

# Avances en genética molecular de las cardiopatías congénitas

José Marín-García

The Molecular Cardiology and Neuromuscular Institute. Highland Park. New Jersey. Estados Unidos.

Aunque las cardiopatías congénitas (CC) son causas frecuentes de morbimortalidad en niños pequeños y mayores, los mecanismos genéticos y moleculares básicos que subyacen a ellas están en gran parte por determinar. Tan sólo recientemente han empezado a aplicarse los grandes avances realizados en la tecnología de la genética molecular al campo de la cardiología pediátrica, con el empleo de los mapas cromosómicos y la identificación de los genes que intervienen en la etiología primaria o que son factores de riesgo significativos en el desarrollo de las anomalías cardíacas y vasculares. Estos avances se han aplicado al estudio de familias en las que hay varios individuos afectados, y ello ha proporcionado una nueva perspectiva respecto a la base genética de diversas CC, incluida la comunicación interventricular (CIV). Además, el desarrollo de la nueva tecnología puede brindar una gran oportunidad para realizar nuevos progresos en el diagnóstico genético y en la futura terapia génica.

Cada vez es mayor la evidencia de que existen mutaciones unigénicas en una amplia variedad de genes involucrados en la estructura y la función cardíacas. Pueden producirse malformaciones cardíacas pleotrópicas como resultado de mutaciones aisladas en factores de transcripción nuclear específicos, proteínas estas de las que se sabe que desempeñan un papel regulador clave durante el desarrollo y la morfogénesis cardiovasculares<sup>1,2</sup>. Factores como GATA4, Nkx2.5, dHAND, TFAP2 y Tbx5 se encuentran entre los factores de transcripción que se expresan de manera más temprana durante el desarrollo del corazón y son cruciales para la activación de genes cardíacos específicos. Las mutaciones de cada uno de estos genes dan lugar a anomalías car-

diacas graves como defectos del tabique (GATA4), defectos de conducción (NKX2-5), hipoplasia ventricular derecha (HAND2), conducto arterioso permeable (PDA), síndrome de Char (TFAP2B) y síndrome de Holt-Oram (TBX5), lo cual subraya la intervención crucial de la alteración del desarrollo y la morfogénesis cardíacas iniciales en la génesis de las CC<sup>3-6</sup>.

Se han identificado también defectos genéticos en proteínas que intervienen en las múltiples vías de señalización que modulan la proliferación, la migración y la diferenciación celulares en la fase inicial del desarrollo cardiovascular. Se han identificado mutaciones de *JAG1* en estudios de familias de manera asociada al síndrome de Alagille, un trastorno autosómico dominante complejo, que se manifiesta por CC, incluida la estenosis de la arteria pulmonar y la tetrada de Fallot (TdF)<sup>7</sup>. El *JAG1* codifica un ligando que se une al receptor Notch, una vía de señalización conservada a lo largo de la evolución, que interviene en la especificación del destino de cada célula. Recientemente se ha involucrado a las mutaciones del regulador de señalización Notch1 en la valvulopatía aórtica<sup>8</sup>. Se ha propuesto que las mutaciones del *PTPN11*, que codifica una proteína tirosinfosfatasa (SHP-2), son esenciales en la patogenia del síndrome de Noonan, caracterizado por defectos de conducción, estenosis pulmonar y miocardiopatía hipertrófica<sup>9</sup>, y recientemente se las ha involucrado también en la patogenia del síndrome LEOPARD, que probablemente sea un trastorno alélico<sup>10</sup>.

Se ha demostrado que determinadas malformaciones cardíacas específicas tienen una base genética, según lo predicho por la observación de malformaciones cardíacas aisladas similares en otras especies, muchas de ellas con componentes heredables. En la tabla 1 se indican las malformaciones cardíacas más frecuentes que se dan en el ser humano y se presenta información relativa a su incidencia, así como su etiología genética en los casos en que se conoce. Casi una tercera parte de las anomalías cardíacas congénitas corresponden a CIV, pero no son infrecuentes la comunicación interauricular (CIA), el canal auriculoventricular (CAV) y la

