



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Estudio Genético de Muerte Súbita en la
Región de Murcia

D^a. Caricia Pérez Ruescas

2015

UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina Interna



TESIS DOCTORAL

**Estudio genético de muerte súbita en la
Región de Murcia.**

Memoria para optar al grado de Doctor
presentada por

Caricia Pérez Ruescas

Bajo la dirección de los Doctores:

D. Juan Ramón Gimeno Blanes.

D. Francisco Ruíz Espejo.



UNIVERSIDAD DE MURCIA

Dr. FRANCISCO RUÍZ ESPEJO, facultativo especialista de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca en Murcia y profesor asociado en Ciencias de la Salud de la Universidad de Murcia del Área de BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR en el departamento de BIOQUÍMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR “B” E INMUNOLOGÍA, autoriza:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “**ESTUDIO GENÉTICO DE MUERTE SÚBITA EN LA REGIÓN DE MURCIA**”, realizada por D^a. CARICIA PÉREZ RUESCAS, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 1 de Junio de 2015

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'M. i.' or similar, written in a cursive style.



UNIVERSIDAD DE MURCIA

Dr. JUAN RAMÓN GIMENO BLANES, facultativo especialista de Cardiología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca en Murcia y profesor asociado de la Universidad de Murcia del Área de MEDICINA en el departamento de MEDICINA INTERNA autoriza:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “**ESTUDIO GENÉTICO DE MUERTE SÚBITA EN LA REGIÓN DE MURCIA**”, realizada por D^a. CARICIA PÉREZ RUESCAS, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 1 de Junio de 2015

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Gimeno'.

A mis padres y a mi hermano Pablo.

A mi Abuela.

A Félix.

AGRADECIMIENTOS

A Paco Ruiz, Juan Ramón Gimeno y Juan Pedro Hernández por la ayuda recibida en esta tesis que me ha permitido llevar este proyecto hacía su meta particular. Gracias por confiar en mí, por vuestro tiempo y dedicación.

A Isabel Tovar por haberme apoyado y aconsejado. Por haberme prestado su ayuda y experiencia, confiando siempre en el trabajo realizado.

A todo el personal del laboratorio de diagnóstico molecular, por hacerme sentir bienvenida y querida. Sin vuestra ayuda este trabajo no hubiera sido posible. En especial a Angeles por los ratos tan buenos que hemos pasado “pipeteando”.

A Xavi, María, Julio y Lidia, con los que he compartido mis años en Murcia y que se han sido como mi familia durante este tiempo. Gracias por ser siempre tan “auténticos”.

A mis amigas de toda la vida y las que me acompañaron durante los años de carrera en Granada, Por preocuparos por mí y tener siempre un buen consejo.

A mi amiga Maca con la que tantas tardes he intentado arreglar el mundo al más puro estilo de Mafalda...” ¡¡Que paren el mundo que me quiero bajar!!” Gracias por estar siempre dispuesta.

A mis suegros Félix y Marichón, mis cuñados Carlos y Jaime, mis “cuñis” Carmen, Laura y María porque forman parte de mi familia. Por todos los momentos que hemos vivido y los que nos quedan por compartir.

A mis sobrinos Pablo, Carlos y las dos Marías porque me hacéis pasar ratos tan divertidos que hacen que me olvide todo.

A mi abuela, por formar parte de todos los momentos importantes de vida y porque siempre me enseñó a poner empeño, cariño y sencillez en cada cosa que ella hacía.

A mis padres y mi hermano Pablo, porque siempre estáis ahí cuando los necesito y por vuestro cariño incondicional. Gracias por ser una guía tan importante para mí

A Félix, mi marido. Gracias por ser mi apoyo y enseñarme a disfrutar la vida de una manera tan especial, diferente y divertida. Por el esfuerzo que hemos hecho estos últimos años y porque sé que juntos seguiremos llegando a ríos y seguiremos cruzando puentes. Espero seguir aprendiendo, explorando, y descubriendo el mundo a tu lado.

A cada uno de vosotros, GRACIAS.

Índice

ÍNDICE

ABREVIATURAS	I
LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE FIGURAS	V
INTRODUCCIÓN	1
1. MUERTE SÚBITA	3
1.1. Definición de muerte súbita	3
1.2. Epidemiología de la muerte súbita	4
1.3. Causas de muerte súbita cardiaca	4
1.4. Utilidad de las pruebas genéticas en la muerte súbita	5
1.5. Utilidad de la autopsia cardiaca en muerte súbita	6
2. MIOCARDIOPATÍAS	6
2.1. Miocardiopatía hipertrófica	6
2.1.1. Estructura y funcionamiento del sarcómero cardiaco	9
2.1.2. Criterios diagnósticos de la miocardiopatía hipertrófica	12
2.1.3. Patogénesis molecular de la hipertrofia cardiaca	14
2.1.4. Análisis genético de la miocardiopatía hipertrófica	18
2.2. Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho	22
2.2.1. Patogénesis molecular de la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho	23
2.2.2. Criterios diagnósticos de la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho	26

2.2.3. Análisis Genético en la MAVD	26
2.3. Miocardiopatía Dilatada	28
2.3.1. Criterios diagnósticos de la MCD	29
2.3.2. Análisis genético de la MCD	29
3. CANALOPATÍAS	34
3.1. Potencial de acción cardiaco	35
3.2. Síndrome de QT largo	37
3.2.1. Análisis genético en el Síndrome de QT largo	37
3.3. Síndrome de Brugada	40
3.3.1. Análisis genético en el Síndrome de Brugada	42
3.4. Síndrome de QT corto	44
3.4.1. Analisis genético en el Síndrome de QT corto	45
3.5. Taquicardia Ventricular Polimorfica Catecolaminergica	46
3.5.1. Análisis genético en la Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica	47
4. OTRAS CARDIOPATIAS	49
5. MUERTE SÚBITA INEXPLICABLE DEL ADULTO Y DEL INFANTE	51
6. INTERPRETACIÓN DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS	52
6.1. Clasificación de las variantes identificadas	54
6.1.1. Evaluación de la frecuencia	54
6.2.2. Evaluación de la patogenicidad	55

OBJETIVOS	61
MATERIAL Y MÉTODOS	65
1. POBLACIÓN DE ESTUDIO	67
2. DISECCIÓN REGLADA DEL CORAZÓN	70
2.1. Estudio macroscópico del corazón	70
2.2. Estudio de las coronarias	72
2.3. Estudios histopatológico	74
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	75
4. PROGRAMACIÓN DEL ESTUDIO MOLECULAR	75
5. EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO	76
6. AMPLIFICACIÓN Y PURIFICACIÓN DEL ADN	78
7. SECUENCIACIÓN AUTOMÁTICA DIRECTA	91
8. “NEXT GENERATION SECUENCING” (NGS). <i>ILLUMINA HI SEQ2000®</i>	93
9. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LAS VARIANTES ENCONTRADAS	94
10. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LAS NUEVAS VARIANTES IDENTIFICADAS: ESTUDIOS <i>IN SILICO</i>	99
10.1. Propiedades de los aminoácidos sustituidos	99
10.2. Predictores de patogenicidad basados en la conservación filogenética	99
10.3. Predictores de patogenicidad basados en redes neuronales	102
10.4. Predictores de patogenicidad basados en clasificadores Bayesianos	102
10.5. Estudio de variantes intrónicas	104
RESULTADOS	107

1. CAUSAS DE MUERTE SÚBITA EN NUESTRA POBLACIÓN	109
1.1. Características de la población respecto al diagnóstico de MCP ó CP	111
1.2. Características de la población según el sexo y edad media	112
2. CARACTERÍSTICAS DE LA MUERTE SÚBITA	113
2.1. Muerte súbita en deportistas	115
3. SECUENCIACIÓN DIRECTA DE LOS GENES MÁS PREVALENTES EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA	115
3.1. Autopsia molecular.	115
3.2. Tipo de variantes encontradas. Resultados globales	120
3.2.1. Miocardiopatía hipertrófica	121
3.2.2. Hipertrofia idiopática del ventrículo izquierdo	134
3.2.3. Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho	146
3.2.4. Síndrome de QT Largo	161
3.2.5. SADS	170
3.2.6. Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica	172
3.2.7. Miocardiopatía no clasificable	175
3.2.8. Convulsión febril (sin evidencias de enfermedad cardiaca)	178
DISCUSIÓN	193
1. CAUSAS DE MUERTE SÚBITA EN NUESTRA POBLACIÓN	195
1.1. Características de la población respecto al diagnóstico de MCP ó CP	197
1.2. Características de la población según el sexo y edad media	197
2. CARACTERÍSTICAS DE LA MUERTE SÚBITA	198
2.1. Muerte súbita en deportistas	198
3. SECUENCIACION AUTOMÁTIZADA DE LOS GENES MÁS PREVALENTES EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA	199

3.1. Autopsia molecular	200
3.2. Tipo de variantes encontradas. Resultados globales	201
3.2.1. Miocardiopatía hipertrófica	203
3.2.1.1. Variantes identificadas en <i>MYH7</i>	204
3.2.1.2. Variantes identificadas en <i>MYBPC3</i>	206
3.2.1.3. Dobles portadores en MCH	208
3.2.2. Hipertrofia idiopática del ventrículo izquierdo	209
3.2.2.1. Variantes identificadas en <i>TNNT2</i> y <i>TNNT3</i>	210
3.2.2.2. Variantes identificadas en <i>MYBPC3</i>	211
3.2.2.3. Dobles portadores en HIVI	212
3.2.3. Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho.	213
3.2.3.1. Variantes identificadas en <i>PKG/JUP</i>	214
3.2.3.2. Variantes identificadas en <i>DSG2</i>	215
3.2.3.3. Dobles portadores en MAVD	216
3.2.4. Síndrome de QT largo	219
3.2.4.1. Variantes identificadas en <i>KCNQ1</i>	220
3.2.4.2. Variantes identificadas en <i>DSP</i>	221
3.2.4.3. Dobles portadores en SQT	222
3.2.5. SADS	223
3.2.6. Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica	225
3.2.7. Otras miocardiopatías	226
3.2.7.1. MC no clasificable	226

3.2.7.2. Muerte súbita por convulsión febril	227
4. AMPLIACIÓN DEL ESTUDIO GENÉTICO HACIA NUEVOS GENES CAUSALES DE MCP Y CP	228
5. ESTUDIO FAMILIAR: CORRELACION GENOTIPO-FENOTIPO	229
6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	232
7. LIMITACIONES ACTUALES Y PAPEL DE LAS PRUEBAS GENÉTICAS	232
CONCLUSIONES	236
ANEXOS	239
BIBLIOGRAFÍA	249

ABREVIATURAS

aa	Aminoácido
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
AV	Auricoventricular
aVF	<i>Augmented voltage foot</i>
aVL	<i>Augmented voltage left</i>
BAV	Bloqueo auriculoventricular
BCRDHH	Bloqueo completo de la rama derecha del Haz de His
BCRIHH	Bloqueo completo de la rama izquierda del Haz de His
bp	Pares de bases
BRI	Bloqueo de rama izquierda
CLE	Cadena ligera esencial de la miosina
CLR	Cadena ligera reguladora de la miosina
CP	Canalopatía
C-t	Extremo carboxilo terminal
DAI	Desfibrilador automático implantable
DTD	Diámetro telediastólico.
ECG	Electrocardiograma
ECO	Ecocardiograma
EV	Extrasistole ventricular
FE	Fracción de eyección
FA	Fibrilación Auricular
FV	Fibrilación Ventricular
HFMS	Historia familiar de muerte súbita
HTA	Hipertensión arterial

HVI	Hipertrofia del ventrículo izquierdo
lpm	Latidos por minuto
MAF	Frecuencia mínima alélica
MAVD	Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho
MCH	Miocardiopatía hipertrófica
MCP	Miocardiopatía
MCNC	Miocardiopatía no compactada
MS	Muerte súbita
MSC	Muerte súbita cardíaca
MCD	Miocardiopatía dilatada
MCR	Miocardiopatía restrictiva
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
N-t	Extremo amino terminal
PA	Potencial de acción
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PLVI	Pared libre del ventrículo izquierdo
PLVD	Pared libre del ventrículo derecho
QTc	Intervalo QT corregido
RE	Retículo endoplásmico
SADS	<i>Sudden Arrhythmic death syndrome</i>
SAM	Movimiento sistólico anterior
SB	Síndrome de Brugada
SERCA	Retículo sarcoplásmico
SMSI	Síndrome de muerte súbita inexplicable
SMSL	Síndrome de muerte súbita en el lactante
SNP	<i>Single nucleotid polymorphism</i>

SQTC	Síndrome de QT Corto
SQTL	Síndrome de QT Largo
TV	Taquicardia ventricular
TVNS	Taquicardia ventricular no sostenida
TVPC	Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica
TSVD	Tracto de salida del ventrículo derecho
UVs	<i>unclassified variants</i>
VD	Ventrículo derecho
VI	Ventrículo izquierdo
VSI	Variante de significado incierto

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Genes implicados en la MCH	19
Tabla 2. Mutaciones en genes asociados con fenocopias de MCH	21
Tabla 3. Genes implicados en la MAVD	27
Tabla 4. Genes implicados en la MCD	30
Tabla 5. Genes asociados al SQTL	38
Tabla 6. Genes asociados al síndrome de SBr	43
Tabla 7. Genes asociados al síndrome de QT corto	45
Tabla 8. Genes asociados a la TVPC	47
Tabla 9. Resumen de los genes estudiados por secuenciación directa para cada una miocardiopatías y/o canalopatías	76
Tabla 10. Cebadores utilizados para las amplificaciones de <i>MYBPC3</i>	78
Tabla 11. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>MYH7</i>	80
Tabla 12. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>PKP2</i>	81
Tabla 13. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>DSP</i>	82
Tabla 14. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>DSG2</i>	83

Tabla 15. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>LMNA</i>	84
Tabla 16. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>Cypher/Zas</i>	85
Tabla 17. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>SCN5A</i>	86
Tabla 18. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>KCNQ1</i>	87
Tabla 19. Cebadores utilizados para las amplificaciones <i>KCNH2</i>	88
Tabla 20. Cebadores utilizados para las amplificaciones de <i>TNNT2</i> , <i>TNNI3</i> , <i>DSG2</i> , <i>JUP</i> , <i>GJA1</i> , <i>KCNE2</i> , <i>CACNA2D1</i> y <i>RyR2</i>	89
Tabla 21. Reacción de PCR	90
Tabla 22. Reacción de secuenciación	92
Tabla 23. Características de las herramientas bioinformáticas utilizadas en la predicción patógena de las nuevas variantes identificadas	106
Tabla 24. Características de la MS en relación con el diagnóstico de la cardiopatía	111
Tabla 25. Resumen del número de casos de cada patología en función del sexo junto a la media de edad	113
Tabla 26. Circunstancias de la MS respecto al diagnóstico de cardiopatía	114
Tabla 27. Resumen de las variantes génicas encontradas en 23 casos índice	116
Tabla 28. Resumen de los genes estudiados con resultado negativo en 27 casos índice	119
Tabla 29. Resumen de las variantes encontradas	121
Tabla 30. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 3	125
Tabla 31. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 5	129
Tabla 32. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 6	133
Tabla 33. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 8	138
Tabla 34. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 10	143
Tabla 35. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 12	149
Tabla 36. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 13	154
Tabla 37. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 14	157

Tabla 38. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 15	160
Tabla 39. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 16	163
Tabla 40. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 17	166
Tabla 41. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 18	169
Tabla 42. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 19	171
Tabla 43. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 20	174
Tabla 44. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 21	178
Tabla 45. Relación de las variantes detectadas en nuestra serie	181
Tabla 46. Predicciones <i>in silico</i> sobre las variantes no descritas	188
Tabla 47. Sumario de la información de aquellos casos en los que se realizó la autopsia molecular	190
Tabla 48. Prevalencia de las variantes identificadas según su efecto patológico	201

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A: Desorganización de los miocitos, B: Imagen macroscópica de un corazón con hipertrofia	8
Figura 2. Patrones de engrosamiento del musculo cardiaco	9
Figura 3. Organización del sarcómero cardiaco	11
Figura 4. Interacción actina-miosina	12
Figura 5. Factores de riesgo de muerte súbita en MCH	14
Figura 6. Modelo convencional mediante el cual mutaciones que conllevan hipocontractilidad podrían desencadenar una hipertrofia compensatoria en MCH	16
Figura 7. Proteínas del sarcómero y localización de las diferentes mutaciones descritas en la MCH	20
Figura 8. (a) Triángulo de la Displasia Arritmogénica de Ventrículo Derecho. (b) Sección longitudinal de un corazón	23
Figura 9. Modelo estructural del desmosoma	24
Figura 10. Patogénesis molecular de la MAVD	25

Figura 11. (A) Sección longitudinal de un corazón, que muestra aspecto globoide con cavidades dilatadas. (B) Dilatación del musculo cardiaco en la MCD	29
Figura 12. Mutaciones en genes que causan la MCD	32
Figura 13. Canales iónicos y el potencial de acción cardíaco	34
Figura 14. Representación del ECG	36
Figura 15. Estratificación del riesgo en el síndrome de SQT	36
Figura 16. Prueba de flecainamida en un paciente en el que se sospecha un síndrome de Brugada	39
Figura 17. Electrocardiograma basal en un paciente con síndrome de QTC	41
Figura 18. TV bidireccional durante una prueba de esfuerzo en un paciente con TVPC	45
Figura 19. Resumen de los canales iónicos más importantes	47
Figura 20. Flujo de trabajo protocolizado	69
Figura 21. Método de estudio del corazón	71
Figura 22. Método de estudio del corazón	73
Figura 23. Método de estudio de las coronarias	74
Figura 24. A. <i>Maxwell 16 System</i> . B. Guía de utilización del <i>Maxwell 16</i> . C Esquema detalle de la extracción de ADN	77
Figura 25. A. Curva de absorbancia de una muestra de ADN. B. <i>Nanodrop1000</i>	78
Figura 26. Reacción enzimática para la purificación del producto de PCR	91
Figura 27. A) Analizador ABI 3130. B) Detalle del circuito del polímero	92
Figura 28. Algoritmo usado para la interpretación de las variantes detectadas en este estudio.	98
Figura 29. Gráfica de los grados de conservación de <i>Align-GVGD</i> en función de las variables GD y GV	101
Figura 30. Esquema de la distribución de los casos de MS.	110
Figura 31. Número de casos incluidos en el estudio molecular, en función de la cardiopatía	111
Figura 32. Número de casos en función de las características de la MS	114
Figura 33. Árbol genealógico familia 3	124

Figura 34. Árbol genealógico familia 5	128
Figura 35. Árbol genealógico familia 6	132
Figura 36. Árbol genealógico familia 8	137
Figura 37. Árbol genealógico familia 10	142
Figura 38. Árbol genealógico familia 12	148
Figura 39. Árbol genealógico familia 13	153
Figura 40. Árbol genealógico familia 14	156
Figura 41. Árbol genealógico familia 15	159
Figura 42. Localización esquemática de la variante asociada a SQT1 en KvLQT1	161
Figura 43. Árbol genealógico familia 16	162
Figura 44. Árbol genealógico familia 17	165
Figura 45. Árbol genealógico familia 18	168
Figura 46. Árbol genealógico familia 19	171
Figura 47. Árbol genealógico familia 20	173
Figura 48. Árbol genealógico familia 21	177
Figura 49. Genes y número de variaciones genéticas identificadas mediante secuenciación de los genes mas prevalentes.	202
Figura 50. Genes y número de variaciones genéticas identificadas mediante tecnología NGS	202
Figura 51. Representación esquemática de la <i>MYH7</i>	205
Figura 52. Representación esquemática de la <i>MYBPC3</i>	207
Figura 53. Representación esquemática de la <i>TNNT2</i>	210
Figura 54. Esquema de alguna de las mutaciones identificadas en <i>PKG/JUP</i>	214
Figura 55. Esquema de las mutaciones identificadas en <i>DSG2</i>	216
Figura 56. Esquema de las mutaciones identificadas en <i>PKP2</i>	217
Figura 57. Esquema de las mutaciones identificadas en <i>DSP</i>	221
Figura 58. Esquema de las mutaciones identificadas en <i>DSC2</i>	226

Figura 59. Puntos clave para el uso de los test genéticos en la práctica clínica	230
Figura 60. Esquema de la distribución de familiares portadores de la mutación y afectados clínicamente	231

Introducción

1 MUERTE SÚBITA

1. 1. Definición de muerte súbita

La muerte súbita (MS) se define como una forma de muerte natural, inesperada en el tiempo y en su forma de presentación, con un límite temporal de 1 hora entre el inicio de los síntomas y la muerte [1;2].

