

O Papel das Variantes no Gene *TTN* na Cardiomiopatia Dilatada

The Role of TTN Gene Variants in Dilated Cardiomyopathy

Silas Ramos Furquim,¹ Paula de Mendonça Senra,¹ Bianca Domit Werner Linnenkamp,¹ Kelvin Henrique Vilalva,¹ Marjorie Hayashida Mizuta,¹ Bruno Moreira dos Santos,¹ Bruno de Oliveira Stephan,¹ Elisangela Aparecida da Silva,¹ Nara Alves Buriti,¹ Vitória Pelegrino do Val,¹ Fernanda Almeida Andrade,¹ Jose Eduardo Krieger¹

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo,¹ São Paulo, SP – Brasil

Figura Central: O Papel das Variantes no Gene *TTN* na Cardiomiopatia Dilatada



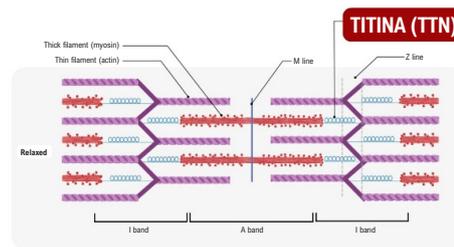
ABC Cardiol
Associação Brasileira de Cardiologia

VARIANTES

Variantes truncadas em *TTN*: causa importante de cardiomiopatia dilatada
Desafios na interpretação das variantes do *TTN*

EXPRESSIVIDADE E FENÓTIPOS

Expressividade variável e penetrância incompleta



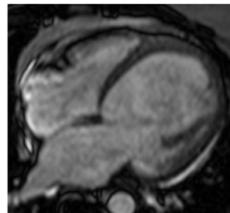
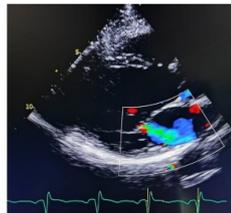
IMPLICAÇÕES

Aconselhamento genético
Prognóstico
Triagem familiar

CARDIOMIOPATIA DILATADA

ECO

RMC



Arq Bras Cardiol. 2024; 4(3):e20240056

ECO: ecocardiograma; RMC: ressonância magnética cardíaca.

Palavras-chave

Cardiomiopatia Dilatada; Genes; Proteínas.

Correspondência: Silas Ramos Furquim •

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 44. CEP 05403-900, São Paulo, SP - Brasil

E-mail: silasfurquim@hotmail.com

Artigo recebido em 01/09/2024, revisado em 03/09/2024, aceito em 03/09/2024

Editor responsável pela revisão: Luis Beck-da-Silva

DOI: <https://doi.org/10.36660/abchf.20240056>

Resumo

A titina, codificada pelo gene *TTN*, é a maior proteína humana, essencial para a manutenção da estabilidade das células musculares e regulação da contração miocárdica. As variantes truncadas do *TTN* (*TTNtv*) têm sido consideradas a causa genética mais comum de cardiomiopatia dilatada (CMD), respondendo por até 25% dos casos familiares e 18% dos casos esporádicos. Esta revisão examina a relação complexa entre as variantes no gene *TTN* e a CMD, destacando os desafios impostos pela penetrância

incompleta e a expressividade variável. Embora as variantes truncadas, principalmente na região da banda A, estejam ligadas à CMD, nem todos os portadores apresentam sintomas clínicos, indicando a influência de fatores genéticos e ambientais adicionais. Além disso, discutimos as implicações prognósticas das variantes no gene *TTN*, que, apesar dos resultados clínicos semelhantes a outros casos de CMD, demonstram uma taxa maior de remodelação reverso em resposta ao tratamento da insuficiência cardíaca. Estratégias terapêuticas emergentes, que visam mecanismos moleculares subjacentes das variantes no gene *TTN*, incluindo inibidores de mTOR e edição genética baseada em CRISPR, oferecem possibilidades promissoras para um tratamento personalizado. Compreender os fundamentos genéticos da CMD relacionada ao *TTN* é crucial para melhorar o diagnóstico, o rastreamento familiar e os resultados terapêuticos, abrindo caminho para um manejo mais eficaz desse quadro complexo.

