

NKX2.5, GATA4 and TBX1 gene mutations on Tetralogy Fallot

Rahayuningsih SE, Achmad TH

Faculty of Medicine, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

Abstract

Tetralogy fallot is a congenital cyanotic heart disease most often found. The anatomical changes are ventricular septal defect, overriding aorta, pulmonic stenosis and right ventricle hypertrophy. The etiology is related to environment, gene and the interaction between. This research aimed the role of NKX2.5 in Tetralogy of Fallot. Research subjects were Tetralogy of Fallot patient without another congenital heart disease that match the inclusion criteria. This was an epidemiological genetic research. Number of sample was counted by prevalence. Detection of mutant NKX2.5, GATA4 and TBX1.5 gene was done by sequencing the DNA isolate. NKX2.5 gene mutation was found, it was single nucleotide polymorphism. All the mutation harbored in the exon 2, there were 3 points, c 608A>G (pPro266Thr), c796C>A (pPro266Thr) and c797C>A (pPro266His). Allele frequency in the mutation almost the same in all three mutation which are 41208 and 51208, while in the control group, this allele frequency quite high 41208 vs 1186, 51208 vs 11122 and 51208 vs 11122. GATA4 and TBX1 gene mutation were not found. We found that there were quite high allele frequency NKX2.5 in exon 2 mutation in control group at c796C>A (pPro266Thr) and c797C>A (pPro266His). From the data above we can conclude that c796C>A (pPro266Thr) and c797C>A (pPro266His) mutation is predisposing factor in Tetralogy of Fallot control group in the next generation. [MKB. 2010;42(4S):37S].

Key words: GATA4 and TBX1 , NKX2.5, tetralogy of fallot

Pendahuluan

Tetralogi Fallot termasuk penyakit jantung bawaan dan terdapat 4 kelainan anatomi yaitu defek septum ventrikel, stenosis pulmonalis, *overriding aorta* dan dilatasi ventrikel kanan.^{1,2}

Gambaran klasik tetralogi Fallot terdapat 4 kelainan berupa defek septum ventrikel, stenosis

pulmonalis, hipertrofi ventrikel kanan, dan *overriding aorta*. Tetralogi Fallot terjadi akibat abnormalitas pada masa embriologi jantung berupa deviasi septum infundibular ke anterior. Etiologi tetralogi Fallot tidak diketahui dengan pasti, diduga berhubungan dengan faktor lingkungan, genetik atau interaksi faktor keduanya.¹⁻⁴ Penelitian sebelumnya menemukan 4% kasus Tetralogy fallot yang berhubungan dengan mutasi gen NKX2.5.⁵

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui mutasi gen NKX2.5, GATA4 dan TBX1 pada Tetralogy Fallot.

Subjek Dan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskripsi analisa. Sampel penelitian adalah pasien Tetralogy Fallot dan kontrol adalah pasien tanpa adanya PJB, yang datang ke instalasi rawat jalan dan instalasi gawat darurat, serta yang dirawat di instalasi rawat inap Bagian Ilmu Kesehatan Anak RS dr. Hasan Sadikin. Diagnosa Tetralogy Fallot ditegakkan dengan ekokardiografi oleh dokter konsultan kardiologi anak.

Pasien pada kelompok Tetralogy Fallot dan kelompok kontrol diambil darah vena sebanyak 5 ml, disimpan di dalam tabung EDTA dan dilakukan isolasi DNA di Unit Penelitian Kedokteran FK UNPAD Bandung. Hasil isolasi DNA dibawa ke *Department of Human Genetics, Yokohama City University Graduate School of Medicine* Jepang untuk dilakukan sekuensing DNA. Analisis mutasi dilakukan pada seluruh ekson dengan cara yang terdiri empat tahap yaitu: 1) amplifikasi dengan PCR, 2) pemurnian DNA dengan eksosap, 3) sekuensing dengan *big dye terminator*, dan 4) analisis mutasi sekuensing. Primer yang digunakan terdiri dari 9 primer *forward* dan

reverse berdasarkan literatur sebelumnya.⁵ Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan komisi etik dan hak cipta penelitian ini ada pada peneliti Indonesia.

HASIL PENELITIAN

Selama kurun waktu pengumpulan bahan/sampel: Juli 2006 sampai Februari 2009 di Rumah Sakit Dr Hasan Sadikin Bandung didapatkan 28 anak dengan Tetralogy Fallot dan 42 anak sebagai Kontrol yaitu anak-anak tanpa PJB

Ditemukan satu anak dengan mutasi gen NKX2.5 pada ekson 2 c.606G>C (p. Leu202Leu) mutasi ini telah dilaporkan sebagai Single Nucleotida Polimorfisme [rs3729753](#) dan pada penelitian ini frekuensi allele yang ditemukan adalah 140/208. Ditemukan 3 anak Tetralogy Fallot dengan mutasi gen NKX2.5 pada ekson 2 c.796C>T(p.Pro266Thr), mutasi ini juga ditemukan pada 11 anak kelompok kontrol dengan frekuensi allele pada Tetralogy Fallot 5/208 dan frekuensi allele pada kontrol adalah 11/22 .

