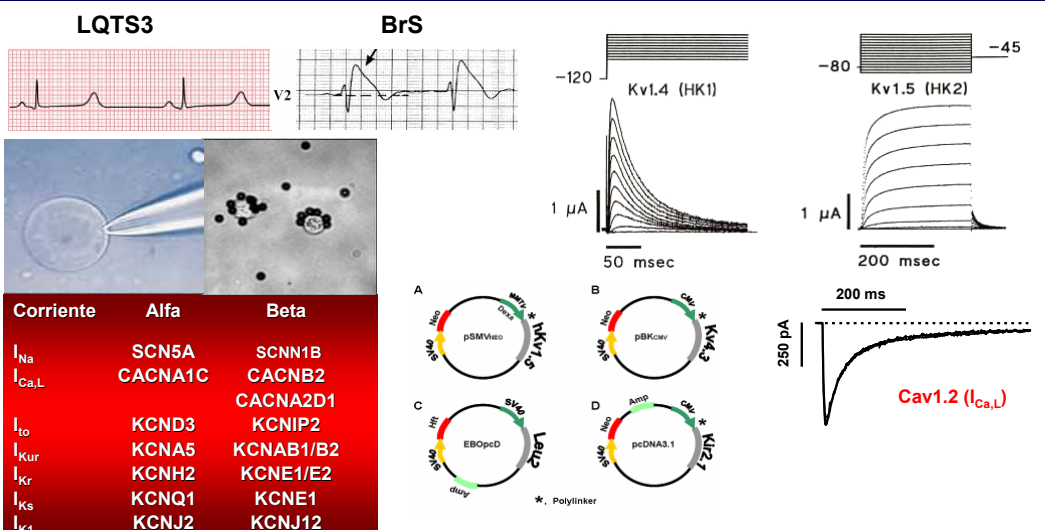
2. Posible relación pero mecanismo desconocido:

- AKAP9 (Yotiao)

3. Genes ya descritos:

- KCNH2 (canal HERG)

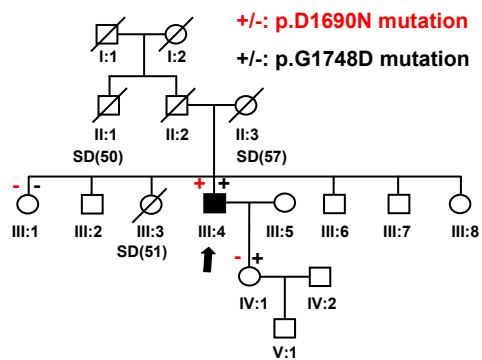
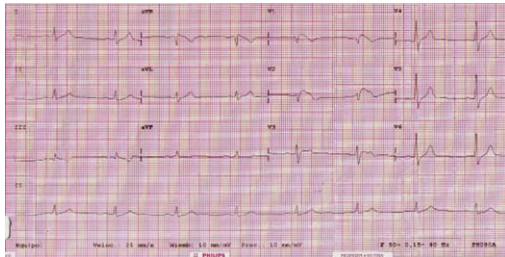
Metodología electrofisiológica



- Sistemas de expresión heterólogos
- Cardiomiocitos de rata infectados con lentivirus
- Miocitos auriculares en cultivo (HL-1)
- Cardiomiocitos humanos derivados de células madre pluripotenciales inducidas

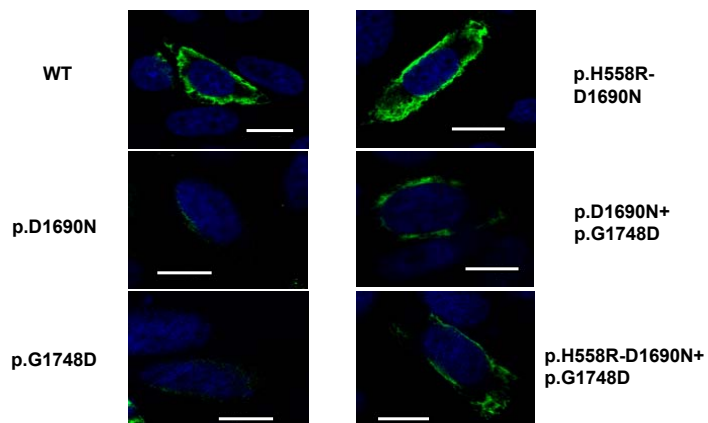
! Qué difícil es dar consejos !

