

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:
noeltl@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 conotruncos (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 extremidades¹³⁻²². 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 microdeleción 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 deleción 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-avalvular 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-avalvular 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.revmgisld.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- β 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.

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

Noel Taboada Lugo✉, MD, MSc.

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

Este artículo también está disponible en español

ARTICLE INFORMATION

Received: January 14, 2019

Accepted: February 21, 2019

Competing interests

The authors declare no competing interests

Abbreviations

CHD: congenital heart defect

FGF: fibroblast growth factor

SNP: single nucleotide polymorphism

TF: transcription factors

TGF: transforming growth factor

VSD: ventricular septal defect

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

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

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

INTRODUCTION

In the first part we have already commented that there is no exact genotype-phenotype correlation between the molecular mechanisms and the morphological defects of congenital heart defects¹, so it is possible that different pathways and gene mutations may be involved in the same congenital defect, or that due to the pleiotropic effect of mutations in one of the critical genes during the process of cardiogenesis, different types of congenital heart defects (CHD) may eventually arise.

Although CHD are a frequent cause of morbidity and mortality world-

✉ N Taboada Lugo
Calle Ira e/ A y B
Reperto Escambray
Santa Clara, Villa Clara, Cuba.
E-mail address:
noeltl@infomed.sld.cu

wide, the basic genetic and molecular mechanisms underlying CHD remain largely unidentified^{2,3}. In recent decades the major advances made in molecular genetic technology have begun to be applied to the field of pediatric cardiology, allowing the identification of many genes involved in primary etiology or which are significant risk factors in the development of congenital heart defects²⁻⁷.

To date, there is evidence of mutations in more than 60 genes that are related to the appearance of different types of CHD. Among these, those coding for TF involved in the process of cardiogenesis are the most frequently associated with CHD, which demonstrates the crucial role played by the aforementioned TFs in the process of cardiac morphogenesis and in the origin of this type of heart disease^{2,4,8,9}.

Researchers from Harbin Medical University in the People's Republic of China have recently identified two single nucleotide polymorphisms (SNP) in the LEFTY2 gene (rs2295418 and rs360057), significantly associated with the risk of presenting CHD. The LEFTY gene is an important transforming growth factor which functions as a negative regulator of the Nodal/TGF signaling pathway that inhibits the proliferation and differentiation of embryonic pluripotent cells into cardiomyocytes, resulting in different types of CHD¹⁰.

MOLECULAR AND CELLULAR BASES OF CONGENITAL HEART DEFECTS

Septal defects

Septal defects are the most common type of CHD and account for 50% of them. They are classified, according to the chambers they divide, into inter-ventricular, interatrial and atrioventricular. The clinical importance lies in the possible consequences of these communications, such as increased pulmonary flow with consequent damage to the vasculature at that level, atrial growth with increased risk of arrhythmias and ventricular growth due to increased blood volumes^{11,12}.

Whether in animal models or in the study of affected families, several molecular aspects in septal defects provide information that coincide in pointing out specific genes. Currently, the knowledge of the importance of the TF NKX2-5, NKX2-6, TBX1, TBX5, TBX20, HAND2, GATA4, GATA5 and GATA6 in this

group of CHD is quite remarkable. These TFs, which begin to be expressed early in cardiac lineage cells, also regulate the expression of contractile protein genes in cardiomyocytes. In late stages of cardiac development, mutations in each of these genes result in severe congenital heart defects such as conotruncal heart malformations (NKX2-5, TBX1, TBX20 and GATA6), bicuspid aortic valve (GATA5 and NKX2-5), atrial and ventricular septal defects (NKX2-5, NKX2-6, TBX1, TBX5), TBX20, GATA4, GATA6), conduction defects (NKX2-5), right ventricular hypoplasia (HAND2), tricuspid atresia and Ebstein's anomaly (NKX2-5), and among the syndromic causes the Holt-Oram syndrome (TBX5), which in its clinical phenotype includes -in addition to CHD- reductive limb defects¹³⁻²². The **table** describes a group of genes and their distribution according to the specific type of CHD in which they are involved^{4,9,11,13,21-30}.

