

Avances en el conocimiento de las bases moleculares y celulares de las cardiopatías congénitas. Parte 2 y última: Cardiopatías congénitas

MSc. Dr. Noel Taboada Lugo✉

Centro Provincial de Genética Médica, Hospital Gineco-Obstétrico Mariana Grajales. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

Full English text of this article is also available

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 14 de enero de 2019
Aceptado: 21 de febrero de 2019

Conflictos de intereses

El autor declara que no existen conflictos de intereses

Abreviaturas

CC: cardiopatías congénitas
CIV: comunicación interventricular
FGF: siglas en inglés de factor de crecimiento de los fibroblastos
FT: factores de transcripción
SNP: siglas en inglés de polimorfismo de un simple nucleótido
TGF: siglas en inglés de factor de transformación del crecimiento

RESUMEN

Las cardiopatías congénitas son los defectos congénitos más frecuentes en los seres humanos. Se realizó una revisión de la literatura médica con el objetivo de identificar los avances más recientes en el conocimiento de las bases moleculares y celulares de las cardiopatías congénitas. La información obtenida se dividió en dos partes: en la primera se dirigió la atención a los genes y a la morfogénesis cardíaca, y esta segunda parte la complementa, haciendo hincapié en las cardiopatías congénitas propiamente dichas.

Palabras clave: Cardiopatías congénitas, Morfogénesis, Polimorfismos de un simple nucleótido, Factores de transcripción, Metilación de ADN, Vías de transducción de señales

Advances in the knowledge of the molecular and cellular bases of congenital heart diseases. Second of two parts: Congenital heart defects

ABSTRACT

Congenital heart defect is the most common birth defect in humans. We conducted a review of the medical literature with the aim of identifying the most recent advances in the knowledge of its molecular and cellular bases. The information obtained was divided into two parts: the first one emphasized on genes and cardiac morphogenesis, and this second part complements the previous one, with special focus on congenital heart defects.

Keywords: Congenital heart defects, Morphogenesis, Single nucleotide polymorphism, Transcription factors, DNA methylation, Signal transduction

INTRODUCCIÓN

En la primera parte comentamos que no existe una exacta correlación genotipo-fenotipo entre los mecanismos moleculares y los defectos morfológicos de las cardiopatías congénitas¹, por lo que es posible que en un mismo defecto congénito estén implicadas diferentes vías y mutaciones génicas, o que debido al efecto pleiotrópico de mutaciones en uno de los genes críticos en el proceso de cardiogénesis, se originen diferentes tipos de cardiopatías congénitas (CC).

Aunque las CC son causa frecuente de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, los mecanismos genéticos y moleculares básicos que subyacen

✉ N Taboada Lugo
Calle Ira e/ A y B
Reperto Escambray
Santa Clara, Villa Clara, Cuba.
Correo electrónico:
noelti@infomed.sld.cu

en ellas están, en gran parte, por determinar^{2,3}. En las últimas décadas han empezado a aplicarse los grandes avances realizados en la tecnología de la genética molecular al campo de la cardiología pediátrica, lo que ha permitido la identificación de muchos genes que intervienen en la etiología primaria o que son factores de riesgo significativos en el desarrollo de los defectos congénitos cardiovasculares²⁻⁷.

Hasta la fecha existe evidencia de mutaciones en más de 60 genes que se relacionan con la aparición de diferentes tipos de CC. Entre ellos, los que codifican para FT que participan en el proceso de cardiogénesis son los que más frecuentemente se asocian a CC, evidencia del papel crucial que desempeñan estos FT en el proceso de la morfogénesis cardíaca y en el origen de este tipo de cardiopatías^{2,4,8,9}.

Recientemente, investigadores de la Universidad Médica de Harbin, en la República Popular China, identificaron dos polimorfismos de un simple nucleótido (SNP, del inglés *Single Nucleotide Polymorphisms*) en el gen LEFTY2 (rs2295418 y rs360057), asociados significativamente con el riesgo de presentar CC. LEFTY es un importante factor transformante del crecimiento con función de regulación negativa en la vía de señalización Nodal/TGF (del inglés *Transforming Growth Factor*), que inhibe la proliferación y la diferenciación celular de células pluripotenciales embrionarias en miocardiocitos, lo que resulta en diferentes tipos de CC¹⁰.

BASES MOLECULARES Y CELULARES DE LAS CARDIOPATÍAS CONGÉNITAS

Defectos de septación

Los defectos de la septación son el tipo más común de CC y representan el 50% de ellas. Se clasifican, según las cámaras que dividen, en interventriculares, interauriculares y aurículo-ventriculares. La importancia clínica está en las posibles consecuencias de estas comunicaciones, tales como el aumento del flujo pulmonar con el consecuente daño a la vasculatura a ese nivel, crecimiento auricular con aumento del riesgo de arritmias y crecimiento ventricular por aumento de los volúmenes sanguíneos^{11,12}.

Tanto en los modelos animales como en el estudio de familias afectadas, varios aspectos moleculares en los defectos de septación aportan información que coincide en señalar genes específicos. Es notable el conocimiento actual de la importancia que

tienen, en este grupo de CC, los FT: NKX2-5, NKX2-6, TBX1, TBX5, TBX20, HAND2, GATA4, GATA5 y GATA6. Estos FT, que comienzan a expresarse desde temprano en las células de linaje cardíaco, también regulan la expresión de los genes de proteínas contráctiles en miocardiocitos. En etapas tardías del desarrollo cardíaco, mutaciones en cada uno de estos genes dan lugar a defectos congénitos cardíacos graves como los conotruncales (NKX2-5, TBX1, TBX20 y GATA6), válvula aórtica bicúspide (GATA5 y NKX2-5), defectos de septación atrial y ventricular (NKX2-5, NKX2-6, TBX1, TBX5, TBX20, GATA4, GATA6), defectos de conducción (NKX2-5), hipoplasia ventricular derecha (HAND2), atresia tricuspídea y anomalía de Ebstein (NKX2-5), y entre las causas sindrómicas el síndrome Holt-Oram (TBX5), que en su fenotipo clínico incluye –además de CC– defectos reductivos de extremidades^{13,22}. En la **tabla** se describen un grupo de genes y su distribución según el tipo específico de CC en el que están implicados^{4,9,11,13,21-30}.

