

## Biología molecular de cardiopatías congénitas

### Molecular biology in congenital cardiopathies

Lina Johanna Moreno-Giraldo<sup>\*1,2,3,4</sup>; Cristian David Herrera-Mafla<sup>2,4</sup>;  
José María Satizábal-Soto<sup>1,2,4</sup>

1. Facultad de Salud, Posgrado en Ciencias Biomédicas, Universidad del Valle, Cali – Colombia.
2. Facultad de Salud, Programa Medicina, Universidad Santiago de Cali, Cali – Colombia.
3. Facultad de Salud, Programa Pediatría, Universidad Libre Seccional Cali, Cali – Colombia.
4. Grupo de Investigación Enfermedades Congénitas del Metabolismo, Categoría A Colciencias 2019.

Recibido: Junio 20 del 2019

Aceptado: Septiembre 25 del 2019

\*Correspondencia del autor: Lina Johanna Moreno-Giraldo

E-mail: linajohannamoreno@yahoo.es

#### Resumen

Las Cardiopatías Congénitas se constituyen como las malformaciones más frecuentes en los recién nacidos vivos. Dentro de las complicaciones más frecuentes, las arritmias suelen ser la principal causa de muerte súbita. Una gran parte de estas malformaciones responden a bases genéticas, por lo cual se han identificado diferentes genes mediante técnicas de biología molecular, cuyas variantes estarían implicadas en su presentación. Con el objetivo de establecer la relación entre los estudios de biología molecular en el diagnóstico y abordaje de las Cardiopatías Congénitas, se realizó en un paciente masculino de 12 años con cuadro clínico de arritmia y antecedentes familiares de muerte súbita y temprana, un estudio de biología molecular mediante la técnica de secuenciación exómica completa y análisis bioinformático mediante tecnología *In silico* para el estudio de genes asociados a cardiopatías congénitas; los datos obtenidos fueron analizados por estudio computacional para complementar el estudio molecular y evaluar la relación con el cuadro clínico del paciente. Se logró la identificación de 4 variantes patogénicas en 3 genes asociados a cardiopatías; el análisis computacional permitió la caracterización de las variantes identificadas, y se pudo establecer una precisa correlación fenotipo – endotipo - genotipo. A partir de los resultados, se resalta la utilidad de este tipo de estudios para el análisis de variantes genéticas y su impacto en la salud de los pacientes, destacando la necesidad de establecer una medicina personalizada, que permita el adecuado y dirigido manejo transdisciplinario, aminorando el impacto y la morbimortalidad.

**Palabras clave:** Malformación, muerte súbita, arritmias cardiacas, expresión génica, variación genética. (*DeCS*).

## Abstract

Congenital Heart Diseases are the most frequent malformations in live new-borns. Among the most frequent complications, arrhythmias are usually the main cause of sudden death. A large part of these malformations respond to genetic bases, which is why different genes have been identified by molecular biology techniques, whose mutations would be involved in their presentation. With the aim of establishing the relationship between molecular biology studies in the diagnosis and approach to Congenital Heart Diseases, a 12-year-old male patient with arrhythmia clinical picture and a family background of sudden and early death was performed, a biology study molecular by means of the complete exome sequencing technique and bioinformatics analysis by means of “*In silico*” technology for the study of genes associated with congenital heart diseases; the data obtained were analysed by computational study to complement the molecular study and evaluate the relationship with the clinical picture of the patient. The identification of 4 pathogenic variants in 3 genes associated with heart disease was achieved; the computational analysis allowed the characterization of the identified variants, and a precise phenotype – endotype – genotype correlation could be established. From the results, the usefulness of this type of studies for the analysis of genetic variants and their impact on the health of patients is highlighted, highlighting the need to establish a personalized medicine, which allows for adequate and directed transdisciplinary management, reducing the impact and morbidity and mortality

**Keywords:** Abnormalities, death sudden, arrhythmias, gene expression, genetic variation. (*DeCS*).

## Introducción

Las Cardiopatías Congénitas se constituyen como las malformaciones más frecuentes en los recién nacidos vivos, se estima que aproximadamente 8 x 1000 recién nacidos vivos en el mundo son portadores de una cardiopatía congénita, lo que determina en gran medida la mortalidad de este grupo etario (1). Dentro de las complicaciones más frecuentes, las arritmias suelen ser la principal causa de muerte súbita; a partir del alto número de casos de muerte súbita durante el reposo, se han establecido diferentes estrategias que permitan hacer prevención en niños y jóvenes adultos (2).