Introdução

Titina e o sarcômero: estrutura e função

O sarcômero, unidade funcional do miocárdio, é composto de proteínas com funções contráteis e de suporte (Figura 1). A titina, proteína codificada pelo gene *TTN*, é um componente fundamental do sarcômero, responsável por auxiliar na regulação da contração miocárdica.^{1,2} Sendo a maior proteína humana conhecida, e composta por aproximadamente 33.000 aminoácidos, a titina é essencial para manter a estabilidade estrutural das células musculares.¹ Seu grande tamanho também a torna suscetível à desregulação, o que pode levar a diversas cardiomiopatias.³ A titina existe em múltiplas isoformas, com N2B e N2Ba sendo as mais prevalentes no coração.² Um estudo pioneiro destacou como as alterações no gene *TTN* podem causar cardiomiopatia dilatada (CMD).³ Compreender os mecanismos e a fisiopatologia das variantes patogênicas deste gene continua sendo um desafio

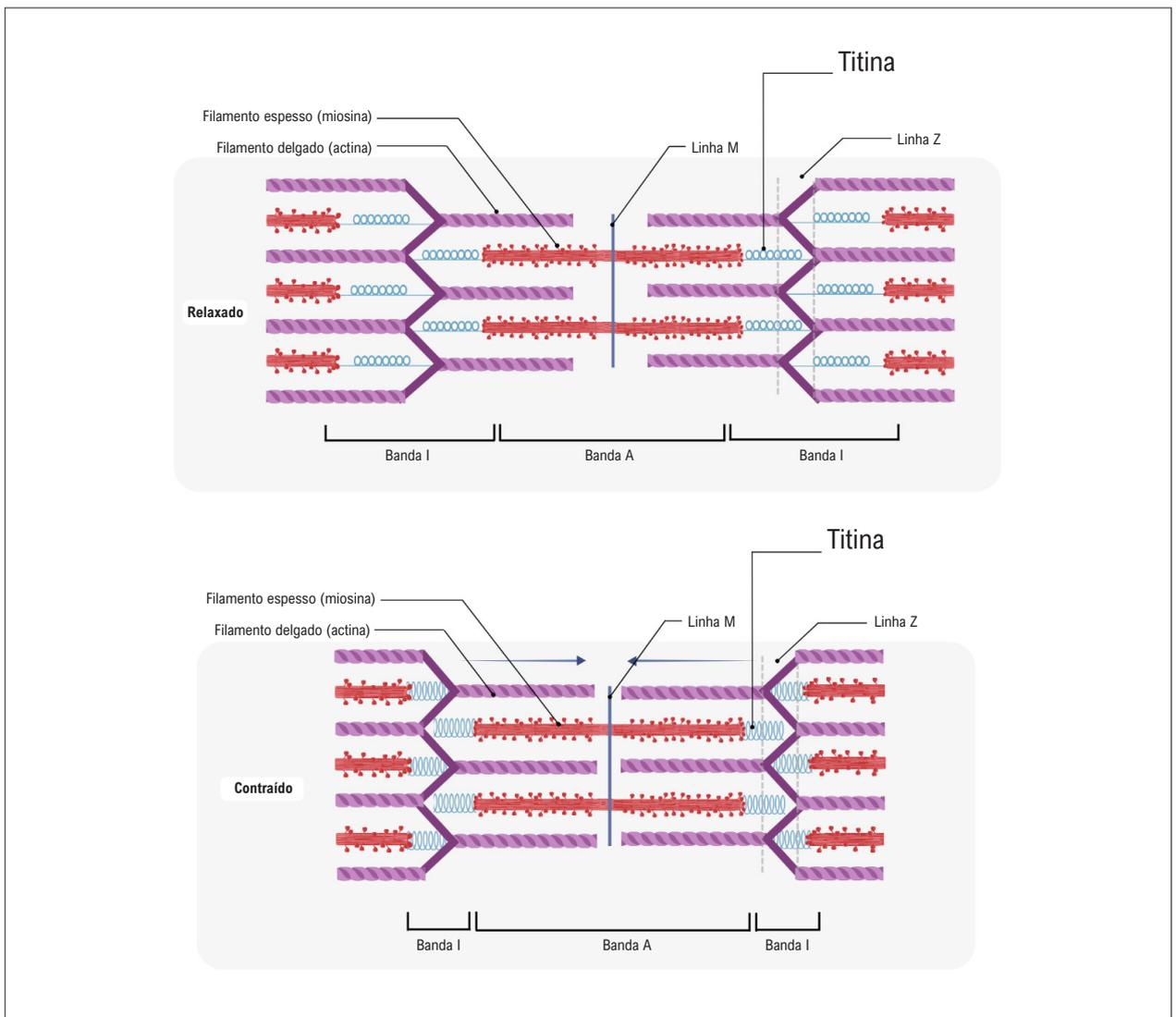


Figura 1 – Representação do sarcômero.

para uma correlação genótipo-fenótipo precisa, melhorando, em última análise, o atendimento aos pacientes e suas famílias.

Isoformas da titina: diversidade e implicações funcionais

Dentro do sarcômero, a titina estende-se do disco Z até a banda M,² tornando-se o terceiro miofilamento mais abundante no músculo estriado, com um tamanho de aproximadamente 33.000 aminoácidos.³ As propriedades da titina variam ao longo de seu comprimento, dependendo de sua localização dentro do sarcômero.² Existem várias isoformas de titina, com N2B e N2BA sendo as mais predominantes no coração. O gene *TTN* também codifica uma isoforma cardíaca distinta, a titina novex-3, que tem 5.600 aminoácidos de comprimento e não possui os segmentos de banda A e banda M da titina.