

Expresión funcional y mecanismos de regulación de los canales SK en pacientes con y sin remodelado cardíaco patológico

Alba Pérez Martínez^{1,2}, Cristina López Andrés¹, Laura García Mendivil¹, 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
² Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER)

Resumen

En biopsias cardíacas hemos observado que los canales SK pueden ser activados en pacientes con remodelado ventricular pero no en pacientes sin remodelado. Además, hemos comprobado que la inhibición de los canales de calcio tipo L y de la calmodulina quinasa II impiden la activación de estos canales.

Introducción

Los canales SK son una familia de canales de potasio activados por calcio. Estos canales representan un vínculo directo entre el manejo del calcio intracelular y el potencial de acción. En condiciones fisiológicas, estos canales están únicamente expresados funcionalmente en la aurícula, pero no en el ventrículo. Es por ello que han sido propuestos como nuevas dianas terapéuticas específicas para el tratamiento de la fibrilación auricular. Un ensayo clínico que evalúa un bloqueador de estos canales está en fase II con resultados prometedores [1]. Sin embargo, hay evidencias de que estos canales sufren una sobreexpresión funcional en los ventrículos en ciertas patologías como la hipertrofia o la insuficiencia cardíaca. Estas patologías se encuentran comúnmente presentes en pacientes con fibrilación auricular [2]. Se desconoce si la sobreexpresión de los canales SK es pro o antiarritmíca. Además, estos canales están estrechamente regulados por varios mecanismos postraduccionales que modifican su localización y actividad. En este trabajo, hemos mapeado ópticamente músculos papilares y biopsias de pacientes con y sin remodelado ventricular asociado a patologías valvulares y hemos evaluado la presencia y función de los canales SK. También hemos estudiado posibles mecanismos de regulación que podrían explicar las diferencias funcionales entre ambos grupos.

Materiales y métodos

Obtención y procesamiento de tejido cardíaco. Se extrajeron músculos papilares y biopsias de pequeño

tamaño mediante agujas *tru-cut* de 14G de pacientes con remodelado ventricular asociado a patologías valvulares. Como tejido control, sin remodelado patológico, se utilizaron biopsias de pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado previo a la cirugía. El estudio cumple con los principios de la declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de ética local (CEICA, ref. PI17/0023). Las biopsias fueron procesadas siguiendo el protocolo descrito en [3]. Brevemente, las biopsias se mantuvieron en solución Tyrodes fría tras la extracción y durante su corte con un vibratomo de alta precisión. Se produjeron láminas ultrafinas de 350 μm de espesor que fueron teñidas con RH-237 y blebistatina.

Mapeo óptico y procesamiento de señal. Se realizaron registros de 20 s de duración del potencial transmembrana a 1 Hz de frecuencia de estimulación en situación basal y tras la adición de diferentes compuestos que modulan directa o indirectamente la actividad de los canales SK. El procesamiento de las señales para la eliminación de ruidos y artefactos y el posterior cálculo de la duración del potencial de acción (APD) se realizó utilizando el software OMAP desarrollado por los autores [4].

Análisis estadístico. Se presentan histogramas de los valores de APD en situación basal y tras la aplicación de fármacos. Se utiliza la notación n/N para denotar n láminas de tejido de N pacientes. Los resultados se indican como mediana y rango intercuartílico. Para evaluar los efectos de los fármacos se utilizó el test de Wilcoxon para muestras pareadas y para comparar entre distintos grupos de pacientes se utilizó el test de Mann-Whitney. Se consideró un p valor $< 0,05$ para establecer la significación estadística.

Resultados

Una dosis de 1 μM de apamina, un bloqueador específico de los canales SK, no produjo una prolongación significativa del APD en las muestras

de tejido de pacientes sin remodelado (+1,8% [-6,4, +7,7], $p = 0,8125$, $n/N = 16/5$), pero sí en las muestras de pacientes con remodelado (+5,1% [+1,9, +7,4], $p = 0,0093$, $n/N = 39/13$) en presencia de una dosis de 100 nM del agonista adrenérgico isoprenalina (Figura 1A). La adición de SKA-31, un activador de los canales SK, a una dosis de 100 μ M tampoco produjo ningún cambio en el APD en los pacientes sin remodelado (-3% [-8,9, +22,2], $p = 0,1563$, $n/N = 20/6$), pero sí un acortamiento en los pacientes con remodelado ventricular (-12,4% [-15,8, -7,8], $p < 0,0001$, $n/N = 120/35$) (Figura 1B). Para indagar más en los mecanismos de acción, en la tabla 1 y en la Figura 2 se muestra el efecto de SKA-31 en pacientes con remodelado ventricular tras la incubación con: nifedipina, un bloqueador de los canales de calcio tipo L; KN-93, un inhibidor de la calmodulina quinasa II; y H-89, un inhibidor de la proteína quinasa A.