Diferentes estudios han relacionado la presencia de mutaciones en genes miembros de la familia GATA de FT, con motivos de «dedos de cinc», con las CC. Estudios en casos esporádicos y familiares brindan una evidencia adicional del papel que desempeña el gen GATA4 en el proceso de septación atrial, mediante la inducción –en un modelo murino– de las mutaciones G295S y M310V en el gen GATA4, de defectos de septación auricular, similar al humano, en ambos casos^{7,13-16}.

Mientras que para validar la posible asociación del gen SMAD3 con los defectos septales ventriculares, investigadores chinos analizaron la región transcrita y los sitios de empalme de este gen en 176 pacientes con comunicación interventricular (CIV) y lo compararon con 456 controles, y encontraron que la variante polimórfica rs2289263, ubicada antes del extremo 5' del gen, se asoció significativamente con el riesgo de presentar CIV¹⁰.

Otros estudios en modelos murinos han permitido la identificación de mutaciones en genes que intervienen en la vía de señalización Notch (que forman parte de una familia génica que codifica receptores transmembranales y ligandos involucrados en las decisiones que marcan el destino de una célula) y pueden desempeñar un papel crucial en la tabicación ventricular. En el ratón, la inactivación transgénica del gen del FT básico de hélice-bucle-hélice, Chf1/Hey2, que actúa como efector nuclear de la señalización Notch, da lugar a un defecto de septación del tipo CIV^{31,32}.

Tabla. Genes implicados en algunos tipos específicos de cardiopatías congénitas^{4,9,11,13,21-30}.

Tipos de cardiopatías congénitas	Genes
Defectos septales atriales	NKX2-5, GATA4, TBX20, MYH6, TBX5, CITED2, GATA6
Defectos septales ventriculares	NKX2.5, GATA4, TBX20, TBX1, TBX5, CITED2, IRX4
Defectos septales atrioventriculares	TBX5, NKX2-5, CRELD1, PTPN11, KRAS, SOS1, RAF1, GATA4, GATA6
Tetralogía de Fallot	NKX2.5, NOTCH1, TBX1, JAG1, NOTCH2, GATA6, TBX20, CITED2, FOXH1, HAND2, ZFPM2
Persistencia del conducto arterioso	TFAP2B, TBX20
Transposición de grandes vasos	NKX2.5, THRAP2, ZIC3
Estenosis de válvula aórtica	NOTCH1, PTPN11
Estenosis de válvula pulmonar	JAG1, NOTCH2, PTPN11
Persistencia del tronco arterioso	2TBX1, Crkl2, GATA6, NKX2-6
Doble emergencia del ventrículo derecho	NKX2-5, ZFPM2
Hipoplasia del ventrículo izquierdo	TBX20, NOTCH1
Atresia tricuspídea	HEY2, NKX2.5
Anomalía de Ebstein	NKX2.5
Interrupción de arco aórtico	TBX1, NKX2.5
Conexión anómala de venas pulmonares	TBX20
Coartación aórtica	NOTCH1, PTPN11

Se han descrito mutaciones específicas de muchos otros genes que intervienen en vías de señalización en los modelos animales que producen CIV. Una relación parcial de estas alteraciones incluye las mutaciones del gen del receptor X de ácido retinoico (RXR), que codifica para la neurofibromina, causante de la neurofibromatosis tipo 1, el PAX3 y el TGF β 2, 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 alteración epicárdica en la señalización trófica necesaria para la proliferación de los miocardiocitos y la morfogénesis ventricular. Se cree que los defectos cardíacos que pueden formar parte del fenotipo clínico de la neurofibromatosis tipo 1 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 esta neurofibromatosis. El gen 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 incluya la CIV²³.

Cardiopatías congénitas conotroncales

Las CC conotroncales, por su parte, comprenden un subgrupo de malformaciones congénitas del tracto de salida del corazón y las grandes arterias, que incluyen: el tronco arterioso persistente, la interrupción del arco aórtico, la transposición de grandes vasos, doble salida del ventrículo derecho, defectos septales conoventriculares, la tetralogía de Fallot y la atresia pulmonar con CIV. Todas estas malformaciones congénitas comparten un origen embriológico y estructural común, ya que derivan de las células cardíacas de la cresta neural y del SHF (del inglés *second heart field*). Los defectos congénitos conotroncales representan aproximadamente un 20-30% de todos los tipos de CC en humanos^{24,33}.

La etiología genética de algunas de estas CC comenzó a vislumbrarse al estudiar el síndrome de microdelección 22q11.2, que origina una monosomía parcial del brazo largo del cromosoma 22, que incluye el síndrome DiGeorge, velocardio-facial y la anomalía conotroncal-cara. Esta es el tipo de delección más frecuente y la segunda causa de CC asociada a síndromes, después de la trisomía 21. Este síndrome de genes contiguos se caracteriza fenotípicamente por malformaciones asociadas a defectos en el cuarto arco branquial, y en la tercera y cuarta

bolsas faríngeas, que contribuyen a la formación del timo, paratiroides y corazón. Entre las CC, la más común es la persistencia del tronco arterioso (ausencia de septación en el cono de salida, y su división en aorta y arteria pulmonar), pero también incluye la tetralogía de Fallot, la interrupción de arco aórtico y la doble salida ventricular²⁵.