Una gran parte de estas malformaciones responden a bases genéticas, por lo cual se han identificado diferentes genes mediante técnicas de biología molecular, cuyas mutaciones estarían implicadas en la presentación de las mismas, es por esta razón que se han incorporado el uso de pruebas genéticas en ADN de paciente vivos, tanto en el caso de pacientes fallecidos, para identificar las causas y establecer un diagnóstico y un manejo preventivo (3) (4).

Debido a la presentación y el compromiso multigénico de las cardiopatías congénitas, se hace necesaria la utilización de técnicas de biología molecular y el uso de herramientas para el estudio computacional, que permitan hacer relación entre el genotipo y la presentación clínica de pacientes con cuadro sugestivos de cardiopatías congénitas, con el propósito de establecer un diagnóstico preciso, un manejo terapéutico adecuado y abordaje preventivo personalizado.

El objetivo de este trabajo es establecer la relación entre los estudios de biología molecular en el diagnóstico y abordaje de las cardiopatías congénitas en un paciente con clínica y antecedentes familiares de muerte temprana y súbita mediante la técnica de secuenciación exómica completa y utilización de análisis bioinformático mediante tecnología *In silico*.

## Materiales y métodos

**Presentación del Caso.** Paciente masculino de 12 años, en manejo por cardiología pediátrica por hallazgo incidental de arritmia sinusal, con antecedente familiar

de tía fallecida a los 21 años secundario a infarto al miocardio repentino, tíos abuelos fallecidos de manera súbita antes de los 50 años y prima hermana con taquicardia sinusal; no se identificaron en el paciente otros antecedentes patológicos de importancia.

**Estudios Moleculares.** Se realizó estudio de biología molecular mediante la técnica de secuenciación de exoma completo, a partir del uso de secuenciador masivo de última generación, NovaSeq6000 System™ (Illumina), en bibliotecas Nextera™, con cobertura de 100X y una lectura total de 678910 variantes de secuencia; alineamiento con genoma de referencia GRCh38/hg19, con el objetivo de identificar variantes incluidas en regiones exónicas, intrónicas o regiones de *splicing*, incluyendo mutaciones de cambio de sentido o sin sentido, sinónimas, pequeñas inserciones o deleciones, en alguno de los genes asociados a cardiopatías.

**Estudio Computacional.** El análisis bioinformático de las variantes obtenidas a partir del estudio de biología molecular se realizó utilizando diferentes bases de datos específicas y diferentes softwares de predicción de exones; entre las que se incluyó bases de ClinVar, MedGen, HGMD, OMIM, GenViewer, CRAVAT y softwares como Exac, Provean, SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant), Polyphen, Mutation Taster, UMD-Predictor, Exome Variant Server y LOVD, utilizando la clasificación recomendada por la ACMG, a través de las cuales se pudo analizar las variantes encontradas, analizar la secuencia y la estructura de los genes implicados, la anotación funcional de los genes candidatos, las caracte-

terísticas de interacciones proteína – proteína.

## Resultados

El estudio de biología molecular realizado permitió, mediante la técnica de secuenciación exómica completa, la identificación de 4 variantes patogénicas en 3 genes asociados a cardiopatías; gen PKP2 ubicado en la región cromosómica 12p11.21, gen CACNB2 el cual se ubica en la región cromosómica 10p12.33-p12.31 y gen TTN ubicado en la región cromosómica 2q31.2, en el cual se identificaron dos variantes.

El análisis computacional permitió la caracterización de las variantes identificadas, la primera variante c.236G>A (p.Arg79Gln) en el gen PKP2, variante previamente registrada en la literatura, la cual se asocia a Displasia arritmogénica del ventrículo derecho 9.

En el gen CACNB2, se logró identificar la variante c.120+65G>C, la cual no se encuentra reportada previamente en la literatura, pero cuya variación se asocia al síndrome de Brugada tipo 4.

Finalmente, se caracterizó en el gen TTN, dos variantes no reportadas previamente en la literatura, c.7991\_7993del (p.Asn2664del) y c.33569T>C (p.Ile11190Thr), las cuales, se encuentran asociadas a la miopatía de Salih, a la cardiomiopatía familiar hipertrófica tipo 9 y a la cardiomiopatía dilatada tipo 1G (Tabla 1).