Constituye un problema de salud de primer orden, afectando en ocasiones a individuos jóvenes en su etapa de máximo desarrollo personal y profesional. Los casos de MS provocan un gran impacto social, y tienen una repercusión económica muy importante si se considera en términos de años potenciales de vida perdidos. La repercusión social que supone el fallecimiento repentino de una persona considerada hasta entonces sana, en ocasiones aficionado al deporte, es indudable. La MS puede ser la primera manifestación de una miocardiopatía (MCP) o una canalopatía (CP) en un individuo previamente asintomático siendo la miocardiopatía hipertrófica (MCH) y la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (MAVD) las enfermedades musculares cardíacas subyacentes más frecuentes [1-7].

Algunas enfermedades arrítmicas secundarias a alteraciones en canales iónicos como el síndrome de QT largo (SQTL), la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (TPVC) o el síndrome de Brugada (SB) son también causa de MS [8-12].

Las enfermedades cardíacas hereditarias; MCP, CP y otros síndromes con afectación vascular (síndrome de Marfan, síndrome de Loeys-Dietz, síndrome de Noonan, etc.) engloban la mayor parte de las causas de muerte súbita (MS) en individuos jóvenes y además son una causa importante de MS en pacientes de mayor edad [13-16].

Estas enfermedades tienen una causa genética y se transmiten de padres a hijos con una determinada probabilidad, considerándose por tanto, enfermedades familiares. Las cardiopatías tienen una presentación clínica muy heterogénea y una evolución difícil de predecir; los estudios moleculares han demostrado ya, su utilidad en el diagnóstico, pronóstico y orientación terapéutica de los pacientes que sufren este tipo de patologías.

El diagnóstico genético ha pasado a ser un instrumento muy importante para identificar el sustrato molecular en los pacientes afectados por una cardiopatía hereditaria o en aquellos en los que se sospecha su presencia, siendo en ocasiones la

única herramienta para resolver casos con diagnóstico diferencial complicado [17]. Se recomienda realizar un estudio sistemático de los familiares de primer grado de los pacientes con MCP o CP. De esta manera, es posible identificar a familiares asintomáticos, estratificarlos correctamente y tratarlos de forma eficaz. El antecedente de MS en la familia incrementa el riesgo en los afectados de MCH [13]. En otras enfermedades hereditarias, la asociación entre historia familiar de muerte súbita (HFMS) y riesgo está menos establecida [18-20].

La relación coste-beneficio del estudio genético es favorable frente a la repetición periódica de otras pruebas diagnósticas. La identificación precoz de una cardiopatía que puede producir muerte súbita tiene, en estos casos, un coste-beneficio favorable [21].

1.2. Epidemiología de la muerte súbita

El 12% de los fallecimientos se producen de forma inesperada y súbita, la gran mayoría de estos ($\pm 90\%$) son de origen cardíaco. La incidencia anual estimada en nuestro país es de 40.000 casos/año [7]. Si se excluyen pacientes con cardiopatía conocida y se limita el intervalo de edad entre 16-60 años, la incidencia anual estimada es de 4.000 personas/año [7]. El número total de MS que se producen en nuestro país es 10 veces superior al de fallecimientos relacionados con accidentes de tráfico, siendo los recursos destinados a la prevención, tratamiento y a la investigación de sus causas infinitamente inferiores [7;8;10-12]. Entre el 5% y el 30% de estos casos de muerte súbita cardíaca, presentan un estudio toxicológico y necrópsico negativo [7;10;12].

1.3. Causas de muerte súbita cardíaca

En los individuos mayores de 35 años con factores de riesgo cardiovascular la causa más frecuente de muerte súbita es la enfermedad coronaria. Aproximadamente el 20% de los infartos agudos de miocardio fallecen de forma súbita antes de ser atendidos en un centro hospitalario. En cambio, en los menores de 35 años la causa de muerte súbita más frecuente son las miocardiopatías (MCH y MAVD) [6;7;22]. En estas enfermedades se observa afectación del músculo cardíaco en el estudio macroscópico y microscópico, aunque no siempre es evidente. En la edad pediátrica existe un periodo de mayor riesgo, el primer año de vida, en el cual se produce el síndrome de muerte súbita del lactante.

Como se citó anteriormente, se estima que entre un 5% y un 30% (individuos de cualquier edad), el estudio necrópsico no ofrece un diagnóstico claro o el estudio morfológico y toxicológico es rigurosamente normal [23]. Es el caso de los pacientes

con el SB o el SQTl en los que la alteración eléctrica que produjo la muerte es imposible de diagnosticar con los estudios necrópsicos habituales. La genética permite la identificación de mutaciones en genes que codifican canales iónicos en hasta un 40-50% de casos con necropsia negativa [24;25].

1.4. Utilidad de las pruebas genéticas en muerte súbita

Desde el descubrimiento del primer gen causante de una miocardiopatía en 1990 y del gen centinela causante de una canalopatía en 1995, los test genéticos para miocardiopatías y canalopatías potencialmente heredables han avanzado desde estudios científicos básicos hasta la aplicación clínica.

Hoy la mayoría de los test genéticos mediante los cuales se estudian miocardiopatías o canalopatías están al alcance de la clínica y son utilizados como test diagnósticos. Por otro lado el asesoramiento genético que debe ser realizado por un grupo multidisciplinar de profesionales, estará recomendado para todos los pacientes y familiares y debe hacerse detallando los riesgos, beneficios y opciones disponibles de los test genéticos.

El rendimiento de los test genéticos estudiados depende de cada enfermedad siendo en las canalopatías < 20% para el síndrome de QT corto (SQTC) y hasta el 75% en el SQTl. Entre las cardiopatías el rango en el rendimiento oscila entre <20% para la miocardiopatía restrictiva y hasta un 60% para la MCH familiar. Consecuentemente un resultado negativo en un test genético nunca puede excluir de la presencia de la enfermedad.

El diagnóstico, pronóstico y la contribución terapéutica de los test genéticos dependen de la enfermedad para cada caso índice. Las decisiones terapéuticas no deben ser tomadas solamente con el resultado del test genético, pero deben servir como base para una completa evaluación clínica.

La correcta identificación de una alteración genética causante de una enfermedad en un caso índice permite obtener un marcador diagnóstico para la presencia o ausencia de patogenicidad entre los familiares. Además los test genéticos serán una herramienta útil en la estratificación del riesgo entre los miembros de la familia, permitiendo determinar la probabilidad de que un individuo pueda manifestar la enfermedad.

Consecuentemente el estudio genético de los familiares tiene unas implicaciones terapéuticas que oscilan entre un resultado negativo del test genético con el

correspondiente alta del estudio cardiológico, hasta un resultado positivo del test genético sin una clara evidencia clínica.

Las pruebas genéticas deben ser consideradas como un componente más en la evaluación cardio-genética adecuada en la que entran a formar parte los temas ya mencionados; (1) diagnóstico del probando, (2) estudio de la naturaleza de la variante génica encontrada, (3) la necesidad de obtener una historia familiar completa que permita explicar la penetrancia y expresividad de la enfermedad [26;27].

1.5. Utilidad de la autopsia cardiaca en muerte súbita

El estudio del corazón es esencial en la investigación de los casos de MS cardíaca. Como ya se ha citado anteriormente, las miocardiopatías y canalopatías poseen un componente genético en muchos casos, por lo que se hace necesario un estudio riguroso del corazón en la autopsia forense para prevenir otras MS en la familia [23].

Un estudio óptimo requiere un examen macroscópico y microscópico protocolizado [23]. En los últimos años se han publicado diversas guías para el estudio de las MS cardíacas [28;29]. Por otra parte, hoy en día persiste el debate sobre la necesidad de que en todas las autopsias forenses se efectúe el estudio histopatológico de los órganos principales, incluyendo el corazón [23]. Algunos autores defienden que dicho estudio debería ser sistemático [30]; por el contrario, para otros debería hacerse solo en casos concretos [31].

Según *Morentin y col.* [23], lo ideal sería hacer el estudio microscópico en todos los casos, pero teniendo en cuenta que en determinados institutos puede ser inviable por la falta de recursos humanos y materiales, hacen una realación de su uso según determinados supuestos [23].

2. MIOCARDIOPATÍAS

Las miocardiopatías son un grupo heterogéneo de enfermedades del músculo cardíaco, definido por la estructura y función anormal de miocardio en ausencia de hipertensión, enfermedad valvular, enfermedad arterial, enfermedades cardíacas congénitas y otras causas secundarias suficientes para causar las anomalías miocárdicas observadas [32].

2.1. Miocardiopatía hipertrófica

La miocardiopatía hipertrófica es una enfermedad primaria del miocardio producida por mutaciones de genes que codifican proteínas del sarcómero,

principalmente [33-35], la primera alteración genética que se identificó fue en la cadena pesada de la β miosina, en una familia canadiense, así pues, todos los estudios se centraron en los genes codificantes de proteínas sarcoméricas, de ahí que se denomine enfermedad del sarcómero. Es una enfermedad compleja con características fisiopatológicas únicas y una gran diversidad de características morfológicas, funcionales y clínicas [36]. Desde el punto de vista anatomopatológico, la MCH se caracteriza por la presencia de desorganización de los miocitos y fibrosis, (**Figura 1**) que contribuyen al desarrollo de un amplio espectro de anomalías funcionales, incluyendo isquemia miocárdica, disfunción diastólica, insuficiencia cardíaca congestiva, arritmias y muerte súbita. [36-38]. Se trata de una enfermedad hereditaria, la causa más común de MS entre adultos jóvenes (especialmente entre los deportistas), y una causa importante de morbi-mortalidad entre los adultos de mayor edad [39;40]. Sin embargo, la expresión cardíaca de la enfermedad es altamente variable con respecto a la edad de inicio, el grado de los síntomas y el riesgo de MS. Las bases moleculares de la enfermedad, la utilidad clínica de los estudios genéticos, el diagnóstico diferencial con otras causas de hipertrofia cardíaca, la estratificación del riesgo, la prevención de la MS y el tratamiento del gradiente, son aspectos todavía no resueltos, en parte. La heterogenicidad clínica se manifiesta tanto a nivel inter como intrafamiliar, abarcando desde formas benignas, con buen pronóstico, hasta formas malignas con alto riesgo de fallo cardíaco y/o MS [41;42]. El riesgo de MS es bajo en pacientes que no presentan factores de riesgo, pero el riesgo estimado es suficiente para la implantación de un desfibrilador automático ó DAI (dispositivo que envía una descarga eléctrica a través del músculo cardíaco para detener una arritmia y restablecer el latido cardíaco normal) en aquellos pacientes con dos o más factores de riesgo [13]. Recientemente se ha propuesto un nuevo sistema de estratificación de riesgo basado en una fórmula [43]



Figura 1. A: Desorganización de los miocitos, B: Imagen macroscópica de un corazón con hipertrofia.

La anomalía más característica es una disfunción diastólica, más que sistólica. De este modo, la MCH se caracteriza por rigidez anormal del VI que conduce a un defecto de llenado ventricular. Las arritmias y/o MS pueden aparecer en ausencia de signos ecocardiográficos previos a la hipertrofia [44]. Por tanto el fenotipo de la MCH está representado por un espectro continuo que se extiende desde un corazón macroscópicamente normal hasta las formas severas, con una hipertrofia masiva del miocardio.

De forma característica, en los pacientes sintomáticos también se ha observado una marcada variación fenotípica relativa a la magnitud y extensión de la hipertrofia del miocardio. La ecocardiografía revela una hipertrofia predominante del tabique interventricular que suele extenderse en la pared anterolateral del VI. El engrosamiento de la pared se sitúa entre 20-25 mm, pero son frecuentes los casos entre 15 y 20 mm e incluso de menor tamaño [45]. En estos casos el electrocardiograma puede ser útil para identificar la enfermedad, ya que aproximadamente el 50% de los adultos portadores con un grosor de pared normal en ecocardiograma tienen alteraciones electrocardiográficas [46]. La forma más común es la hipertrofia septal asimétrica, donde el engrosamiento del músculo afecta predominantemente al tabique o pared que divide los lados derecho e izquierdo del corazón (**Figura 2**). La hipertrofia es mayor en la parte superior del tabique, en el área donde la sangre sale del corazón hacia la aorta. En otros pacientes el engrosamiento del músculo se distribuye de forma homogénea a lo largo del ventrículo, lo que se conoce como hipertrofia ventricular izquierda simétrica o concéntrica. La hipertrofia apical es más rara, y en ella el engrosamiento afecta predominantemente a la punta (ápex) del ventrículo izquierdo, que aparece como una cavidad alargada [47].

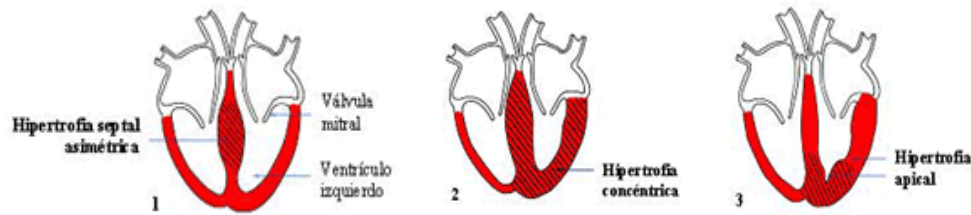


Figura 2. Patrones de engrosamiento del músculo cardíaco.

Según algunos autores la hipertrofia de predominio septal asimétrica sería la más frecuente (80%) [38]. Las hipertrofias concéntricas y apicales supondrían menos del 20% de los casos. Sin embargo estas cifras varían entre los estudios; así en un estudio de 89 pacientes mediante ecocardiografía bidimensional, el 55% tenía una hipertrofia septal asimétrica, el 31% concéntrica o simétrica y el 14% ventricular distal o apical [48].

Esta es una enfermedad frecuentemente familiar, con un patrón de herencia autosómica dominante, aunque algunos pacientes son los únicos afectados en sus familias (formas esporádicas). Estos casos podrían ser debidos a mutaciones que, por su baja penetrancia, no llegan a causar síntomas en el resto de los portadores de la familia o más probablemente por el análisis incompleto de todos los posibles portadores en la familia del paciente [46;49]. Actualmente, se considera que menos del 10% de los portadores de mutaciones se manifiestan como casos esporádicos [34].

Los pocos estudios existentes sobre la prevalencia de la MCH han sido realizados en los EE.UU y en Japón, y sugieren una cifra de aproximadamente 1:500 en la población general [35;50-52]. La historia natural de la enfermedad es benigna en la mayor parte de los afectados, con un deterioro gradual de clase funcional y función ventricular izquierda con la edad [53]. Una de las principales características de la MCH es el riesgo de aparición de MS. Esta puede producirse a cualquier edad, con una incidencia anual de un 2-4% en centros de referencia y en alrededor de un 1% en poblaciones no seleccionadas [13;54-56]. Muchos de los individuos con MCH son asintomáticos y las características clínicas pueden ser a veces leves, pudiendo ser la MS el primer síntoma que acontece, el diagnóstico genético familiar en cascada pasa a ser una herramienta efectiva para la prevención y estratificación del riesgo de cada individuo [26].

2.1.1. Estructura y funcionamiento del sarcómero cardíaco

El sarcómero del miocito es la unidad básica de contracción del músculo cardíaco. Se trata de una estructura compleja con una estequiometría muy precisa y con

múltiples zonas de interacción entre proteínas [57;58]. Las proteínas que forman el sarcómero se organizan en filamentos gruesos y finos que interaccionan entre sí para producir la contracción, que sucede por deslizamiento e interconexión de los filamentos finos y gruesos (**Figura 3**). Los componentes del sarcómero ejercen distintas funciones dentro de la maquinaria contráctil del miocito: unos realizan funciones enzimáticas y de desarrollo de fuerza (como la cadena pesada de la β -miosina), otros cumplen funciones estructurales (como la proteína C de unión a la miosina), y otros funciones reguladoras (como la Troponina T, la Troponina I y la α -Tropomiosina).

Los filamentos gruesos del sarcómero están formados por la miosina cardiaca, formada a su vez por dos cadenas pesadas y dos pares de cadenas ligeras (la cadena esencial y reguladora de la miosina, CLE y CLR respectivamente), y por la proteína C de unión a la miosina (*MYBPC3*). Estos filamentos gruesos se asocian a la titina, una proteína no contráctil que regula la rigidez miocárdica [59].

Los filamentos finos están formados por actina, la α -Tropomiosina y el complejo de Troponina (Troponina I, C y T). La Troponina actúa como un sensor de calcio, regulando la concentración cardiaca en respuesta a las variaciones de la concentración de Ca^{2+} intracelular. Se considera por tanto que es el receptor específico del calcio en los filamentos delgados del músculo cardiaco, y funciona de forma muy sensible para regular tanto la concentración como la relajación. El complejo de Troponina está formado por tres cadenas polipeptídicas: la Troponina C (Tn C), que se une al Ca^{2+} ; la Troponina I (Tn I), que inhibe la concentración muscular impidiendo la unión entre la actina y la miosina; y la Troponina T (TnT), que permite la unión del complejo de Troponina a la α -Tropomiosina durante la contracción muscular (**Figura 3**).

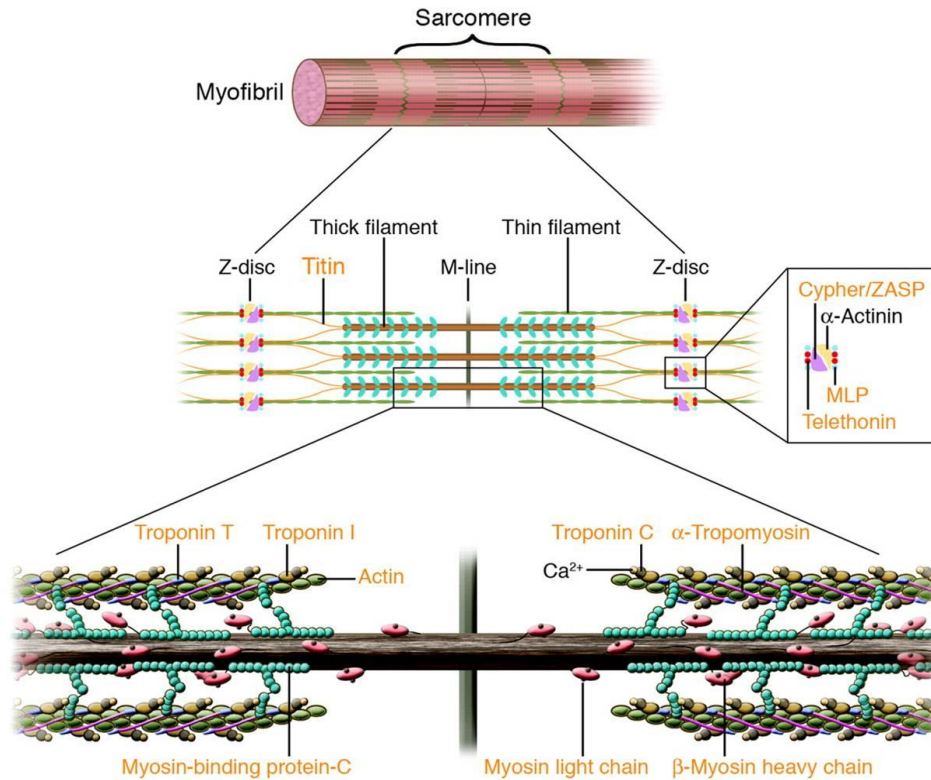


Figura 3. Organización del sarcómero cardíaco. Adaptado de Spirito y col, 1997 [60].

