

Evaluación electrofisiológica e inmunohistológica de canales SK en ventrículo humano: expresión funcional en patología valvular

Alba Pérez-Martínez¹, Esther Pueyo^{1,2}, Aida Oliván-Viguera^{1,2}

¹ Biomedical Signal Interpretation & Computational Simulation (BSICoS)

Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)

Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.

Tel. +34-976762707, e-mail: perezma@unizar.es

²Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER)

Resumen

Se ha evaluado la presencia y funcionalidad de los canales SK en muestras de tejido ventricular procedentes de pacientes con patología valvular y en muestras de control. Se ha demostrado que los canales SK están presentes en todos los pacientes, pero únicamente pueden ser activados en los pacientes con patología valvular.

Introducción

Los canales SK son una familia de canales de potasio activados por calcio. Esta familia está compuesta por 3 isoformas, cada una de las cuales presenta una distinta sensibilidad a la apamina, un bloqueador específico de estos canales. Los canales SK son el punto de unión entre el manejo del calcio intracelular y el potencial de acción cardíaco (AP), ya que se activan durante la fase 2 del AP con la entrada de calcio al interior celular¹.

Inicialmente se describió que los canales SK únicamente estaban expresados en las aurículas y que no tenían una expresión funcional en los ventrículos. Por esta razón fueron inicialmente propuestos como una nueva diana terapéutica para tratar las arritmias auriculares. Más adelante, sin embargo, se ha descrito su presencia en ventrículo en ciertas patologías como la insuficiencia cardíaca o la cardiopatía isquémica. Actualmente se piensa que estos canales pueden expresarse en ciertas patologías como un mecanismo que contrarreste el alargamiento patológico de la duración del AP (APD)². Sin embargo, su función en los ventrículos no está completamente descrita y tanto su activación como su inhibición farmacológica se han postulado como potencialmente arritmogénicas².

Materiales y métodos

Se obtuvieron biopsias transmurales de ventrículo izquierdo (n=34) y músculos papilares (n=23) de pacientes. 44 muestras procedían de pacientes con remodelado ventricular asociado a patologías valvulares. Como controles sin remodelado se obtuvieron 13 biopsias de una zona sin afectación isquémica de pacientes a los que se les realizó un bypass coronario. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito previo a la cirugía y a la inclusión en el estudio, que cumple con los principios de la declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité local de ética (CEICA, ref.PI17/0023).

Se realizó una tinción inmunohistológica de SK2 y SK3. De una selección de pacientes se obtuvieron cortes de 350µm de tejido ventricular con un vibratomo de alta precisión que fueron teñidos con RH-237 para su evaluación electrofisiológica mediante mapeo óptico³. En estos cortes se midió el APD a distintas frecuencias de estimulación (0.5, 1, 2 y 3 Hz) en condiciones basales y tras la adición de SKA-31 100 µM, un activador selectivo de los canales SK en cortes de miocardio medio (biopsia transmural) y endocardio (músculo papilar).

Para la evaluación de la tinción inmunohistoquímica del SK3 se desarrolló un sistema de puntuación en la que se le asignó un valor 0 (no presente), 1 (indeterminado) o 2 (claramente presente) para identificar la presencia de este canal en las estriaciones y las uniones GAP de los cardiomiocitos. El cálculo del APD se realizó siguiendo un método previamente descrito⁴ consistente en la aplicación de un filtrado espacio-temporal adaptativo Gaussiano seguido de otro paso-alto, un promediado temporal de los AP de cada registro y la eliminación de señales con baja relación señal a ruido. En las gráficas se muestra la mediana y el error estándar de los valores normalizados de APD (APD SKA-31/APD basal). Se utiliza la notación n/N para denotar n láminas de tejido de N muestras. Los efectos de la adición de

SKA-31 se evaluaron mediante el test de Mann-Whitney. Un p-valor <0.05 se tomó como estadísticamente significativo.

Resultados

SK2 está localizado en la membrana de los cardiomiocitos en todos los pacientes evaluados. Los niveles de expresión de SK3 son mayores en el epicardio que en el miocardio medio y en el endocardio y se expresa en las uniones GAP y en las estriaciones a lo largo de las líneas Z de los cardiomiocitos. Como puede verse en la Figura 1, el miocardio sin remodelado presenta el SK3 expresado en los mismos niveles en las uniones GAP y en las estriaciones mientras que el miocardio con remodelado expresa el SK3 en las estriaciones en mayor medida que en las uniones GAP.