Diskusi

Tetralogy Fallot terjadi akibat deviasi ke anterior pada saat pembentukan septum infundibular.. Fase ini terjadi pada fase septasi dan migrasi dari infundibular atau dikenal juga dengan daerah trunkus atau bulbus kordis.^{1,2,3}

Untuk memahami terjadinya embriogenesis pada Tetralogy Fallot diperlukan pemahaman mengenai proses embriogenesis jantung secara menyeluruh. Embriogenesis jantung merupakan

serangkaian peristiwa yang kompleks. Untuk keperluan pemahaman, proses yang rumit tersebut dapat disederhanakan menjadi empat tahapan, yaitu: 1) tubing, yaitu tahapan ketika bakal jantung masih merupakan tabung sederhana; 2) looping, yakni suatu peristiwa kompleks berupa perputaran bagian-bagian bakal jantung dan arteri besar (aorta dan a. pulmonalis); 3) septasi, yakni proses pemisahan bagian-bagian bakal jantung serta arteri besar dengan pembentukan berbagai ruang jantung; dan 4) migrasi, yakni pergeseran bagian-bagian jantung sebelum mencapai bentuk akhirnya. Perlu diingat bahwa keempat tahapan tersebut bukan benar-benar merupakan proses yang terpisah, namun merupakan rangkaian proses yang saling tumpang-tindih.^{5,6,7}

Pada awalnya jantung hanya merupakan sebuah tabung lurus yang berasal dari fusi sepasang primordia simetris. Pada tabung tersebut terdapat beberapa bagian yang mengalami dilatasi, yaitu sinus venosus, atrium primitif, ventrikel primitive serta trunkus arteriosus yang kelak menjadi aorta dan a. pulmonaris.^{5,6,7}

Tahapan selanjutnya dikenal sebagai suatu proses looping antara atrium dan segmen inlet ventrikel, dan juga antara segmen inlet dan outlet ventrikel. Sinus venosus, yang tertanam kuat pada septum transversum, menjadi bagian ujung tabung yang terfiksasi. Perkembangan yang bertahap menyebabkan atrium primitif bergeser ke arah sinus venosus, sehingga terbentuk lengkungan ke kanan antara atrium dan segmen inlet ventrikel. Pada komponen inlet dan outlet ventrikel juga terbentuk lengkung sudut sebesar 180° , sehingga trunkus berada di depan dan kanan atrioventrikularis. Proses looping ini biasanya terjadi ke arah kanan dan disebut sebagai *dextro (d) ventricular looping*^{5,6,7}

Selanjutnya adalah tahapan septasi pada segmen atrium, ventrikel, dan trunkus arteriosus. Bantalan endokardium superior dan inferior berkembang dan menyatu dengan septum interventrikel. Selanjutnya trunkus akan mengalami proses septasi oleh bulbar ridge menjadi aorta dan arteri pulmonalis.^{5,6,7} Bantalan endokardium akan berkembang menjadi septum ventrikel bagian inlet, katup mitral, katup tricuspid, septum atrium bagian primum dan septum interventrikular akan membentuk septum ventrikel bagian muskular.^{5,6}

Septasi trunkus arteriosus terjadi dengan terbentuk dan berfusinya tonjolan tonjolan endokardial yang dimulai dari segmen outlet ventrikel. Septum yang kemudian menjadi pemisah aorta dan arteri pulmonalis tersebut tidak saja berasal dari tonjolan endokarium tetapi juga dari perlekatan antara dinding trunkus. Septum ini disebut septum infundibular. Mula mula proses berlangsung seperti spiral, dan selanjutnya pada saat fusi menjadi septum yang lurus.^{5,6,7}

Bersama dengan septasi kanalis atrioventrikularis dengan terbentuknya bantalan endokardium yang telah diuraikan, terjadi juga pergeseran (migrasi) segmen inlet ventrikel, sehingga orifisium atrioventrikular kanan akan berhubungan dengan daerah trabekular ventrikel kanan. Pada saat yang sama terbentuk septum inlet antara orifisium atrioventrikular kanan dan kiri, sehingga ventrikel kanan sudah mempunyai daerah inlet dan outlet, sedangkan ventrikel kiri hanya mempunyai inlet.^{5,6,7}

Darah yang masuk ke ventrikel kiri harus melalui lubang yang dibentuk oleh septum inlet, septum trabekular, dan lengkung jantung bagian dalam (*inner heart curvatura*), masuk ke dalam ventrikel kanan dan baru dapat keluar ke aortic outflow tract. Dalam perkembangan selanjutnya *aortic outflow tract* akan bergeser ke arah ventrikel kiri dengan absorpsi dan

perlekatan dari *inner heart curvature*. Sekarang kedua ventrikel masing-masing sudah memiliki inlet, outlet dan trabekular^{5,6}

Pergeseran aorta ke arah ventrikel kiri ini akan menyebabkan septum outlet (infundibular) berada pada satu garis dengan septum inlet dan septum trabekular. Komunikasi antara kedua ventrikel masih tetap ada, dan lubang baru yang terbentuk ini selanjutnya akan tertutup oleh septum membranous. Jadi septum ventrikel terdiri dari 4 bagian, yaitu septum trabekular, septum inlet yang berasal dari bantalan endokardium, septum infundibular, dan septum membranosa^{5,6,7}