VÉASE ARTÍCULO EN PÁGS. 263-72

Correspondencia: Dr. J. Marín-García.  
The Molecular Cardiology and Neuromuscular Institute.  
75 Raritan Avenue. Highland Park, NJ 08904. Estados Unidos.  
Correo electrónico: tmci@att.net

Full English text available from: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

TABLA 1. Incidencia de cardiopatías congénitas en el ser humano y defectos génicos

Fenotipo cardiaco	Frecuencia	Genes afectados ( <i>loci</i> )
CIV	1:280	<i>TBX5, TBX1, NKX2-5</i>
CIA	1:1.062	<i>TBX5, NKX2-5</i>
CAV	1:1.372	<i>TBX5, NKX2-5</i>
Tétrada de Fallot	1:2.375	<i>JAG1, TBX1, NKX2-5</i>
Estenosis pulmonar	1:2.645	<i>JAG1</i>
Transposición de grandes vasos	1:3.175	
Síndrome de hipoplasia de hemicardio izquierdo	1:3.759	<i>NKX2-5</i>
Doble salida ventricular derecha	1:6.369	
Lateralidad/bucles	1:6.944	<i>ZIC3, LEFTYA</i>
Coartación de aorta	1:7.142	
Atresia pulmonar	1:7.576	
Anomalía de Ebstein	1:8.772	<i>NKX2-5</i>
Tronco arterioso	1:9.346	
CAP	1:11.111	<i>TFAB2B</i>
Estenosis valvular aórtica	1:12.395	
Atresia tricuspídea	1:12.658	
Válvula aórtica bicúspide	1:13.513	
Cayado aórtico interrumpido	1:17.291	

CAP: conducto arterioso permeable; CAV: canal auriculoventricular; CIA: comunicación interauricular; CIV: comunicación interventricular.

TdF. Tiene interés el hecho de que puedan producirse malformaciones clínicamente distintas a partir de defectos de un mismo gen, lo cual indica que es probable que haya estructuras cardiacas no relacionadas que tengan en común vías de desarrollo similares.

La composición estructural heterogénea del tabique ventricular señala a diversos posibles mecanismos del desarrollo que pueden conducir a la ontogenia de la CIV. Aunque no están presentes en la anatomía final, las estructuras transitorias son importantes en la tabicación del corazón (p. ej., las partes proximales de las almohadillas conales) y son cruciales para su desarrollo. La posición de la estructura conal puede también ser un factor crítico en el desarrollo de la TdF y del cayado aórtico interrumpido. Además, hay diversos síndromes hereditarios que se asocian a una CIV. Las personas con anomalías cromosómicas como la trisomía 21 (síndrome de Down), que es la causa genética más frecuente de CC, muestran una CIV. De forma análoga, la CIV está presente con frecuencia en los corazones de los ratones con trisomía 16, que es el modelo murino de la trisomía 21 humana.

Se han descrito deleciones cromosómicas de forma asociada a CC y algunas de ellas pueden haber pasado inadvertidas anteriormente debido a su menor tamaño y a la localización cromosómica. Las técnicas más recientes de citogenética molecular de alta resolución, como la hibridación *in situ* fluorescente (FISH), la determinación del genotipo de microsatélites (es decir, unidades de ADN repetidas, de una longitud de 1-6 pares de bases, neutras y codominantes, que están presentes en el núcleo y

en los orgánulos intracelulares y se utilizan como marcadores moleculares para el estudio de la dosis génica y la identificación de duplicaciones o deleciones de una región genética concreta) y la bioinformática (es decir, la tecnología de la información aplicada al campo de la biología molecular) son algunas de las técnicas que pueden facilitar el diagnóstico clínico de una lesión cromosómica, como las microdeleciones y las translocaciones cromosómicas pequeñas.

En este número de REVISTA ESPAÑOLA DE CARDIOLOGÍA, Lee et al<sup>11</sup> presentan el análisis de ADN de 85 pacientes con CIV y 176 hermanos y progenitores de éstos, para determinar la pérdida de heterocigosis (LOH) en la región 22q11, con el empleo de una combinación de determinación del genotipo de microsatélites, análisis de dosis de varios genes candidatos con el uso de reacción en cadena de polimerasa (PCR), y estrategias de bioinformática. Los autores creen que este tipo de evaluación de los hermanos del caso inicial estudiado será útil para el diagnóstico y el tratamiento precoces.