³ As características funcionais da titina são significativamente influenciadas pelo *splicing* alternativo do gene *TTN*. Mais de um terço dos 363 exons do *TTN*, particularmente aqueles na banda I, podem sofrer *splicing* alternativo, gerando uma variedade de isoformas. Essas isoformas resultam em proteínas titina com diferentes comprimentos e níveis de rigidez, afetando tanto a tensão passiva quanto a produção de força dentro do sarcômero. Durante o desenvolvimento fetal, isoformas mais longas e flexíveis são predominantes, enquanto isoformas mais curtas e rígidas, como N2BA e N2B, as substituem após o nascimento. Em corações adultos, essas isoformas existem em uma proporção típica de 70:30 a 60:40, respectivamente. A troca de isoformas, regulada pelo regulador de *splicing* mestre, *RNA binding motif 20 (RBM20)*, modula a tensão do sarcômero em resposta às alterações nas condições de carga e processos patológicos. Variantes que afetam o *RBM20* também estão ligadas ao fenótipo da CMD. Além disso, modificações pós-traducionais, como a fosforilação, alteram rapidamente a rigidez da titina em resposta ao estresse fisiológico e patológico.⁴

Variantes

Variantes truncadas no gene *TTN*: causa importante de cardiomiopatia dilatada

Variantes truncadas no gene *TTN* (*TTNtv*), incluindo variantes *nonsense* que resultam em códon de terminação prematuros, inserções e deleções (*indels*) que causam mudanças de quadro,

e variantes que afetam os locais de *splicing* canônicos, são agora reconhecidas como uma causa genética importante de CMD. Essas variantes são encontradas predominantemente na banda A da titina. Estudos de coorte analisaram a distribuição de variantes truncadas no gene *TTN* entre pacientes com CMD e pacientes controle. A proteína titina é segmentada em diferentes bandas: disco Z (vermelho), banda I (azul), banda A (verde) e banda M (roxo) (Figura 2).⁵