Al microscopio electrónico el sarcómero exhibe un patrón regular de bandas con áreas claras y oscuras, consecuencia del cruzamiento entre los filamentos finos de actina y los gruesos de miosina. La alineación de los filamentos del sarcómero es crítica para la interacción actina-miosina y su contracción. Las cadenas pesadas de miosina contienen los sitios de unión al ATP y la actina, y constituye el verdadero motor molecular de la contracción miocárdica [60]. Los latidos del músculo cardíaco se inician por impulsos nerviosos que provocan la liberación de Ca^{2+} al citosol que baña las miofibrillas; por el contrario, la relajación tiene lugar tras la reabsorción del Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico. La contracción se produce por la interacción cíclica de la miosina y la actina en un proceso que consume ATP, gracias a la actividad ATPasa asociada con la cabeza de la cadena pesada de la miosina (**Figura 4**). La liberación de grandes cantidades de Ca^{2+} almacenadas en el lumen del retículo sarcoplásmico hacia el citoplasma y la respuesta a un potencial de acción en la membrana plasmática, se traduce en un cambio en la conformación de la cabeza de la miosina que le permite interactuar con la actina.

La unión del Ca^{2+} intracelular al complejo Troponina y la α -Tropomiosina hace posible la interacción actina-miosina. Las cabezas de miosina se unen con las moléculas de actina, con desplazamiento de la actina hacia el centro del sarcómero. El

deslizamiento de los filamentos gruesos y finos permite el acortamiento del sarcómero y la contracción muscular. La función de la *MYBPC3*, situada en la banda A del sarcómero, todavía no ha sido definida por completo, pero se cree que participa en el ensamblaje de los filamentos gruesos por unión a la miosina y la titina, y que también desempeña una función reguladora dentro del sarcómero (**Figura 4**) [61].

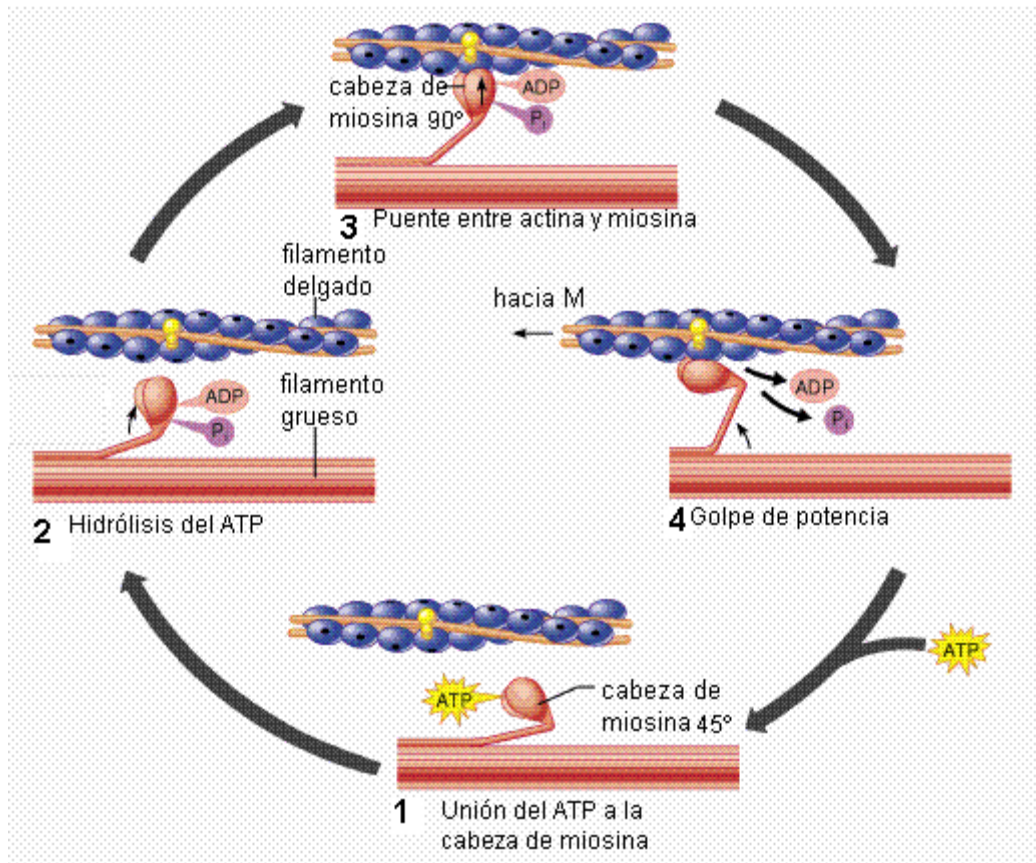


Figura 4. Interacción actina-miosina. Adaptado de Spirito y col, 1997 [60].

2.1.2. Criterios diagnósticos de la MCH

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reservado el término Miocardiopatía Hipertrofica para la hipertrofia del músculo cardiaco, que puede o no ir acompañada de un gradiente dinámico de obstrucción al tracto de salida del VI, y de causa inexplicada (ausencia de cualquier enfermedad cardiaca o sistémica capaz de ocasionarla, como HTA sistémica o estenosis aortica asociada con una cavidad ventricular izquierda no dilatada). La enfermedad se puede sospechar por la existencia de soplo sistólico en auscultación, relacionado con la obstrucción de salida a la salida del VI, o por un electrocardiograma anómalo. Sin embargo, en último término el diagnóstico clínico debe ser confirmado por el hallazgo ecocardiográfico de la morfología propia de la enfermedad: la hipertrofia ventricular izquierda, con un grosor de la pared ≥ 15 mm.[62-64].

Trabajos recientes en los que se ha realizado un estudio genético sistemático de familiares de pacientes con MCH se ha demostrado que un porcentaje relevante de pacientes con la enfermedad no cumplen los criterios diagnósticos convencionales, principalmente en cuanto a la presencia y grado de hipertrofia ventricular izquierda en el ecocardiograma (penetrancia incompleta) [65-67].

En los familiares de primer grado de pacientes con MCH, la probabilidad de ser portadores de la enfermedad es del 50%, y en este contexto, la presencia de anomalías menores en el electrocardiograma (ECG) y/o ecocardiograma (ECO) tiene una significación mucho mayor que en la población general, teniendo en cuenta estos datos, recientemente se han propuesto unos nuevos criterios diagnósticos aplicables a familiares adultos de primer grado de pacientes con MCH que presentan alteraciones en el ECG no explicadas por otra patología [68]. En el diagnóstico diferencial de la MCH hay que considerar también una serie de síndromes neuromusculares y metabólicos infrecuentes que se confunden con MCH idiopática [69]. Es importante realizar un correcto diagnóstico diferencial antes de iniciar una valoración pronóstica de la enfermedad.

Aunque la presencia de síntomas severos en individuos jóvenes podría asociarse con un mayor riesgo de mortalidad, un número importante de muertes se producen en pacientes asintomáticos o con síntomas leves, a veces incluso en atletas de alta competición con una alta capacidad funcional. Se ha descrito que la presencia de síntomas recurrentes sin causa aparente es un factor de riesgo importante en niños y adolescentes, con elevado valor predictivo positivo y bajo valor predictivo negativo para el desarrollo de la MS [37;70]. La presencia de antecedentes de muerte súbita resucitada se considera un factor de riesgo muy significativo, aunque hay que considerar que menos de un tercio de los pacientes que la sufren tienen eventos a corto o medio plazo [54]. En general podemos decir que la sintomatología no es una guía eficaz, excepto el síncope, en la evaluación del riesgo de MS en la mayor parte de los pacientes. En pacientes jóvenes, la presencia de antecedentes de MS precoz en dos o más familiares se asocia con un mayor riesgo de MS [70] (**Figura 5**).



Figura 5. Factores de riesgo de muerte súbita en MCH. Adaptado de Jacoby y Mc McKenna, 2012 [71].

2.1.3. Patogénesis molecular de la hipertrofia cardiaca

Mientras que la etiología de la MCH ha sido ampliamente estudiada, su patogenia no se entiende completamente, ya que todo el conocimiento acumulado en gran parte se ha obtenido de modelos animales. De hecho, los defectos iniciales causados por las proteínas mutantes son diversos y se cree que existe un modo común de patogénesis y en última instancia convergen en deteriorar la función del miocito cardíaco [72].

En estudios funcionales *in vitro* se ha demostrado que en portadores de mutaciones relacionadas con MCH, la función del sarcómero se altera primero por la disminución de la actividad del filamento translocado o la fuerza, que conduce a una reducción de la producción de energía. Por otra parte, puede aumentar la tasa de motilidad *in vitro* de deslizamiento de los filamentos o la fuerza [73].

Los cambios moleculares subyacentes a estas observaciones parecen variar e incluyen una reducción de la cinética de entrecruzamiento [74], menor actividad ATPasa, sensibilidad alterada del calcio [75-77], atrofia del miocito [77] y problemas del acoplamiento excitación–contracción [78]. Estos puntos en común y la diversidad de los mecanismos moleculares y celulares podrían estar implicados en la patogenia de los fenotipos finales de MCH vistos clínicamente [72].

Se desconoce aún cómo una mutación de una proteína sarcomérica y el defecto funcional observado están vinculados al desarrollo de las características microscópicas de la MCH. Se han propuesto varias hipótesis [74;79;80] que sugieren el hecho de que mutaciones de la MCH inducen defectos funcionales en la contractilidad del miocito, así como producir disfunción sistólica y diastólica que inducen un aumento del estrés parietal, una reducción del volumen de eyección y, en consecuencia, una activación de factores tróficos y mitóticos de estrés (tales como, angiotensina II, factor de crecimiento insulínico tipo 1; IGF-1, factor de crecimiento transformante beta 1; TGF- β , factor de necrosis tumoral alpha; TNF- α , interleukina 6; IL-6 y endotelina) [79]. Estas moléculas promueven la entrada de Ca^{2+} en las células y la activación de vías de transcripción que conducen a los diversos fenotipos histológicos y estructurales de MCH incluyendo hipertrofia cardíaca, fibrosis intersticial y *disarray* del miocito [72]. Por tanto, los primeros intentos para explicar la patogenia de MCH sugirieron que la incorporación de proteínas sarcoméricas mutantes deprime la función contráctil, y producen la activación posterior de respuestas neuroendocrinas y mecánicas que llevan a una hipertrofia compensatoria (**Figura 6**) [79;81].

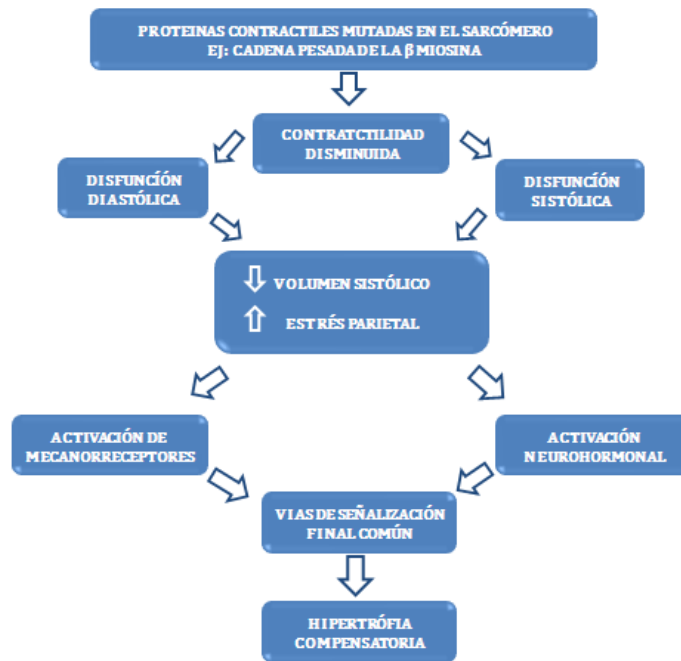


Figura 6. Modelo convencional mediante el cual mutaciones que conllevan hipocontractilidad podrían desencadenar una hipertrofia compensatoria en MCH. Adaptado de Ashrafian H. y cols., *Trends in Genetics*, 2003.

El problema de esta hipótesis recae en el hecho de que no todas las mutaciones producen hipocontractilidad, como las mutaciones de MCH en algunas proteínas reguladoras de filamentos delgados (por ejemplo, TnI y tropomiosina) que aumentan realmente la fuerza de contracción [82;83]. Por tanto, la disminución de la contractilidad per se no puede ser el único estímulo que derive en hipertrofia. En un modelo alternativo donde hay un aumento en la fuerza de la contracción, la hipertrofia inducida ocurre directamente como consecuencia de la hipercontractilidad [73].

Por otro lado, la hipertrofia de la MCH es característicamente asimétrica y tiende a ser mucho más grave que la hipertrofia concéntrica que aparece por el aumento de la carga en el corazón (por ejemplo, en la hipertensión). Corroborando los datos biofísicos e índices ecocardiográficos en portadores de la mutación que todavía no tienen hipertrofia, revelan un engrosamiento más que una contractilidad disminuida, argumentando en contra de la hipótesis compensatoria [84]. Además, se observa en MCH que normalmente sólo se vuelve aparente después de la pubertad y progresa lentamente, y con algunas mutaciones, la enfermedad sólo se manifiesta en edad adulta. El problema podría estar en la falta de coordinación entre unidades no mutadas y unidades mutadas, una unidad mutada puede producir un aumento de fuerza pero a su vez producir un efecto neto de pérdida de la compactación miocárdica [81].

El modelo final que puede explicar la hiper e hipocontractilidad observadas en ambos modelos anteriores es la hipótesis del "compromiso energético" [81] que propone para conciliar la falta de consistencia en las anomalías contráctiles en MCH, que la disfunción observada en MCH se debe al aumento de la demanda de energía debido a la ineficiente utilización de ATP en el sarcómero. El aumento de la demanda pone en peligro la capacidad de los cardiomiocitos para mantener los niveles de energía en compartimentos subcelulares responsables de la contracción y funciones hemostáticas críticas, tales como la reabsorción de calcio. Esta disfunción del miocito conlleva a hipertrofia. Por ejemplo, la miosin ATPasa utiliza al menos el 70% de la hidrólisis del ATP en el miocito cardíaco y perturba su propio motor o su regulación alterando la eficacia del uso de ATP por el sarcómero [80].

En los pacientes con MCH, hay una reducción de la fosfocreatina y la proporción de ATP, que es un indicador del estado energético del músculo cardíaco. Esa utilización ineficiente de ATP se traduce en la necesidad de producir más energía para la misma cantidad de fuerza. Por ejemplo, en un modelo murino de α -MHC403/+ de MCH, la demanda de más ATP para producir contracción del miocito lleva a un agotamiento de éste, afectando a la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico (SERCA) y conduciendo a la acumulación de calcio en el citosol [78].

Diversos estudios fundamentan que como consecuencia de la disminución de ATP disponible para mantener la recaptación normal de calcio, se produce un aumento del Ca^{2+} citosólico, activando señales de transcripción dependientes de Ca^{2+} la más importante parece ser calcineurina y los factores de transcripción NFAT (factor nuclear de linfocitos T activados) y MEF-2 (factor potenciador de miocito) llevando a hipertrofia y fibrosis [85-87].

Por tanto, la homeostasis del Ca^{2+} en el sarcómero es de gran importancia en la patogenia de MCH por asociarse a un aumento del calcio intracelular debido a:

- depleción energética (del ATP) en el miocito que conlleva una alteración del equilibrio entre el retículo sarcoplásmico y el citoplasma celular.
- proteínas sarcoméricas mutadas necesitan más ATP para producir la misma fuerza de contracción.

Para explicar la naturaleza asimétrica de la hipertrofia, que es uno de los rasgos más característicos de MCH, varios modelos teóricos asumen una tensión de la pared miocárdica uniforme, apoyando estudios que muestran mayores demandas de energía en el septo ventricular [88]. Un déficit severo de energía también pondrá en peligro la función del transportador de iones, necesaria para la actividad electrofisiológica normal. Esto proporcionaría una heterogeneidad de los potenciales de membrana y dejar al miocardio vulnerable a arritmias que conducen a muerte súbita en MCH. Además, la elevación citosólica del calcio es un potente estímulo para estas arritmias ventriculares. Por tanto, este compromiso energético sería más marcado en momentos de mayor carga de trabajo en el corazón y esto podría explicar el aumento del riesgo de MS observado durante el esfuerzo, especialmente en deportistas de competición [81].

Como los defectos de las proteínas contráctiles están presentes desde el nacimiento en pacientes con MCH, es difícil explicar porqué la hipertrofia generalmente no aparece hasta bien entrada la adolescencia o, en algunas mutaciones, hasta en una edad adulta tardía. Sin embargo, el rápido crecimiento que tiene lugar en la pubertad aumenta el tamaño cardíaco y las demandas metabólicas, mientras que los niveles de fosfocreatina y ATP miocárdicos declinan con la edad debido principalmente a la disfunción mitocondrial [89].

Por tanto, a nivel biofísico, las mutaciones de los miofilamentos (sarcómero) generalmente aumentan la sensibilidad al Ca^{2+} , la fuerza máxima de producción y la actividad ATPasa. Estos defectos, en última instancia, parecen converger en una deficiencia de energía y alteran el manejo del Ca^{2+} como principales rutas comunes hacia los rasgos anatómicos (hipertrofia, “*disarray*” y fibrosis) y características funcionales (señalización patológica y disfunción diastólica) característicos de la MCH [90].

2.1.4. Análisis genético de la MCH

Hasta la fecha más de 900 mutaciones causales en más de 20 genes han sido identificadas en MCH, como ya se ha comentado anteriormente, puesto que la mayoría de estos genes codifican proteínas sarcoméricas [54;58;91-94], la MCH es considerada una enfermedad del sarcómero, un 50% de las mutaciones se dan en genes que codifican para la cadena pesada de la miosina (*MYH7*) y la proteína C de unión a la miosina (*MYBPC3*). Mientras que las mutaciones que tienen lugar en genes que codifican para la Troponina T (*TNNT2*), Troponina I (*TNNI3*) y α -Tropomiosina (*TPMI*), están presentes

en un 10% de los casos de MCH y las mutaciones en genes que codifican para la cadena ligera de la miosina (*MYL2*) están presente en <5% de los casos [95]. Las mutaciones en los genes restantes son infrecuentes [58;93;94]. Recientemente el espectro de mutaciones causales se ha expandido, incluyendo el estudio de genes que codifican para el disco Z y línea M, tales como *MYOZ2* que codifica para la myozenina 2, Tcap ó titin-cap (Teletonina) y *MuRF1* (*Muscle ring finger protein-1*) [91;92;96] (**Tabla 1-Figura 7**).

<i>Gen</i>	<i>Proteína codificada</i>	<i>Función en el sarcómero</i>	<i>Frecuencia en pacientes</i>
<i>MYH7</i>	Cadena pesada de la β miosina cardiaca	Motora (filamento grueso)	25%-35 %
<i>MYBPC3</i>	Proteína C de unión a la miosina	Estructural	25%-35 %
<i>TNNT2</i>	Troponina T cardiaca	Reguladora (filamento fino)	3%-5%
<i>TNNI3</i>	Troponina I cardiaca	Reguladora (filamento fino)	1%-5%
<i>TPM1</i>	α -tropoiosina	Reguladora (filamento fino)	1%-5%
<i>MYL2</i>	Cadena ligera de la miosina 2	Estructural	<5%
<i>MYL3</i>	Cadena ligera de la miosina 3	Estructural	rara
<i>MYOZ2</i>	myozenina 2	Estructural (disco Z)	rara
<i>TCAP</i>	teletonina	Estructural (disco Z)	rara
<i>MuRF1</i>	Muscle ring finger protein-1	Estructural	rara
<i>CSRP3</i>	Proteína LIM	Estructural (disco Z)	rara
<i>ACTN2</i>	α -actinin 2	Estructural (disco Z)	rara
<i>ANKRD1</i>	CARP	Regulador de la expresión	rara
<i>JPH2</i>	Junctophilina 2	Conducción del calcio	rara
<i>TNNC1</i>	Troponina C tipo 1	Reguladora (filamento fino)	rara
<i>TTN</i>	titina	Estructural	rara

Tabla 1. Genes implicados en la MCH.