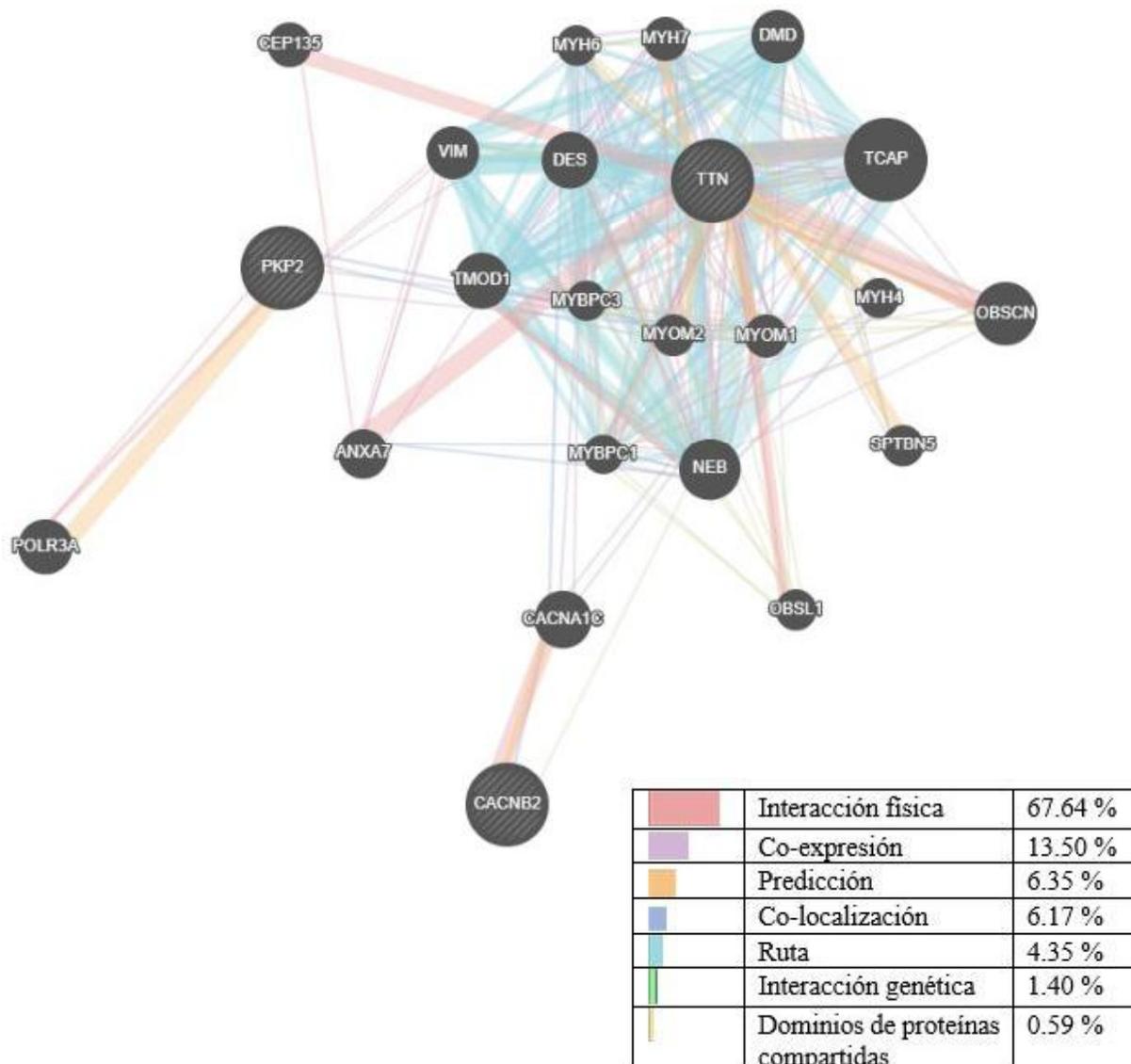
**Tabla 1.** Genes identificados por estudio de biología molecular asociados a cardiopatías congénitas.

| Gen    | Mutación       | Cambio de Aminoácido | Patología Asociada  |
|--------|----------------|----------------------|---|
| PKP2   | c.236G>A       | p.(Arg79Gln)         | Displasia arritmogénica del ventrículo derecho 9 (AD)   |
| CACNB2 | c.120+6G>C     | -                    | Síndrome de Brugada 4 (AD)  |
| TTN    | c.7991_7993del | p.(Asn2664del)       | Miopatía de Salih (AR), Cardiomiopatía hipertrófica familiar 9 (AD), Cardiomiopatía dilatada 1G (AD). |
| TTN    | c.33569T>C     | p.(Ile11190Thr)      | Miopatía de Salih (AR), Cardiomiopatía hipertrófica familiar 9 (AD), Cardiomiopatía dilatada 1G (AD). |

Utilizando la base de datos del sistema de predicción de interacciones funcionales de genes obtenidos GeneMANIA, se evaluó las redes de expresión de interacciones físicas, co-expresión, predicción, rutas, co-localización, interacciones genéticas, dominios proteicos, encontrándose asociación – interacción. Tabla 2, figura 1

