Rev Esp Cardiol. 2012;65 Supl 3: 371

Revista Española de Cardiología

6001-476. ESTUDIO FUNCIONAL BÁSICO DE LA MUTACIÓN R420Q DEL GEN DE RYR2, CAUSA DE TAQUICARDIA VENTRICULAR CATECOLAMINÉRGICA POLIMÓRFICA

Diana Domingo Valero, Patricia Neco Adalid, Spyros Zissimopoulos, Elena Fernández Pons, Anthony F. Lai, Ana M. Gómez, Antonio Salvador Sanz y Esther Zorio Grima del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Universidad de Alicante, Edificio Vinalopó (Alicante), Wales Heart Research Institute, Cardiff University School of Medicine, Cardiff, Reino Unido e Inserm, Université Paris-Sud, Francia.

Resumen

Introducción: El gen del receptor de la rianodina (RyR2) es responsable de la taquicardia ventricular catecolaminérgica polimórfica (TVCP) autosómica dominante. La mayoría de mutaciones identificadas en él se concentran en "puntos calientes" en el extremo C-terminal, el domino central y el N-terminal de la proteína. Aunque las manifestaciones fenotípicas son siempre similares, el lugar de la mutación podría determinar la presencia de mecanismos moleculares diferentes subyacentes, pues no todos los estudios funcionales publicados coinciden en comprobar un aumento de función del canal. Recientemente hemos identificado la mutación RyR2 R420Q en una familia con TVCP.

Objetivos: Analizar la función del canal mutado de RyR2 R420Q.

Métodos: Creamos plásmidos de dos tipos todos ellos marcados con proteína verde fluorescente, unos portando la mutación RyR2 R420Q y otros con el gen salvaje. Su expresión heteróloga en una línea celular HEK-293 se analizó mediante microscopía confocal. Tras un proceso de permeabilización se controló la concentración intracelular de calcio. A partir de la fluorescencia emitida se estudió el comportamiento del canal (mutado y salvaje) ante el estímulo de la cafeína 5 mM a diferentes concentraciones conocidas de calcio. Los resultados de fluorescencia se normalizaron para la fluorescencia basal (F/F0), se expresan como media ± SEM y se compararon con la t de Student.

Resultados: El pico de la corriente de calcio intracelular provocada tras cafeína alcanzó F/F0 = 1,85 ± 0,09 en RyR2 salvaje mientras que sólo F/F0 = 1,56 ± 0,05 en RyR2 R420Q (p 0,05), lo que significa un 34% de reducción de la sensibilidad a cafeína. Además, el análisis de la sensibilidad relativa de calcio citosólico no mostró diferencias entre el comportamiento del RyR2 salvaje y del RyR2 R420Q a diferentes concentraciones de calcio, ambos con curvas bifásicas centradas en una concentración similar de calcio (pCa 7-8).

Conclusiones: La disminución de la sensibilidad a cafeína del canal RyR2 R420Q en este estudio celular in vitro sugiere que esta mutación ocasiona una pérdida de función del canal. El hecho de que se hayan reportado comportamientos similares y, especialmente, contrarios apoya la teoría de que tras un mismo fenotipo de TVCP se esconde una verdadera (y aún desconocida) heterogeneidad funcional ocasionada por diferentes mutaciones en RyR2.

PI070831, CP07/00326, PI11/00019, ANR-09-GENO-034, RD06/ 0014/0004.