- El **probando** (61 y) diagnosticado en una revisión rutinaria de SBr 1.
- Dos meses más tarde presneto un cuadro sincopal. FC 51 lpm, PR 220 ms, QRS 110 ms con BRD y elevación del ST en V1 y V2
- Padre: en un alelo mutación p.D1690N y polimorfismo p.H558R; en el otro alelo la mutación p.G1748D
- Hija: mutación p.G1748D en un alelo, el otro sano. No SBr (+ flecainida), onda P ancha



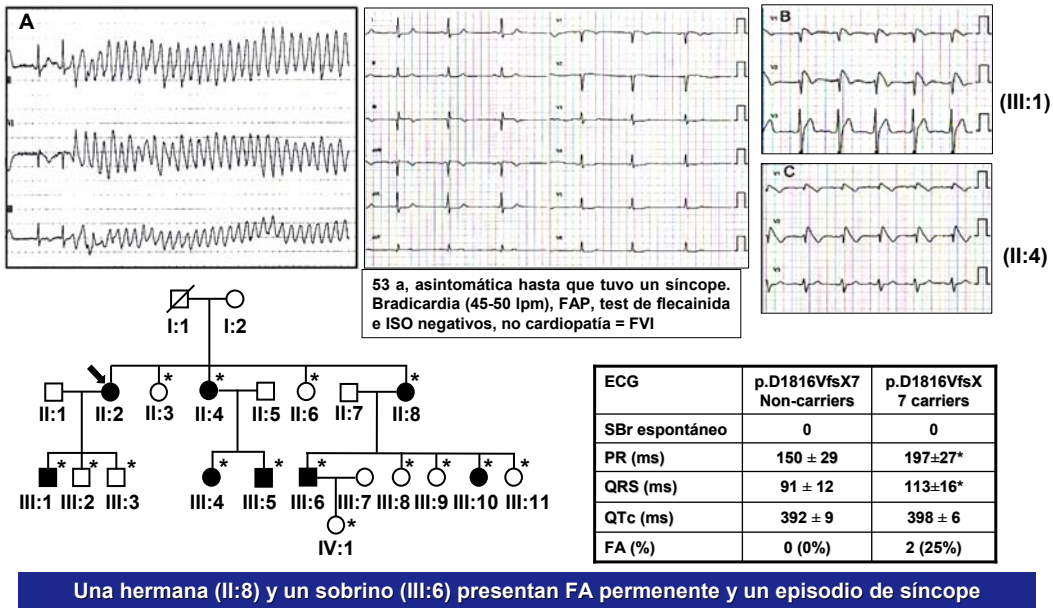
Núñez et al. *Heart Rhythm* 2013;10:264-272

p.D1690N restaura los defectos del tráfico de p.G1748D



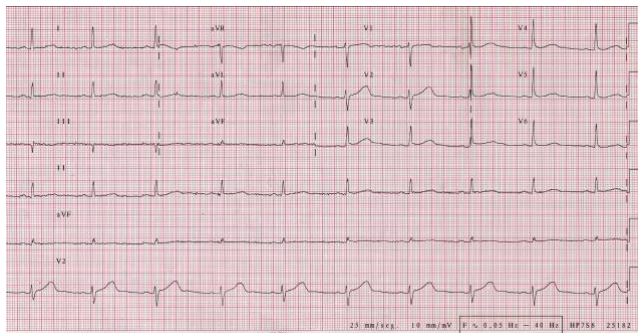
Ours is the first description of the total correction of a completely abnormal channel gating produced by a missense mutation as a consequence of its coexpression with another missense mutation (Núñez et al. *Heart Rhythm* 2013;10:264-272)

Paciente #3 – Problemas de familia



Probando: Varón 41 años. Síncope al levantarse.

I.p.m.	68
PR	168 ms
QRS	88 ms
QTc	480 ms



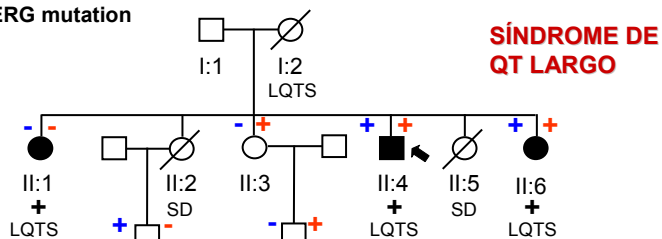
Closed symbols: p.T152HfsX180 hERG mutation