Gen NKX2.5 merupakan faktor transkripsi yang termasuk dalam *cardiac specific homeobox gene* (CSX) terdiri dari dua ekson dan terletak pada kromosom 5q34 dengan ikatan protein berupa *helix turn helix DNA binding motif*.⁸⁻¹⁰

Gen TBX1 adalah suatu gen yang termasuk kelompok *T box* dan merupakan faktor transkripsi yang terletak pada kromosom 22q11.2, serta terdiri dari 9 ekson. Penelitian sebelumnya menunjukkan gen TBX1 berperan pada morfogenesis konotrunkal saat embriogenesis jantung sehingga mutasi gen TBX1 akan menyebabkan gangguan pada pembentukan konotrunkal^{11,12}

GATA4 merupakan gen faktor transkripsi yang akan menyebabkan perubahan struktur protein faktor transkripsi.¹³ sehingga menyebabkan gangguan pada saat pembentukan septum infundibular dan menyebabkan deviasi septum infundibular ke anterior pada tetralogy fallot

Ditemukan mutasi gen NKX2.5 yang merupakan single nucleotide polymorphism. Seluruh mutasi gen NKX2.5 terletak pada ekson 2, dan terdapat tiga letak mutasi yaitu, c 608A>G (pPro266Thr), c796C>A (pPro266Thr) dan c797C>A (pPro266His). Frekuensi allele pada

mutasi gen NKX2.5, hampir sama pada ke tiga letak mutasi yaitu 4/208 dan 5/208, sedangkan pada kelompok control, frekuensi allele ini cukup tinggi yaitu 4/208 vs 1/86, 5/208 vs 11/22 dan 5/208 vs 11/22. Tidak temukan mutasi gen GATA4 dan TBX1.

Terdapat frekuensi allele yang cukup tinggi pada kelompok control mutasi gen NKX2.5 di ekson 2 pada c796C>A (pPro266Thr) dan c797C>A (pPro266His). Sehingga mutasi gen NKX2.5 pada ekson 2 pada c796C>A (pPro266Thr) dan c797C>A (pPro266His) merupakan factor predisposisi untuk terjadinya Tetralogy Fallot pada kelompok control untuk generasi berikutnya.

Daftar pustaka

1. Park MK. Pediatric cardiology for practitioners, edisi ke-5. Philadelphia: Mosby; 2008.;235-48
2. Breitbart RE, Flyer DC. Tetralogy of Fallot. Dalam: Keane JF, Lock JE, Flyer DC, penyunting. NADAS' pediatric cardiology. Edisi ke-2. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. h. 559-79.
3. Schultz AH, Kreutzer J. Cyanotic heart disease. Dalam Vetter VL, penyunting. Pediatric cardiology: the requisites in pediatrics. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2006. h. 51-78.
4. Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Barat. Profil kesehatan provinsi Jawa Barat. Bandung: Departemen Kesehatan Provinsi Jawa Barat; 2004.
5. Gittenberger-de Groot AC, Bartelings MM, Deruiter MC, Poelmann RE. Basics of cardiac development for the understanding of congenital heart malformations. Ped Res. 2005;57(2):169-76.

6. Lamers WH, Moorman AFM. Cardiac septation: a late contribution of the embryonic primary myocardium to the heart morphogenesis. *Circ Res.* 2002;91:93-103.
7. Praagh RV. Embriology. Dalam: Keane JF, Lock JE, Flyer DC, penyunting. *NADAS' pediatric cardiology.* Edisi ke-2. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. h. 13-25.
8. Reamon-Buettner SM, Borlak J. Somatic NKX2-5 mutations as a novel mechanism of disease in complex congenital heart disease. *J Med Genet.* 2004;41:684-90.
9. Benson DW, Silberbach GM, Kavanaugh-McHugh A. Mutations in the cardiac transcription factor NKX2.5 affect diverse cardiac developmental pathways. *J Clin Invest.* 1999;104:1567-73.
10. Reamon-Buettner SM, Hecker H, Spanel-Borowski K, Craatz S, Kuenzel E, Borlak J. Novel NKX2-5 mutations in diseased heart tissues of patients with cardiac malformations. *AJP.* 2004;164(6):2117-25.
11. Xu H, Morishima M, Wylie JN, Schwartz RJ, Bruneau BG, Lindsay EA and Baldini A. TBX1 has a dual role in the morphogenesis of the cardiac outflow tract. *Development* 2004; 131, h 3217-3227
12. Rauch A, Devriendt K, Koch A, Rauch R, Gewillig M, Kraus C, Weyand M, Singer H, Reis A, Hofbeck M. Assessment of association between variants and haplotypes of the remaining TBX1 gene and manifestations of congenital heart defects in 22q11.2 deletion patients. *J Med Genet* 2004;41:e40
13. Nemer G, Fadlalah F, Usta J. A novel mutation in the GATA4 gene in patients with tetralogy of Fallot. *Hum Mutat.* 2006;27(3):293-4.