Different studies have linked CHD to the presence of mutations in genes belonging to the GATA family of TF, with "zinc finger" motifs. Sporadic and family case studies provide further evidence of the role that the GATA4 gene plays in the process of atrial septation by inducing- in a mouse model-the G295S and M310V mutations in the human-like GATA4 gene for atrial septal defects in both cases^{7,13-16}.

Likewise, in order to validate the possible association of the SMAD3 gene with ventricular septal defects, Chinese researchers analyzed the transcribed region and splice sites of this gene in 176 patients with ventricular septal defect (VSD) and compared it with 456 controls. They found that the polymorphic variant rs2289263, located before the 5' untranslated region (5' UTR), was significantly associated with the risk of VSD¹⁰.

Other studies in mouse models have allowed the identification of mutations in genes involved in the Notch signaling pathway (which are part of a gene family that encodes transmembrane and ligand receptors involved in the decisions that mark the fate of a cell) and may play a crucial role in ventricular septation. In the mouse, transgenic inactivation of the basic helix-loop TF gene, Chf1/Hey2, which acts as a nuclear effector of Notch signaling, results in an IVC-type septal defect^{31,32}.

Specific mutations of many other genes involved in signaling pathways in animal models that produce VSD have so far been described. A partial list of these alterations includes mutations in the retinoic acid receptor X (RXR) gene, which encodes for neurofibromin, the cause of neurofibromatosis type 1,

Table. Genes involved in some specific types of congenital heart defects^{4,9,11,13,21-30}.

Tipos de cardiopatías congénitas	Genes
Atrial septal defects	NKX2-5, GATA4, TBX20, MYH6, TBX5, CITED2, GATA6
Ventricular septal defects	NKX2.5, GATA4, TBX20, TBX1, TBX5, CITED2, IRX4
Atrioventricular septal defects	TBX5, NKX2-5, CRELD1, PTPN11, KRAS, SOS1, RAF1, GATA4, GATA6
Tetralogy of Fallot	NKX2.5, NOTCH1, TBX1, JAG1, NOTCH2, GATA6, TBX20, CITED2, FOXP1, HAND2, ZFPM2
Persistent ductus arteriosus	TFAP2B, TBX20
Transposition of the great vessels	NKX2.5, THRAP2, ZIC3
Aortic valve stenosis	NOTCH1, PTPN11
Pulmonary valve stenosis	JAG1, NOTCH2, PTPN11
Persistent truncus arteriosus	2TBX1, Crkl2, GATA6, NKX2-6
Double outlet right ventricle	NKX2-5, ZFPM2
Left ventricular hypoplasia	TBX20, NOTCH1
Tricuspid atresia	HEY2, NKX2.5
Ebstein's anomaly	NKX2.5
Interrupted aortic arch	TBX1, NKX2.5
Anomalous pulmonary vein connection	TBX20
Aortic coarctation	NOTCH1, PTPN11

PAX3 and $\text{eTGF}\beta 2$, all of which lead to VSD, although the etiology is unlikely to be related in each case.

Defects in the RXR gene could be basically related to an epicardial alteration in the trophic signaling required for subsequent proliferation of cardiomyocytes and ventricular morphogenesis. The heart defects that may be part of the clinical phenotype of neurofibromatosis type 1 are thought to be primarily related to the role of neurofibromin in endocardial cells, as indicated by the presence of heart defects in the specific endothelial inactivation of this neurofibromatosis. The PAX3 gene is expressed and involved in the migration of the neural crest. Thus, there are several mechanisms of multiple cell types that can converge to give rise to a phenotype that includes the VSD²³.

Congenital conotruncal heart defects

Conotruncal CHD, on the other hand, comprise a subgroup of congenital malformations of the outflow tract of the heart and the great arteries, including: persistent ductus arteriosus, interrupted aortic arch, transposition of the great vessels, double outlet of

the right ventricle, conoventricular septal defects, tetralogy of Fallot and pulmonary atresia with VSD. All these congenital malformations share a common embryological and structural origin, since they are derived from the heart cells of the neural crest and the SHF (second heart field). Congenital conotruncal defects represent approximately 20-30% of all types of CHD in humans^{24,33}.

