

Autopsia molecular en una niña con muerte súbita cardíaca. Enfoque práctico de los familiares sobrevivientes

Una niña de 7 años se desplomó mientras corría por la playa. Su madre le realizó maniobras básicas de reanimación cardiopulmonar; fue trasladada a un hospital, donde según el informe médico ingresó sin vida.

Un mes después, los padres, una joven pareja no consanguínea que además tiene un hijo sano de 8 meses, consultaron a Cardiogenómica y a la Clínica de Cardiología Genómica de la Unidad de Arritmias y Electrofisiología Pediátrica del Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina.

La niña había nacido a término sin complicaciones, y no tenía antecedentes de hospitalizaciones, cirugías, enfermedades graves o problemas médicos crónicos. No tomaba ninguna medicación. Un año antes del episodio, le realizaron un examen cardiovascular predeportivo que incluyó un electrocardiograma que fue normal.

Cuando una persona joven (menor de 35 años) y aparentemente sana presenta una muerte súbita e inesperada, la autopsia revela que las causas cardiovasculares son las más frecuentes (70-80%), siendo la miocardiopatía hipertrófica (36%), las anomalías de implante de las arterias coronarias (17%), las miocarditis (6%) y la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (4%) las más importantes. Hasta en un 30% la autopsia se considera “negativa” cuando el corazón es estructural e histopatológicamente normal, no se identifican otras causas de muerte extracardíacas y el examen toxicológico es negativo; a estos casos se los denomina “síndrome de muerte súbita arrítmica”. (1)

Como la muerte se produjo en vía pública, se realizó una autopsia completa por orden judicial, que fue “negativa”. Se conservaron muestras de tejido fijadas en parafina, y una muestra de sangre venosa periférica en un tubo con EDTA en un refrigerador, no congelada.

Tras una consulta de asesoramiento genético en cardiología con la comprensión y el consentimiento escrito de los padres, recuperamos la muestra de sangre para realizar un estudio genético (EG) posmortem, o autopsia molecular.

Solicitamos un panel completo para arritmias y miocardiopatías. (Figura 1).

El EG posmortem fue realizado mediante secuenciación de próxima generación (NGS). Se identificaron una variante probablemente patogénica en el gen CALM1 (Calmodulina) que se confirmó mediante secuenciación por Sanger, y tres variantes de significado incierto en tres genes diferentes: EYA4 (Eyes Absent 4, un coactivador transcripcional y fosfatasa), MYH11 (cadena pesada de miosina del músculo liso) y MYPN (miopadina) (Figura 2).

Nuestro equipo de cardiología genómica definió la variante clasificada como probablemente patogénica en CALM1 como la única relevante y relacionada con la muerte súbita arrítmica de la niña por lo siguiente:

ACTA2 NM_001613.2, ACY1C1 NM_005159.4, ACTN2 NM_001103.2, AKAP9 NM_005751.4, ANKRD1 NM_001148.4, ANRD1 NM_014391.2, BAG3 NM_004281.3, CACNA1C NM_000719.6, CACNA2D1 NM_000722.2, CACNB2 NM_201590.2, CALM1 NM_006888.4, CASQ2 NM_001232.3, CAV3 NM_003337.2, CBS NM_000711.2, COL5A1 NM_000093.4, COL5A1 NM_000093.4, COL5A2 NM_000393.3, CRYAB2 NM_001885.1, CTRP3 NM_004763.3, DES1 NM_001927.3, DMD NM_004062.2, DSCC1 NM_004423.2, DSCC2 NM_001943.3, DSP NM_004415.2, EMD NM_000117.2, EYA4 NM_004100.4, FBN1 NM_000138.4, FBN2 NM_001999.3, FTKN NM_001079802.1, FLNA NM_001456.3, FXN NM_000144.4, GATA4 NM_002052.3, GATA4 NM_021167.3, GLA NM_000169.2, GPD1L NM_015141.3, HCN4 NM_005477.2, JAG1 NM_000214.2, JPH2 NM_004033.4, JUP NM_002230.2, KCND3 NM_004980.4, KCNE1 NM_000219.3, KCNE2 NM_172201.1, KCNE3 NM_005472.4, KCNH2 NM_000238.3, KCNJ2 NM_000891.2, KCNJ5 NM_000890.3, KCNJ8 NM_004982.2, KCNQ1 NM_000218.2, LAMA4 NM_002290.3, LAMP2 NM_002294.2, LDB3 ZASP NM_000778.2 and NM_001080116.1, LAMA NM_005572.3 and NM_170707.2, MED12 NM_005100.2, MYBPC3 NM_002525.3, MYH11 NM_002474.2, MYH6 NM_002471.3, MYH7 NM_000257.2, MYL2 NM_000432.3, MYL3 NM_000258.2, MYLK NM_003025.3, MYO22 NM_016599.4, MYPN NM_032578.2, NEXN NM_144573.3, NWC2-5 NM_004387.3, NOTCH1 NM_017617.3, PKP2 NM_004572.3, PLN NM_002667.3, PLOD1 NM_000302.3, PRKAG2 NM_016203.3, PRKG1 NM_004258.3, PTPN11 NM_002834.3, RAF1 NM_002880.3, RBM20 NM_001134363.1, RYR2 NM_001035.2, SCN1B NM_001037.4, SCN2B NM_004588.4, SCN3B NM_018400.3, SCN4B NM_174934.3, SCN5A NM_198056.2, SKI NM_003036.3, SLC2A10 NM_000777.3, SMAD3 NM_005902.3, SMAD4 NM_003595.3, SNTA1 NM_003982.2, TAZ NM_000116.3, TBN1 NM_006471.1, TBN2 NM_001077653.2, TBN3 NM_000192.3, TCAP NM_003673.3, TGFB2 NM_003238.3, TGFB3 NM_003239.2, TGFB3L1 NM_004612.2, TGFB3L2 NM_003425.3, TMD4A3 NM_024334.2, TMPO NM_003276.2, TNNC1 NM_003280.2, TNNT3 NM_000363.4, TNNT2 NM_0010430.1, TPM1 NM_001018005.1, TRDN NM_006073.2, TRPM4 NM_017636.3, TTN NM_003319.4, TTR NM_000371.3, TXNRD2 NM_006440.3, VCL NM_014000.2