Se sabe que la exactitud de la FISH en el diagnóstico de la HSA22q11 varía según el tipo de sonda génica utilizada, así como según el número de sondas combinadas. En la CC sindrómica (principalmente defectos conotroncales), la incidencia de deleciones de HSA22q11 detectadas mediante FISH con una combinación de varias sondas puede alcanzar un 50%. Por otra parte, la determinación del genotipo de microsatélites detectó el 48% de un grupo de 21 casos de TdF y el 100% de los casos de síndrome de DiGeorge. Sin embargo, con el empleo

de determinación del genotipo de microsatélites, Lee et al pudieron identificar un número de deleciones superior al obtenido con la metodología de FISH, probablemente porque la resolución era mayor con los microsatélites y seguramente porque, en algunos casos, había una CIV sindrómica<sup>11</sup>. Es interesante señalar que en varios de los casos, incluida una familia en la que había dos hijos con CIV, no se observó una LOH en las regiones HSA22q11. Para explicar estos resultados se señala que podrían estar afectadas algunas otras regiones cromosómicas. Además, la LOH en la HSA22q11 se detectó en varios niños sin una CC aparente (de dos familias con otros hijos afectados). Esta observación es importante porque subraya la importancia de aplicar sistemáticamente pruebas de detección a los hermanos de todos los casos iniciales diagnosticados.

Aprovechando la metodología de bioinformática disponible, Lee et al pudieron establecer la identidad de diversos genes situados en las regiones HSA22q11, y determinaron las dosis genómicas mediante el empleo de PCR cuantitativa. La deleción heterocigota (es decir, con presencia de dos alelos diferentes para un mismo rasgo genético) de varios genes, como *HIRA*, *TUBAS8* y *GNEB1L*, podría ser la causa de las CIV en diversos pacientes con LOH de HSA22q11; en cambio, no se identificó ninguna deleción hemocigota (es decir, cuando en una especie diploide una parte del genoma está presente en una sola copia, como ocurre en el cromosoma X del que sólo hay uno en el sexo masculino) u homocigota (es decir, con presencia de alelos idénticos para un único rasgo genético) del gen *TBX1* en 16 pacientes con CIV. Anteriormente se han observado mutaciones del *TBX1* en pacientes con una deleción de HSA22q11 pero sin microdeleciones de 22q11 ni una reordenación manifiesta en esa región<sup>12</sup>.

En modelos animales, las mutaciones de un gran número de genes se han asociado a la CIV, generalmente en combinación con otros defectos cardíacos complejos. Se han relacionado casos sindrómicos y esporádicos de CIV en el ser humano con mutaciones de *NKX2-5*, *TBX5* y *GATA4*<sup>1,2,13</sup>, y estos pacientes presentan generalmente un patrón de transmisión hereditaria autosómico dominante. Además, la función de señalización de los receptores Notch, que forman parte de una familia génica que codifica receptores transmembranarios y ligandos involucrados en las decisiones que marcan el destino de una célula, puede desempeñar un papel crucial en la tabicación ventricular. En el ratón, la inactivación transgénica del gen del factor de transcripción básico de hélice-bucle-hélice, *Chf1/Hey2*, que actúa como efector nuclear de la señalización Notch, da lugar a una CIV<sup>14</sup>. Se ha involucrado la alteración

dirigida específica de muchos otros genes que intervienen en vías de señalización en los modelos animales que producen una CIV. Una relación parcial de estas alteraciones incluye las mutaciones del gen del receptor X de ácido retinoico (RXR)<sup>15</sup>, el gen de la neurofibromatosis tipo 1 (Nf1)<sup>16</sup>, el Pax317 y el factor de crecimiento tumoral TGFβ<sub>2</sub><sup>18</sup>, todas las cuales conducen a una CIV, aun cuando es improbable que la etiología esté relacionada en cada uno de los casos. Los defectos del RXR pueden estar relacionados fundamentalmente con una anomalía epicárdica en la señalización trófica necesaria para la proliferación de los miocardiocitos y la morfogénesis ventricular<sup>15</sup>. Se cree que los defectos cardíacos de la Nf1 se deben principalmente al papel de la neurofibromina en las células endocárdicas, según indica la presencia de defectos cardíacos en la inactivación específica endotelial de la Nf1<sup>16</sup>. El Pax3 se expresa e interviene en la migración de la cresta neural. Así pues, hay diversos mecanismos de múltiples tipos celulares que pueden converger para dar lugar a un fenotipo que incluye la CIV.