The genetic etiology of some of these CHDs began to be glimpsed when studying the 22q11.2 microdeletion syndrome, which originates a partial monosomy of the long arm of chromosome 22, which includes the DiGeorge/Velocardiofacial/Conotruncal-face anomaly syndromes. This is the most common type of deletion and also the second most common cause of CHD associated with syndromes, after trisomy²¹. This syndrome of contiguous genes is phenotypically characterized by malformations associated with defects in the fourth gill arch and the third and fourth pharyngeal sacs, which contribute to the formation of the thymus, parathyroid and heart. Among the CHD, the most common is the persistence of the truncus arteriosus (incomplete or failed septation of the embryonic truncus arteriosus into aorta and pulmonary artery), but it also includes tetralogy of Fallot, interrupted aortic arch and dou-

ble ventricular outflow²⁵.

The deletion comprises nearly 3 Mb and contains 30 genes, including CRKL, TBX1, TXNRD2 and GP1BB, which are expressed in the pharyngeal arches. This chromosomal microdeletion is responsible for approximately 12% of cases with conotruncal CHD^{24-26,33}.

Cardiovascular endophenotype in Down's syndrome

The most frequent genetic cause of syndromic CHD is Down's syndrome or trisomy 21. Approximately 50% of cases with Down or trisomy have one or more congenital heart defects, often affecting structures derived from endocardial bearings, such as atrioventricular and valvular septal defects. This aneuploidy is known to cause CHD but the underlying molecular mechanisms are not fully elucidated as yet, although they do appear to be related to deregulation in the expression of multiple genes with loci in HSA21 (Homo Sapiens Autosome 21)³⁴.

Since all cases of free trisomy Down's syndrome share exactly the same chromosomal abnormality, some additional genetic and epigenetic factors may contribute to the development of CHD in this type of chromosomal aberration, which is the most common aneuploidy in humans. When considering the relevance of epigenetic mechanisms in the regulation of gene expression during embryonic development and the increasing evidence of the link between epigenetic alterations and CHD, Spanish researchers compared the methylation patterns of deoxyribonucleic acid (DNA) in cardiac tissues of syndromic and non-syndromic CHD fetuses with lymphocyte DNA samples from control fetuses and identified a hypermethylation of several intragenic sites of the MSX1 gene, related to ventricular outflow tract morphogenesis, in fetuses with isolated CHD. Similarly, they also found an abnormal DNA methylation of the GATA4 gene in all samples of fetuses with Down's syndrome, with and without CHD. Therefore, the researchers argue that deregulation of GATA4 methylation could be a consequence of trisomy 21 that may contribute to the increased risk of CHD observed in Down's syndrome. However, the levels of methylation and gene expression did not differ between the cases with Down's syndrome with and without CHD, which implies other, hitherto unknown, modifying factors in gene penetrance that would explain the variable expressiveness in the

cardiovascular endophenotype of Down's syndrome³⁵.

Human patients with 4p33 microdeletion (containing the HAND2 locus) have also been identified as susceptible to presenting CHD, including ventricular septal defects, tetralogy of Fallot, pulmonary atresia and aortic coarctation²⁰.

The CHD observed in the TBX1 gene defects correspond to outflow tract anomalies. The SHF gene is known to be involved in the pathogenesis, since it regulates the proliferation of these cells, which are destined to participate in the formation of the outflow tract. In addition, this gene is necessary for the cells that express NKX2-5 in order to form the aortopulmonary septum, which is responsible for dividing the aorta from the pulmonary artery in the embryonic outflow tract. Another candidate for the phenotype is the Crkl gene, which encodes for an adaptive protein involved in signaling processes, and which has been implicated in CHD in mice, with the same phenotype as the mutations in TBX1¹⁸.