La delección abarca cerca de 3 Mb y contiene 30 genes, entre los que se encuentran CRKL, TBX1, TXNRD2 y GP1BB, que se expresan en los arcos faríngeos. Esta microdelección cromosómica es responsable de aproximadamente un 12% de los casos con CC conotruncales^{24,26,33}.

Endofenotipo cardiovascular en el Síndrome de Down

La causa genética más frecuente de CC sindrómica es el síndrome de Down o trisomía 21, en la que aproximadamente el 50% de los casos presentan uno o más defectos cardiovasculares congénitos, que a menudo afectan estructuras derivadas de los cojinetes endocárdicos, tales como los defectos septales atrio-ventriculares y valvulares. Los mecanismos moleculares por los que esta aneuploidía origina las CC no están del todo bien elucidados, pero parecen estar relacionados con la desregulación en la expresión de múltiples genes con *loci* en HSA21 (del inglés *Homo Sapiens Autosome 21*)³⁴.

Dado que todos los casos con síndrome de Down por trisomía libre comparten exactamente la misma alteración cromosómica, factores adicionales genéticos y epigenéticos, podrían contribuir al desarrollo de CC en este tipo de aberración cromosómica, que constituye la aneuploidía más frecuente en humanos. Al considerar la relevancia de los mecanismos epigenéticos en la regulación de la expresión génica durante el desarrollo embrionario y la evidencia creciente de la vinculación entre las alteraciones epigenéticas y las CC, investigadores españoles compararon los patrones de metilación del ácido desoxirribonucleico (ADN) en tejidos cardíacos de fetos con CC sindrómicas y no sindrómicas con muestras de ADN linfocitario de fetos controles, e identificaron una hipermetilación de varios sitios intragénicos del gen MSX1, relacionado con la morfogénesis del tracto de salida ventricular, en fetos con CC aisladas. Además detectaron un patrón anormal de metilación del gen GATA4 en todas las muestras de fetos con síndrome de Down, con y sin CC, por lo que los investigadores plantean que la desregulación de la metilación de GATA4 podría ser una consecuencia de la trisomía 21 que contribuiría al elevado riesgo

de CC observado en el síndrome de Down. Sin embargo, los niveles de metilación y expresión génica no difirieron entre los casos con síndrome de Down con y sin CC, lo que implica a otros factores modificadores, hasta el momento desconocidos en la penetrancia del gen que explicaría la expresividad variable en el endofenotipo cardiovascular del síndrome de Down³⁵.

En humanos se ha identificado también que pacientes con microdelección 4p33 (donde tiene su locus el gen HAND2) son susceptibles de presentar CC, incluyendo defectos septales ventriculares, tetralogía de Fallot, atresia pulmonar y coartación aórtica²⁰.

Las CC observadas en los defectos del gen TBX1 corresponden a defectos del cono de salida. Se involucra al SHF dentro de la patogenia, pues este gen regula la proliferación de estas células, destinadas a participar en la formación de dicho cono. Además, este gen es necesario para que las células que expresan NKX2-5 formen el septo aorto-pulmonar, que divide la aorta de la arteria pulmonar en el tronco de salida embrionario. Otro gen candidato para el fenotipo es Crkl, que codifica para una proteína adaptadora involucrada en procesos de señalización, y que ha sido implicado en CC en ratones, con el mismo fenotipo de las mutaciones en TBX1^{10,18}.

La ausencia de NKX2-5 impide la formación del asa y la diferenciación de los ventrículos. El modelo murino heterocigoto presenta defectos en los septos atriales y ventriculares, lo cual es compatible con el fenotipo humano de mutaciones en este gen. Más de 30 mutaciones se han identificado en el gen NKX2-5. Las mutaciones heterocigotas de NKX2-5 explican más o menos un 4% de todas las CC. Aunque los defectos del tabique interatrial son las más comunes, también está relacionado con defectos del tabique interventricular, malformaciones en la válvula tricúspide, tetralogía de Fallot, anomalía de Ebstein, entre otras. Las distintas manifestaciones fenotípicas relacionadas con este FT ratifican la multifuncionalidad que posee durante el desarrollo cardíaco^{11,23,36}.

Otros tipos y causas

El gen MYH6 es activado por los FT codificados por los genes GATA4 y TBX5, y ha sido relacionado con defectos del septo interventricular. El gen TBX20 fue relacionado con CC por primera vez en el año 2007. Este FT interactúa con los genes NKX2-5, GATA4 y TBX5, los cuales habían sido previamente asociados a CC. Mutaciones en la caja T (*T-box*) de este gen se asocian con distintas CC, como defectos de septa-

ción, valvulopatías y miocardiopatía dilatada en adultos^{11,13,14,18,21}.

Recientemente se ha encontrado relación entre mutaciones del gen GATA6 con defectos en el tracto de salida, específicamente, con la persistencia del conducto arterioso y la tetralogía de Fallot. GATA6 es un miembro de la familia GATA de FT, su expresión y función empalma frecuentemente con la de GATA4. Este último ya ha sido relacionado con distintas CC; sin embargo, el papel de GATA6 en estas CC apenas se está dilucidando, se conoce que este FT regula la expresión de los genes que codifican la proteína guía neurovascular Semaforina 3C y su receptor Plexina A2¹⁶.