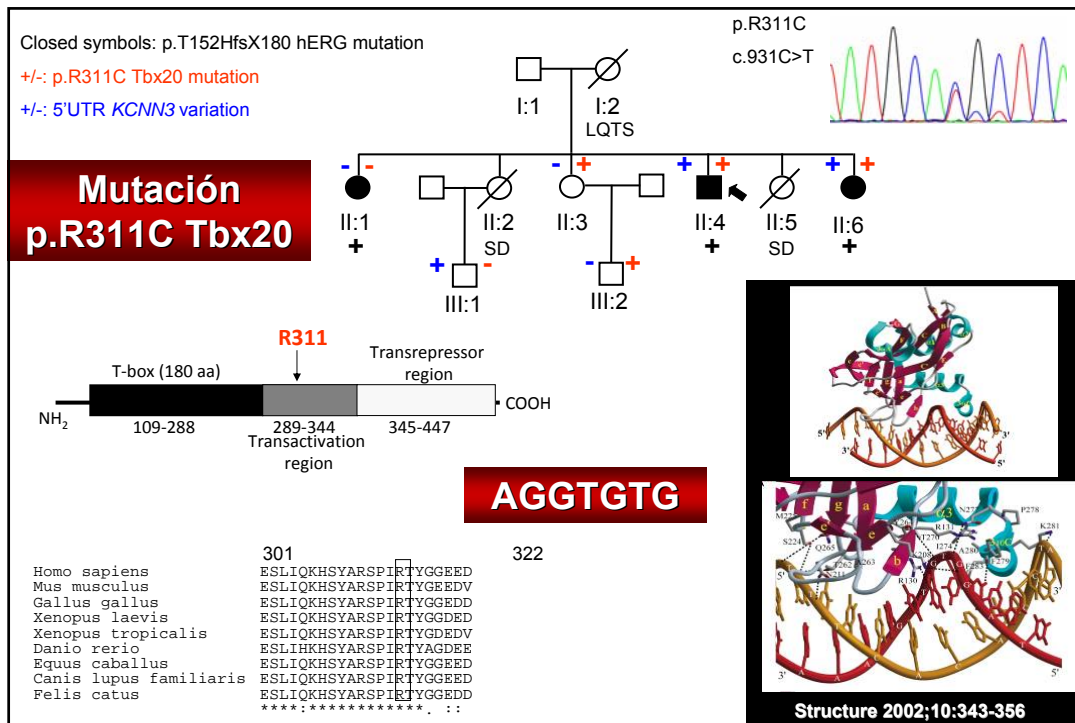
No anotada en:

Exome variant Server
1000 genomes database
Human Gene Mutation

Considerada patogénica en:

SIFT
PolyPhen
PROVEAN





Mutación en *TBX20* (Tbx20)

Regulación del programa genético durante la embriogénesis: *Gata4*, *Gata5*, *Nkx2-5*, y *Tbx5*

- Tbx20 participa en la embriogénesis cardíaca.
- Las mutaciones en *TBX20* producen malformaciones cardíacas: defectos septales, valvulares,...
- Se ha asociado una mutación de Tbx20 a miocardiopatía dilatada

Regulación del programa genético en el adulto: *Mef2a*, *Tead1*, *Esrr*, y *Creb1*

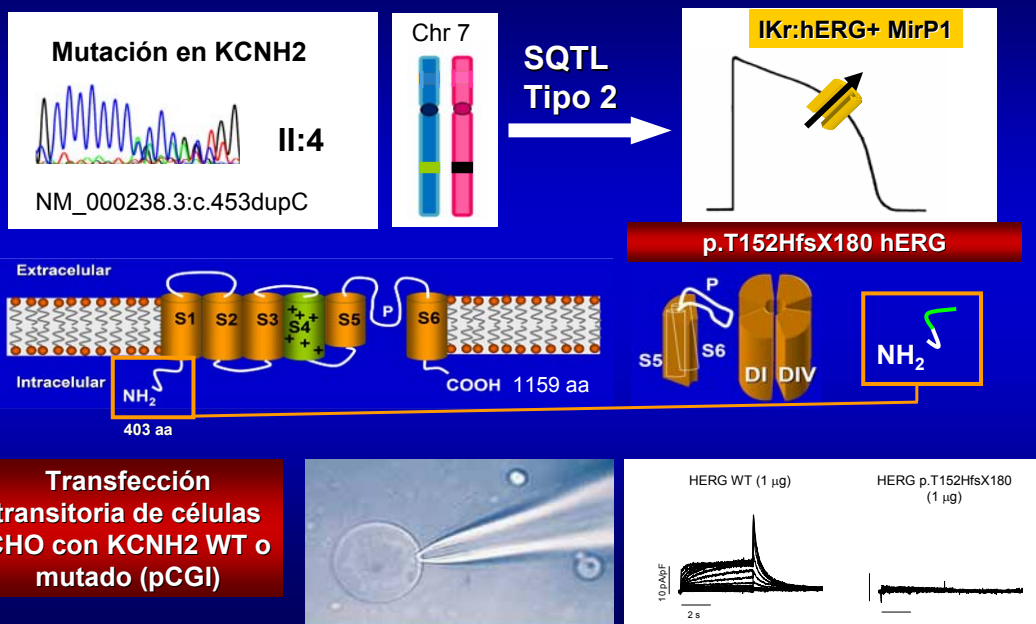
- La ablación de *TBX20* en moscas y ratones adultos produce alteraciones estructurales y arritmias
- Integra señales ambientales regulando la expresión de canales iónicos cardíacos