The absence of NKX2-5 prevents the formation of the loop and the differentiation of the ventricles. The heterozygous mouse model show defects in the atrial and ventricular septa, which is compatible with the human phenotype of mutations in this gene. More than 30 mutations have been identified in the NKX2-5 gene. Heterozygous mutations of NKX2-5 are explanatory for nearly 4% of all CHD. Although interatrial septal defects are the most common, it is also related to interventricular septal defects, tricuspid valve malformations, tetralogy of Fallot, Ebstein's anomaly, among others. The different phenotypical manifestations related to this TF ratify its multifunctionality during cardiac development^{11,23,36}.

Other types and causes

The MYH6 gene is activated by the TFs encoded by the GATA4 and TBX5 genes, and it has been related to interventricular septal defects. The gene TBX20 was linked to CHDs for the first time in 2007. This TF interacts with the genes NKX2-5, GATA4 and TBX5, which had previously been associated with CHD. Mutations in the T-box of this gene are associated with different CHDs, including septal defects, valve diseases and dilated cardiomyopathy in adults^{11,13,14,18,21}.

Recently, a link was found between GATA6 gene mutations with defects in the outflow tract, specifically with the persistent ductus arteriosus and te-

tralogy of Fallot. GATA6 is a member of the GATA-binding protein family. Its expression and function regularly overlaps that of GATA4. The latter has already been related to different CHD; however, the role of GATA6 in these CHD is just beginning to be explained; it is known so far that this TF regulates the expression of the genes encoding the neurovascular guide protein Semaphorin 3C and its receptor Plexin A2¹⁶.

The ductus arteriosus is an extremely important structure for fetal circulation that must be occluded and disappear shortly after birth. The molecular study of Char syndrome, an autosomal dominant disorder characterized by persistent ductus arteriosus, dysmorphic facies and digital abnormalities, allowed for the identification of the TFAP2B gene at the molecular basis of this syndrome. This TF is expressed mainly in neural crest cells, which play an important role in the septation that originates between the aorta and the pulmonary artery in the common primordial tract; which actually highlights the role of these cells in the closure of the ductus arteriosus. In addition, gene mutations have also been identified that produce non-syndromic isolated ductus arteriosus persistence. The TFAP2B cofactor, CITED-2, has also been associated with CHD, mainly with tetralogy of Fallot^{23,36}.

Obstructive defects, whether in the aorta or the pulmonary artery, vary in intensity and may lead, at their worst, to ventricular hypoplasia. Like other CHD, the first clues about the genetic etiology of this group of congenital defects were obtained from the study of genetic syndromes that had the desired phenotype. Williams syndrome is characterized, from the cardiovascular point of view, by supravalvular aortic stenosis and peripheral stenosis of the pulmonary arteries, and also has several extravascular characteristics, such as intellectual disability and neonatal hypercalcemia, among others. Microdeletion in this syndrome, 7q11, leads to haploinsufficiency in the elastin gene (ELN), which causes vascular congenital defects. Furthermore, mutations in the ALN gene have been identified in some sporadic cases with supravalvular aortic stenosis^{5,9,23}.

Another essential mechanism that leads to obstructed blood outflow is the thickening of the semilunar, aortic and pulmonary valves; which can also be associated with bicuspid valves. The dysmorphic pattern of Noonan syndrome is characterized by short stature, facial dysmorphism and CHD, mainly pulmonary stenosis associated with a dysplastic pulmonary valve; however, it has also been associ-

ated with dilated cardiomyopathy and atrioventricular canal defect. Point mutations with gain of function in PTPN11 have been found in at least 50% of patients with this monogenic syndrome. This gene, with 12q24.1 locus, encodes for a non-tyrosine phosphatase receptor protein. The relevance of this gene and the mechanisms that lead to heart disease have been tested in mouse models, in which its deletion leads to dysplastic and bivalve valves. The mechanism seems to be the hyperproliferation of the outflow tract cushions, structures from which arterial valves derive. The protein product of PTPN11 (SPH 2) is essential for the activation of the Ras-Erk cascade in most tyrosine kinase (RTK) receptors^{9,23}.