En cuanto a la respuesta electrofisiológica ante la activación farmacológica de los canales SK con SKA-31 (Figura 2), se comprobó que el APD de las muestras control (n/N=13/5) no se veía alterado tras la adición del activador mientras que sí se reducía en las muestras de pacientes con remodelado. Los cortes provenientes del endocardio (n/N=48/15) y miocardio medio (n/N=32/9) respondían en igual medida a la activación con SKA-31, con unas reducciones del APD del 14%, 22%, 9% y 3% a frecuencias de estimulación de 0.5, 1, 2 y 3 Hz en las muestras del endocardio (papilas) y del 14%, 11%, 5% y 4% en las muestras del miocardio medio.

Discusión y conclusiones

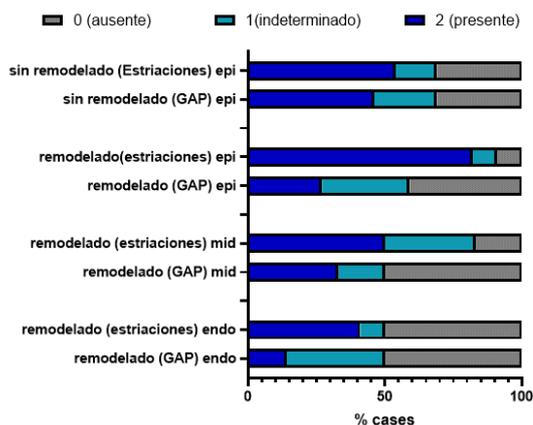


Figura 1. Localización subcelular de los canales SK3 en el epicardio de los pacientes sin remodelado y en el epicardio, miocardio medio y endocardio de pacientes con remodelado.

En este estudio se ha comprobado mediante inmunohistoquímica que los canales SK están expresados en el ventrículo de todos los pacientes analizados, con remodelado y sin él. Además, las dos isoformas analizadas presentan distintas distribuciones intracelulares: el SK2 está presente en la membrana de los cardiomiocitos y el SK3 en las uniones GAP y a lo largo de las líneas Z. La proporción de SK3 expresado en las uniones GAP y las líneas Z varía en función de si el tejido tiene remodelado patológico o no. A nivel electrofisiológico, hemos comprobado que los canales SK sólo tienen una expresión funcional en el tejido remodelado. Estos resultados contribuyen a una mejor comprensión de las patologías valvulares y al desarrollo de mejores herramientas diagnósticas y nuevos abordajes terapéuticos.

REFERENCIAS

- Mahida S. Expanding role of SK channels in cardiac electrophysiology. *Heart Rhythm*. 2014;11(7):1233-1238. doi:10.1016/j.hrthm.2014.03.045
- Zhang XD, Thai PN, Lieu DK, Chiamvimonvat N. Cardiac small-conductance calcium-activated potassium channels in health and disease. *Pflugers Arch*. 2021;473(3):477-489. doi:10.1007/s00424-021-02535-0
- Oliván-Viguera A, Pérez-Zabalza M, García-Mendivil L, et al. Minimally invasive system to reliably characterize ventricular electrophysiology from living donors. *Sci Rep*. 2020;10(1):19941. doi:10.1038/s41598-020-77076-0
- Perez-Zabalza M, Diez E, Rhyms J, et al. Improved Methods for Processing Optical Mapping Signals From Human Left Ventricular Tissues at Baseline and Following Adrenergic Stimulation. In: ; 2020. doi:10.22489/CinC.2020.427

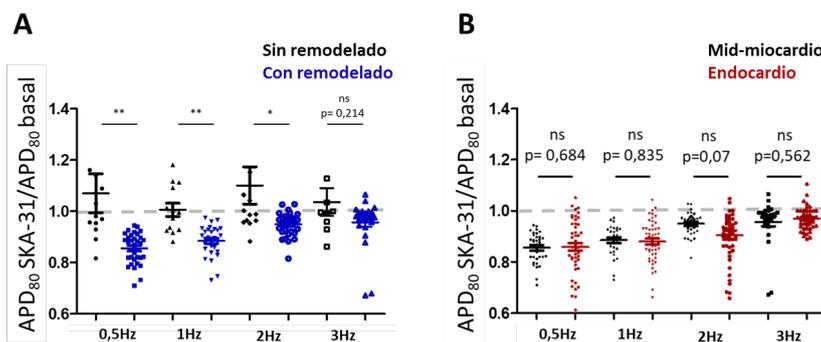


Figura 2. Valor del APD normalizado tras la adición de SKA-31 en A) muestras del miocardio medio de pacientes con y sin remodelado y B) del endocardio de pacientes con remodelado, a distintas frecuencias y en situación basal o tras la adición de SKA-31 (100µM). *p<0,01; ns no significativo.