El conducto arterioso es una estructura importante para la circulación fetal, que debe ocluirse y desaparecer poco tiempo después del nacimiento. El estudio molecular del síndrome Char, una alteración autosómica dominante caracterizada por persistencia del conducto arterioso, facies dismórfica y alteraciones digitales, permitió la identificación del gen TFAP2B en la base molecular de este síndrome. Este FT se expresa principalmente en células de la cresta neural, las cuales desempeñan un papel importante en la septación que se forma entre la aorta y la arteria pulmonar en el tracto primitivo común. Este hecho resalta el papel de estas células en el cierre del conducto arterioso. Además, también se han identificado mutaciones del gen que producen persistencia del conducto arterioso aislada, no sindrómica. El cofactor de TFAP2B, CITED-2, se ha asociado también a CC, principalmente con tetralogía de Fallot^{23,36}.

Los defectos obstructivos, tanto de la arteria aorta como de la pulmonar, varían en su intensidad y pueden llegar, en su peor extremo, a la hipoplasia ventricular. Al igual que otras CC, las primeras pistas sobre la etiología genética de este grupo de defectos congénitos se obtuvieron del estudio de síndromes genéticos que tuvieran el fenotipo buscado. El síndrome Williams se caracteriza, desde el punto de vista cardiovascular, por estenosis aórtica supra valvular y estenosis periférica de las arterias pulmonares, y tiene además varias características extravasculares, como discapacidad intelectual e hipercalcemia neonatal, entre otras. La microdelección en este síndrome, 7q11, conlleva a la haploinsuficiencia en el gen de la elastina (ELN), causante de los defectos congénitos vasculares; además, se han identificado mutaciones en el gen ALN en algunos casos esporádicos con estenosis supra valvular aórtica^{5,9,23}.

Otro mecanismo importante que condiciona obstrucción en la salida de la sangre es el engrosamiento de las válvulas semilunares, aórticas y pulmonares; lo que puede asociarse también a válvulas bicúspides. El patrón dismórfico del síndrome Noonan se caracteriza por baja talla, dismorfias faciales y CC, principalmente estenosis pulmonar asociada a una válvula pulmonar displásica; sin embargo, también se ha asociado a miocardiopatía dilatada y defecto del canal aurículo-ventricular. Se han encontrado mutaciones puntuales con ganancia de función en el gen PTPN11 en cerca del 50% de los pacientes con este síndrome monogénico. Este gen con locus en 12q24.1, codifica para una proteína no receptora tirosina fosfatasa. La importancia de este gen y los mecanismos que conducen a cardiopatía se han probado en modelos murinos, en los que su delección conduce a válvulas displásicas y bivalvas. El mecanismo parece ser la hiperproliferación de los cojines del tracto de salida, estructuras de las que derivan las válvulas arteriales. El producto proteico de PTPN11 (SPH 2) es esencial para la activación de la cascada Ras-Erk en la mayoría de los receptores tirosina quinasa (RTK)^{9,23}.

Los receptores con actividad RTK median las acciones de múltiples factores de crecimiento. Las mutaciones en los genes que codifican para estos receptores pueden resultar en una señal proliferativa en ausencia de un factor de crecimiento y provocar alteraciones en el desarrollo embrionario y la diferenciación celular, lo que resulta en CC. La desregulación de los procesos de proliferación y diferenciación celular puede tener también su origen en cambios en la expresión o actividad de proteínas citosólicas adaptadoras que conducen la señal de RTK. Las alteraciones en la familia de tirosina quinasas citosólicas tipo Src, generalmente por pérdida de alguno de sus mecanismos autoreguladores, son también muy importantes por sus repercusiones en el control del ciclo celular, la adhesión y supervivencia celulares, así como en la angiogénesis, por lo que están relacionados con defectos congénitos cardiovasculares¹².

Los mecanismos epigenéticos contribuyen a la regulación de múltiples procesos fisiológicos durante el desarrollo embrionario. Entre los diferentes mecanismos epigenéticos, las alteraciones en los patrones de metilación del ADN se han asociado a la presencia de defectos congénitos en humanos. El ácido fólico desempeña un rol crucial en el metabolismo monocarbonado para la síntesis de nucleótidos y aminoácidos, así como para la metilación del ADN,

que resulta esencial para la dinámica de los cambios conformacionales de la cromatina y la consecuente expresión génica. La disminución de los niveles de este ácido produce una disminución de los niveles de S adenosil metionina que conlleva a una insuficiente metilación del ADN, el cual es un importante mecanismo epigenético que regula la programación genómica durante la embriogénesis^{31,36}.

La posible contribución de las alteraciones en la metilación del ADN, en el origen de las CC, se ha explorado mediante el estudio de genes relacionados con la vía del folato. Así, se han identificado varios SNPs en el gen transportador de folatos (SLC19A1, del inglés: *Solute Carrier Family 19*) que se asocian significativamente con la presencia de CC en pacientes con síndrome Down. Este gen es un activador de la enzima ADN polimerasa y resulta esencial para la síntesis y reparación del ADN^{31-33,36}.

Como la suplementación periconcepcional con ácido fólico tiene un efecto protector durante el desarrollo del SHF, que resulta en una disminución de las CC conotruncales, en EEUU se realizó el mayor estudio de casos y controles de variantes genéticas en este tipo de CC³³. Los investigadores estudiaron la asociación entre los defectos cardíacos conotruncales y 921 SNP maternos y fetales en 60 genes involucrados en las vías del folato, la homocisteína y de transulfuración, así como el efecto del tratamiento con suplemento de ácido fólico sobre los SNP. Los resultados coincidieron con estudios previos que sugieren que los SNP en estas tres vías relacionadas con el metabolismo del ácido fólico se asocian con el riesgo de ocurrencia de las CC conotruncales; esta investigación concluyó, además, que el consumo de suplementos que contengan ácido fólico puede modificar el impacto de los SNP en el desarrollo cardíaco³³.