**Tabla 2.** Interacciones y funciones biológicas afectadas atribuidas a los genes afectados.

| Gen   | Interacción   | Funciones biológicas afectadas   |
|---|---|--|
| <b>PKP2</b> ( <i>Plakophilin 2</i> )  | POLR3A, VIM, MYH6, MYH7, MYHOM2, MYHBPC3  | Deslizamiento del filamento muscular, del filamento actina-miosina; constitución estructural del músculo; fibra contráctil, contracción celular mediada por actina; movimiento basado en filamentos de actina; contracción muscular; contracción cardiaca; morfogénesis de órganos y tejidos musculares; desarrollo del músculo cardiaco |
| <b>CACNB2</b> ( <i>Calcium voltaje-gated channel auxiliary subunit beta 2</i> ) | CACNA1C, NEB  |  |
| <b>TTN</b> ( <i>Titin</i> )   | TCAP, MYH4, MYO1, OBSCN, SPTBN5, OBSL1, NEB, MYHOM2, MYBPC1, MYBPC3, DES, TMOD1, VIM, MYH6, MYH7, DMD |  |



**Figura 1.** Redes de interacción de genes.

## Discusión

Los estudios de biología molecular realizados en el paciente confirman la presencia de variantes asociadas a Cardiopatías Congénitas entre las que se destacan la displasia arritmogénica del ventrículo derecho, el síndrome de Brugada, la cardiomiopatía hipertrófica familiar y la cardiomiopatía dilatada 1G.

La displasia arritmogénica del ventrículo derecho "*Arrhythmogenic ventricular cardiomyopathy*" se define como la alteración estructural y funcional del ventrículo derecho e incluso del ventrículo izquierdo, con una frecuencia aproximada de 1/100 personas y síntomas asociados que incluyen palpitaciones, síncope, muerte súbita, dolor torácico y disnea. Existe una asociación con antecedentes familiares positivos en un 30 a 50% de los casos y su presentación está asociada a mutaciones heterocigóticas en el gen *PKP2*, del cual se han reportado más de 200 variantes patogénicas (5). Específicamente, el gen *PKP2*, participa en la síntesis de la proteína plakofilina 2, la cual participa en la formación de los desmosomas del miocardio, estructuras encargadas de proporcionar fuerza a partir de la formación de uniones celulares; secundario a la mutación del gen y la no formación adecuada de los desmosomas, las células del miocardio se desligan, generando acumulación de tejido cicatrizal y finalmente una hiperplasia ventricular que impide el adecuado funcionamiento cardiaco (6).

Se han reportado diferentes genes asociados a la displasia arritmogénica del ventrículo derecho, entre los que se destacan *JUP*, *DSP*, *DSG2* y *DSC2* como genes asociados a la formación de desmosomas, siendo el gen *PKP2* el gen causal más importante asociado a la patología (7). En el caso presentado se identificó una variante patogénica previamente reportada en el gen *PKP2* que explica parte de la presentación clínica y antecedentes familiares del paciente.

El síndrome de Brugada fue descrito en 1992 por los hermanos Josep y Pedro Brugada, los cuales lo describen como la presentación de muerte súbita asociada a cambios electrocardiográficos, bloqueo de rama derecha y elevación del segmento ST, sin presencia de cardiopatía (8). Dada la presentación del síndrome, se han establecido diferentes teorías para explicar la fisiopatología del mismo; inicialmente, la teoría de la despolarización establece que las mutaciones en los canales de sodio generan conducción lenta de estímulos cardiacos; en segunda instancia, la teoría de la repolarización en la

cual se incluyen las mutaciones de canales de calcio o potasio, indican un potencial de acción más corto con una consecuente conducción lenta; finalmente, la teoría de la cresta neural establece que el síndrome puede ser causado por mutaciones somáticas que no se asocian a genes implicados en acciones neuromusculares, siendo esta la causa de aproximadamente el 70% de los pacientes con síndrome de Brugada y del 50% de los casos aislados sin antecedentes familiares (9).

Se han descrito diferentes genes asociados al síndrome de Brugada, los cuales actúan como codificadores para canales de sodio, potasio y calcio; el gen *SCN5A*, asociado a canales de sodio, se considera como uno de los más importantes debido a que fue el primer gen descrito como causante del síndrome y se estima una asociación aproximada del 20-25% de casos en la población caucásica y del 10-15% en la población asiática (10). En el caso del paciente presentado, se encontró mutación en el gen *CACNB2*, asociado a canales de calcio, con una variante previamente no descrita que, dado el contexto clínico del paciente, le confiere el estado de patogénica y aumenta el riesgo de sufrir las consecuencias asociadas al síndrome.