Fig. 1. Detalle del panel de genes estudiados por NGS

Ordered By	Contact ID: _____	Patient Name: _____
Physician: Guerchicoff, Marianna, MD	Ph: +5491131652775	Accession #: _____ Specimen #: _____
Client: MARIANNA GUERCHICOFF, MD (20696)	CIUDAD AUTONOMA DE BUENOS AIRES Buenos Aires C1405CCA AR	AP2 Order #: _____ Specimen: Blood EDTA (Purple top)
		Birthdate: _____ Age: 6y 1m
		Gender: F Date of Death: _____
		MRN #: N/A Collected: _____
		Indication: Diagnostic Received: _____
		Ethnicity: Caucasian
CustomNext-Cardio: Analyses of Selected Hereditary Cardiovascular Disease Genes		
RESULTS		
CALM1	Variant, Likely Pathogenic:	p.N98S
EYA4	Variant, Unknown Significance:	c.371-3C>T
MYH11	Variant, Unknown Significance:	p.A965S
MYPN	Variant, Unknown Significance:	p.D1962A
SUMMARY		
POSITIVE: Likely Pathogenic Variant Detected		

Fig. 2. Resultado del estudio genético post mortem (autopsia molecular)

Variante en CALM1, exon 5, c.293A>G (p.N98S) heterocigota

El gen CALM1 está situado en el brazo largo del cromosoma 14q32.11. Otros dos genes homólogos (CALM2 y CALM3) están presentes en el genoma humano y parecen tener una función similar.

Este gen codifica una proteína llamada Calmodulina, uno de los principales sensores de las concentraciones del calcio intracelular y que, de acuerdo con las variaciones del mismo interactúa con un gran número de enzimas, canales iónicos y otras proteínas modulando su función, lo que se conoce como “calmodulación”. Una de sus interacciones más importantes es regular la función de algunos de los canales iónicos cardíacos, incluidos el canal de calcio regulado por voltaje que da lugar a las corrientes de calcio de tipo L (CaV1.2; CACNA1C), el canal de sodio cardíaco (NaV1.5; SCN5A) y la isoforma 2 del receptor de rianodina (RyR2).

En la muestra analizada se encontró un cambio en la secuencia de ADN del gen CALM1 en el exón 5 mediante el cual el nucleótido Adenina es reemplazado por el nucleótido Guanina en la posición correspondiente al nucleótido 293 (c.293A>G). Esta variación en la secuencia del ADN, implica un cambio en la proteína sintetizada, en el cual el aminoácido Asparagina (P) es sustituido por el aminoácido Serina (S) en el codón 98 de la proteína CALM1 (p.N98S).

Este tipo de cambio genético se denomina de “sentido erróneo” o “cambio de sentido”: son cambios de un solo nucleótido a nivel del ADN, que resultan

en una alteración de un solo aminoácido a nivel de la proteína.

La posición que ocupa en la proteína calmodulina el aminoácido Asparagina en el codón 98 está altamente conservada en humanos y en las especies de vertebrados relacionados, es decir, que en esa posición de la proteína siempre se observa Asparagina evolutivamente.