Otros genes han sido implicados en MCH (**Tabla 1**), mutaciones en *CSRP3*, que codifica para la proteína LIM, mutaciones en *ACTN2* que codifica para *alpha-actinin 2*, ambos muestran evidencia de cosegregación. Otras variantes raras han sido descritas en genes candidatos para el estudio de MCH como *ANKRD1* (*Ankirin repeat domain 1*) gen que codifica para la proteína CARP (*Cardiac Ankyrin repeat protein*), *JPH2* gen que codifica para la *junctophilina* [91;92;96], *TNNC1* que codifica para la troponina C tipo 1 [97], y *TTN* gen que codifica para la titina [98]. Este último, debido a su gran

tamaño, no ha sido aún lo suficientemente estudiado y aunque existen trabajos publicados que asocian a la *TTN* con MCH [99], esta hipótesis sería discutible. En un análisis realizado por *Herman y col* [100], sobre un grupo de pacientes afectados de MCH, se consiguieron identificar variantes en el gen de la *TTN* con una frecuencia del 1%, aunque este valor fue similar a la frecuencia hallada en controles (3%). Además sugirieron que las variantes en *TTN* probablemente no causarían MCH por si solas, pues encontraron que estos pacientes también poseían una variante de patogenicidad comprobada en al menos un gen relacionado con MCH.

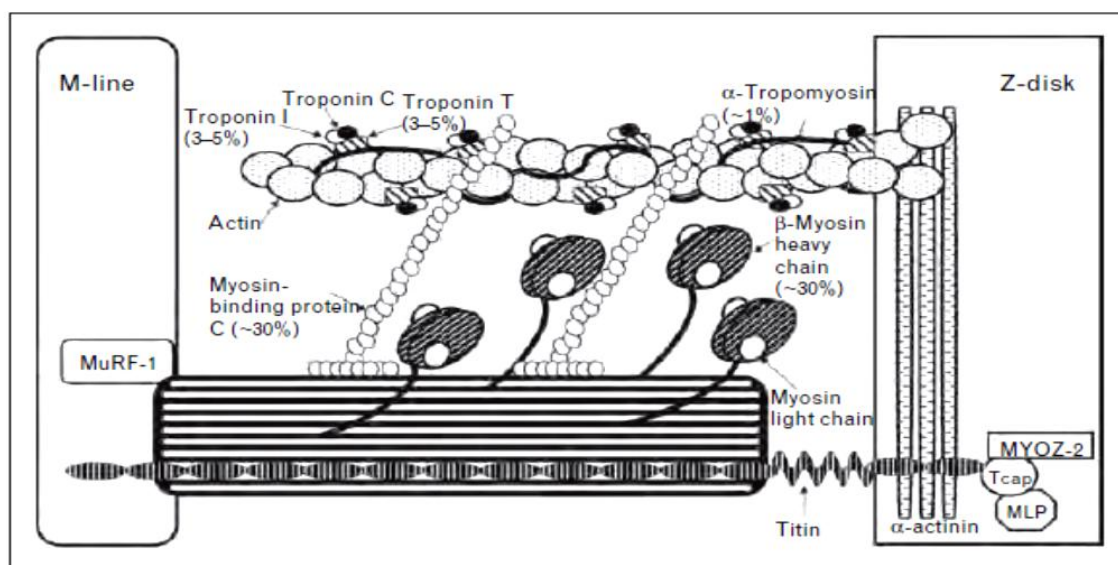


Figura 7. Proteínas del sarcómero y localización de las diferentes mutaciones descritas en la MCH. Adaptado de Lombardi, 2013 [32].

Recientemente *Valdés R y col.* [101]. Describieron que; las mutaciones en el gen que codifica para la proteína sarcomérica Filalamina C es una nueva causa de MCH familiar. En este estudio los pacientes que presentaban mutaciones en el gen de la Filalamina (*FLNC*), mostraban anomalías sarcoméricas en el músculo cardíaco y clínicamente estos individuos tenían una mayor incidencia de MS. Por otro lado el análisis funcional reveló que la expresión de estas variantes provocaba la formación de largos agregados de filalamina C.

Varias fenocopias de MCH se presentan con características cardíacas aparentemente similares en el establecimiento de diferentes patrones de herencia y/o características sistémicas. Estos incluyen el fenotipo compuesto de MCH con el síndrome de *Wolff-Parkinson-White* y alteraciones de la conducción causadas por mutaciones en *PRKAG2* (subunidad gamma de la proteína cinasa dependiente de AMPc), la enfermedad de Fabry causada por mutaciones en *GLA* (α -galactosidasa) y la

enfermedad de Danon causada por mutaciones en *LAMP2* (proteína de membrana asociada al lisosoma), también mutaciones del ADN mitocondrial y el síndrome de Noonan causado por mutaciones en *PTPN11* (**Tabla 2**). Estos trastornos se deben ser considerados y evaluados de forma individual en cada familia y, en cada caso utilizar las pruebas genéticas de manera estratégica.

<i>Gen</i>	<i>Proteína codificada</i>	<i>Fenotipos relacionados</i>
<i>PRKAG2</i>	Subunidad gamma de la proteína cinasa dependiente de AMPc	MCH, síndrome de Wolff-Parkinson-White y alteraciones de la conducción causadas, glucogenosis
<i>PTPN11</i>	Tirosin fosfatasa 1	MCH, síndrome de Noonan
<i>LAMP2</i>	Proteína de membrana asociada al lisosoma	MCH, síndrome de Danon
<i>GLA</i>	α -galactosidasa	MCH, síndrome de Fabry

Tabla 2. Mutaciones en genes asociados con fenocopias de MCH.

En cuanto al rendimiento genético del estudio de los genes del sarcómero (comprendiendo los genes candidatos; *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TPM1*), es de aproximadamente un 60%, en casos de MCH familiar. El rendimiento depende de la selección de los pacientes, cayendo hasta aproximadamente un 30% en casos esporádicos de diagnóstico en el adulto. Aproximadamente un 5% de los casos tienen una o más variantes génicas, aunque en muchos de ellos, al menos una de las variantes es de significado incierto (VSI), *unclassified variants* (UVs) ó Variants of unknowns significance (VUS) [102;103]. Se estima que la frecuencia con la que una variante de significado incierto puede hallarse en estos genes de mayor prevalencia mutacional es de aproximadamente un 5%, dato que representaría la tasa de falsos positivos en el diagnóstico molecular de la MCH [26].

El diagnóstico molecular estará recomendado en aquellos pacientes con un firme diagnóstico clínico de MCH, en los que la confirmación de una mutación específica beneficie a los familiares. El diagnóstico genético no estará recomendado en pacientes con características clínicas no diagnósticas de MCH [26]. La ausencia de una mutación sarcomérica no puede excluir de MCH familiar. El *screening* genético en la población no es aconsejable, pues el problema más frecuente en aquellos pacientes con una probabilidad pre test baja de poseer una mutación sarcomérica patogénica es el obtener una UVs como resultado.

Por otro lado el *screening* familiar se recomienda a los familiares de primer grado de los casos índice clínicamente afectados, en los cuales haya sido identificada una variante patogénica [13;26;102;104].

2.2. Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho

La Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (MAVD) es un trastorno del desmosoma cardiaco, una proteína encargada de mantener la estabilidad estructural a través de la adhesión intercelular, regular la transcripción de los genes que intervienen en la adipogénesis y la apoptosis y mantener la conductividad eléctrica adecuada a través de la regulación de las uniones de hendidura y la homeostasis del calcio [105]. La prevalencia estimada de la enfermedad es de 1:5000 y se cree que contribuye de manera importante a producir los casos de MS de individuos jóvenes < 35 años y deportistas en todo el mundo, con una tasa anual de mortalidad de un 2-4% [6].

La MAVD, una enfermedad predominantemente autosómica dominante, se caracteriza por la degeneración miocárdica y la infiltración fibroadiposa de la pared libre del ventrículo derecho que normalmente se inicia en el conocido como triángulo de la displasia (**Figura 8**), que es la zona situada entre el tracto de entrada, el ápex y el tracto de salida del ventrículo derecho. El septo interventricular solamente se encuentra afectado en un 20% de los casos [106;107].

Se ha descrito también una variante autosómica recesiva muy poco frecuente (enfermedad de Naxos) caracterizada por una afección miocárdica característica, queratosis palmoplantar y pelo lanoso [108]. La enfermedad de Naxos, que presenta una penetrancia cercana al 90%, fue descrita por primera vez en familias griegas originarias de la isla de Naxos. El pelo lanoso ya está presente al nacer, la queratosis palmoplantar aparece durante el primer año de vida (cuando el niño empieza a utilizar las extremidades) y la miocardiopatía se manifiesta durante la adolescencia y afecta al VD o ambos ventrículos. Las manifestaciones clínicas son los síncope, taquicardias ventriculares sostenidas o muerte súbita. Desde el punto de vista genético la enfermedad consiste en una delección de TG en el gen de la placoglobina [109].

Por otro lado, existe una variante de la enfermedad de Naxos: el síndrome de Carvajal, esta patología cursa a si mismo con el fenotipo de pelo lanoso y la queratosis palmoplantar pero, a diferencia de la enfermedad de Naxos, se asocia a la cardiomiopatía del VI, si bien puede ser también biventricular, y su transmisión genética es autosómica dominante. Se manifiesta clínicamente durante la infancia, conduciendo

con mayor frecuencia a un fallo cardíaco [108]. El síndrome de Carvajal se asocia a mutaciones en el gen que codifica la expresión de la desmoplakina [109].

Tal y como se describe más adelante, las proteínas placoglobina y desmoplakina son componentes clave de los desmosomas y de mucha importancia para la adhesión entre varios tipos de células incluidas las del corazón y la piel.

La histopatología de la MAVD se caracteriza por la sustitución progresiva del tejido miocárdico por tejido fibroadiposo, predominantemente en el ventrículo derecho, pero que a menudo afecta también al izquierdo (hasta en un 25% de los casos en la forma clásica), y que da lugar a una arritmia maligna de origen ventricular [110]. En los últimos años se describe cada vez con más frecuencia la forma izquierda predominante que supondría prácticamente el 50% de los casos de miocardiopatía arritmogénica [111].

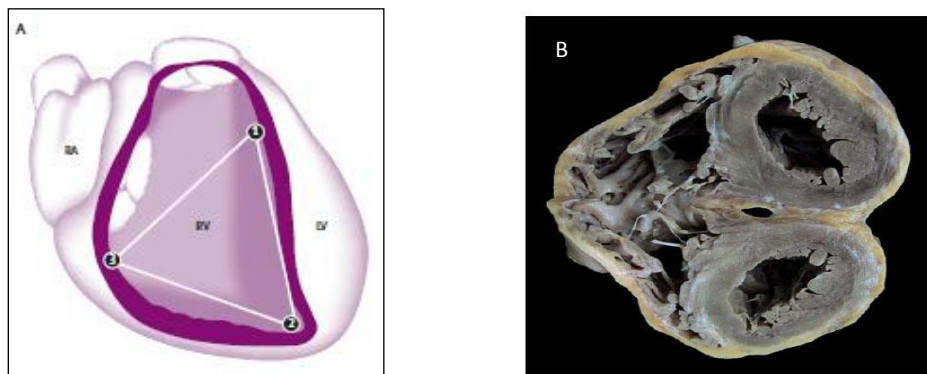


Figura 8. (a) Triángulo de la displasia arritmogénica del ventrículo derecho en el que se observan las regiones del ventrículo derecho que se afectan de forma predominante en esta enfermedad. RA= aurícula derecha; RV= ventrículo derecho; LV= ventrículo izquierdo. (b) Sección longitudinal de un corazón que muestra reemplazo casi completo de la pared del VD por tejido fibroadiposo lo que determina una importante dilatación de la cavidad. En el tabique y pared libre del VI también se observa un infiltrado adiposo.

2.2.1. Patogénesis molecular de la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho

Los desmosomas son unas complicadas estructuras de adhesión entre las células y están compuestos por más de una docena de proteínas. Se encuentran principalmente en las células de la epidermis y en los miocitos cardiacos. Tres grandes grupos de proteínas constituyen los desmosomas; la familia de las “cadherinas” formada por proteínas de transmembrana responsables del anclaje de la estructura a la misma, la familia “armadillo” la cual contiene dominios armadillo repetidos y por último la familia de las “Plakinas” la cual es la responsable del anclaje de los desmosomas a los

filamentos intermedios como actinas y desminas. En la familia de las “cadherinas” se incluye tres desmocollinas (DSC) y tres desmogleínas (DSG), las cuales se expresan de manera diferente en el corazón y en la piel, las formas predominantes en el corazón son DSC2 y DSG2. La familia de las Plakinas incluye las desmoplakinas (DSP), envoplakina, periplakina, plectina y pinin. Por último la familia armadillo incluye la placoglobina (PG) y placofilina, las cuales tienen una función de señalización (**Figura 9**).

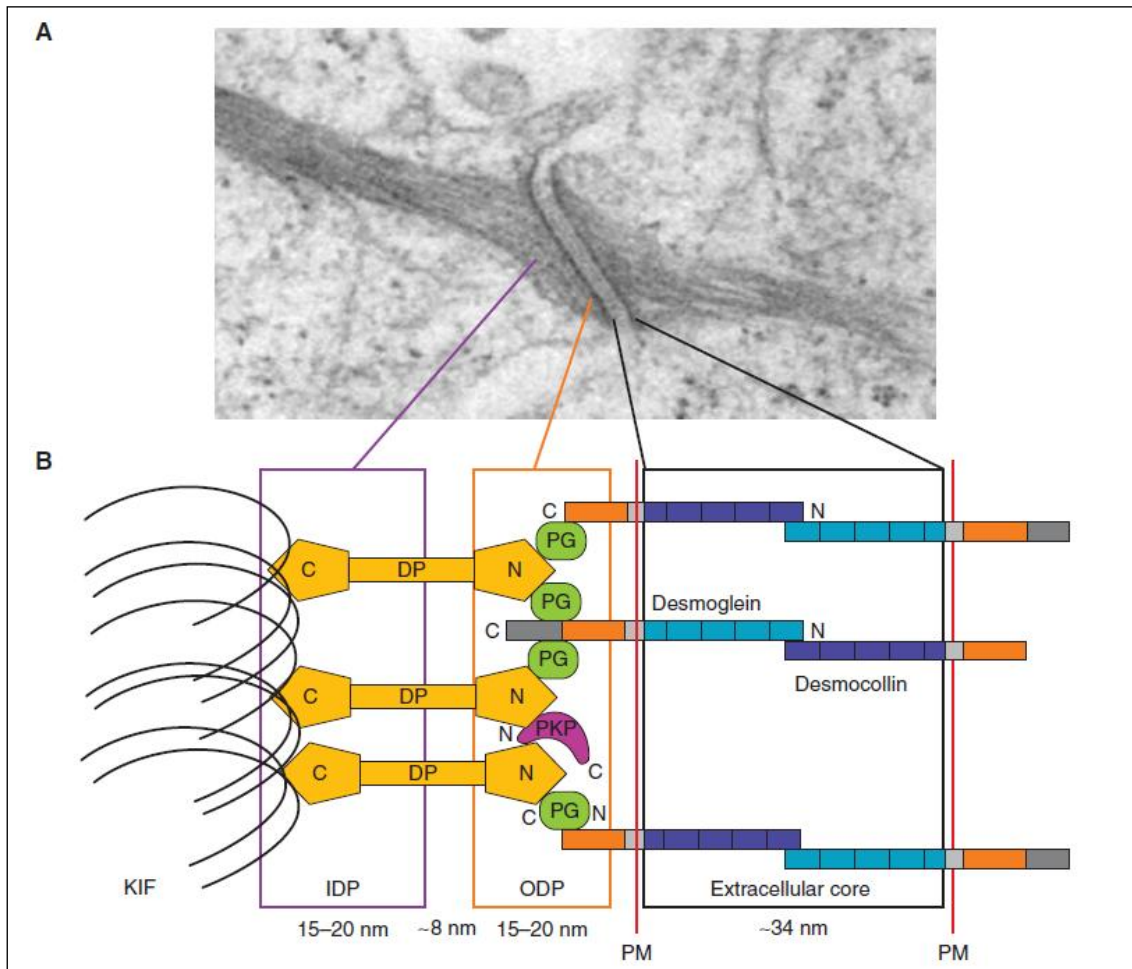


Figura 9: Modelo estructural del desmosoma. (A) Microscopía Electrónica de un desmosoma. (B) Esquema de las proteínas desmosómicas y su distancia relativa a la membrana plasmática (PM). Las cadherinas desmosómicas, las desmogleínas y desmocollinas se extienden en el núcleo y en la placa densa extracelular (ODP) para establecer contacto y adherirse a las células vecinas de manera dependiente de Ca^{2+} . Las colas citoplasmáticas de las cadherinas se asocian a proteínas de unión, plakoglobina (PG), las placofilinas (PKPs) y desmoplakina (DP). La DP une a los filamentos intermedios de queratina (KIF) dentro de la placa densa interna (IDP) uniéndolos de esta manera a la membrana plasmática. Adaptado de Delva y col., 2009.

La disfunción cardíaca en la MAVD puede ser el resultado de la pobre incorporación de las proteínas mutadas a los desmosomas dando lugar a una unión

dañada entre los miocitos, que originará una fuerza de contracción defectuosa. La fibroadiposis es el resultado de la translocación nuclear de la placloglobina (PG) de los desmosomas y de la supresión competitiva de la vía de señalización canónica *Wnt* a través de la β -catenina/factor de transcripción (Tcf712). La vía de señalización canónica *Wnt* está involucrada en el desarrollo embrionario del ventrículo izquierdo.

Por otra parte, la PG nuclear favorece la expresión de los marcadores de adipogénesis, la proteína morfogénica ósea (BMP7) y la vía no canónica *Wnt5b*. Además la PG suprime la expresión del factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), el cual se conoce como inhibidor de la adipogénesis. Así, la vía canónica *Wnt*/ β -catenina es un importante regulador del “interruptor” de la miogénesis frente a la adipogénesis [112]. La activación de esta vía favorece la miogénesis e inhibe la transcripción adipogénica de los factores *C/EBP α* y *PPAR γ* y mantiene a los preadipocitos en un estado indiferenciado (**Figura 10**) [112]. Por el contrario, la inhibición de la vía de señalización canónica *Wnt*/ β -catenina por la sobreexpresión de axina, favorece la adipogénesis y la proliferación de los adipocitos. Este mecanismo explicaría la adipogénesis que se produce sobre el ventrículo derecho y que está implicada en la MAVD.

