

Prevalencia y caracterización funcional de variantes de splicing en regiones intrónicas profundas de MYBPC3: implicaciones para el diagnóstico genético en MCH

Mario Ruiz(1), Alba Delrio-Lorenzo(2), Daniel de Castro Campos(3), Noemi Ramos López(3), Manuel Alejandro Fernández-Rojo(1), Rosa María Carmona(1), Anabel Cámara-Checa(4), Ivonne Cárdenas Reyes(5), Soledad García Hernández(5), Enrique Lara-Pezzi(1), Juan Pablo Ochoa Folmer(1) y Pablo García Pavía(3) de (1)Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid - España, (2)Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBER-CV), Madrid - España, (3)Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda (Madrid) - España, (4)Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Puerta de Hierro de Majadahonda, Majadahonda (Madrid) - España y (5)Health in Code, A Coruña - España

Introducción: A pesar de los avances en secuenciación de nueva generación (NGS), el 60% de los pacientes con miocardiopatía hipertrófica (MCH) permanecen sin diagnóstico genético. MYBPC3 es el gen más frecuentemente implicado, siendo la haploinsuficiencia por variantes truncantes el mecanismo principal (85% de los casos). No obstante, las variantes intrónicas profundas que pueden alterar el splicing no son detectadas mediante paneles convencionales/exoma. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia y el impacto funcional de estas variantes en una cohorte extensa de pacientes con MCH.

Métodos: Se analizaron 7.450 probandos con MCH mediante un panel NGS que cubría completamente las regiones intrónicas de MYBPC3. Se seleccionaron variantes raras (frecuencia alélica < 1×10??), situadas a >20 pb de la unión intrón-exón, bajo dos criterios: predicción in silico de impacto en el splicing (spliceAI > 0.10) o enriquecimiento en la cohorte (?2 casos con la misma variante). La patogenicidad se evaluó mediante estudios de cosegregación familiar y análisis funcional de mRNA (RT-PCR y RNA-seq) en muestras humanas de sangre periférica.

Resultados: En 4.567 probandos con estudio genético negativo previo, se identificaron 83 variantes intrónicas profundas candidatas en 276 probandos (6%). De estas, 6 variantes (70 sujetos) ya estaban descritas previamente como patógenicas/probablemente patogénicas (P/LP). Se realizó análisis funcional de 19 variantes (86 probandos), demostrando 6 variantes adicionales (39 probandos) que inducían alteraciones de splicing (retención intrónica o activación de nuevos sitios crípticos de splicing), mientras que 13 (47 probandos) no mostraron impacto funcional en los tránscritos de mRNA. Notablemente, el 83% (5/6) de las variantes con efecto funcional presentaron puntuaciones de SpliceAI < 0,1, evidenciando la baja sensibilidad de los predictores actuales. En total, el 2,4% (109/4,567) de los probandos previamente negativos presentan variantes intrónicas profundas causales de MCH en MYBPC3.

Conclusiones: Las variantes intrónicas profundas en MYBPC3 constituyen una causa relevante de MCH en pacientes con estudios genéticos convencionales negativos. Las limitaciones de los predictores bioinformáticos subrayan la necesidad de integrar la secuenciación de regiones intrónicas completas y el análisis funcional de RNA en los algoritmos diagnósticos en MCH.