Se ha involucrado también a deleciones cromosómicas grandes en las malformaciones estructurales y del desarrollo del corazón, que incluyen anomalías conotruncales, CAV, CIV y CIA<sup>19,20</sup>. Los defectos del infundíbulo de salida del corazón son una manifestación del trastorno genético complejo del síndrome velocardiocardiofacial/síndrome de DiGeorge, también denominado CATCH-22. La mayor parte de los pacientes son hemocigotos para una región de deleción de 1,5 a 3 Mb del cromosoma 22 (22q11), que se sospecha que es crucial para el desarrollo normal del arco faríngeo y contiene más de 30 genes; la deleción de 22q11 (del22q1) es un fenómeno relativamente frecuente que se produce en alrededor de 1 de cada 4.000 nacidos vivos. Se ha identificado un gen *TBX1* derivado de la zona central de la región que sufre la deleción, como factor esencial en el desarrollo de este defecto congénito. El *TBX1*, que forma parte de una familia de genes con una alta conservación filogenética que tienen un mismo dominio de fijación de ADN común (es decir, el T-box)<sup>21</sup>, codifica un factor de transcripción que interviene en la regulación del desarrollo cardíaco; la reducción de la expresión del *TBX1*, que se produce en el estado de deleción hemocigota al que a menudo se denomina haploinsuficiencia, influye de manera importante en la expresión génica inicial que interviene en la morfogénesis cardíaca.

En resumen, los avances recientes de la tecnología de genética molecular acaban de empezar a aplicarse a estudios de las CC, al permitir el establecimiento de mapas cromosómicos y la identificación de muchos genes involucrados tanto en la etiología primaria como en factores de riesgo im-

portantes en el desarrollo de estas anomalías. La identificación de nuevos genes que intervienen en la organogénesis cardíaca y el desarrollo vascular será útil como fundamento importante para nuestro conocimiento del mecanismo por el que defectos genéticos congénitos específicos generan los fenotipos cardíacos. Además, pueden utilizarse nuevos métodos, como la bioinformática, para realizar búsquedas en las bases de datos existentes, con el empleo de técnicas de genética inversa o retrógrada (es decir, técnicas que intentan identificar posibles fenotipos que puedan ser consecuencia de una secuencia génica específica, a diferencia de las técnicas de genética anterógrada, que intentan identificar la base genética de un determinado fenotipo o rasgo), con la posterior clonación de nuevos genes/ADNc de interés, seguida de la caracterización de los patrones espaciotemporales de expresión génica específica en el embrión en desarrollo (con el empleo de hibridación *in situ*).

Aunque no se conocen todavía con precisión, los mecanismos que rigen la especificación inicial de las cámaras cardíacas en el tubo cardíaco en desarrollo parecen incluir una nueva señalización de célula a célula entre las células en migración, así como el desencadenamiento de programas de expresión génica específicos para cada cámara, que se producen a través de factores de transcripción y factores de crecimiento específicos. La investigación futura se centrará en determinar el papel de los módulos de red de moléculas de señalización con el empleo de *knock-out* génicos condicionales (en presencia de diversos trasfondos genéticos) y en el acceso a su interacción con factores de transcripción críticos. Estos enfoques podrían pasar a ser instrumentos importantes para el diagnóstico precoz de los defectos cardíacos durante la embriogénesis, con lo que aumentarían las posibilidades de tratamiento (p. ej., aporte génico) antes de la formación del corazón. Finalmente, como señalan Lee et al, la evaluación genómica de las CC puede permitir una estratificación más efectiva de las subclases de pacientes, así como un direccionamiento específico y una optimización del tratamiento individualizado para cada paciente<sup>11</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