Desafios na interpretação das variantes no gene *TTN*

A interpretação de variantes no gene *TTN* é desafiadora devido à presença de múltiplos transcritos com expressão variável em diferentes tecidos (tabela 1). O *splicing* alternativo significa que nem todos os exons são incluídos em cada transcrito, o que pode afetar o impacto de uma variante dependendo do exon envolvido. A abordagem recomendada para o relato de variantes envolve o meta-transcrito completo inferido, conforme anotada pelo Havana Group. As variantes truncadas na região da banda A, das isoformas cardíacas N2B e N2BA, (mais altamente expressas no tecido cardíaco) estão particularmente associadas à CMD. A titina contém múltiplos domínios, incluindo domínios semelhantes a Ig, repetição Z, PEVK, fibronectina tipo III e proteína quinase. Para saber mais sobre exons, transcritos e domínios de titina, recursos como <https://www.cardiodb.org/> são muito úteis. A interpretação de variantes requer uma consideração cuidadosa sobre o fenótipo, o padrão de herança e a classificação de variantes, seguindo as diretrizes do American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG).⁶ As variantes são classificadas em categorias como benignas, provavelmente benignas, variantes de significado incerto, provavelmente patogênicas e patogênicas, com base em critérios que incluem o tipo de variante (*nonsense*, *missense*, e *frameshift*) e a frequência em populações de controle. Embora variantes *missense* no gene *TTN* sejam frequentemente encontradas durante a análise genômica, elas raramente são relatadas, já que o mecanismo patogênico primário da CMD relacionado a *TTN* é o truncamento das variantes. As variantes de significado incerto devem ser reavaliadas periodicamente, à medida que novos dados surgem, e estudos de segregação familiar podem auxiliar na reclassificação. Determinar a patogenidade para variantes truncadas no gene *TTN* requer considerações sobre a posição da variante no gene, correlacionando com dados clínicos ou funcionais, como descrições anteriores em indivíduos

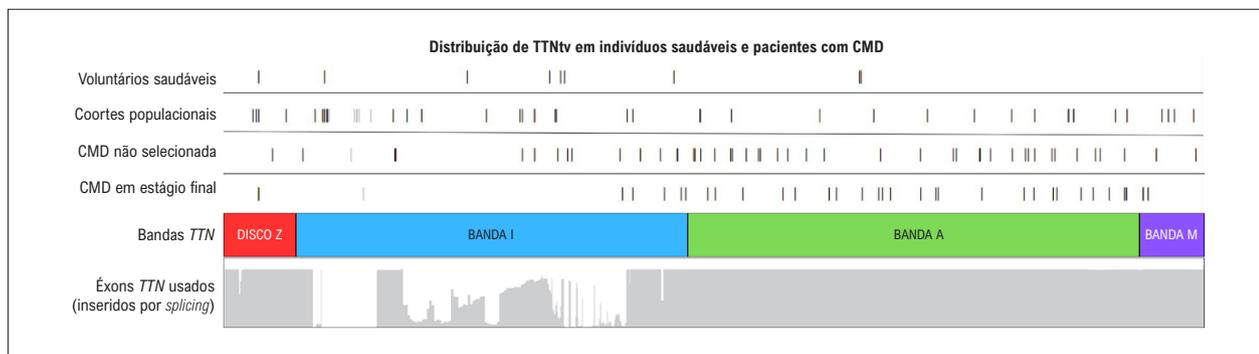


Figura 2 – Distribuição de *TTNtv* em indivíduos saudáveis e pacientes com CMD, subdivididos em CMD não selecionado e em estágio final. Uso do éxon *TTN* com base em dados de *splicing*, para as duas principais isoformas cardíacas adultas, N2BA e N2B. As bandas de proteína *TTN* são coloridas conforme segue: disco Z (vermelho), banda I (azul), banda A (verde), banda M (roxo). A maioria dos casos de *TTNtv* está localizada na banda A. Adaptado de Roberts et al.⁵