En el año 2014, Elsayed *et al*³⁷ estudiaron el genotipo de 61 madres egipcias con descendencia afectada por CC de tipo septal (25 con síndrome Down y 36 con CC aislada), e igual número de controles; el polimorfismo estudiado fue el MTHFR C677T, que resultó ser significativamente más frecuente en las madres de hijos con síndrome Down y defecto de septación atrioventricular, comparada con las madres del grupo control (OR 1,21; IC 95%: 1,02-1,43). Los resultados de esta investigación, según este mismo autor³⁷, coinciden con otra donde estudiaron este y otros polimorfismos de la MTHFR, en sugerir una posible contribución del metabolismo del ácido fólico en el desarrollo de las CC.

Se conoce que las CC no sindrómicas tienen una

etiología multifactorial, lo que ha motivado el estudio de múltiples genes «candidatos»; sin embargo, pocas investigaciones han explorado la expresión del patrón de metilación del ADN en el corazón fetal. Una comparación realizada entre este patrón global de metilación de 18 fetos afectados por CC sindrómicas y no sindrómicas, y del ADN leucocitario de 656 personas como grupo control, mostró una correlación absoluta con el tipo de tejido, con un significativo enriquecimiento diferencial de la metilación en los genes relacionados con la contracción muscular y en los miocardiocitos del corazón en desarrollo, y un patrón de metilación anormal del ADN de los tejidos cardíacos con CC sindrómicas y no sindrómicas. Fueron detectadas, como promedio, tres regiones con patrones de metilación aberrantes por muestra y 18 regiones con metilación diferenciada entre los grupos. De igual forma, se constató hipermetilación de varios sitios intragénicos de los genes MSX1 y GATA4, relacionados con la morfogénesis del tracto de salida, lo que indica que en el corazón en desarrollo están presentes alteraciones epigenéticas en genes relevantes, tanto en las CC sindrómicas como en las aisladas. Estas epimutaciones probablemente contribuyen a la patogénesis de estos defectos congénitos por efecto de una actuación *cis* sobre la expresión génica³⁵.

Así mismo se identificó un patrón anormal de metilación en los genes NKX2-5 y HAND1 en pacientes con tetralogía de Fallot y se observó que esta metilación anormal se correlacionó negativamente con la expresión de ARN de ambos genes en el tejido cardíaco. Esta evidencia sugiere que los cambios en los patrones de metilación del ADN pueden contribuir a desregulación negativa de la transcripción de estos genes durante el proceso de cardiogénesis³⁶.

Se ha comprobado que la vía de señalización celular Notch regula también la diferenciación celular del proepicardio y del mesodermo pericárdico adyacente, por lo que la inhibición de su expresión en el linaje epicárdico inhibe la formación de las arterias coronarias, reduce la proliferación de los cardiomiocitos y el grosor de la pared miocárdica. Mutaciones en el gen JAG1 (también conocido como JAGGED1) o la inhibición de la señalización Notch en el SHF provoca distintas CC, principalmente de la aorta y del tracto de salida ventricular. El gen JAG1 codifica para un ligando que se une al receptor Notch e 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, mientras que mutaciones en JAG1 y Notch 2 se relacionan con la aparición de la tetralogía de Fallot^{31,38}.

Una amplia variedad de síndromes malformativos en humanos resulta de una disrupción de la vía de señalización Notch, por ejemplo el síndrome Alagille, que es un desorden autosómico dominante que incluye en su fenotipo clínico CC del corazón derecho, desde estenosis moderada de la arteria pulmonar hasta tetralogía de Fallot, además de alteraciones extracardíacas como estenosis biliar. En sus bases moleculares se han identificado mutaciones puntuales o deleciones que comprendan el locus del gen JAG1 hasta en un 94% de los casos. También se han identificado mutaciones en JAG1 en pacientes con estenosis pulmonar y tetralogía de Fallot, sin otras alteraciones fenotípicas del síndrome. Las claves para interpretar los defectos congénitos secundarios a mutaciones en JAG1 empiezan a ser comprendidas e involucran al SHF^{23,31,32,38}.

Un grupo de investigadores estadounidenses²⁷ probaron, a través de experimentos en un modelo murino, que la ausencia del gen JAG1 origina diferentes tipos de CC, principalmente de la aorta y del tracto de salida. Los embriones de ratón en los que se interrumpió la vía mostraron disminución en la expresión de FGF8 y BMP4 que resultó en defectos en el desarrollo de tejidos vecinos al SHF, por ejemplo, defectos en la migración de las células de la cresta neural y en la transición endotelio-mesénquima en los cojinetes endocárdicos del tracto de salida. Este último defecto se revirtió *in vitro* con aumento exógeno de FGF8. De este modo se propone un modelo que relaciona la función de JAG1 dentro del SHF y su repercusión en la migración de células de la cresta neural y desarrollo de los cojinetes endocárdicos²⁷.

Se ha comprobado la importancia de las células de la cresta neural en la formación de las válvulas semilunares y el músculo liso de la aorta ascendente, con las repercusiones que su alteración conlleva: defectos valvulares, estenosis aórtica, aneurismas y disecciones. De este modo, la interacción de diferentes factores celulares y moleculares, especialmente la vía de señalización celular Notch, convergen para integrar adecuadamente el tracto de salida. Esta es materia reciente y de pleno desarrollo investigativo²³. Al mismo tiempo, algunos investigadores han constatado que otra vía de señalización, la Nodal/TGF, juega también un papel fundamental en la embriogénesis cardíaca, en la angiogénesis y en la

organización de la pared aórtica, ya que en modelos animales, cuando se originan mutaciones en genes que participan en esta vía, ocurren defectos morfológicos cardiovasculares³⁹.