Receptors with RTK activity mediate the actions of multiple growth factors. Mutations in the genes that code for these receptors can result in a proliferative signal in the absence of a growth factor and trigger alterations in embryonic development and cell differentiation, resulting in CHD. Deregulation of cell proliferation and differentiation processes may also be caused by changes in the expression or activity of cytosolic adaptive proteins that carry the RTK signal. Alterations in the Src family of cytosolic tyrosine kinases, generally due to the loss of some of their self-regulatory mechanisms, are also far-reaching due to their repercussions on cell cycle control, cell adhesion and survival, as well as angiogenesis, and are therefore related to congenital cardiovascular defects¹².

Epigenetic mechanisms contribute to the regulation of several physiological processes during embryonic development. Among the different epigenetic mechanisms, alterations in the patterns of DNA methylation have been associated with the presence of congenital defects in humans. Folic acid plays a crucial role in monocarbon metabolism for the synthesis of nucleotides and amino acids, as well as for DNA methylation, which is essential for the dynamics of conformational changes in chromatin and the subsequent gene expression. Decreased levels of this acid produce reduced levels of S adenosyl methionine leading to insufficient DNA methylation, which is an important epigenetic mechanism regulating genomic programming during embryogenesis^{31,36}.

The possible contribution of alterations in DNA methylation to the origin of CHD has been explored through the study of genes related to the folate pathway. Thus, several SNPs have been identified in the folate transporter gene SLC19A1 (Solute Carrier Family 19 Member 1) that are significantly associat-

ed with the presence of CHD in patients with Down's syndrome. This gene is an activator of the enzyme DNA polymerase and is essential for the synthesis and repair of DNA^{31-33,36}.

Since periconceptional supplementation with folate has a protective effect during the development of SHF, resulting in a decrease in conotruncal CHD, The US conducted the largest case-control study of genetic variants in this type of CHD³³. The researchers studied the association between conotruncal heart defects and 921 maternal and fetal SNPs in 60 genes involved in the folate, homocysteine and transsulphuration pathways, as well as the effect of folic acid supplementation treatment on SNPs. The results obtained were consistent with previous studies suggesting that SNPs in these three pathways related to folic acid metabolism are associated with the risk of conotruncal DCs; this research also concluded that the consumption of supplements containing folic acid could produce changes in the impact of SNPs on cardiac development³³.

In 2014, Elsayed *et al*³⁷ studied the genotype of 61 Egyptian mothers with offspring affected by septal type CHD (25 with Down's syndrome and 36 with isolated CHD) and an equal number of controls. The polymorphism studied was MTHFR C677T, which proved to be significantly more frequent in mothers of children with Down's syndrome and atrioventricular septal defect, compared with mothers in the control group (OR 1.21, 95% CI 1.02-1.43). The results of this research, according to this same author³⁷, coincide with another where the same and other MTHFR polymorphisms were studied, in suggesting a possible contribution of folic acid metabolism in the development of CHD.

Non-syndromic CHDs are known to have a multifactorial etiology which has led to the study of multiple "candidate" genes; however, little research has explored the expression of the pattern of DNA methylation in the fetal heart. A comparison of this overall pattern of methylation in 18 syndromic and non-syndromic CHD-affected fetuses and the leukocyte DNA of 656 individuals as a control group showed an absolute correlation with tissue type, with significant differential methylation enrichment in genes related to muscle contraction and in cardiomyocytes of the developing heart, and an abnormal pattern of cardiac tissue DNA methylation with syndromic and non-syndromic CHDs.

An average of three regions with aberrant methylation patterns per sample and 18 regions with differentiated methylation between groups were identi-

fied. Similarly, they were able to confirm hypermethylation of several intragenic sites at the MSX1 and GATA4 genes, related to the morphogenesis of the outflow tract, indicating that epigenetic alterations in relevant genes are present in the developing heart, both in syndromic and isolated CHD. These epimutations possibly contribute to the pathogenesis of such congenital defects through the effect of *cis*-action on gene expression³⁵.

Likewise, an abnormal pattern of methylation in the NKX2-5 and HAND1 genes was identified in patients with tetralogy of Fallot and it was observed that this abnormal methylation correlated negatively with RNA expression of both genes in the cardiac tissue. This evidence suggests that changes in DNA methylation patterns may contribute to negative transcriptional dysregulation of the aforementioned genes throughout the process of cardiogenesis³⁶.