Tabela 1 – Transcritos do *TTN*

Transcrito	Descrição	Comprimento (aa)	N.º de exons	Conjunto de transcritos	Conjunto de proteínas	Seq. Ref. dos transcritos	Seq. Ref. das proteínas
Meta	Meta-transcrito completa inferida	35991	363	ENST00000589042	ENSP00000467141	NM_001267550.1	NP_001254479
N2BA	Isoforma cardíaca longa principal	34350	313	ENST00000591111	ENSP00000465570	NM_001256850.1	NP_001243779
N2B	Isoforma cardíaca curta principal	26926	191	ENST00000460472	ENSP00000434586	NM_003319.4	NP_003310.4
N2A	Isoforma longa sóleo/esquelética	33423	312	ENST00000342992	ENSP00000343764	NM_133378.4	NP_596869.4
Novex-1	Isoforma cardíaca curta menor	27051	192	ENST00000359218	ENSP00000352154	NM_133432.3	NP_597676.3
Novex-2	Isoforma cardíaca curta menor	27118	192	ENST00000342175	ENSP00000340554	NM_133437.3	NP_597681.3
Novex-3	Isoforma cardíaca pequena menor	5604	46	ENST00000360870	ENSP00000354117	NM_133379.3	NP_596870.2

sintomáticos e o fenótipo clínico associado (CMD, miopatia). Portanto, aconselha-se cautela ao interpretar as variantes no gene *TTN*.

Expressividade e Fenótipos

Expressividade variável e penetrância incompleta de variantes no gene *TTN*

A expressividade das variantes do gene *TTN* refere-se ao espectro de fenótipos observados em indivíduos portadores da mesma variante. As variantes no gene *TTN* têm uma ligação bem estabelecida com as CMDs, tipicamente evidenciando um padrão de herança autossômico dominante, e miopatia relacionada a *TTN*, que geralmente segue um padrão autossômico recessivo (<https://clinicalgenome.org/>). A associação de variantes no gene *TTN* com cardiomiopatia hipertrófica é limitada.³

Espectro fenotípico da cardiomiopatia dilatada relacionada ao *TTN*

A CMD pode ser causada por variantes em diversos genes, mas as variantes truncadas no *TTN* são as responsáveis pela maioria dos casos genéticos. Variantes na banda A estão presentes em até 25% dos casos familiares de CMD e 18% dos casos esporádicos.⁷ Estudos familiares sugerem que a penetrância de variantes truncadas em *TTN* em indivíduos com mais de 40 anos é próxima de 95%.³ No entanto, variantes truncadas no *TTN* também são encontradas em cerca de 1% dos indivíduos saudáveis, indicando penetrância incompleta e expressividade variável, o que pode envolver outros mecanismos ainda não compreendidos. Ao avaliar variantes no gene *TTN*, é importante considerar os fenômenos de penetrância incompleta e expressividade variável. Nem todos os pacientes com variante patogênica no *TTN* exibirão sinais ou sintomas relacionados, e as apresentações clínicas podem variar até mesmo dentro da mesma família. Essa variabilidade adiciona complexidade à previsão do início da cardiomiopatia. Fatores genéticos e ambientais adicionais, como estresse hemodinâmico,⁸ consumo de álcool,⁹ quimioterapia¹⁰ e gestação,¹¹ podem

contribuir para essa variabilidade fenotípica, embora os mecanismos precisos permaneçam obscuros.

Implicações

Implicações prognósticas das variantes no gene *TTN* na CMD

Identificar uma variante causal no gene *TTN* tem implicações prognósticas importantes. Comparados a pacientes com CMD sem variantes identificadas, aqueles com variantes no *TTN* exibem manifestações clínicas, morbidade e mortalidade semelhantes.³ No entanto, pacientes com CMD com variantes no gene *TTN* mostram uma taxa maior de remodelação reverso em resposta ao tratamento de insuficiência cardíaca, chegando a 53,2% respondendo favoravelmente em comparação a apenas 11,1% dos pacientes com variantes em genes desmossomais e CMD.¹²

Triagem familiar e aconselhamento genético na CMD relacionada ao *TTN*

A avaliação genética oferece benefícios além do caso índice, estendendo-se aos membros da família, mesmo durante as fases subclínicas. O rastreamento familiar permite o diagnóstico precoce, com subsequente tratamento precoce e resultados potencialmente melhores.⁷ O aconselhamento genético e a avaliação de parentes de primeiro grau de pacientes com CMD tem recomendação Classe I e Nível de Evidência B, segundo a Diretriz Europeia de Cardiomiopatias.⁷

