Rev Esp Cardiol. 2018;71(Supl 1): 573

Revista Española de Cardiología

5027-8. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA PATOLOGÍA DE LOS CORAZONES EN MODELO DE PEZ CEBRA PARA MIOCARDIOPATÍA ARRITMOGÉNICA PORTADORES DE MUTACIONES EN PKP2 Y DSP CREADAS POR CRISPR/CAS9

Rubén Corral San Miguel[1], María Sabater[1], Inmaculada Pérez[1], Cristina Gil[1], Manuel Bernabé[2], María Luisa Cayuela[2] y Juan Ramón Gimeno-Blanes[1], del [1]IMIB, Grupo de Cardiología Clínica y Experimental, El Palmar (Murcia) y [2]Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Grupo de Telomeras, Envejecimiento y Cáncer, El Palmar (Murcia).

Resumen

Introducción y objetivos: La miocardiopatía arritmogénica (ACM) es una enfermedad cardiaca hereditaria caracterizada por la sustitución fibrovascular del miocardio. Mutaciones en genes desmosómicos aparecen en un 60% de los casos. La ACM es causa de muerte súbita en jóvenes de todo el mundo. Los genes desmosómicos Plakophilin-2 (PKP2) y Desmoplakin (DSP) están asociados a las formas derecha e izquierda de ACM, respectivamente. En este trabajo, se seleccionaron 2 variantes humanas sin sentido identificadas en pacientes de nuestra región (sudeste de España) para obtener el modelo animal en pez cebra (PKP2 p.R79* y DSP p.Q447*). DSP p.Q447* es una mutación fundadora, asociada a la forma izquierda de ACM con alta penetrancia.

Métodos: El modelo animal se obtuvo en el laboratorio de pez cebra del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria. Los modelos se han basado en la técnica CRISPR/Cas9. Se identificaron regiones homólogas en el exón 3 de PKP2 y en el exón 10 de DSP. Las guías para CISPR/Cas9 fueron diseñadas mediante aplicaciones web (http://chopchop.cbu.uib.no/). Se procedió a la microinyección de las guías de ARN individuales en huevos de una célula, junto a la proteína Cas9. Para seleccionar los portadores, se diseñaron primers específicos para las regiones adyacentes a la diana de corte de Cas9. Se genotipó un conjunto de 5 larvas F0 (generación sometida a microinyección) para verificar si se producía el corte. Los F0 portadores (> 60%) se cruzaron con peces de WT. En edad adulta, los peces portadores (F1 > 10%) se cruzaron para obtener la generación F2. Finalmente, se obtuvo la generación F2 que porta las mutaciones PKP2 p.S133fs* y DSP p.T449fs*, que crean un codón de stop prematuro para cada modelo.

Resultados: Hemos analizado diferentes secciones del corazón, y hemos podido observar diferencias histológicas del tejido cardiaco entre portadores y no portadores. El tejido cardiaco menos compactado de los corazones afectados corresponde a la interrupción de las uniones celulares que parece conducir a la separación de los cardiomiocitos. La alteración de las uniones celulares se ve más claramente en individuos afectados por el gen DSP.

Conclusiones: Obtención de modelo animal para AMC, homólogos a 2 variantes humanas sin sentido (identificadas en el sudeste de España), PKP2 p.R79* y DSP p.Q447*. Observación de diferencias en tejido cardiaco entre portadores y no portadores.