The Notch cell signaling pathway has been shown to further regulate cell differentiation of the proepicardium and the adjacent pericardial mesoderm, so that inhibition of their expression in the epicardial lineage inhibits coronary artery formation and reduces cardiomyocyte proliferation and myocardial wall thickness. Mutations in the JAG1 gene (also known as JAGGED1) or the inhibition of Notch signaling in the SHF brings about different CHD, mainly in the aorta and ventricular outflow tract. The JAG1 gene encodes for a ligand that binds to the Notch receptor which is involved in specifying the fate of each cell. Recently, mutations in the Notch1 signaling regulator have been implicated in aortic valve disease, while mutations in JAG1 and Notch 2 are associated with the occurrence of tetralogy of Fallot^{31,38}.

A wide variety of malformative syndromes in humans results from a disruption of the Notch signaling pathway, for example Alagille syndrome, which is an autosomal dominant disorder that in its clinical phenotype includes right heart CHD, ranging from moderate pulmonary artery stenosis to tetralogy of Fallot, in addition to extracardiac disorders such as biliary stenosis. In its molecular bases, point mutations or deletions comprising the JAG1 gene locus have been identified in up to 94% of cases. Mutations in JAG1 have also been identified in patients with pulmonary stenosis and tetralogy of Fallot, without other phenotypic alterations of the syndrome. The keys to interpreting congenital defects secondary to JAG1 mutations have only recently begun to be understood and involve SHF^{23,31,32,38}.

A team of American researchers²⁷ proved,

through experiments in mice models, that the absence of the JAG1 gene causes different types of CHD, mainly from the aorta and the outflow tract. Mouse embryos in which the signaling pathway was interrupted showed decreased expression of FGF8 and BMP4 that ultimately resulted in a defective development of tissues neighbouring the SHF, for example, defects in the migration of neural crest cells and in the endothelial-mesenchymal transition within the endocardial cushions of the outflow tract. The latter defect was reversed in vitro with exogenous FGF8 enhancement. Thus, a model is proposed that relates the function of JAG1 within SHF and its impact on neural crest cell migration and endocardial cushion development²⁷.

The importance of neural crest cells in the formation of the semilunar valves and the smooth muscle of the ascending aorta has been proven, along with the repercussions associated with their alteration: valve defects, aortic stenosis, aneurysms and dissections. In this way, the interaction of different cellular and molecular factors, especially the Notch cell signaling pathway, all converge to adequately integrate the outflow tract. This one is a fresh and ongoing research issue²³. At the same time, some researchers have found that another signaling pathway, the Nodal/TGF, also plays a pivotal role in cardiac embryogenesis, in angiogenesis and in the organization of the aortic wall, since in animal models, when mutations in genes involved in this pathway will therefore trigger cardiovascular morphological defects³⁹.

Point mutations in the FBN1 gene, which codes for fibrillin 1, with gene locus on 15q15-21, carry all the pleiotropic manifestations of Marfan syndrome, including valve defects and aneurysmal dilations of the aorta. Fibrillin is a glycoprotein, formerly described as a structural protein, which is part of extracellular microfibrils that are the main component of elastic fibers, however, it is now known that they are also an important negative regulator of the TGFB signaling pathway, and precisely the overexpression of this intercellular signaling pathway is partially responsible for the cardiovascular alterations that make up the cardiovascular phenotype of this connective tissue disorder, transmitted with an autosomal dominant inheritance pattern^{5,9,23}.

Organic symmetry

Situs is the term that defines the position of the or-

gans in the chest and abdomen. *Situs inversus* or *visceral heterotaxy* is one of the most complex congenital defects. It is a syndrome characterized by a severe alteration of the right-left symmetry pattern and the spatial relationship of the organs (the chest and abdomen are positioned in a mirror image from their normal positions). During development, the heart is the first organ to break symmetry in the developing embryo¹².