Mutaciones puntuales en el gen FBN1, que codifica para la fibrilina 1, con locus génico en 15q15-21, originan todas las manifestaciones pleiotrópicas propias del síndrome Marfán, entre las que se describen defectos valvulares y dilataciones aneurismáticas de la aorta. La fibrilina es una glicoproteína, que inicialmente se describió como una proteína estructural, que forma parte de microfibrillas extracelulares que son el principal componente de las fibras elásticas; sin embargo, en la actualidad se conoce que también son un importante regulador negativo de la vía de señalización TGFB, y precisamente, la sobreexpresión de esta vía de señalización intercelular es parcialmente responsable de las alteraciones cardiovasculares que forman parte del fenotipo cardiovascular de este trastorno del tejido conectivo, transmitido con un patrón de herencia autosómico dominante^{5,9,23}.

Simetría orgánica

Situs es el término para definir la posición de los órganos en tórax y abdomen. El *situs inverso* o *heterotaxia visceral* es uno de los defectos congénitos más complejos. Constituye un síndrome caracterizado por una alteración grave del patrón de simetría derecha-izquierda y de la relación espacial de los órganos. Durante el desarrollo, el corazón es el primer órgano que distorsiona la simetría bilateral del embrión en formación¹².

Estudios en varias especies han permitido el descubrimiento de más de 80 genes que regulan la simetría derecha-izquierda y proveen una base en la cual considerar los defectos de simetría lateral. En embriones de pollo la expresión asimétrica de la proteína Shh lleva a la expresión de dos miembros de la vía de señalización Nodal/TGF, Nodal y LEFTY en la placa mesodérmica izquierda. La expresión del gen Nodal en el lado izquierdo del embrión en desarrollo induce la torsión y rotación a la derecha del tubo cardíaco. En el mesodermo lateral derecho una vía de señalización mediada por un receptor de activina inhibe la expresión Nodal y de Shh. Las vías de señalización de la activina y Nodal resultan en la expresión final del FT Pitx2, en el lado izquierdo de los órganos viscerales, lo cual es suficiente para el establecimiento de la asimetría derecha-izquierda en el corazón, pulmones e intestino en desarrollo²³.

Síndrome de QT largo congénito

Por último, se hará referencia a las bases moleculares de una de las canalopatías cardíacas congénitas: el síndrome de QT largo (SQTL)⁴⁰. Este trastorno primario de la repolarización cardíaca se caracteriza por una grave alteración en la repolarización ventricular, traducida electrocardiográficamente por un alargamiento en el intervalo QT corregido (QTc) por fórmula de Bazett ($QTc = QT/\sqrt{R}$) ≥ 460 ms, que predispone a muerte súbita por arritmia del tipo de la torsión de puntas (*torsades de pointes*)⁴¹. Se reconocen varios tipos de SQTL; sin embargo, las canalopatías arritmogénicas congénitas de este tipo que mejor han sido estudiadas hasta la fecha son el síndrome Jervell y Lange-Nielsen (que se transmite con un patrón de herencia autosómico recesivo e incluye en su fenotipo clínico la presencia de sordera neurosensorial congénita, debido a mutaciones homocigotas) y el síndrome Romano-Ward, que es la forma más común, con herencia autosómica dominante, expresividad variable y penetrancia reducida, debido a mutaciones generalmente heterocigotas⁴⁰⁻⁴².

El SQTL presenta una gran heterogeneidad genética alélica y no alélica, pues se han identificado ya a nivel molecular más de 500 mutaciones en al menos 17 genes con diferentes *loci*, entre ellos se describen: KCNQ1 (11p15.5), HERG (7q35-36), SCN5A (3p21-24), KCNE1 (21q22.1), KCNE2 (21q22.1), ANKB (4q25-27), KCNJ2 (17p23), CACNA1 (12p13.3), CAV3 (3p25), SCN4B (11p23), entre otros, que en su mayoría codifican para las diferentes subunidades formadoras de poros de los canales iónicos que generan el potencial de acción transmembrana. Mientras que el gen ANKB codifica para la anquirina- β , una proteína estructural que vincula proteínas de la membrana del miocardiocito con proteínas del citoesqueleto y cuyas mutaciones resultan en un incremento de la concentración de calcio intracelular que da lugar a posdespolarizaciones tempranas y tardías²⁸⁻³⁰.

Se han descrito cientos de SNP en estos genes, como el K897T en HERG, que no solo se ha asociado con un incremento de la susceptibilidad individual para desarrollar arritmias ante el uso de determinados fármacos, sino que también favorece el efecto patogénico de mutaciones en este mismo gen. La variante polimórfica R1193Q en el gen SCN5A se considera un polimorfismo común en poblaciones asiáticas y se ha relacionado tanto con el SQTL como con el síndrome de Brugada. Otro polimorfismo en ese mismo gen, el S1103Y, se ha asociado con un

aumento del riesgo de muerte súbita en la infancia^{29,30}.

El conocimiento de las bases moleculares de estas canalopatías ha permitido optimizar el tratamiento y mejorar la supervivencia de las personas afectadas, al generar así una importante correlación genotipo-fenotipo-tratamiento farmacológico, y un mayor nivel de información que favorece el proceso de asesoramiento genético en estos casos.