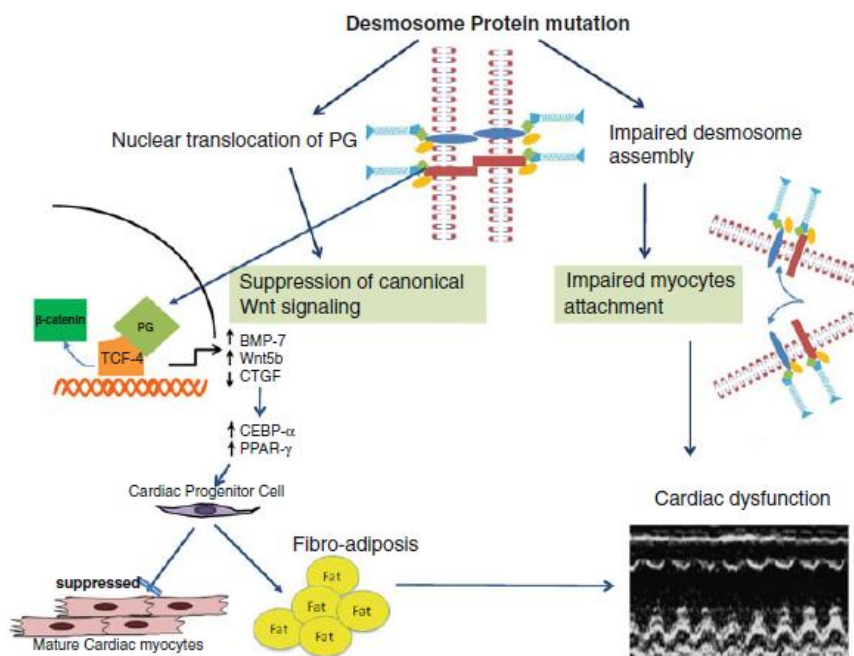


Figura 10: Patogénesis molecular de la MAVD. Adaptado de Lombardi y Marian, 2011 [113].

2.2.2 Criterios diagnósticos de la MAVD

El fenotipo clínico es caracterizado por palpitaciones, síncope y MS seguidas de arritmias ventriculares y por fallo cardiaco en estadios avanzados [113]. La MS es la primera manifestación de MAVD en aproximadamente 1 de 4 pacientes [113]. Los individuos afectados son habitualmente sometidos a la implantación de un desfibrilador automático (DAI) o ablación arrítmica para reducir el riesgo de MS, el trasplante cardiaco es común en estadios avanzados de la enfermedad.

2.2.3. Análisis genético en la MAVD

Los análisis genéticos están orientados hacia el estudio de los genes que codifican alguno de los cinco componentes principales del desmosoma [114]. Hasta la fecha más de 100 mutaciones causales han sido identificadas en los 5 genes desmosomales: placofilina 2 (*PKP2*), desmoplaquina (*DSP*), desmogleína 2 (*DSG2*) y desmocolina 2 (*DSC2*), placloglobina (*JUP*). [109;113;115-119]. Mutaciones en los genes *TTN*, *TP63* (proteína tumoral p63), *TGFβ3* (Factor de crecimiento transformador β3) y *TMEM43* (proteína de transmembrana 43) que codifican para el factor de crecimiento β3 y la proteína de transmembrana 43, respectivamente, también han sido descritos [113;120;121]. Otros como el gen *LMNA* (lamina A/C) han sido recientemente asociados [122]. El receptor de la rianodina 2 (*RyR2*) ha sido ligado a otra entidad clínica MAVD2, la cual se caracterizan por MS juvenil y taquicardia ventricular polimórfica inducida por esfuerzo. La MAVD2 es clínicamente y genéticamente similar a la TPVC clásica y probablemente represente una fenocopia más que una verdadera MAVD [26]. Por otro lado, el gen *PLN* que codifica para la proteína *phospholamban* ha sido asociado de manera muy frecuente en la población Holandesa (efecto fundador) [123].

Entre el 30% y el 70% de los casos de MAVD presentan mutaciones en alguno de los genes desmosomales, lo cual demuestra una marcada heterogenicidad alélica [18;116;119;124]. Las mutaciones en *PKP2* son las más comunes con una frecuencia superior al 43%, las mutaciones en *DSG2* y *DSC2* presentan una frecuencia de 10-15%, mientras que las mutaciones en *DSP* tienen lugar en un 5% de los casos de MAVD. Las mutaciones en *JUP* son raras (**Tabla 3**) [113].

<i>Gen</i>	<i>Proteína codificada</i>	<i>Frecuencia en pacientes</i>
<i>PKP2</i>	Placofilina 2	43 %
<i>DSC2</i>	Desmocolina 2	10%-15%
<i>DSG2</i>	Desmogleina 2	10%-15%
<i>DSP</i>	Desmplaquina	5%
<i>JUP/PKG</i>	Placoglobina	rara
<i>RyR2</i>	Rianodina 2	rara
<i>TGFB3</i>	Factor de crecimiento β 3	rara
<i>TMEM43</i>	Proteína de transmembrana 43	rara
<i>TP63</i>	Proteína tumoral p63	rara
<i>TTN</i>	Titina	rara
<i>LMNA</i>	Lámina A/C	rara
<i>PLN</i>	Phospholamban	Muy frecuente en la población Holandesa

Tabla 3. Genes implicados en la MAVD.

En cuanto al rendimiento genético de los genes desmosomales actualmente estudiados, es de aproximadamente un 60% en casos con alta probabilidad de MAVD y, un 16% son variantes raras cuando se han estudiado estos mismos genes en voluntarios sanos y es posible que más de la tercera parte de las UVs identificadas, representen falsos positivos. Especialmente si son variantes *missense* en *PKP2* [26].

El diagnóstico molecular de los genes candidatos (comprendiendo; *PKP2*, *DSP*, *DSG2*, *DSC2*, *JUP* y *TMEM43*) puede ser de utilidad en pacientes que cumplan los criterios diagnósticos *Task Force* 2010 para MAVD y deberá ser considerado en pacientes con posible MAVD (al menos 1 criterio mayor o 2 criterios menores). Por otra parte el estudio genético no estará recomendado en pacientes con sólo un criterio menor [26].

El estudio genético de una mutación específica, está recomendada en familiares, tras haber sido hallada en el caso índice dicha mutación causante de MAVD [26;104].

En un análisis conjunto, se identifica una única mutación heterocigota en el 39% de los individuos con MAVD en los que se ha realizado un análisis de la secuencia completa de todos los genes del desmosoma [124] . Según los criterios revisados de la MAVD de la *Task Force* [125], la identificación de una mutación patógena es el criterio

principal para el diagnóstico y resalta la posible utilidad de las pruebas genéticas clínicas en el diagnóstico de esta cardiopatía.

Un diagnóstico positivo en un familiar modifica la probabilidad de la enfermedad en un individuo en quien se sospeche, lo que hace que pase de 1:5.000 a 1:2 en familiares [126], por lo que posibilitar la realización de pruebas de detección en cascada en los familiares pasa a ser una cuestión principal. Se debe examinar clínicamente a los familiares de primer grado mediante ECG de 12 derivaciones, ecocardiografía y resonancia magnética cardiaca. La determinación del genotipo no se ha desarrollado todavía lo suficiente para que pase a ocupar un lugar de primera línea.

Actualmente no hay una clara estratificación del riesgo que pueda derivarse del examen de la determinación del genotipo de la MAVD; la literatura reciente indica que los pacientes positivos para *PKP2* sufren síntomas y en ellos la arritmia aparece a edad más temprana, pero la determinación prospectiva de los episodios de activación del desfibrilador no mostraron una diferencia significativa respecto a los pacientes negativos para *PKP2* [127].

En cuanto a la estratificación del riesgo de MS en la MAVD deberían tenerse en cuenta 4 parámetros indicativos de mal pronóstico:

- 1) Mutaciones en *DSP*.
- 2) Afectación del VI.
- 3) Dilatación fuera del VD.
- 4) TV sostenida.

2.3. Miocardiopatía Dilatada

La miocardiopatía dilatada (MCD) es una enfermedad primaria del miocardio caracterizada por la dilatación de la cavidad ventricular y disfunción sistólica (**Figura 11**) sin causas clínicamente identificables como la enfermedad cardiovascular aterosclerótica, hipertensión valvular o enfermedad del pericardio, tóxicos, metabólica, inflamatoria o condiciones infecciosas [94;128;129]. La prevalencia de la MCD es aproximadamente 1:2500, es la tercera causa de fallo cardiaco y la causa más común de trasplante cardiaco [128;129].

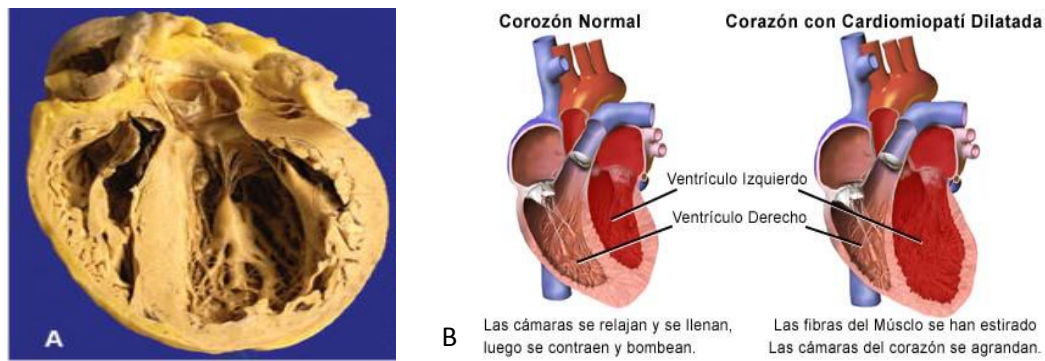


Figura 11. (A) Sección longitudinal de un corazón, que muestra aspecto globoso con cavidades dilatadas. (B) Dilatación del músculo cardíaco en la MCD.

2.3.1. Criterios diagnósticos de la MCD

La dilatación del ventrículo izquierdo puede presentarse, antes de que aparezcan los síntomas; cuando los mecanismos de compensación fallan, aparece un fallo cardíaco progresivo con síntomas de congestión y/o una función del corazón inadecuada, con edemas, ortopnea y fatiga; otras manifestaciones clínicas, como las arritmias, las cuales pueden desencadenar síncope o MS y complicaciones tromboembólicas [128;129].

2.3.2. Análisis genético de la MCD

La mayoría de las mutaciones que provocan MCD son transmitidas con una herencia autosómica dominante, aunque es menos frecuente, también existe una transmisión recesiva ligada al cromosoma X y herencia mitocondrial. Hasta la fecha se habían descrito más de 200 mutaciones asociadas con esta enfermedad en más de 50 genes diferentes (**Tabla 4**), sin embargo ninguno de ellos había sido hallado con una frecuencia superior al >5% en pacientes que presentan dicha patología, además se desconocía la tasa de UVs en los genes relacionados con la MCD. Tan sólo en *LMNA* y *SCN5A* habían sido identificadas variantes con una frecuencia entre el 5-10%, en casos de MCD junto con una significativa enfermedad de conducción cardíaca.

La MCD, fué y sigue siendo considerada, una enfermedad genéticamente muy heterogénea, con genes causales que codifican para proteínas del citoesqueleto, sarcómero, uniones intercelulares, membrana nuclear, canales iónicos, retículo sarcoplásmico y proteínas mitocondriales (**Figura 12**). La complejidad genética y el gran tamaño de algunos genes que se estudian complican el diagnóstico genético, aunque debido a la creciente aplicación de la tecnología de secuenciación de nueva generación ó “*Next generation sequencing*” (NSG), está siendo posible, la cada vez más rápida y menos compleja identificación de mutaciones causales. En la actualidad la

sensibilidad diagnóstica de los test genéticos para la MCD es mucho más elevada, lo cual sugiere que *NGS* pueda ser una técnica importante en su diagnóstico. *Mestroni y col.* refieren que la investigación genética de esta enfermedad está cambiando desde el punto de vista de su base genética [130].

Son varios los trabajos que recientemente observan, como causa común de MCD, mutaciones en heterocigosis en el gen de la *TTN* (en alrededor de un 25% de los casos de MCD idiopática familiar y el 18% de casos esporádicos), las cuales actuarían truncando la proteína y por lo tanto afectando a su longitud [100;131;132]. Estos datos son prometedores desde el punto de vista del desarrollo en el manejo de la insuficiencia cardíaca [131]. Aunque, se ha de tener en cuenta que en el gen de la *TTN*, el estudio de este tipo de variantes se ha visto limitado, como consecuencia de su existencia en la población general, lo cual provoca incertidumbre acerca de su capacidad patogénica o no. *Roberts A.M y col.* [131], describen los criterios y estrategias diagnósticas para discriminar entre variantes realmente causantes de MCD y aquellas encontradas de manera accidental.

Por otro lado, *Haas J y col.* [132] hallaron en su estudio, que el 44% de su extensa cohorte de pacientes, presentaba una variante conocida causante de la enfermedad, en al menos un gen diferente a la *TTN*. Lo cual sugiere que las variantes en este gen, que actúan truncando a la proteína, no son causa por sí solas de MCD y remarca la importancia de abordar la enfermedad con estudio genético amplio en lugar de hacerlo con genes seleccionados.

<i>Gen</i>	<i>Proteína codificada</i>	<i>Localización de la proteína</i>
<i>MYH7</i>	Cadena pesada de la β miosina cardíaca	Sarcómero
<i>MYBPC3</i>	Proteína C de unión a la miosina	Sarcómero
<i>TNNT2</i>	Troponina T cardíaca	Sarcómero
<i>TNNI3</i>	Troponina I cardíaca	Sarcómero
<i>TNNC1</i>	Troponina C cardíaca	Sarcómero
<i>TPM1</i>	α -tropomiosina	Sarcómero
<i>VLC</i>	Vinculina	Disco Z
<i>TCAP</i>	Teletonina	Disco Z
<i>PLN</i>	Phospholamban	Membrana del retículo endoplasmático
<i>CSRP3</i>	Proteína LIM	Sarcómero
<i>LBD3</i>	Cypher/ZASP	Disco Z

Tabla 4 (continuación)

G4.5	Tafazina	Mitocondria
DSP	Desmoplaquina	Desmosoma
DES	Desmina	Citoesqueleto
TTN	Titin	Sarcómero
RMB20	Proteína de unión al RNA	Citoplasma
DIS	Distrofina	Citoesqueleto
γ y δ - Sarcoglicam	Complejo Sarcoglicam	Sarcolema
α y β- Distroglican	Complejo distroglicam	Sarcolema
SCN5A	Subunidad alfa del canal de sodio	Canal de sodio
LMNA	Lámina A/C	Sarcómero
JPH2	Junctophilina 2	Sarcómero

Tabla 4. Genes implicados en la MCD.

Las mutaciones que provocan MCD afectan a diversos procesos celulares: generación de la fuerza contráctil, la homeostasis del calcio, metabolismo, *splicing* de RNA o la regulación transcripcional. Todos estos defectos causan disfunción contráctil, que inducirá la muerte de los cardiomiocitos y a la fibrosis reparativa [128;129;133].

Las mutaciones sarcoméricas afectan a la producción de la fuerza contráctil por la disminución de calcio y la actividad ATPasa [134;135] o afectan a la fuerza de transmisión desde los miocitos a la matriz extracelular o entre sarcómeros adyacentes mediante la desestabilización de las interacciones del sarcolema-citoesqueleto-sarcómero o titin-disco Z, respectivamente [13;91;100;134;136]. Las mutaciones en phospholamban dañan la recaptación de calcio, con el consecuente descenso de la liberación de calcio desde el retículo sarcoplásmico, debilitándose las contracciones [137].

Las mutaciones en *phospholamban* dañan la recaptación de calcio, con el consecuente descenso de la liberación del mismo desde el retículo sarcoplásmico, debilitándose así la contracción cardíaca [137].

Por otro lado, las mutaciones en el gen de la Lamina A/C (*LMNA*) provocan la desestabilización de la membrana nuclear y una regulación alterada de la expresión génica. Los defectos en las proteínas implicadas en la β -oxidación de los ácidos grasos mitocondriales causan también MCD, perjudicando al miocardio indirectamente,

reduciendo el suministro de energía o de forma directa a través de de la acumulación de metabolitos tóxicos intermediarios [138]. Además existen 20 mutaciones en el RNA de *splicing* que afectan a las proteínas de unión de ácidos ribonucleicos [137;139;140].

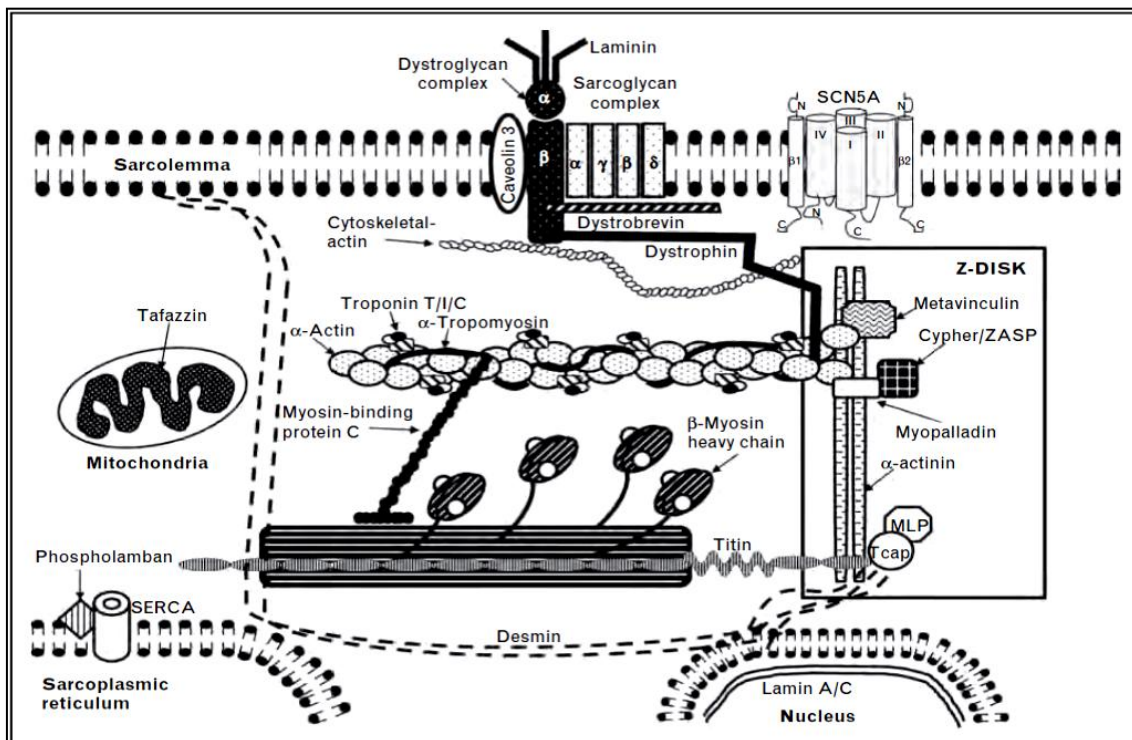


Figura 12. La MCD está causada por mutaciones en genes que codifican para varias componentes celulares: citoesqueleto, sarcómero, lámina nuclear, retículo sarcoplásmico y las mitocondrias. Las proteínas del citoesqueleto están codificadas por genes tales como; γ y δ -sarcoglicam, α y β - dystroglican (en el sarcolema), distrofina y desmina. Los genes que codifican para proteínas sarcoméricas incluyen la actina cardíaca, cadena pesada de la β miosina, α - tropomiosina, troponina cardíaca T, C, I y Titin. Además la MCD está causada también por mutaciones en genes que codifican para las proteínas del Disco Z, como actina, Tcap, Cypher/Zasp, vinculin. Mutaciones en el gen Lamina A/C también provoca MCD. Otro gen causal es el Phospholamban el cual se localiza en la membrana del retículo endoplasmático. TAZ es otro gen con una baja frecuencia en la población, que codifica para la proteína mitocondrial Tafazina por ultimo el gen RMB20 que codifica para una proteína de unión al RNA implicada en el “splicing”. Adaptado de Lombardi y Marian 2011 [113].

Se estima que el rendimiento de los test genéticos oscila entre el 15-25%, dependiendo del número de genes que sean estudiados y las características fenotípicas del paciente. Aunque al ser estudiada la *TTN*, por *NGS* este rendimiento podría llegar hasta el 50% [100;131]

La MCD presenta una penetrancia edad dependiente, de manera que un individuo que presente una variante rara con más probabilidad desarrollará el fenotipo de la enfermedad al incrementarse su edad, y que un fenotipo normal tras ECG no excluye de la posibilidad de desarrollar la enfermedad. La MCD también presenta una

penetrancia variable, las manifestaciones de la enfermedad varían entre individuos de la misma familia que poseen la misma mutación [13;26;67;141].