- Pierpont ME, Basson CT, Benson DW Jr, Gelb BD, Giglia TM, Goldmuntz E, et al. American Heart Association Congenital Cardiac Defects Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young. Genetic basis for congenital heart defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Congenital Cardiac Defects Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation*. 2007;115:3015-38.
- Marín-García J. Cardiología pediátrica en la era de la genómica. *Rev Esp Cardiol*. 2004;57:331-46.
- Garg V, Kathiriyai IS, Barnes R, Schluterman MK, King IN, Butler CA, et al. GATA4 mutations cause human congenital heart defects and reveal an interaction with TBX5. *Nature*. 2003;424:443-7.
- Schott JJ, Benson DW, Basson CT, Pease W, Silberbach GM, Moak JP, et al. Congenital heart disease caused by mutations in the transcription factor NKX2-5. *Science*. 1998;281:108-11.
- Satoda M, Zhao F, Díaz GA, Burn J, Goodship J, Davidson HR, et al. Mutations in TFAP2B cause Char syndrome, a familial form of patent ductus arteriosus. *Nat Genet*. 2000;25:42-6.
- Bruneau BG, Nemer G, Schmitt JP, Charron F, Robitaille L, Caron S, et al. A murine model of Holt-Oram syndrome defines roles of the T-box transcription factor Tbx5 in cardiogenesis and disease. *Cell*. 2001;106:709-21.
- Krantz ID, Piccoli DA, Spinner NB. Clinical and molecular genetics of Alagille syndrome. *Curr Opin Pediatr*. 1999;11:558-64.
- Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature*. 2005;437:270-4.
- Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R, Zampino G, Brunner HG, Kremer H, et al. Mutations in PTPN11, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. *Nat Genet*. 2001;29:465-8.
- Legius E, Schrandt-Stumpel C, Schollen E, Pulles-Heintzberger C, Gewillig M, Fryns JP. PTPN11 mutations in LEOPARD syndrome. *J Med Genet*. 2002;39:571-4.
- Lee CL, Hsieh KS, Chen YL, Shiue YL. Identificación de genes candidatos en las comunicaciones interventriculares congénitas con pérdida de heterocigosis de HSA22q11. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62:263-72.
- Zweier C, Sticht H, Aydin-Yaylagül I, Campbell CE, Rauch A. Human TBX1 missense mutations cause gain of function resulting in the same phenotype as 22q11.2 deletions. *Am J Hum Genet*. 2007;80:510-7.
- Kasahara H, Lee B, Schott JJ, Benson DW, Seidman JG, Seidman CE, et al. Loss of function and inhibitory effects of human CSX/NKX2.5 homeoprotein mutations associated with congenital heart disease. *J Clin Invest*. 2000;106:299-308.
- Sakata Y, Kamei CN, Nakagami H, Bronson R, Liao JK, Chin MT. Ventricular septal defect and cardiomyopathy in mice lacking the transcription factor CHF1/Hey2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:16197-202.
- Sucov HM, Dyson E, Gumeringer CL, Price J, Chien KR, Evans RM. RXR mutant mice establish a genetic basis for vitamin A signaling in heart morphogenesis. *Genes Dev*. 1994;8:1007-18.
- Gitler AD, Zhu Y, Ismat FA, Lu MM, Yamauchi Y, Parada LF, et al. Nfl has an essential role in endothelial cells. *Nat Genet*. 2003;33:75-9.
- Li J, Liu KC, Jin F, Lu MM, Epstein JA. Transgenic rescue of congenital heart disease and spina bifida in Splotch mice. *Development*. 1999;126:2495-503.
- Bartram U, Molin DG, Wisse LJ, Mohamad A, Sanford LP, Doetschman T, et al. Double-outlet right ventricle and overriding tricuspid valve reflect disturbances of looping, myocardialization, endocardial cushion differentiation, and apoptosis in TGF-beta(2)-knockout mice. *Circulation*. 2001;103:2745-52.
- Strauss AW. The molecular basis of congenital cardiac disease. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu*. 1998;1:179-88.
- Marino B, Digilio MC. Congenital heart disease and genetic syndromes: specific correlation between cardiac phenotype and genotype. *Cardiovasc Pathol*. 2000;9:303-15.
- Franco D, Domínguez J, De Castro MP, Aránega A. Regulación de la expresión génica en el miocardio durante el desarrollo cardíaco. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:167-84.