Tabla 1: Efecto de 100 μ M de SKA-31 en el APD de pacientes con remodelado ventricular tras la incubación con diversos compuestos.

	n/N	Cambio en APD (p valor)
Nifedipina (10 μ M)	30/10	+0,3% [-1,2, +5,7] ns (0,1309)
KN-93 (2 μ M)	23/7	+2,5% [-3, +5,2] ns (0,375)
H-89 (2 μ M)	27/10	-7% [-5,5, -11,3] ** (0,0039)

Discusión y conclusiones

Existe un interés creciente en el estudio de la contribución de los canales SK en la electrofisiología cardíaca. Aunque tradicionalmente se pensaba que estos canales estaban únicamente expresados en las aurículas, lo que los convertía en una diana terapéutica muy específica, existe cada vez mayor evidencia de que, en condiciones patológicas, estos canales se sobreexpresan en los ventrículos.

En este estudio se ha utilizado el mapeo óptico para comprobar la funcionalidad de los canales SK en láminas ultrafinas de tejido ventricular de pacientes con y sin remodelado cardíaco patológico. Estas láminas de tejido ventricular son un sistema altamente representativo de la electrofisiología cardíaca humana. Hemos comprobado que, en tejido no remodelado, los canales SK no pueden ser inhibidos ni activados. Sin embargo, en el tejido con remodelado ventricular se produce un ligero alargamiento del APD al inhibir los canales con apamina y, a la vez, estos canales pueden ser activados con SKA-31. Estos resultados refuerzan la hipótesis actual de que existe una sobreexpresión de los canales SK en condiciones patológicas.

Se estudiaron posibles mecanismos de regulación de

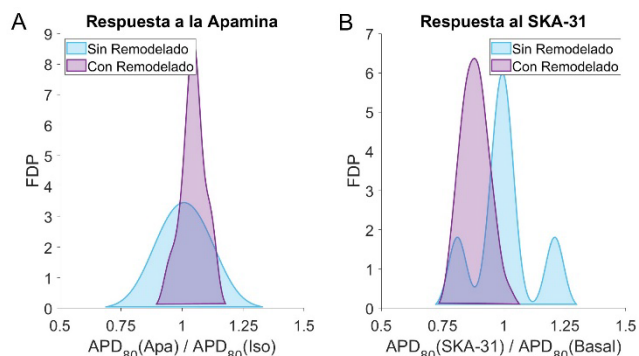


Figura 1. A) Efecto de la apamina en presencia de 100 nM isoprenalina y B) SKA-31 sobre el APD en muestras de pacientes con y sin remodelado ventricular.

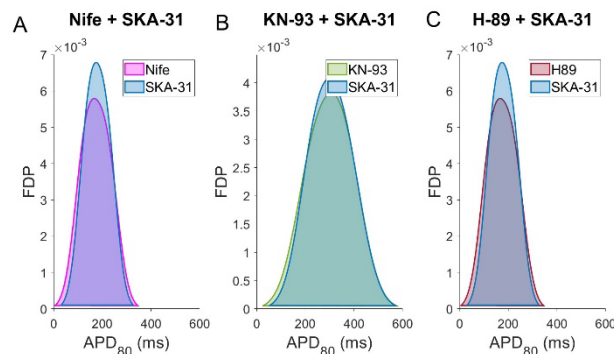


Figura 2. Respuesta a la adición de SKA-31 en biopsias de pacientes con remodelado ventricular tras la incubación con A) nifedipina, B) KN-93 y C) H-89.

estos canales que pudiesen explicar las diferencias funcionales observadas. En primer lugar, con la inhibición de los canales de calcio tipo L comprobamos que el calcio proveniente de estos canales es necesario para la activación de los canales SK. Además, comprobamos que la inhibición de la calmodulina quinasa II, pero no la inhibición de la proteína quinasa A pueden evitar la activación de los canales SK con SKA-31 en tejido remodelado. Estos resultados indican que existe una regulación altamente compleja tanto de la localización como de la actividad de los canales SK en patologías cardíacas, cuya investigación puede contribuir al desarrollo de nuevos tratamientos.

Referencias

- [1]. HOLST AG, et al. Inhibition of the KCa2 potassium channel in atrial fibrillation: a randomized phase 2 trial. *Nat Med.* 2024;30(1):106-111. doi:10.1038/s41591-023-02679-9
- [2]. GU M. et al. Small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels: insights into their roles in cardiovascular disease. *Exp Mol Med.* 2018;50(4):1-7. doi: 10.1038/s12276-018-0043-z
- [3]. OLIVÁN-VIGUERA A. 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
- [4]. PEREZ-ZABALZA M. et al. Improved Methods for Processing Optical Mapping Signals From Human Left Ventricular Tissues at Baseline and Following Adrenergic Stimulation. 2020. doi:10.22489/CinC.2020.