Los pacientes con MCD son propensos a sufrir MS, de ahí que tenga especial importancia la identificación y estratificación del riesgo en pacientes que sufran esta patología. El tratamiento médico adecuado puede prevenir la progresión, y en algunos casos, incluso revertir el fenotipo, el diagnóstico presintomático es fundamental para el manejo clínico de pacientes con MCD con el objetivo de prevenir complicaciones tales, como la MS.

El objetivo de los test genéticos en MCD es identificar el riesgo relativo de aquellos pacientes que presentan una mutación causante de la enfermedad, para ello debe ser siempre integrada la información derivada del *screening* clínico. El estudio genético negativo, en un miembro de la familia de un caso índice que aporte una mutación claramente patogénica, indica que el familiar no estará afectado. Esto tiene particular importancia en niños, pues les permitirá llevar una vida normal, especialmente durante su juventud. Se ha demostrado que en algunas familias los niños presentan un fenotipo más agresivo que los propios familiares previamente afectados. Los test genéticos serán útiles para poder reconocer que pacientes con historia de MCD familiar puedan presentar un alto riesgo de arritmia [142]

En aquellas familias en las que se ponga de manifiesto una evidencia de MCD potencialmente heredable, todos los familiares de primera línea deben ser evaluados ecocardiográficamente. La decisión de implantar un DAI como profilaxis no solo dependerá de la fracción de eyección [143]. La evaluación del riesgo de arritmias podría estar influenciado por los resultados de los test genéticos aunque se debe tener en cuenta que las mutaciones en *LMNA*, *PLN* y *desmina (DES)* parecen tener un mayor riesgo de provocar MS [144].

El diagnóstico molecular de los genes candidatos (comprendiendo; *LMNA* y *SCN5A*), estará recomendado en pacientes con MCD con una significativa enfermedad de conducción cardíaca y/o una historia familiar con MS prematura inexplicable y podría llegar a presentar un rendimiento génico de aproximadamente del 30% [26].

Por otra parte el estudio genético de una mutación específica, está recomendada en familiares, tras haber sido hallada en el caso índice dicha mutación causante de MCD [26;104].

3. CANALOPATIAS

Las canalopatías son desordenes eléctricos primarios en corazones estructuralmente normales, generalmente causados por mutaciones en genes que codifican subunidades de canales iónicos (**Figura 13**) o proteínas reguladoras: SQT, SB, SQT, TPVC entre otras.

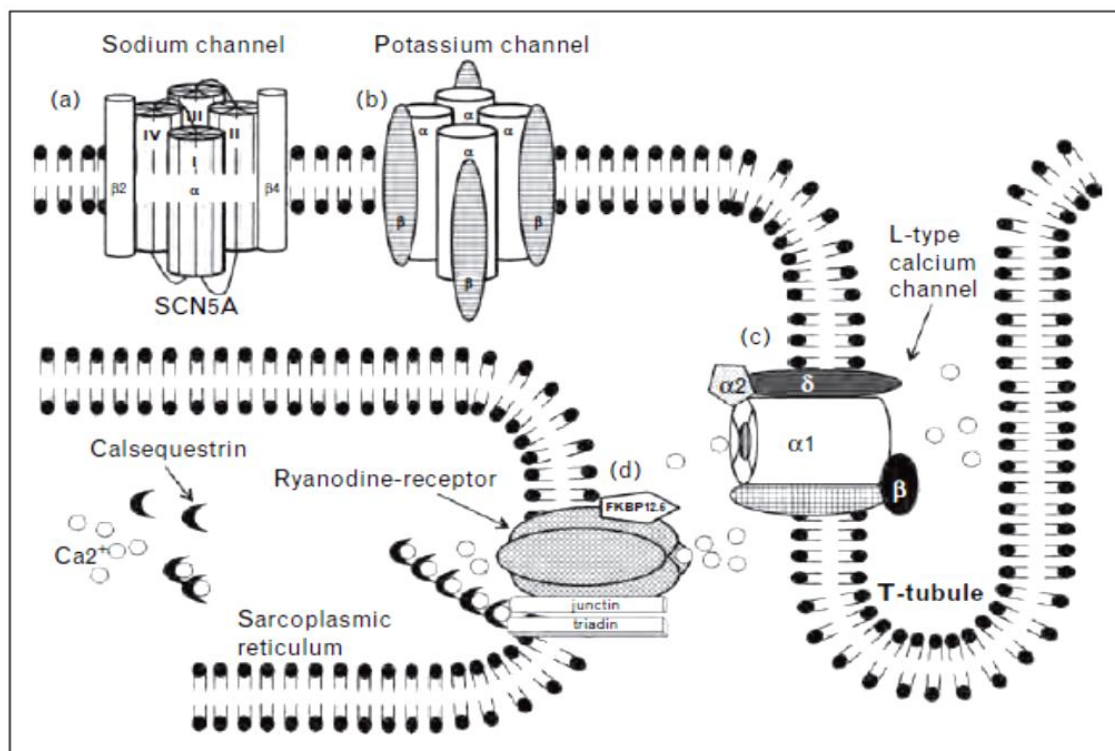


Figura 13. Resumen de los canales iónicos más importantes, cuyas subunidades están mutadas en las canalopatías. (a) Canal de sodio voltaje dependiente, constituido por una α subunidad compuesta de 4 dominios (I-IV), hay nueve isoformas (Nav 1.1 – Nav 1.9), la isoforma cardíaca Nav 1.5 esta codifica por SCN5A. (b) Canal de Potasio voltaje dependiente es un tetrámero con cuatro subunidades α idénticas formando un poro conductor. Estas α subunidades se agrupan en 12 clases según su función (Kva1-Kva12) y son subagrupadas de acuerdo con la secuencia Kv homóloga. Los genes KCNQ1 y KCNH2 codifican para Kva7.1 y Kva11.1 respectivamente. (c) el canal de calcio voltaje dependiente tipo L es el responsable de la excitación-contracción. Se localiza en el túbulo T y está formado por 5 subunidades diferentes; $\alpha 1$, $\alpha 2$, δ , β y γ . La subunidad $\alpha 1$ (codificada por CACNA1c) consiste en cuatro dominios homólogos formando un poro conductor, mientras que el resto de subunidades tienen una función reguladora. (d) El receptor de la rianodina (RyR2) es un homotetramero localizado en la membrana del retículo sarcoplásmico (RS), es el responsable de inducir la liberación del calcio desde el RS. El extremo terminal une diversas proteínas reguladores como la FBKPI2.6, PKA, CaMKII, el segmento de transmembrana permite la interacción entre RyR2 con Junctin y Triadin que modulan la función de RyR2 y controlan su interacción con calsequestrin 2 (CASQ2). CASQ2 es una proteína que contribuye al almacenamiento del calcio en el RE. Adaptado de Lombardi, 2013 [32].

3.1. Potencial de acción cardíaco

Los canales iónicos poseen dos características principales, el mecanismo de “gating” y la selectividad iónica. Sin embargo, el paso iónico a través de la membrana por sí solo no genera ninguna consecuencia fisiológica, las corrientes transmembrana y como consecuencia la variación del potencial de membrana sí juegan un papel importante en la transmisión de señales en las rutas de señalización bioquímica [145]. Los canales iónicos interactúan durante la generación del potencial de acción (PA) con los cambios en las concentraciones iónicas y cambios en el voltaje transmembrana.

La disfunción de los canales dependientes de voltaje que toman parte en la excitación del tejido cardíaco provoca una alteración de los potenciales de acción que queda patente en el trazado electrocardiográfico, como SB o SQTl [145;146].

En el músculo cardíaco el PA genera una contracción muscular que se conduce célula a célula, creándose una onda de excitación que es la que activa y sincroniza el bombeo de sangre en el corazón. En el músculo cardíaco, a diferencia del PA en el músculo esquelético y sistema nervioso, se caracteriza por una fase de plató duradera y una fase de repolarización que previene la creación de arritmias y regula la contracción [147].

La duración del PA cardíaco es de 250 ms y se compone de 5 fases (**Figura 14**). La fase 0 o fase de despolarización rápida, donde se produce la apertura de los canales rápidos de sodio (INa) debida a un estímulo externo, provoca la entrada masiva de iones sodio a los miocitos. El umbral de voltaje de los canales de sodio es de aproximadamente -55mV. La activación es dependiente de voltaje, al igual que la inactivación. La activación de los canales de sodio viene controlada por la apertura de dos puertas -m y -h, descritas por Hodgking y Huxley en 1952 [148]. La puerta -m responde a una activación rápida y está abierta durante el proceso de despolarización, la puerta -h funciona al contrario, está abierta durante la hiperpolarización y responde a una inactivación lenta [149]. Ambas deben permanecer abiertas para permitir la entrada de iones Na⁺ a la célula. El mismo estímulo que provoca la activación es el que provoca la inactivación. El paso conformacional del canal de activo a inactivo no durará más de 2 ms. Durante la fase 1 se cierran dichos canales, una corriente transitoria de K⁺, Ito, es responsable de la repolarización inicial. Esta tiene dos componentes, Ito1 que es dependiente de voltaje y se activa y desactiva rápidamente e Ito2 que depende de la concentración de Ca⁺² intracelular [150]. Las fases 0 y 1 corresponden a las ondas R y S

del electrocardiograma (ECG) (**Figura 15**). La fase 2 o fase de plató corresponde al segmento ST del ECG y es el resultado del balance entre la corriente de entrada de iones Ca^{+2} y Na^{+} , canales de calcio tipo L (I_{Ca}) y canales de sodio lentos dependientes de voltaje, y la corriente de salida de iones K^{+} . La fase 3 o fase de repolarización corresponde a la onda T electrocardiográfica, que coincide con la salida de iones K^{+} [146]. La fase 4 corresponde a la fase o período refractario en el que los miocitos se encuentran en reposo, no les llega ningún estímulo.

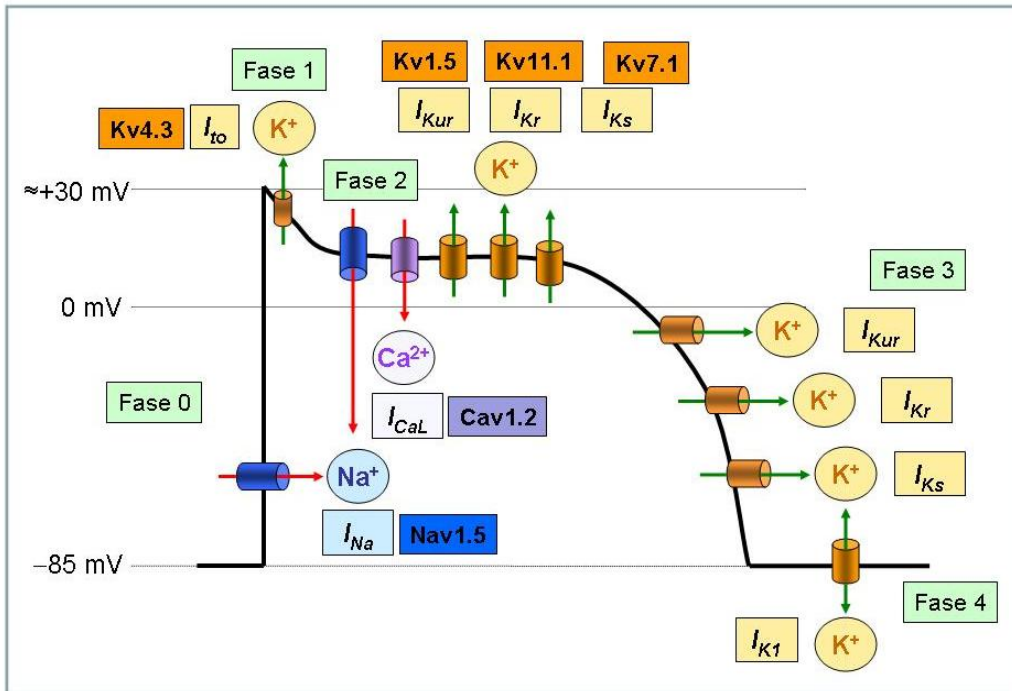


Figura 14. Canales iónicos y el potencial de acción cardíaco. Representa los canales iónicos más importantes que están implicados en cada fase del potencial de acción. Imágenes cedidas por la Dra. Carmen Valenzuela.

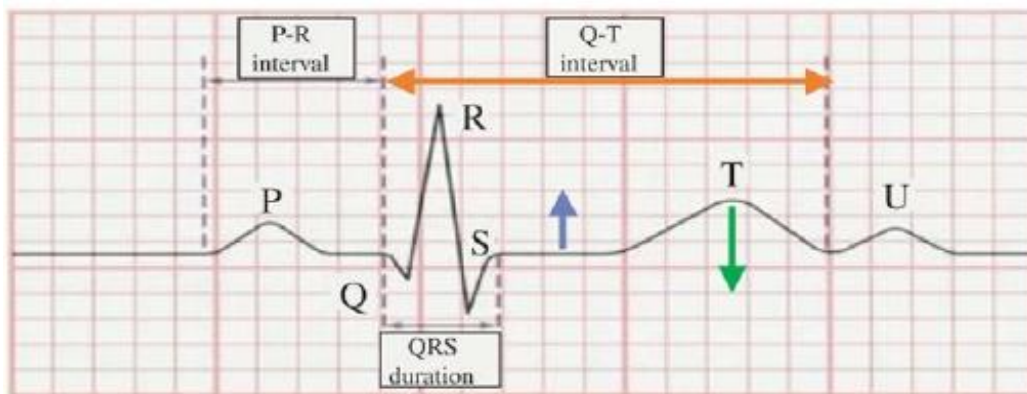


Figura 15. Representación del EC. Adaptado de Rudy Y. y col. [147].

3.2. Síndrome de QT largo

El síndrome de QT largo (SQTL) se caracteriza por una prolongación excesiva de la repolarización ventricular y un aumento del riesgo de taquiarritmias ventriculares malignas en pacientes con un corazón morfológicamente normal [151]. La prevalencia estimada es de entre 1:2.500 y 1:5.000. Sin embargo, dado que probablemente hasta dos tercios de los pacientes no están identificados y que un 10-35% tiene un intervalo QT corregido (QTc) normal, es probable que la prevalencia real sea más alta [152;153]. El SQTL explicaría hasta el 20% de autopsias negativas y un 10% de los casos de muerte súbita del recién nacido. La MS es el primer síntoma en un 5% de pacientes asintomáticos [154;155]. La media de edad de inicio de los síntomas (síncope o muerte súbita) es de 12 años y un inicio más temprano se asocia generalmente a una evolución más grave [156]. El síncope (debido a una taquicardia ventricular polimórfica autolimitada) y la parada cardíaca, a menudo desencadenada por una activación adrenérgica aguda, son las manifestaciones características. Cuando se ha establecido el diagnóstico, se hace posible la prevención de los episodios arrítmicos con peligro para la vida. El tratamiento antiadrenérgico (β -bloqueantes) y el empleo de desfibrilador automático implantable (DAI) constituyen la esencia del tratamiento del SQTL [157].

3.2.1. Análisis genético en el síndrome de QT largo

En la mayoría de los casos, el SQTL se transmite como una enfermedad autosómica dominante, el síndrome de *Romano-Ward*. La forma autosómica recesiva, denominada síndrome de *Jervell y Lange-Nielsen*, se caracteriza por la coexistencia de prolongación del QT y sordera congénita.

Los primeros tres genes del SQTL identificados por el grupo de *Keating* fueron el *KCNQ1*, que codifica la proteína que facilita la corriente de potasio IKs; el *KCNH2*, que codifica el canal de la corriente de repolarización de potasio IKr, y el *SCN5A*, que codifica la subunidad α del canal de sodio que facilita la corriente de despolarización de sodio INa [157].

En los últimos 15 años, se han descubierto en los pacientes con SQTL mutaciones en otros genes que codifican subunidades de diversos canales iónicos, así como mutaciones en genes que codifican proteínas reguladoras de los canales iónicos. Hasta el momento se han publicado 13 variantes diferentes del SQTL (**Tabla 5**).

<i>Fenotipo</i>	<i>Variante</i>	<i>Gen</i>	<i>Proteína</i>	<i>Defecto funcional</i>
SÍNDROME DE QT LARGO	SQTL1	<i>KCNQ1</i>	KvLQT1 (subunidad alfa del canal de potasio)	Perdida de función
	SQTL2	<i>KCNH2</i>	HERG (subunidad alfa del canal de potasio)	Perdida de función
	SQTL3	<i>SCN5A</i>	Nav1.5 (subunidad alfa del canal de sodio)	Ganancia de la función
	SQTL4	<i>ANK2</i>	Ankirina B, proteína de anclaje	Perdida de función
	SQTL5	<i>KCNE1</i>	MinK (subunidad beta del canal de potasio)	Perdida de función
	SQTL6	<i>KCNE2</i>	MiRP (subunidad beta del canal de potasio)	Perdida de función
	SQTL7, síndrome de Anderson	<i>KCNE2</i>	Kir2.1 (subunidad alfa del canal de potasio)	Perdida de función
	SQTL8, síndrome de Timothy	<i>CACNA1c</i>	Cav1.2 (subunidad alfa del canal de calcio tipo L)	Ganancia de la función
	SQTL9	<i>CAV3</i>	Gen de la caveolina cardiaca	Ganancia de la función
	SQTL10	<i>SCN4B</i>	Subunidad β4 del canal de sodio	Ganancia de la función
	SQTL11	<i>AKAP9</i>	Proteína de anclaje a la cinasa A	Reducción de la corriente I K5
	SQTL12	<i>SNTA1</i>	Sintrofina	Aumento de la corriente de Sodio
	SQTL13	<i>KCNJ5</i>	Subunidad Kir 3.4 de canal I kach	Perdida de función

Tabla 5. Genes asociados al SQTL.

Aunque la heterogeneidad genética en el SQTL es considerable, hay tres genes que intervienen de manera principal y explican la gran mayoría de los casos de SQTL, su estudio molecular muestra un rendimiento génico de aproximadamente el 70%: *KCNQ1* (SQTL1), *KCNH2* (SQTL2) y *SCN5A* (SQTL3). Estas tres variantes genéticas

del SQTl de mayor prevalencia presentan diferencias en sus manifestaciones, indicadores de riesgo y respuesta al tratamiento. Gracias a estos descubrimientos, el genotipo ha pasado a formar parte del esquema de estratificación del riesgo de los pacientes con SQTl. Es importante señalar que la tasa de UVs en el estudio de este trío de genes se estima en un 4% [26].

Las primeras correlaciones genotipo-fenotipo observadas en el SQTl apuntaban a que los pacientes con SQTl1 presentan la mayor parte de los síntomas durante las actividades deportivas, en especial la natación, mientras que los individuos con SQTl3 tienen mayor riesgo de arritmias durante el sueño o en reposo y los pacientes con SQTl2 sufren episodios asociados al ruido intenso [158]. Se puso claramente de manifiesto que, junto con el sexo y la duración del intervalo QT, el genotipo es un factor determinante del riesgo de muerte súbita cardíaca (MSC) y la respuesta al tratamiento [10;156]. Tal como se muestra en la **Figura 15**, las mujeres con SQTl2 y los varones con SQTl3 que presentan un intervalo QT > 500 ms se encuentran en la categoría de mayor riesgo, con independencia de otros factores [156]. De manera análoga, mientras que los pacientes con SQTl1 tienden a presentar una respuesta óptima a los β -Bloqueantes, los pacientes con SQTl2 o SQTl3 sufren recurrencias a pesar de emplearlos a dosis plenas [10]. Basándose en estos datos y en la opinión de expertos, las guías del *American College of Cardiology*, *American Heart Association* y la Sociedad Europea de Cardiología 2006 para la prevención de la MSC [159] indican que la presencia de un intervalo QTc > 500 ms en LQT2 y LQT3 abre la posibilidad de implantación de un DAI profiláctico (**Figura 16**).