CONCLUSIONES

La cardiogénesis es un complejo y dinámico proceso que requiere una cooperación espacio-temporal exacta de múltiples genes que codifican factores de transcripción y de crecimiento específicos, morfógenos, vías de señalización intercelular, proteínas estructurales y canales iónicos. Diferentes factores genéticos y epigenéticos pueden alterar estos mecanismos moleculares y celulares, y generar un amplio espectro fenotípico de cardiopatías congénitas. El conocimiento de las bases moleculares y celulares de estas cardiopatías permite una clasificación más efectiva de estos defectos congénitos y una futura optimización del tratamiento individualizado para cada paciente, además de ofrecer posibles puntos específicos y susceptibles de intervención que posibilitarían la prevención de algunos de estos defectos congénitos más frecuentes en humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Taboada Lugo N. Avances en el conocimiento de las bases moleculares y celulares de las cardiopatías congénitas. Parte 1 de 2: Morfogénesis cardíaca. CorSalud [Internet]. 2019 [citado 18 Dic 2019];11(3):233-40. Disponible en: <http://www.revcorsalud.sld.cu/index.php/cors/article/view/350/916>
2. Postma AV, Bezzina CR, Christoffels VM. Genetics of congenital heart disease: The contribution of the noncoding regulatory genome. J Hum Genet. 2016;61(1):13-9.
3. Lalani SR, Belmont JW. Genetic basis of congenital cardiovascular malformations. Eur J Med Genet. 2014;57(8):402-13.
4. Edwards JJ, Gelb BD. Genetics of congenital heart disease. Curr Opin Cardiol. 2016;31(3):235-41.
5. Sifrim A, Hitz MP, Wilsdon A, Breckpot J, Turki SH, Thienpont B, *et al*. Distinct genetic architec-

- tures for syndromic and nonsyndromic congenital heart defects identified by exome sequencing. *Nat Genet.* 2016;48(9):1060-5.
6. Pawlak M, Niescierowicz K, Winata CL. Decoding the heart through next generation sequencing approaches. *Genes (Basel)* [Internet]. 2018 [citado 6 Oct 2018];9(6):289. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2073-4425/9/6/289/htm>
 7. LaHaye S, Corsmeier D, Basu M, Bowman JL, Fitzgerald-Butt S, Zender G, *et al.* Utilization of whole exome sequencing to identify causative mutations in familial congenital heart disease. *Circ Cardiovasc Genet.* 2016;9(4):320-9.
 8. Bouma BJ, Mulder BJ. Changing landscape of congenital heart disease. *Circ Res.* 2017;120(6):908-22.
 9. Calcagni G, Unolt M, Digilio MC, Baban A, Versacci P, Tartaglia M, *et al.* Congenital heart disease and genetic syndromes: New insights into molecular mechanisms. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017;17(9):861-70.
 10. Li F, Zhou J, Zhao DD, Yan P, Li X, Han Y, *et al.* Characterization of SMAD3 gene variants for possible roles in ventricular septal defects and other congenital heart diseases. *PLoS ONE* [Internet]. 2015 [citado 10 Oct 2018];10(6):e0131542. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0131542>
 11. Cao Y, Wang J, Wei C, Hou Z, Li Y, Zou H, *et al.* Genetic variations of NKX2-5 in sporadic atrial septal defect and ventricular septal defect in Chinese Yunnan population. *Gene.* 2016;575(1):29-33.
 12. Moore KL, Persaud TVN. *Aparato Cardiovascular.* En: *Embriología Clínica.* 8ª ed. Barcelona: Elsevier; 2011. p. 286-336.
 13. Han H, Chen Y, Liu G, Han Z, Zhao Z, Tang Y. GATA4 transgenic mice as an in vivo model of congenital heart disease. *Int J Mol Med.* 2015;35(6):1545-53.
 14. Pan Y, Wang ZG, Liu XY, Zhao H, Zhou N, Zheng GF, *et al.* A novel TBX1 loss-of-function mutation associated with congenital heart disease. *Pediatr Cardiol.* 2015;36(7):1400-10.
 15. Shi LM, Tao JW, Qiu XB, Wang J, Yuan F, Xu L, *et al.* GATA5 loss-of-function mutations associated with congenital bicuspid aortic valve. *Int J Mol Med.* 2014;33(5):1219-26.
 16. Wang X, Ji W, Wang J, Zhao P, Guo Y, Xu R, *et al.* Identification of two novel GATA6 mutations in patients with nonsyndromic conotruncal heart defects. *Mol Med Rep.* 2014;10(2):743-8.
 17. Al-Qattan MM, Abou Al-Shaar H. Molecular basis of the clinical features of Holt-Oram syndrome resulting from missense and extended protein mutations of the TBX5 gene as well as TBX5 intragenic duplications. *Gene.* 2015;560(2):129-36.
 18. Zhang M, Li X, Liu XY, Hou JY, Ni SH, Wang J, *et al.* TBX1 loss-of-function mutation contributes to congenital conotruncal defects. *Exp Ther Med.* 2018;15(1):447-53.
 19. Qu XK, Qiu XB, Yuan F, Wang J, Zhao CM, Liu XY, *et al.* A novel NKX2.5 loss-of-function mutation associated with congenital bicuspid aortic valve. *Am J Cardiol.* 2014;114(12):1891-5.
 20. Zheng J, Li F, Liu J, Xu Z, Zhang H, Fu Q, *et al.* Investigation of somatic NKX2-5 mutations in Chinese children with congenital heart disease. *Int J Med Sci.* 2015;12(7):538-43.
 21. Huang RT, Wang J, Xue S, Qiu XB, Shi HY, Li RG, *et al.* TBX20 loss-of-function mutation responsible for familial tetralogy of Fallot or sporadic persistent truncus arteriosus. *Int J Med Sci.* 2017;14(4):323-32.
 22. Wang J, Mao JH, Ding KK, Xu WJ, Liu XY, Qiu XB, *et al.* A novel NKX2.6 mutation associated with congenital ventricular septal defect. *Pediatr Cardiol.* 2015;36(3):646-56.
 23. Monroy-Muñoz IE, Pérez-Hernández N, Vargas-Alarcón G, Ortiz-San Juan G, Buendía-Hernández A, Calderón-Colmenero J, *et al.* Cambiando el paradigma en las cardiopatías congénitas: de la anatomía a la etiología molecular. *Gac Méd Mex.* 2013;149(2):212-9.
 24. Zhang W, Shen L, Deng Z, Ding Y, Mo X, Xu Z, *et al.* Novel missense variants of ZFPM2/FOG2 identified in conotruncal heart defect patients do not impair interaction with GATA4. *PLoS One* [Internet]. 2014 [citado 6 Ene 2019];9(7):e102379. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0102379>
 25. Liu AP, Chow PC, Lee PP, Mok GT, Tang WF, Lau ET, *et al.* Under-recognition of 22q11.2 deletion in adult Chinese patients with conotruncal anomalies: implications in transitional care. *Eur J Med Genet.* 2014;57(6):306-11.
 26. Chen M, Yang YS, Shih JC, Lin WH, Lee DJ, Lin YS, *et al.* Microdeletions/duplications involving TBX1 gene in fetuses with conotruncal heart defects which are negative for 22q11.2 deletion on fluorescence in-situ hybridization. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;43(4):396-403.
 27. High FA, Jain R, Stoller JZ, Antonucci NB, Lu MM,

