

XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Avaliação fenotípica, em modelo murino, da cardiomiopatia de depósito de glicogênio do gene PRKAG2

Yzabella Alves Campos Nogueira, Mariana Barreto Martins, Isabella Folhadella Pires, Janaína Barcelos Porto Ferreira, Luciene Paschoal Braga Dias, André Lacerda de Abreu Oliveira, Glauber Monteiro Dias

A cardiomiopatia de depósito de glicogênio é uma patologia genética com herança autossômica dominante que se manifesta por hipertrofia do ventrículo esquerdo (HVE), e pode estar associada à síndrome de Wolff-Parkinson-White (WPW). Esta rara cardiomiopatia é causada por mutações no gene PRKAG2 (7q36) composto por 11 exons que codificam a subunidade regulatória γ_2 da proteína quinase dependente de AMP (AMPK). A mutação em PRKAG2 ocasiona perda na função do complexo AMPK, prejudicando a regulação normal do metabolismo energético nas células do miocárdio, provocando importantes disfunções como o distúrbio do depósito de glicogênio no tecido cardíaco. Além da HVE e da pré-excitação ventricular por via acessória, também podem estar presentes arritmias supraventriculares como flutter e fibrilação atrial, frequentemente acompanhados por incompetência cronotrópica e bloqueio de ramo, suscitando, em alguns casos, implantação prematura de marcapasso. O objetivo do nosso trabalho é estudar, em modelo murino, uma nova mutação *missense* em PRKAG2 (c.1203C>A, p. His401Gln) identificada no Brasil, em família com HVE e eventos de morte súbita. Componentes CRISPR (proteína Cas-9, *single guide* RNA e o DNA doador) desenhados para a inserção da mutação no gene (*knock-in*) foram microinjetados em pró-núcleo de zigotos murinos C57BL/6, transferidos para receptoras da mesma linhagem, e após o nascimento, o DNA dos animais foi sequenciado para confirmar a inserção. Os camundongos geneticamente modificados serão avaliados por meio de eletrocardiograma, ecocardiograma transtorácico, ressonância magnética cardíaca, imunohistoquímica, além de dosagem da atividade AMPK e expressão gênica. Os primeiros experimentos de mutagênese não foram bem sucedidos em inserir a variante genética no gene PRKAG2 ou gerar *knockout* do gene, entretanto novos zigotos foram coletados, microinjetados e transferidos para receptoras. Neste momento, aguardamos o nascimento dos animais para a confirmação da edição gênica. Em razão das repercussões clínicas relevantes nos pacientes com a cardiomiopatia de depósito de glicogênio, a geração de camundongos *knock-in/knockout* para estudo fisiopatológico e molecular da doença é de fundamental importância no contexto da medicina de precisão.

Programa de Pós Graduação em Ciência Animal- CCTA

Eixo temático: Ciências Biológicas

Fomento da bolsa: FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



UIII Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Phenotypic evaluation, in a murine model, of PRKAG2 gene glycogen storage

Yzabella Alves Campos Nogueira, Mariana Barreto Martins, Isabella Folhadella Pires, Janaína Barcelos Porto Ferreira, Luciene Paschoal Braga Dias, André Lacerda de Abreu Oliveira, Glauber Monteiro Dias

Glycogen storage cardiomyopathy is a genetic disease with an autosomal dominant inheritance that manifests as left ventricular hypertrophy (LVH) and may be associated with Wolff-Parkinson-White syndrome (WPW). These rare cardiomyopathy outcomes from mutations in the PRKAG2 gene (7q36), composed of 11 exons that encode the regulatory subunit $\gamma 2$ of the AMP-dependent protein kinase (AMPK). Mutation in PRKAG2 promotes loss in the function of the AMPK complex, impairing the normal regulation of energy metabolism in myocardial cells and causing significant dysfunctions such as disturbance of glycogen deposits in cardiac tissue. In addition to LVH and ventricular preexcitation via an accessory pathway, supraventricular arrhythmias such as flutter and atrial fibrillation may also be present, often accompanied by chronotropic incompetence and bundle branch block, in some cases leading to early pacemaker implantation. In a murine model, our research aims to study a new missense mutation in PRKAG2 (c.1203C>A, p. His401Gln) identified in one Brazilian family with LVH and sudden death events. CRISPR components (Cas-9 protein, single guide RNA and donor DNA) designed for inserting the mutation in the gene (knock-in) were microinjected into the pronucleus of murine zygotes C57BL/6 and subsequently transferred to recipients of the same lineage. After birth, the DNA of the animals will be available by sequencing to confirm insertion. The genetically modified mice will assess employing an electrocardiogram, transthoracic echocardiogram, cardiac magnetic resonance imaging, immunohistochemistry, AMPK activity and gene expression measurement. The initial mutagenesis experiments did not successfully insert the genetic variant in the PRKAG2 gene or knock out the gene; however, we collected new zygotes, microinjected and transferred them to recipients. At this time, we are waiting for the birth of the animals to confirm the gene editing. Due to the relevant clinical repercussions in patients diagnosed with glycogen storage cardiomyopathy, the generation of knock-in/knockout mice for the pathophysiological and molecular study of the disease is of fundamental importance in a precision medicine background.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