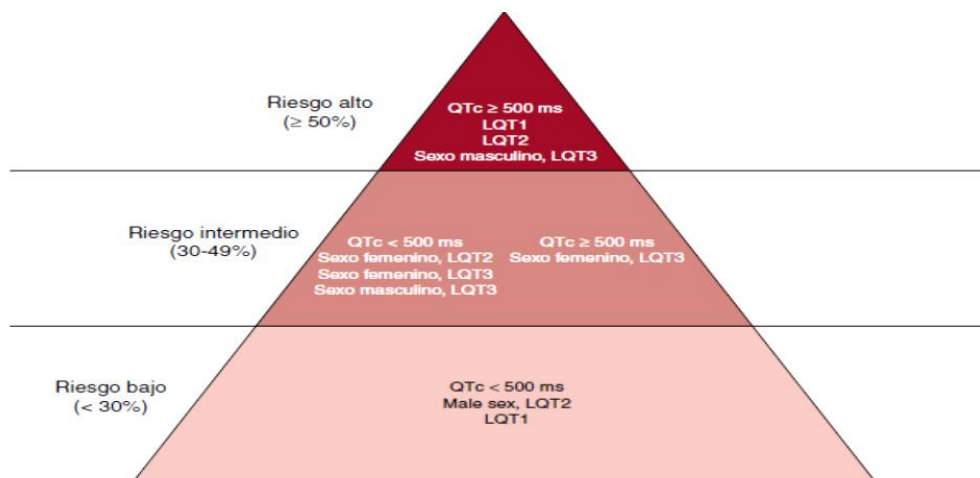


Figura 16. Estratificación del riesgo en el síndrome de SQTl, según la duración del intervalo QTc: el genotipo y el sexo: QT corregido y el sexo QTc: QT corregido. Adaptado de Priori SG. y col. [151].

El estudio genético de los genes más prevalentes (comprendiendo: *KCNQ1*, *KCNH2* y *SCN5A*) estará recomendado en cualquier paciente en el cual, el cardiólogo haya establecido un alto índice de sospecha de SQT, basándose en la historia clínica del paciente, historia familiar y expresión fenotípica mediante electrocardiograma. También estará recomendado en pacientes asintomáticos con prolongación de QT en ausencia de cualquier otra condición clínica que pueda provocar prolongación del intervalo QT. El análisis genético puede ser considerado, en pacientes asintomáticos, con el intervalo QT corregido para la frecuencia (QTc), con valores >460 ms (niños) y > 500 ms (adultos). Por otra parte el estudio genético de una mutación específica, está recomendada en familiares, tras haber sido hallada en el caso índice dicha mutación causante de SQT [26].

Aproximadamente el 15%-20 % de los casos de SQT no quedan genéticamente explicados mediante el estudio de los genes con mayor prevalencia mutacional [26].

3.3. Síndrome de Brugada

El síndrome de Brugada (SB) es una enfermedad arritmogénica hereditaria, caracterizada por un patrón electrocardiográfico específico, con elevación del segmento ST en las derivaciones V1 a V3 y un bloqueo de rama derecha del haz, completo o incompleto, en ausencia de cardiopatía estructural [160].

Sólo un patrón concreto del segmento ST se considera diagnóstico: la elevación en V1, V2 y V3 con morfología convexa (*coved*) de al menos 2 mm, el denominado ECG de tipo I. Este patrón diagnóstico puede ser intermitente. Con bastante frecuencia, el ECG de presentación indica un posible SB (elevación del segmento ST de tipo “silla de montar”) (**Figura 17.B**). La administración intravenosa de un sólo bolo de un bloqueador del canal del sodio (procainamida, flecainida o ajmalina) puede ocasionar la conversión de un patrón oculto o no diagnóstico (**Figura 17.A**) a un patrón de tipo I [161;162] . La prevalencia mundial estimada es de un 0,10% (1/5.000-10.000) [163], y es posible que sea superior en áreas endémicas del sudeste asiático [164]. La mayoría de los pacientes con diagnóstico clínico son varones, aunque todavía no se conoce cómo el sexo modula la manifestación de la enfermedad [160;165;166].

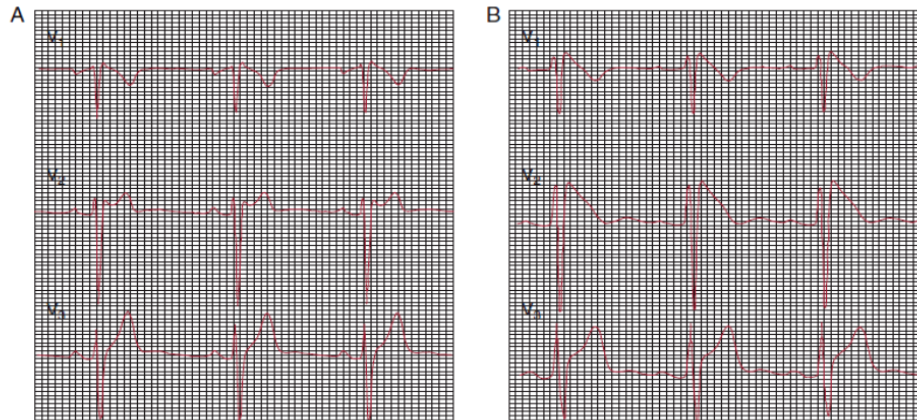


Figura 17. Prueba de flecainamida en un paciente en el que se sospecha un síndrome de Brugada. A: electrocardiograma basal (tipo 2), B; flecainamida 2mg/kg patrón diagnóstico (tipo 1).

Las manifestaciones clínicas más frecuentes del SB son el síncope o la MSC causados por taquiarritmias ventriculares que se producen sobre todo durante el sueño o en reposo; otros desencadenantes arrítmicos podrían ser la fiebre o las comidas abundantes. También hay arritmias supraventriculares como la fibrilación auricular en un 15-20% de los pacientes con diagnóstico de SB [167]. El bloqueo auriculoventricular y los retrasos de la conducción intraventricular forman parte del fenotipo del SB [168]. Por extensión, la presencia de potenciales tardíos debe considerarse un indicador clínico de la enfermedad, puesto que se dan en un 50% de los pacientes con afección clínica.

Hasta el momento ningún tratamiento médico ha resultado eficaz para prevenir las arritmias y la muerte súbita en el SB, excepto la quinidina y la mexiletina en algunos casos; la implantación de un DAI es el único tratamiento disponible [169]. Por lo tanto, es crucial la estratificación del riesgo para seleccionar a los pacientes de alto riesgo en quienes es probable que se obtenga un beneficio con un DAI. Hay acuerdo general respecto a que los antecedentes de síncope en presencia de un patrón de ECG de tipo I identifican a los pacientes con mayor riesgo de MSC [169]. Cuando mediante provocación farmacológica se produce un ECG espontáneo de tipo I que nunca se produce espontáneamente, el riesgo arrítmico es inferior [169]. Un porcentaje elevado de los pacientes con diagnóstico de SB se encuentran en la categoría de riesgo intermedio, puesto que están asintomáticos y pueden presentar un patrón de tipo I de forma espontánea. En consecuencia, los clínicos y los científicos se enfrentan al reto de identificar nuevos marcadores que permitan estratificar mejor el riesgo arrítmico en ese grupo y así seleccionar a los pacientes en los que debe implantarse un DAI [170].

3.3.1. Análisis genético en el síndrome de Brugada

La enfermedad se transmite en forma de rasgo autosómico dominante. El componente genético del síndrome se atribuye a las mutaciones de al menos 10 genes diferentes (**Tabla 6**). El primer gen relacionado con el SB se descubrió en 1998 y es el *SCN5A*, que codifica el canal del sodio cardiaco; se trata del mismo gen que está ligado al SQT3. A día de hoy, la mayor parte de los pacientes en quienes se ha determinado el genotipo son portadores de una mutación en ese gen [171], estableciéndose un rendimiento génico del test en un 10%-25%. Por otro lado, se considera que las UVs son detectadas con una frecuencia de un 2% [26].

Está claro que la corriente de sodio desempeña un papel importante en la patogenia del SB, tal como indica el hecho de que otros tres genes involucrados en la enfermedad (*GPD1-L*, *SCN1B* y *SCN3B*) influyan en la corriente I_{Na} [172-174].

Recientemente *Hu D y col.* [175]. Describen el gen *SCN10A*, como probablemente implicado en el SB. Este gen codifica para el canal de sodio neuronal $Na_v1.8$ de la en la función eléctrica cardiaca.

<i>Fenotipo</i>	<i>Variante</i>	<i>Gen</i>	<i>Proteína</i>	<i>Defecto funcional</i>
SÍNDROME DE BRUGADA	SB1	<i>SCN5A</i>	Nav1.5 (subunidad alfa del canal de sodio)	Pérdida de función
	SB2	<i>GPD1-L</i>	Glicerol-6-fosfato-deshidrogenasa	Pérdida de función
	SB3	<i>CACNA1c</i>	Cav1.2 (subunidad alfa del canal de calcio tipo L)	Pérdida de función
	SB4	<i>CACNB2</i>	Subunidad β_2 del canal de calcio tipo L	Pérdida de función
	SB5	<i>SCN1B</i>	Subunidad β_1 del canal de sodio	Pérdida de función
	SB6	<i>KCNE3</i>	Subunidad β de corriente de salida transitoria	Ganancia de función
	SB7	<i>KCN3B</i>	Subunidad β_3 del canal de sodio	Pérdida de función
	SB8	<i>MDG1</i>	Transporte nucleocitoplásmico y microtubular	Pérdida de función
	SB9	<i>KCNES</i>	Subunidad β de corriente de salida transitoria	Ganancia de función
	SB10	<i>KCND3</i>	Canal de potasio I_{T0} (Kv4.3)	Ganancia de función

Tabla 6. Genes asociados al síndrome de SB.

Por otro lado, se ha relacionado con el fenotipo del SB a los genes *CACNA1c* y *CACNB2*, que codifican las subunidades alfa y beta del canal del calcio cardiaco. Las mutaciones de pérdida de función de estos genes se han relacionado con la enfermedad [176]. Los primeros pacientes con SB descritos en la literatura como portadores de mutaciones de los genes *CACNA1c* y *CACNB2* presentaban un fenotipo bien definido que combinaba un intervalo QT corto con un patrón de ECG de SB tipo I. Así pues, es importante evaluar con exactitud la presencia de un intervalo QT corto y/o un patrón de ECG de SB como parte de un único fenotipo, con objeto de abordar mejor el empleo de pruebas de detección genéticas en esos pacientes.

Dado que no se conoce la prevalencia comparativa de mutaciones en los demás genes relacionados con el SB (y es probable que sea muy baja), el examen de detección sistemática de estos genes, con la excepción del *SCN5A*, tiene una utilidad diagnóstica incierta. Además, es probable que la heterogeneidad genética del SB sea aún mayor, ya que la detección sistemática de mutaciones en los genes conocidos permite identificar una mutación en el 25-30% de los pacientes clínicamente afectados. En consecuencia, el examen genético de detección sistemática es útil para confirmar el diagnóstico clínico y permite la identificación de portadores génicos silentes, pero a diferencia de lo que ocurre en el SQTL, hasta el momento no hay evidencia de que los resultados de las pruebas genéticas influyan en el tratamiento clínico o la estratificación del riesgo en el SB [21;169].

El estudio genético del *SCN5A* puede ser útil en aquellos pacientes en el cual, el cardiólogo haya establecido el diagnóstico definitivo de SB, basándose en la historia clínica del paciente, historia familiar y estudio de la expresión fenotípica mediante electrocardiograma de 12 derivaciones y/o test de provocación con drogas [26].

Por otra parte el estudio genético de una mutación específica, está recomendada en familiares, tras haber sido hallada en el caso índice dicha mutación causante de SB [26].

3.4. Síndrome de QT Corto

En 2000, *Gussak y col* [177] identificaron una nueva enfermedad arritmogénica, caracterizada por un intervalo QT más corto de lo normal (< 350 ms) (**Figura 18**), arritmias ventriculares y auriculares y MSC. Teniendo en cuenta que sólo se ha descrito un pequeño número de pacientes con síndrome de QT corto (SQTC), 60 casos en total, parece que la MSC como primera manifestación no es infrecuente. Los intentos preliminares de estratificación del riesgo no han tenido éxito [178] debido al bajo número de pacientes, y la implantación de un DAI es el tratamiento principal. Al prolongar el intervalo QT, el tratamiento con hidroquinidina parece ser eficaz para prevenir la inducción de la taquiarritmia ventricular y los episodios arrítmicos durante el seguimiento a largo plazo [179].

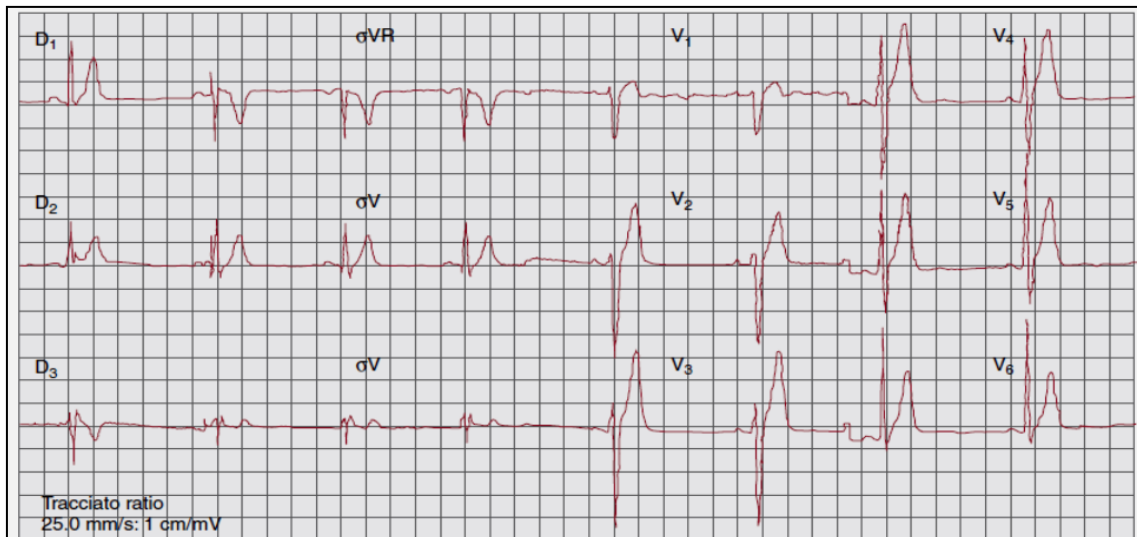


Figura 18. Electrocardiograma basal en un paciente con síndrome de QTC (QT/QTc, 300/300 ms).

3.4.1. Análisis genético en el síndrome de QT corto

Se han observado mutaciones en los genes *KCNH2*, *KCNQ1*, *KCNJ2*, *CACNA1c* y *CACNB2*, *CACNA2D1* (**Tabla 7**) en individuos con diagnóstico de SQTC [176;180-182]. Sin embargo, actualmente sólo se realiza la caracterización genética en una minoría de los pacientes. Según datos recientes [183], en aproximadamente un 20% de los pacientes con QT corto se determina con éxito el genotipo; por consiguiente, el valor de las pruebas genéticas en este síndrome es limitado y su uso no tiene consecuencias pronósticas. Los datos obtenidos en una pequeña cohorte de pacientes indican que los portadores de mutaciones del gen *KCNH2* pueden presentar un intervalo QT más corto [183]. La estratificación del riesgo y el tratamiento de la patología aún están mal definidos.

Fenotipo	Variante	Gen	Proteína	Defecto funcional
SÍNDROME DE QT CORTO	SQTS1	<i>KCNH2</i>	subunidad alfa del canal de potasio I _{Kr} (HERG)	Ganancia de función
	SQTS2	<i>KCNQ1</i>	subunidad alfa del canal de potasio I _{Ks} (KvLQT1)	Ganancia de función
	SQTS3	<i>KCNJ2</i>	Canal de potasio I _{K1} (kir 2.1)	Ganancia de función
	SQTS4	<i>CACNA1c</i>	Subunidad alfa del canal de calcio tipo L (Cav1.2)	Perdida de función

	SQTS5	CACNB2	Subunidad β_2 del canal de calcio tipo L	Perdida de función
	SQTS6	CACNA2D1	Subunidad δ_1 del canal de calcio tipo L	Perdida de función

Tabla 7. Genes asociados al Síndrome de QT corto.

Aunque ninguno de los tres genes (*KCNQ1*, *KCNH2* y *KCNJ2*) más frecuentemente relacionados con la enfermedad, ha sido asociado a ella con una frecuencia superior al 5%, su estudio puede considerarse en cualquier paciente, en el cual, el cardiólogo haya establecido un alto índice de sospecha de SQTC, basándose en la historia clínica del paciente, historia familiar y expresión fenotípica mediante electrocardiograma. Debe de tenerse en cuenta que la tasa de de UVs asociada a estos tres genes es del 3% [26].

Por otra parte el estudio genético de una mutación específica, está recomendada en aquellos familiares, tras haber sido hallada en el caso índice dicha mutación, causante de SQTC [26].

3.5. Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica

La taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (TVPC) es un trastorno del manejo intracelular del calcio [184]. La prevalencia estimada es de 1:7.000-1:10.000. Es una de las enfermedades arritmogénicas hereditarias más letales, con una evolución natural en la que hasta un 30% de los pacientes sufren una MSC antes de los 40 años si no se emplea tratamiento antiadrenérgico [185]. La enfermedad se manifiesta por arritmias de mecanismo adrenérgico, con peligro para la vida pues causan síncope o parada cardíaca, que se inician en la edad pediátrica. El ECG de superficie es anodino; en consecuencia, el diagnóstico se basa principalmente en los síntomas y la detección de arritmias inducidas por el estrés durante una prueba de esfuerzo o un registro Holter. Los pacientes presentan también arritmias supraventriculares, principalmente con salvos de taquicardia supraventricular o de fibrilación auricular que se solapan con extrasístoles ventriculares y TV. Durante la prueba de esfuerzo, es frecuente que los pacientes presenten un aumento progresivo de la complejidad de la arritmia hasta la aparición de una TV. La TV bidireccional es casi diagnóstica de la enfermedad: se caracteriza por una rotación de los complejos QRS en 180 de un latido a otro (**Figura 19**). Algunos pacientes no presentan TV bidireccional y durante el ejercicio sufren TV polimórfica [56;185] Siempre que se establece el diagnóstico de TVPC, se deben

administrar β bloqueantes [159]. Aunque esto aporta protección a la mayoría de los pacientes, aproximadamente un 30% sufre al menos un episodio arrítmico durante el tratamiento [186-188]. Más recientemente, *Watanabe y col.* [189] han descrito la supresión de las arritmias en 2 pacientes con TVPC al tratarlos con flecainida oral. Aún cuando son necesarios datos de series más amplias antes de proponer el empleo de la flecainida como tratamiento médico en la TVPC, estos resultados son alentadores y justifican un examen más detallado.

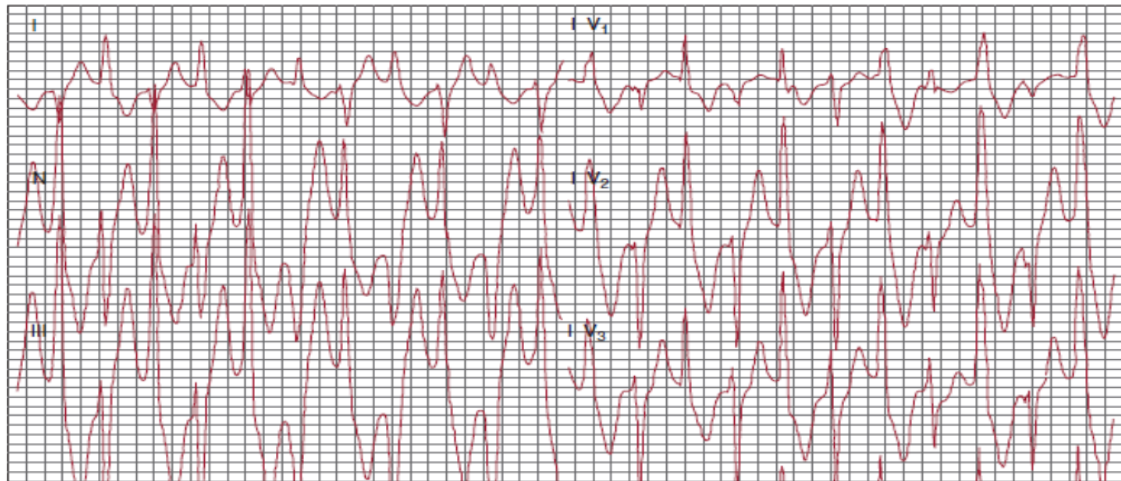


Figura 19. TV bidireccional durante una prueba de esfuerzo en un paciente con TVPC.