Perspectivas terapêuticas

Estratégias terapêuticas emergentes para variantes no gene *TTN*

Embora os tratamentos estabelecidos para insuficiência cardíaca, como o bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona e o antagonismo beta-adrenérgico, reduzam

efetivamente a mortalidade e melhorem a qualidade de vida, eles não abordam diretamente os mecanismos subjacentes causados pelas variantes no gene *TTN*. Compreender a fisiopatologia e as vias moleculares envolvidas na modificação da titina abre novos caminhos para estratégias terapêuticas e alvos promissores.¹³ Algumas variantes truncadas do *TTN* levam à superexpressão do complexo mTOR (alvo mamífero da rapamicina), sugerindo que inibidores de mTOR, como a rapamicina, poderiam ser avaliados em ensaios clínicos randomizados.¹⁴ Em modelos animais, os oligonucleotídeos *antisense* demonstraram mediar e alterar os processos de splicing, excluindo a leitura do exon mutado e prevenindo o término prematuro da tradução da titina. Essa estratégia se mostrou eficaz em outras condições, como a distrofia muscular de Duchenne, e já foi aprovada pelo FDA para essa indicação.¹⁵ Um estudo recente demonstrou que o uso da tecnologia CRISPR pode aumentar a expressão do gene *TTN* e a produção de titina em um modelo celular, melhorando a capacidade contrátil celular em pacientes com haploinsuficiência.¹⁶

Mensagens importantes

- A titina, codificada pelo gene *TTN* é uma das maiores proteínas humanas e desempenha um papel crucial na manutenção da estabilidade das células musculares e na regulação da contração miocárdica.
- As variantes truncadas do gene *TTN* são a causa genética mais frequente de cardiomiopatia dilatada (CMD).
- A expressividade das variantes do gene *TTN* se refere à gama de fenótipos observados em indivíduos portadores da mesma variante, que podem ser influenciados por penetrância incompleta e expressividade variável. Fatores ambientais, como consumo de álcool, quimioterapia, gestação e estresse hemodinâmico podem contribuir para essa variabilidade.
- Em comparação com pacientes com CMD sem variantes identificadas, aqueles com variantes no gene *TTN* exibem manifestações clínicas, morbidade e mortalidade semelhantes, mas mostram uma taxa maior de remodelação reverso em resposta ao tratamento para insuficiência cardíaca.
- Os tratamentos convencionais para insuficiência cardíaca têm sido eficazes na redução da mortalidade e na melhoria

da qualidade de vida, mas não abordam diretamente os mecanismos subjacentes causados pelas variantes no *TTN*.

- A via mTOR e a tecnologia CRISPR representam alternativas terapêuticas emergentes que prometem tratar a CMD relacionada ao *TTN*.

Conclusão

A titina, codificada pelo gene *TTN*, é uma proteína com tamanho e níveis de rigidez variáveis, dependendo de suas isoformas, sendo essencial para a contração miocárdica. As variantes truncadas no gene *TTN* são a causa genética mais frequente de cardiomiopatia dilatada. A compreensão dos aspectos genéticos é fundamental para uma melhor correlação genótipo-fenótipo, com implicações importantes para o prognóstico, diagnóstico, triagem familiar e estratégias terapêuticas.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Furquim SR, Senra PM, Linnenkamp BDW, Vilalva KH, Mizuta MH; Obtenção de dados: Silva EA, Andrade FA; Redação do manuscrito: Furquim SR, Senra PM, Linnenkamp BDW, Vilalva KH, Mizuta MH; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo: Vilalva KH, Mizuta MH, Santos BM, Stephan BO, Buriti NA, Val VP, Krieger JE.

Potencial conflito de interesse

Não há conflito com o presente artigo

Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Aprovação ética e consentimento informado

Este artigo não contém estudos com humanos ou animais realizados por nenhum dos autores.