Studies in several species have led to the discovery of more than 80 genes that regulate right-left symmetry and provide a basis for accounting for lateral symmetry defects. In chicken embryos asymmetric expression of the Shh protein leads to the expression of two members of the Nodal/TGF signaling pathway, Nodal and LEFTY in the left mesodermal plate. The expression of the Nodal gene on the left side of the developing embryo induces right-sided torsion and rotation of the heart tube. In the right lateral mesoderm an activin receptor-mediated signaling pathway inhibits Nodal and Shh expression. The activin and Nodal signaling pathways result in the final expression of Pitx2 FT, on the left side of the visceral organs, which is sufficient for the establishment of right-left asymmetry in the developing heart, lungs and bowel²³.

Congenital long QT syndrome

Finally, reference will be made to the molecular bases of one of the congenital cardiac channelopathies: the long QT syndrome (LQTS)⁴⁰. This primary disorder of cardiac repolarization is characterized by a severe alteration in ventricular repolarization, electrocardiographically recorded as a prolongation of the corrected QT (cQT) by Bazett's formula ($cQT = QT/\sqrt{R}$) ≥ 460 ms, which predisposes to sudden death by torsades de pointes arrhythmia⁴¹. Several types of LQTS are recognized; However, the congenital arrhythmogenic channelopathies of this type that have been better studied to date are Jervell and Lange-Nielsen syndrome (which is transmitted with an autosomal recessive inheritance pattern and includes in its clinical phenotype the presence of congenital neurosensory deafness, due to homozygous mutations) and Romano-Ward syndrome, which is the most common form, with autosomal dominant inheritance, variable expressivity and reduced penetrance, due to generally heterozygous mutations⁴⁰⁻⁴².

LQTS presents a great heterogeneity of allelic and non-allelic genes, because more than 500 mutations

in at least 17 genes with different loci have been identified at molecular level, among them are described: 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), among others, which mostly encode for the different pore-forming subunits of the ion channels that generate the transmembrane action potential. While the ANKB gene encodes for ankyrin- β , a structural protein that links proteins of the myocardial membrane with proteins of the cytoskeleton and whose mutations result in an increase in the concentration of intracellular calcium that leads to early and late post-depolarization^{28,30}.

Hundreds of SNPs have been currently described in these genes, such as K897T in HERG, which has not only been associated with an increase in individual susceptibility to develop arrhythmias when using certain drugs, but also favors the pathogenic effect of mutations in this same gene. The polymorphic variant R1193Q in the SCN5A gene is considered a common polymorphism in Asian populations and has been related to both LQTS and Brugada syndrome. Another polymorphism in the same gene, S1103Y, has been associated with an increased risk of sudden death in childhood^{29,30}.

Knowledge of the molecular bases of these channelopathies has made it possible to optimize treatment and improve the survival of affected people, thus generating an important genotype-phenotype-drug treatment correlation and a higher level of information that favors the genetic counseling process in these cases.

CONCLUSIONS

Cardiogenesis is a complex and dynamic process that requires precise spatial-temporal cooperation of multiple genes encoding specific transcription and growth factors, morphogens, intercellular signaling pathways, structural proteins and ion channels. Different genetic and epigenetic factors may disrupt these molecular and cellular mechanisms and generate a broad phenotypic spectrum of congenital heart defects. Knowledge of the molecular and cellular bases of these heart diseases allows for a more effective classification of these congenital defects and a future optimization of the individual treatment for each patient, in addition to offering possible specific targets that could be intervened on to prevent some of the most frequent congenital defects in hu-

mans.

REFERENCES

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 [cited 18 Dic 2019];11(3):233-40. Available at: <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 architectures 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 [cited 6 Oct 2018];9(6):289. Available at: <https://www.mdpi.com/2073-4425/9/6/289/html>
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 [cited 10 Oct 2018];10(6):e0131542. Available at: <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 [cited 6 Ene 2019];9(7):e102379. Available at: <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 [cited 9 Oct 2018];22(3):197-207. Available at: <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 [cited 9 Oct 2018];9(1):

- e83364. Available at:
<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 [cited 6 Oct 2018];32(4). Available at: <http://www.revmgi.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 [cited 9 Oct 2018];9(8):e104535. Available at: <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 [cited 10 Ene 2019];22(6):e12481. Available at: <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.