Kirk EP, et al. Am J Hum Gen 2007;81:280-91.
 Quian L et al. PNAS 2008;105:19833-38.
 Shen T, et al. J Clin Invest. 2011;121:4640-54.

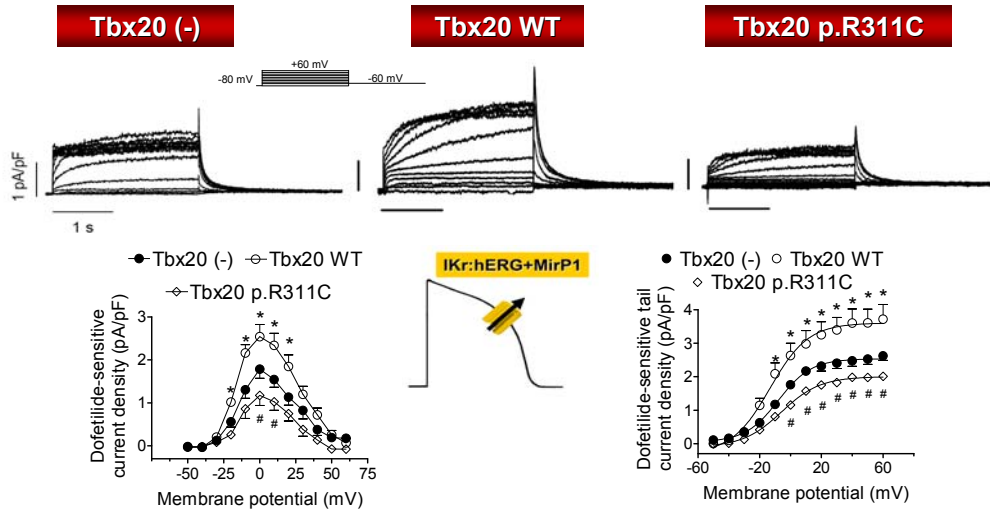
HIPÓTESIS

- Tbx20 en el miocardio ventricular humano adulto podría estar regulando la expresión y/o función de los canales responsables del control de la duración de los potenciales de acción
- Por el contrario, p.R311C Tbx20 no sería capaz de ejercer esta función fisiológica, hasta ahora desconocida