Se encontraron 2 variantes no descritas previamente en el gen *TTN* asociadas a cardiopatía congénita. Éste participa en la síntesis de la proteína titina, la cual desempeña un importante rol en el músculo esquelético y en el músculo cardiaco, debido a que se comporta como componente del sarcómero, unidad básica de la contracción muscular. Dentro de las funciones de la titina en el sarcómero, está el de brindar estructura y estabilidad, en un trabajo en conjunto con la actina y la miosina para evitar alteraciones en los procesos de contracción y relajación muscular. Se han identificado múltiples variantes del gen *TTN* asociadas a la presentación de distintas patologías musculares y miocárdicas, entre las que se destacan: miopatía muscular, cardiomiopatía familiar dilatada, miopatía hereditaria con falla respiratoria temprana, distrofia muscular de cinturas, distrofia muscular tibial, cardiomiopatía familiar hipertrófica y displasia arritmogénica del ventrículo derecho (11).

Las mutaciones identificadas en el gen *TTN* son de importancia clínica para el manejo preventivo sobre el riesgo cardiovascular del paciente.

En la actualidad, el uso de estudios de biología molecular mediante técnicas de secuenciación exómic completa permiten un abordaje más profundo de las cardio-

patías congénitas, lo que resalta la utilidad de este tipo de estudios para el análisis de variantes genéticas y su impacto en la salud de los pacientes, destacando la necesidad de establecer una medicina personalizada, que permita el adecuado manejo de las patologías de cada individuo (12).

El uso de herramientas genómicas, análisis bioinformáticos y softwares de interacciones funcionales de genes, permiten una mejor comprensión de la relación entre la herencia y riesgo de padecer una enfermedad, revelar la influencia genética en la aparición y evolución de las enfermedades, así como contribuye al diagnóstico e implementación de alternativas terapéuticas, dirigidas y transdisciplinarias, aminorando las consecuencias de la enfermedad; permitiendo establecer una pauta en el

seguimiento, pronóstico y brindar consejería genética a toda la familia.

### **Agradecimientos.**

Al paciente y a sus familiares por el respectivo asentimiento y consentimiento informado para publicación de resultados. Agradecimiento al Instituto de Genética Médica GENOMICS.

### **Conflicto de intereses y financiación.**

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés. El trabajo presentado fue realizado con recursos propios.

---

## **Referencias**

1. Armas M, Elias R, Rodriguez Y, Elias KS. (2018). Morbilidad y mortalidad neonatal por cardiopatías congénitas. *Rev Cubana Pediatr.* 91 (1):1-10.
2. Bagnall RD, et al. A Prospective Study of Sudden Cardiac Death among Children and Young Adults. *N Engl J Med.* 2016 Jun 23;374(25):2441-52.
3. Valentín A. (2018) Cardiopatías congénitas en edad pediátrica, aspectos clínicos y epidemiológicos. *Rev. Med. Electrón.* 40 (4): 1088-99.
4. Aguilar P, Giner J, Izquierdo I, Martínez-Dolz L, Barriales R, Zorio E. (2018). Unidades multidisciplinarias en el estudio y prevención de la muerte súbita por cardiopatías familiares. *Rev Esp Med Legal.* 44 (1): 46-52.
5. Mahdih N, Saedi S, Soveizi M, Rabbani B, Najafi N, Maleki M. (2018). A novel PKP2 mutation and intrafamilial phenotypic variability in ARVC/D. *Med J Islam Repub Iran.* 32 (5).
6. Genetics Home Reference (2019). PKP2 gene. U.S. National Library of Medicine. Disponible en <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PKP2#synonyms>.
7. Ohno S. (2016). The genetic background of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Arrhythm.* 32: 398-403.
8. Reyes D, Crespi Á, Mejía R, Canales F, Gallardo E. (2018). Patrón de Brugada: Estratificación del riesgo de muerte súbita. *Rev Med Hered.* 29: 36-41
9. Brugada P. (2016). Brugada syndrome: More than 20 years of scientific excitement. *J Cardiol.* 67: 215-20.
10. Juang J, Horie M. (2016). Genetics of Brugada syndrome. *J Arrhythm.* 32: 418-425.
11. Genetics Home Reference. (2019). TTN Gene., U.S. National Library of Medicine. Disponible en <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TTN#conditions>.
12. Farfán M. (2015). Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. *Rev. Med. Clin. Condes.* 26 (6): 788-93.