Es más, la proteína CALM1 tiene una secuencia de aminoácidos completamente conservada en todos los vertebrados. Dado este grado de conservación, durante mucho tiempo se pensó que las mutaciones en CALM1 eran incompatibles con la vida. (2)

Entre los aminoácidos Asparagina y Serina existen diferencias fisicoquímicas moderadas.

Esta variante no está presente en las bases de datos de población de control étnicamente similares (1000Genomas sin frecuencia reportada).

Esta misma variante se encontró en un paciente con taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (CPVT) (3)

El análisis de la estructura interna de la proteína CALM1 y los estudios funcionales experimentales han demostrado que esta variante de sentido erróneo atenuaría la unión al calcio de dicha proteína (4)

De los 14 algoritmos computacionales desarrollados para predecir el efecto de este cambio genético en la estructura y función de la proteína, diez predicen que esta variante es patogénica y 4 benigna (Fuente: VarSome).

La paciente era portadora heterocigota de esta variante, lo cual significa que el cambio genético estaba presente en solo uno de los cromosomas (materno o paterno) mientras que el otro tenía una copia normal del gen CALM1.

Para evaluar el riesgo familiar recomendamos realizar un EG buscando la presencia o ausencia de la variante que asumimos como patogénica en CALM1 en los padres de la niña (estudio genético en cascada familiar). Ninguno de ellos es portador de este cambio genético.

Las guías actuales recomiendan que se realice un EG postmortem, “autopsia molecular”, a las víctimas jóvenes de muerte súbita en las que la autopsia sea negativa y se sospeche una arritmia. (5) A pesar de los consensos y la evidencia, los EG postmortem siguen sin incluirse de forma rutinaria.

Las mutaciones en CALM1 se han asociado con CPVT de herencia autosómica dominante y al síndrome de QT largo. (6)

Sabemos por experiencia personal y por datos de la literatura que más del 50% de las mutaciones en CALM1 que causan CPVT son “de novo” (no heredadas de los progenitores).

En la consulta de asesoramiento post-EG, informamos a la familia que el riesgo para ellos, su hijo menor y el riesgo de recurrencia en futuros embarazos de presentar un cuadro similar es el mismo que el de la población general (casi cero).

Seis años después, la familia está muy bien, tienen otra hija con examen cardiovascular electrocardiograma y ecocardiograma normales.

La autopsia molecular es una poderosa herramienta para establecer un diagnóstico genético cuando la autopsia tradicional no es concluyente. La adecuada conservación de una muestra de sangre venosa en EDTA durante la autopsia permitió la identificación de la causa genética, y no sólo proporcionó a la familia una respuesta que permitió entender lo que le había ocurrido a su hija, sino que también nos ayudó como equipo médico a realizar una evaluación óptima del riesgo de recurrencia familiar a través del EG en cascada de los familiares supervivientes.

Marianna Guerchicoff^{1,2}, Alejandra Guerchicoff^{2,3}, Alberto Sciegata¹, Sebastián Maldonado¹, Charles Antzelevich², Guido Pollevick^{2,4}

¹Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina
²Cardiogenómica

³Mount Sinai School of Medicine

⁴ACCU Reference Medical Lab

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

(Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web/Material suplementario).

Consideraciones éticas

No aplican.

BIBLIOGRAFÍA

- Castiglione V, Modena M, Aimo A, Chiti E, Botto N, Vittorini, S, et al. Molecular Autopsy of Sudden Cardiac Death in the Genomics Era. *Diagnostics* 2021;11:1378. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081378>.
- Jensen HH, Brohus M, Nyegaard M, Overgaard MT. Human Calmodulin Mutations. *Front. Mol. Neurosci* 2018;11:396. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00396>
- Nyegaard M, Overgaard MT, Søndergaard MT, Vranas M, Behr ER, Hildebrandt LL, et al. Mutations in calmodulin cause ventricular tachycardia and sudden cardiac death. *Am J Hum Genet.* 2012;91:703-12. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.08.015>.
- Yu CC, Ko JS, Ai T, Tsai WC, Chen Z, Rubart M, et al. Arrhythmogenic calmodulin mutations impede activation of small-conductance calcium-activated potassium current. *Heart Rhythm.* 2016;13:1716-23. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2016.05.009>.
- Wilde AM, Semsarian C, Marquez MF, Sepehri Shamloo A, Ackerman MJ, Ashley EA, et al. European Heart Rhythm Association (EHRA)/ Heart Rhythm Society (HRS)/Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS)/Latin American Heart Rhythm Society (LAHRS) Expert Consensus Statement on the state of genetic testing for cardiac diseases. POSITION PAPER. *Europace* 2022;24:1307-67. <https://doi.org/10.1093/europace/euac030>
- Prakash O, Held M, McCormick LF, Gupta N, Lian LY, Antonyuk S, et al. CPVT-associated calmodulin variants N53I and A102V dysregulate calcium signalling via different mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015;1850:2168-76.