Mutación en *KCNH2* (hERG) y SQT largo TIPO 2

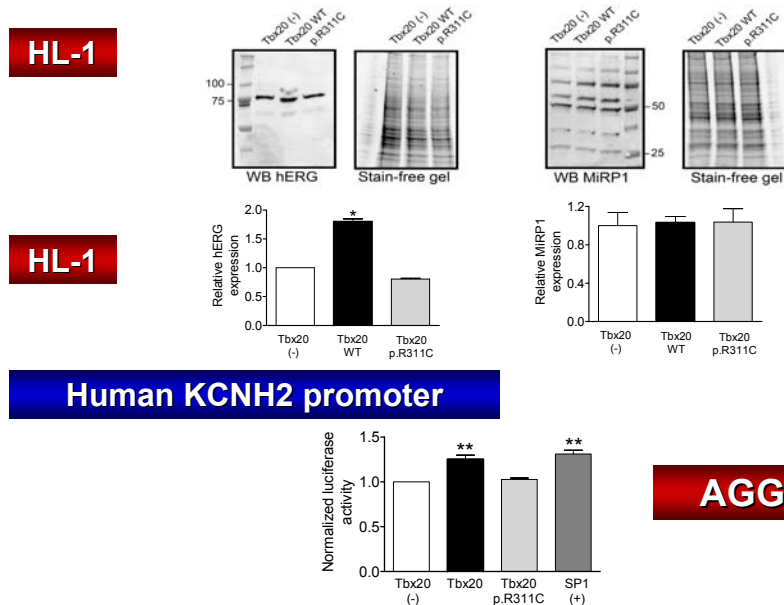


Tbx20 regula la expresión de *KCNH2*



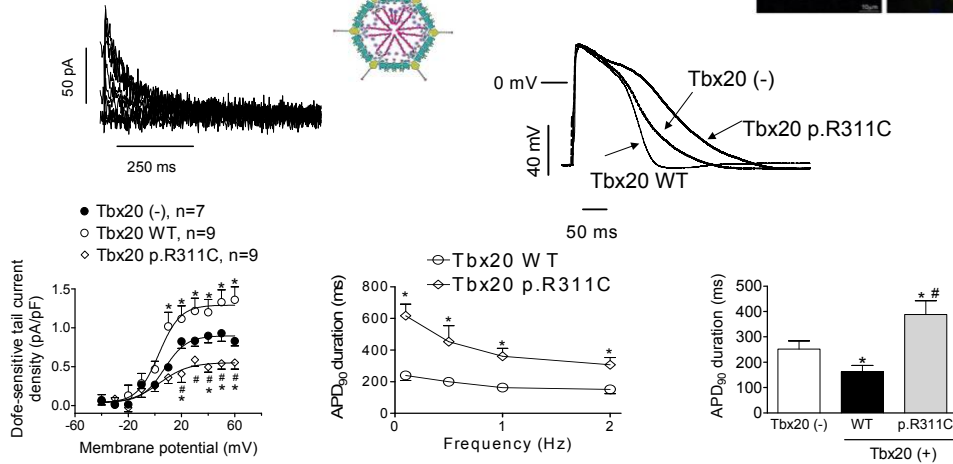
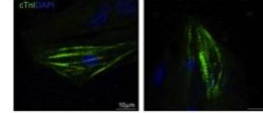
Tbx20 WT aumenta la expresión de canales hERG mientras que p.R311C Tbx20 no lo hace

Tbx20 regula la expresión de *KCNH2*

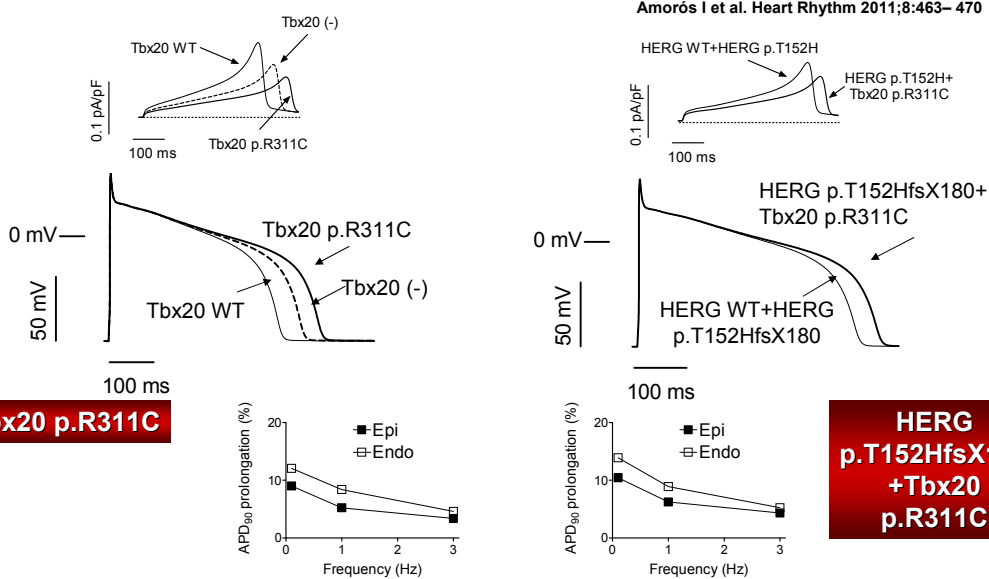


p.R311C Tbx20 prolonga la DPA en miocitos ventriculares derivados de iPSC humanas

Miocitos ventriculares humanos derivados de iPSC infectados con lentivirus que codifican para Tbx20 WT y Tbx20 p.R311C