- Loomes KM, *et al.* Murine Jagged1/Notch signaling in the second heart field orchestrates Fgf8 expression and tissue-tissue interactions during outflow tract development. *J Clin Invest.* 2009;119(7):1986-96.
28. Chen XM, Guo K, Li H, Lu QF, Yang C, Yu Y, *et al.* A novel mutation KCNQ1p.Thr312del is responsible for long QT syndrome type 1. *Heart Vessels.* 2019;34(1):177-88.
29. Matsusue A, Yuasa I, Umetsu K, Nakayashiki N, Dewa K, Nishimukai H, *et al.* The global distribution of the p.R1193Q polymorphism in the SCN5A gene. *Leg Med (Tokyo).* 2016;19:72-6.
30. Oshima Y, Yamamoto T, Ishikawa T, Mishima H, Matsusue A, Umehara T, *et al.* Postmortem genetic analysis of sudden unexpected death in infancy: neonatal genetic screening may enable the prevention of sudden infant death. *J Hum Genet.* 2017;62(11):989-95.
31. Taboada Lugo N, Herrera Martínez M. Mecanismos epigénéticos y vía de señalización Notch en el origen de diferentes defectos congénitos. *Medicentro [Internet].* 2018 [citado 9 Oct 2018];22(3):197-207. Disponible en: <http://medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/2645/2213>
32. Chen H, VanBuren V. A provisional gene regulatory atlas for mouse heart development. *PLoS ONE [Internet].* 2014 [citado 9 Oct 2018];9(1):e83364. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0083364>
33. Hobbs CA, Cleves MA, MacLeod SL, Erickson SW, Tang X, Li J, *et al.* Conotruncal heart defects and common variants in maternal and fetal genes in folate, homocysteine, and transsulfuration pathways. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2014;100(2):116-26.
34. Taboada Lugo N. Papel del ácido fólico, zinc y cobre en la prevención primaria de los defectos congénitos. *Rev Cuban Med Gen Integr [Internet].* 2016 [citado 6 Oct 2018];32(4). Disponible en: <http://www.revmgj.sld.cu/index.php/mgi/article/view/167/110>
35. Serra-Juhé C, Cuscó I, Homs A, Flores R, Torán N, Pérez-Jurado LA. DNA methylation abnormalities in congenital heart disease. *Epigenetics.* 2015;10(2):167-77.
36. Vecoli C, Pulignani S, Foffa I, Andreassi MG. Congenital heart disease: The crossroads of genetics, epigenetics and environment. *Curr Genomics.* 2014;15(5):390-9.
37. Elsayed GM, Elsayed SM, Ezz-Elarab SS. Maternal MTHFR C677T genotype and septal defects in offspring with Down syndrome: A pilot study. *Egypt J Med Hum Genet.* 2014;15(1):39-44.
38. Kerstjens-Frederikse WS, van de Laar IM, Vos YJ, Verhagen JM, Berger RM, Lichtenbelt KD, *et al.* Cardiovascular malformations caused by NOTCH1 mutations do not keep left: data on 428 probands with left-sided CHD and their families. *Genet Med.* 2016;18(9):914-23.
39. Deng X, Zhou J, Li FF, Yan P, Zhao EY, Hao L, *et al.* Characterization of nodal/TGF-lefty signaling pathway gene variants for possible roles in congenital heart diseases. *PLoS One [Internet].* 2014 [citado 9 Oct 2018];9(8):e104535. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4128709/pdf/pone.0104535.pdf>
40. Bohnen MS, Peng G, Robey SH, Terrenoire C, Iyer V, Sampson KJ, *et al.* Molecular pathophysiology of congenital long QT syndrome. *Physiol Rev.* 2017;97(1):89-134.
41. El-Sherif N, Turitto G, Boutjdir M. Congenital Long QT syndrome and torsade de pointes. *Ann Noninvasive Electrocardiol [Internet].* 2017 [citado 10 Ene 2019];22(6):e12481. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/anec.12481>
42. Horie M. Extensive diversity of molecular mechanisms underlying the congenital long QT syndrome type 1. *Can J Cardiol.* 2018;34(9):1108-9.