Referências

1. Katz AM, Lorell BH. Regulation of Cardiac Contraction and Relaxation. *Circulation*. 2000;102(20 Suppl 4):IV69-74. doi: 10.1161/01.cir.102.suppl_4.iv-69.
2. Loescher CM, Hobbach AJ, Linke WA. Titin (TTN): From Molecule to Modifications, Mechanics, and Medical Significance. *Cardiovasc Res*. 2022;118(14):2903-18. doi: 10.1093/cvr/cvab328.
3. Herman DS, Lam L, Taylor MR, Wang L, Teekakirikul P, Christodoulou D, et al. Truncations of Titin Causing Dilated Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(7):619-28. doi: 10.1056/NEJMoa1110186.
4. Santiago CF, Huttner IG, Fatkin D. Mechanisms of TTNv-Related Dilated Cardiomyopathy: Insights from Zebrafish Models. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2021;8(2):10. doi: 10.3390/jcdd8020010.
5. Roberts AM, Ware JS, Herman DS, Schafer S, Baksi J, Bick AG, et al. Integrated Allelic, Transcriptional, and Phenomic Dissection of the Cardiac Effects of Titin Truncations in Health and Disease. *Sci Transl Med*. 2015;7(270):270ra6. doi: 10.1126/scitranslmed.3010134.
6. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
7. Arbelo E, Protonotarios A, Gimeno JR, Arbustini E, Barriales-Villa R, Basso C, et al. 2023 ESC Guidelines for the Management of Cardiomyopathies. *Eur Heart J*. 2023;44(37):3503-626. doi: 10.1093/eurheartj/ehad194.

8. Huttner IG, Wang LW, Santiago CF, Horvat C, Johnson R, Cheng D, et al. A-Band Titin Truncation in Zebrafish Causes Dilated Cardiomyopathy and Hemodynamic Stress Intolerance. *Circ Genom Precis Med*. 2018;11(8):e002135. doi: 10.1161/CIRCGEN.118.002135.
9. Ware JS, Amor-Salamanca A, Tayal U, Govind R, Serrano I, Salazar-Mendiguchía J, et al. Genetic Etiology for Alcohol-induced Cardiac Toxicity. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(20):2293-302. doi: 10.1016/j.jacc.2018.03.462.
10. Garcia-Pavia P, Kim Y, Restrepo-Cordoba MA, Lunde IG, Wakimoto H, Smith AM, et al. Genetic Variants Associated with Cancer Therapy-induced Cardiomyopathy. *Circulation*. 2019;140(1):31-41. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037934.
11. Goli R, Li J, Brandimarto J, Levine LD, Riis V, McAfee Q, et al. Genetic and Phenotypic Landscape of Peripartum Cardiomyopathy. *Circulation*. 2021;143(19):1852-62. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.052395.
12. Escobar-Lopez L, Ochoa JP, Mirelis JG, Espinosa MÁ, Navarro M, Gallego-Delgado M, et al. Association of Genetic Variants with Outcomes in Patients with Nonischemic Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2021;78(17):1682-99. doi: 10.1016/j.jacc.2021.08.039.
13. Boer RA, Heymans S, Backs J, Carrier L, Coats AJS, Dimmeler S, et al. Targeted Therapies in Genetic Dilated and Hypertrophic Cardiomyopathies: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Targets. A Position Paper from the Heart Failure Association (HFA) and the Working Group on Myocardial Function of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur J Heart Fail*. 2022;24(3):406-20. doi: 10.1002/ejhf.2414.
14. Zhou J, Ng B, Ko NSJ, Fiedler LR, Khin E, Lim A, et al. Titin Truncations Lead to Impaired Cardiomyocyte Autophagy and Mitochondrial Function in Vivo. *Hum Mol Genet*. 2019;28(12):1971-81. doi: 10.1093/hmg/ddz033.
15. Tharp C, Mestroni L, Taylor M. Modifications of Titin Contribute to the Progression of Cardiomyopathy and Represent a Therapeutic Target for Treatment of Heart Failure. *J Clin Med*. 2020;9(9):2770. doi: 10.3390/jcm9092770.
16. Ghahremani S, Kanwal A, Pettinato A, Ladha F, Legere N, Thakar K, et al. CRISPR Activation Reverses Haploinsufficiency and Functional Deficits Caused by *TTN* Truncation Variants. *Circulation*. 2024;149(16):1285-97. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.063972.