Predicción de la prolongación de la DPA mediante un modelo matemático (Grandi-Bers)

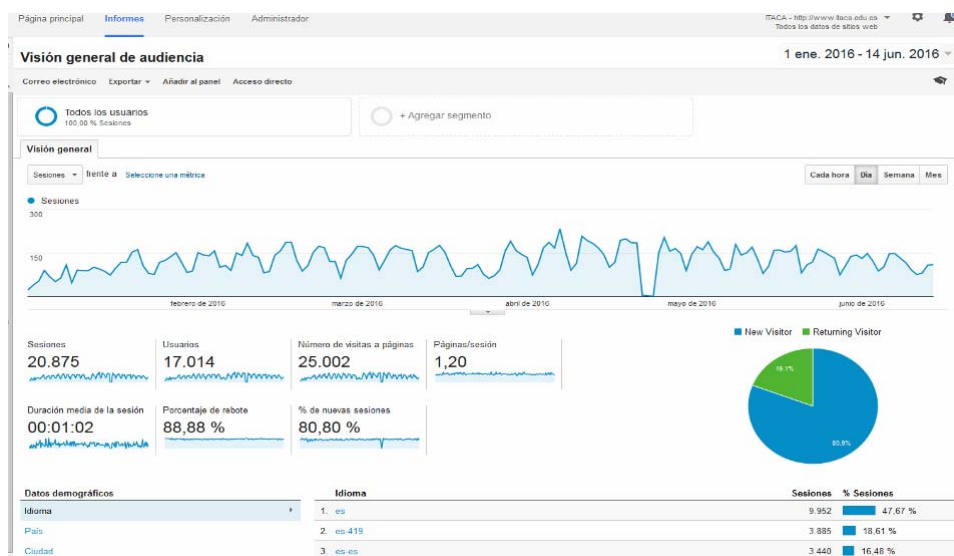


Conclusiones

1. El factor de transcripción Tbx20 controla la expresión del gen *KCNH2* en el miocardio adulto y, por tanto, la densidad de la corriente IKr.
2. La mutación p.R311C de Tbx20 no es capaz de promover la expresión del gen *KCNH2* lo que disminuye la densidad de canales hERG en la membrana y prolonga la DPA en miocitos ventriculares humanos derivados de iPSc.

El gen TBX20 puede considerarse un gen asociado a SQTl (tipo 16?) o bien un “gen modificador” que contribuye a la disminución de la reserva repolarizante miocárdica y con ello al SQTl

Entradas a la web de ITACA en 2016 y.....sin anuncios



Importancia del estudio funcional de las canalopatías

- Identificar los mecanismos implicados en la fisiopatología de los síndromes arritmogénicos primarios (y de la MSC)
- Conocer la relación entre topología y función de las subunidades que forman los canales iónicos (Na⁺, Ca²⁺ y K⁺)
 - Propiedades biofísicas y moleculares del canal selectividad, conductancia y cinética (activación/inactivación/reactivación)
- Correlacionar genotipo y fenotipo
- Estratificar el riesgo del paciente según el locus de la mutación
- Mejorar los tests genéticos disponibles
- Diseñar nuevas estrategias terapéuticas específicas según las consecuencias de la mutación

www.hgmd.cf.ac.uk : 136.956 mutaciones en 5.445 genes. Menos del 2% analizadas funcionalmente



Miembros del equipo y agradecimientos

Dpto. de Farmacología:

- Dr. Juan Tamargo
- Dra. Eva Delpón
- Dr. Ricardo Caballero
- Dra. Irene Amorós
- Marcos Matamoros
- Marta Pérez-Hernández
- Raquel G. Utrilla
- David Tinaquero
- Paloma Nieto
- Silvia Alfayate
- Paloma Vaquero
- Sandra Sacristán
- Lorena Ondo

Servicios de Cardiología

- HLP, HCSC, H120, HPH, HUG,
- H. Virgen de las Nieves, Granada
- H. Juan Canalejo, Coruña
- Antonio López-Farré y cols

Universidad de Michigan

- José Jalife y cols

Masonic Medical Research Laboratory

- Charles Antzelevitch, Alexander Burashnoikov
- ### Academic Medical Center, Amsterdam
- Connie Bezzina

Financiación :

- FIS (PI11/01030)
- CAM (BMD-2374)
- CICYT (SAF2011-30088; SAF2011-30112)
- Red HERACLES (RD06/0009)
- CNIC-13