3.5.1. Análisis genético en la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica

Los estudios realizados para identificar la base molecular de la TVPC llevaron a identificar en los individuos afectados mutaciones en dos genes que codifican proteínas del retículo sarcoplásmico: el receptor de rianodina (*RyR2*) y la calsequestrina cardiaca (*CASQ2*), asociadas respectivamente a una forma autosómica dominante y una forma autosómica recesiva de TVPC (**Tabla 8**) [189;190].

Fenotipo	Variante	Gen	Proteína	Defecto funcional
TV catecolaminérgica	CPVT1	<i>RyR2</i>	Receptor de la rianodina cardiaca	Liberación diastólica de calcio
	CPVT2	<i>CASQ2</i>	Calsequestrina cardiaca	Liberación diastólica de calcio

Tabla 8. Genes asociados a la TVPC.

Se ha demostrado que las mutaciones de los genes *RyR2* y *CASQ2* dan lugar a un aumento de la liberación de calcio procedente del retículo sarcoplásmico y fomentan la aparición de arritmias desencadenadas. Alrededor del 65% de los pacientes en quienes

se determina el genotipo son portadores de una mutación en el gen *RyR2*, mientras que la prevalencia de las mutaciones del *CASQ2* es más baja entre el 3%-5% [184] [26], por lo tanto, el *screening* molecular permite la identificación de mutaciones con un rendimiento de más del 65% de los pacientes con diagnóstico clínico [187;191]. Por otro lado habría que señalar que la frecuencia con la que se identifican VUs, en estos dos genes es del 3% [26].

El análisis genético tiene complicaciones logísticas derivadas del hecho de que el *RyR2* es uno de los genes más grandes del genoma humano y el tiempo necesario para la determinación del genotipo es largo, pese a ello, han sido descritas más de 100 mutaciones causales, con herencia autosómica dominante que además, tienden a afectar a regiones específicas de la proteína [192;193]. Un método coherente de detección de *RyR2/CASQ2* debe incluir otras dos observaciones importantes: en primer lugar, un 20% de los portadores de mutaciones no presentan manifestaciones fenotípicas (penetrancia incompleta); en segundo lugar, la parada cardíaca súbita puede ser la forma de presentación clínica inicial de la enfermedad en hasta un 62% de los casos [184]. En consecuencia, la TVPC puede considerarse una causa de fibrilación ventricular idiopática mediada por mecanismos adrenérgicos, lo cual justifica la realización de pruebas genéticas en esos casos. Por otra parte, existen descripciones testimoniales que indican que las mutaciones del *KCNJ2* (*SQTL7*) pueden causar un fenotipo de TVPC. Este punto es de especial importancia en relación con los pacientes negativos para *RyR2* y *CASQ2* [194]. Así pues, el diagnóstico molecular puede aportar una importante perspectiva pronóstica.

Ya que el estudio molecular de estos dos genes (*RyR2* y *CASQ2*) presenta un rendimiento alto, estará considerado el cualquier paciente en el cual, el cardiólogo haya establecido diagnóstico o sospecha de TVPC, basándose en la historia clínica del paciente, historia familiar y expresión fenotípica mediante electrocardiograma durante una prueba de esfuerzo o un test de provocación con perfusión de catecolaminas [26]. El coste efectividad en estos casos será mayor que en los casos con una presentación clínica atípica como es el caso de la fibrilación ventricular idiopática, donde el rendimiento es menor, aproximadamente del 15%.

Es muy importante la evaluación genética temprana de todos los familiares de los casos detectados de TVPC, para el diagnóstico presintomático y el consejo adecuado respecto a la reproducción. Además, dado que los bloqueadores beta a menudo son un tratamiento eficaz, el diagnóstico genético de la TVPC tiene interés para la prevención

de los episodios con peligro para la vida, puesto que mejora sustancialmente el pronóstico [187;195], y está justificado que pase a ocupar un primer plano en el tratamiento.

4. OTRAS CARDIOPATÍAS

La miocardiopatía restrictiva (MCR) y la miocardiopatía no compactada (MCNC) han sido subclasificadas individualmente pero existen evidencias para considerar la superposición entre estos dos síndromes y la MCH o MCD. El fenotipo específico de la MCR familiar es reconocido dentro del espectro de MCH, igualmente la MCNC presenta una superposición fenotípica con la MCH y MCD. Tanto MCR como la MCNC comparten las mutaciones que provocan MCH y MCD [27;196]. La prevalencia de MCR o MCNC claramente familiar o esporádica (en ausencia de MCH y/o MCD dentro de la familia) es desconocida.

La definición del fenotipo clínico en MCNC permanece aun bajo debate, la prevalencia poblacional varía dependiendo de la población en la que se estudie y de los criterios clínicos utilizados, el curso clínico de la MCNC no está del todo claro, algunos autores hablan de una alta incidencia de efectos adversos y otros la relacionan más, con un pronóstico benigno [197;198].

Quizás porque los síntomas clínicos no están claramente establecidos, los genotipos en MCNC se asocian con un amplio espectro (genes que codifican para proteínas del citoesqueleto, canales iónicos y sarcómero) [199;200], siendo estos últimos los más comunes.

Las causas genéticas más habituales de MCNC pueden ser diferentes en niños y adultos, por lo que se recomienda un diagnóstico molecular adaptado a la edad del paciente. Así pues, para el diagnóstico genético neonatal o infantil se recomienda estudiar los genes; *G.4.5*, *DTNA* (alpha dystrobrevina), *ZASP* (también llamado dominio LIM de unión a la proteína 3, LBD3). Para el diagnóstico en adultos se recomienda la detección de mutaciones, por este orden en los siguientes genes; *MYH7*, *MYBPC3*, *DTNA*, *ZASP*, *LMNA* [26;27] y puede ser útil en pacientes en los cuales se haya establecido un diagnóstico de MCNC, basado en el examen de la historia clínica y familiar así como en ECG, ECO y fenotipo.

Recientemente *Luxán G y col.* [201]. Hallaron mutaciones germinales en el gen *MIB1* (mindbomb homolog 1) que codifica para la E3 ubiquitina Ligasa y esta a su vez promueve la correcta activación de la vía de señalización NOTCH. Los resultados de

este estudio mostraron que estas mutaciones causaban MCNC en herencia autosómica dominante y detenían el desarrollo miocardio, evitando la maduración trabecular y compactación.

Aproximadamente sólo en el 15-20% de pacientes con MCNC se conoce su mutación genética, mediante amplios paneles de genes se podría aumentar su rendimiento diagnóstico proporcionalmente. Por ejemplo *Klassen y col.* [202] publicaron que una tasa del 17% de detección cuando estudiaron 6 genes entre 63 casos índice no emparentados. Más recientemente *Hoedemaekers y col.* [203] describieron que usando un panel de 17 genes se identificaron mutaciones en 23 de 56 casos índice (41%).

Además el estudio genético específico de una mutación causante de la cardiopatía, está recomendado en los familiares de primer grado de aquellos casos índice en los que se haya encontrado una mutación.

La MCR familiar es la más raras de las enfermedades primarias del miocardio y es cada vez más frecuentemente reconocida como una enfermedad hereditaria asociada con mutaciones en los genes que codifican para proteínas del sarcómero y miofilamentos (*MHY7, TNNT2, TNNI3 y ACTC*), siendo las mutaciones identificadas en *MYH7* y *TNNI3* las responsables aproximadamente en un 5% de las MCR familiares [27]. La prevalencia poblacional se desconoce. Las características clínicas incluyen ampliación atrial con tamaño normal de los ventrículos y arritmias atriales con progresión a un avanzado fallo cardiaco y muerte relacionada tanto al fallo cardiaco como a las arritmias ventriculares [204]. Las mutaciones en troponina I asociadas a MCR alteran la función de inhibición de la troponina I sobre la ATPasa, provocando un incremento de la sensibilidad del calcio en el puente actina-miosina. El incremento de la sensibilidad del calcio en esta región promueve la rigidez del miocardio por alteración de la homeostasia del calcio en el sarcómero. Por lo tanto, este mecanismo puede ser importante en el desarrollo de los fenotipos tanto de MCR como MCNC [27;196].

Los test genéticos deben ser considerados en pacientes en los cuales se haya establecido un diagnóstico o sospecha de MCR, basado en el examen de la historia clínica y familiar así como en ECG, ECO y fenotipo. Al igual que en el resto de cardiopatías, el estudio genético específico de una mutación causante de la cardiopatía, está recomendado en los familiares de primer grado de aquellos casos índice en los que se haya encontrado una mutación. .

Por otro lado se incluye la fibrilación auricular (FA) entre las cardiopatías a destacar, es una arritmia cardiaca en la que hay una activación auricular desorganizada, no hay coordinación en la sístole auricular y el llenado ventricular es inefectivo. El ritmo irregular que se produce puede llegar a tener una frecuencia de 160 a 180 latidos por minuto (lpm). En el electrocardiograma (ECG) no hay onda P, en su lugar aparecen ondas rápidas de fibrilación de distinta forma, tamaño y ritmo, que llevan a una respuesta ventricular irregular. En el ECG la onda A del movimiento valvular mitral está ausente. Es la arritmia cardiaca más frecuente en la práctica clínica. Afecta al 1-2% de la población general su prevalencia aumenta con la edad, en las personas mayores de 65 años es del 4-5% y del 9% en los mayores de 80 años [205]. Aunque la FA puede ocurrir en individuos aparentemente sanos, más de 70% de los pacientes con FA presentan cardiopatías estructurales (por ejemplo, hipertensión, hipertrofia cardiaca, enfermedad arterial coronaria, insuficiencia cardíaca, enfermedades valvulares y miocardiopatías) o enfermedades no cardíacas (diabetes mellitus, hipertiroidismo, obesidad, apnea obstructiva del sueño y enfermedades pulmonares) [205]. Sin embargo, en los últimos años, los estudios poblacionales sugieren que la FA presenta un componente genético importante. La historia familiar de FA idiopática se asocia con un mayor riesgo de FA, caracterizada por una temprana edad de inicio y varios familiares de primer grado afectados [206]. De hecho, en individuos que tienen un pariente de primer grado con FA aislada, el riesgo de desarrollo de FA es significativamente mayor que la de la población general [207].

5. SÍNDROME DE MUERTE SÚBITA INEXPLICABLE DEL ADULTO Y DEL INFANTE

El síndrome de muerte súbita inexplicable ó SADS (*Sudden Arrhythmic Death Syndrome*) se define como una muerte súbita que ocurre con un límite temporal de 1 hora entre el inicio de los síntomas y la muerte, frecuentemente afecta a personas jóvenes (≤ 35 años), y donde la autopsia no es capaz de identificar la causa de la muerte [208]. Aunque la isquemia coronaria explica la mayoría de las MS en edades más avanzadas, otras muchas etiologías contribuyen a este problema, incluidos los desordenes genéticos que pueden afectar tanto a la integridad del musculo cardiaco (MCP) como sistema de conducción (CP). Por otro lado, la muerte súbita inexplicable del infante o SIDS (*Sudden Infant Death Syndrome*) representa un subgrupo de la muerte súbita entre los niños

menores de un año. Típicamente la causa de la muerte permanece inexplicable tras realizar un minucioso estudio, que incluye la autopsia negativa.

Tras el estudio molecular, más del 35% de los SADS [12;209] y del 15% de los casos de SIDS, se relacionan con canalopatías [12;208-210]. Estos desordenes arritmogénicos primarios como SQT, TVPC, y SB, pueden predisponer a sufrir un episodio de MS. Las mutaciones se encuentran más comúnmente en los siguientes genes; *RyR2* (10-15%) y *KCNQ1*, *KCNH2* y *SCN5A* (10-15%), por lo que deberá considerar su estudio, en casos de SADS o SIDS, con el objetivo de establecer la probable causa de la muerte, así como de facilitar la identificación de familiares con riesgo potencial de sufrir una MS.

En el caso de que el paciente haya sobrevivido a la parada cardíaca el episodio se catalogaría de fibrilación ventricular idiopática, y la probabilidad de no encontrar una etiología es inferior a los casos en que el probando fallece. Tanto en el caso de superviviente como del fallecido por MS, antes de indicar un estudio genético es primordial obtener toda la información clínica posible que permita guiar y orientar el resultado de un test genético. Esto es más complejo en caso del sujeto fallecido, ya que en muchas ocasiones no habrá sido estudiado previamente, y la autopsia muchas veces, aporta información limitada. En ambos casos resulta de gran utilidad la realización de estudio familiar con pruebas básicas, como ECG y ECO, ya que en ocasiones el probando no muestra datos fenotípicos y es un familiar el que aporta información para el diagnóstico definitivo. Se estima que aproximadamente un 25-35% de los familiares de primera línea, en los que se realiza un exhaustivo estudio cardíaco, son diagnosticados con un síndrome arrítmico hereditario, por lo que se recomienda que el estudio molecular, en estos casos, comience con el análisis de los genes relacionados con las canalopatías [103;211].

Al igual que ocurre en el resto de cardiopatías, el estudio molecular específico de una mutación causante de muerte súbita inexplicable tanto del adulto como del infante, está recomendado en los familiares de primer grado de aquellos casos índice en los que se haya encontrado dicha mutación [26].

6. INTERPRETACIÓN DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS

Por todo lo descrito anteriormente, se considera que las cardiopatías hereditarias presentan entre ellas diferentes características morfológicas y funcionales, así como unas condiciones muy heterogéneas en cuanto a su presentación, evolución y

pronóstico. Cientos de mutaciones en diferentes genes han sido asociadas con cada una de ellas y probablemente esta heterogeneidad es una de las principales razones para la variabilidad de su expresión clínica [212].

Uno de los problemas más frecuentes en la práctica clínica, sobre todo en el caso de las canalopatías, es la ausencia de una clara manifestación fenotípica en familiares portadores de una mutación “patogénica”, causante de la enfermedad en el probando. Incluso en ocasiones es el propio caso índice el que no muestra datos fenotípicos evidentes, aún a pesar de haber experimentado episodios clínicos graves como síncope o paro cardíaco, siendo los test genéticos la única vía para llegar al diagnóstico en estos raros casos.

Las canalopatías, y en menor medida las miocardiopatías, muestran una penetrancia clínica incompleta que explica que los portadores de la mutación causal presenten una expresión fenotípica negativa o solo parcial de la enfermedad respecto a la que muestra el probando con igual mutación. En algunas ocasiones, en las que el fenotipo es aparentemente negativo, el uso de test de provocación farmacológica con epinefrina (SQTL) y flecainida (SB), o de técnicas de imagen más sensibles como la cardiorresonancia (MCP), pueden desenmascarar el fenotipo latente. Esto se traduce en que una gran proporción de familiares asintomáticos portadores de mutación no cumplen los criterios diagnósticos vigentes de la enfermedad concreta.

Para la correcta interpretación de los resultados genéticos en el estudio de las cardiopatías hereditarias, es esencial disponer de experiencia clínica y asesoramiento genético especializado, ya que con frecuencia se detectan variantes de significado clínico incierto de dudosa patogenicidad. Esto conlleva el riesgo de catalogar sujetos portadores de variantes no patogénicas como portadores de mutaciones causales de enfermedad. Este hecho, denominado en algunos trabajos como “ruido genético” [213], puede orientar el diagnóstico clínico en una dirección equivocada y promover la adopción de medidas terapéuticas erróneas como la retirada del deporte de competición o, en casos extremos, condicionar la inserción de un DAI en un sujeto completamente sano. Además, la detección de mutaciones previamente no descritas, es muy frecuente, lo que añade otro punto de complejidad a la interpretación del estudio molecular.

Para reducir al máximo la posibilidad de error en un caso concreto, una vez identificada una variante en un gen de dudosa patogenicidad, lo correcto es secuenciarla en el resto de familiares e intentar desenmascarar el fenotipo sugerido por la variante en

los portadores. El hecho contrario también sucede, no encontrar una variante genética en los genes secuenciados en un paciente con un fenotipo evidente lo cual no supone en ningún caso ausencia de enfermedad, y el resultado debe interpretarse como no informativo.

6.1. Clasificación de las variantes identificada

6.1.1 Evaluación de la frecuencia

Uno de los principales pasos cuando se identifica una variante es comprobar su frecuencia en la población general, se considerará que una variante es un **polimorfismo** cuando su frecuencia sea mayor al 1% en la población general [214], es decir, para ser clasificado como un polimorfismo, el alelo menos común debe tener una frecuencia de un 1% o más. Los polimorfismos no son normalmente patogénicos, pero en determinadas poblaciones pueden ser la causa de la enfermedad [215]. Además la variación de secuencias polimórficas contribuye a la susceptibilidad a la enfermedad y también puede influir en las respuestas a los fármacos.

Sería importante añadir el concepto de polimorfismo de una sola base o SNP (*single nucleotid polymorphism*), los SNPs son las variaciones más abundantes en el genoma humano, con una media de una vez cada 1.000 pares de bases en el genoma, por lo que la mayor parte de los 3 millones de variaciones que se encuentran en el genoma, y la frecuencia de un polimorfismo en particular, tiende a permanecer estable en la población. Se ha observado que aquellos SNPs comunes cercanos en el genoma tienden a estar estrechamente correlacionados entre sí por existir un alto desequilibrio de ligamiento entre ellos y, por lo tanto, se organizan en un número discreto de bloques haplotípicos, los cuales varían entre poblaciones [216].

Con el objetivo de establecer los patrones de variación genética común en las diferentes poblaciones surgió en 2003 el Proyecto Internacional *HapMap* (*International HapMap Consortium, 2003*), mediante el cual se han caracterizado en la actualidad más de 4 millones de SNPs comunes en 270 individuos de origen africano, asiático y europeo y 1,6 millones de SNPs en siete poblaciones adicionales [216]. El fin último del Proyecto Internacional *HapMap* es mapear los SNPs de todo el genoma y caracterizarlos en todas las poblaciones y, en consecuencia, favorecer la búsqueda de genes implicados en la salud, la enfermedad y la respuesta a fármacos y agentes medioambientales.

Por otro lado, se considerarán **mutaciones**, aquellas variantes raras en la población general (con una frecuencia <1%). Aunque en su mayoría se asocian con

patogenicidad, no todas las mutaciones son patogénicas, si se demuestra que no cosegregan con la enfermedad o se cree que no son la causa fundamental de su aparición.

6.2.2. Evaluación de la patogenicidad

Para su correcta evaluación, ha de considerarse tanto la información básica de la variante como la información clínica, estudiando la expresión de la misma y teniendo en cuenta la importancia del estudio del fenotipo clínico en cada caso.

Tipo de variantes según su efecto fisiopatológico.

Las técnicas empleadas para el rastreo de mutaciones en cardiopatías son inespecíficas, ya que detectan cualquier cambio en la secuencia. Para saber si ese cambio tiene efecto patogénico, tras su detección se procede a la interpretación del resultado obtenido. Según su efecto sobre la proteína y su función podemos dividir las mutaciones en tres grupos: patogénicas, no patogénicas y variantes de significado clínico incierto.

a) **Variantes patogénicas**

Estas mutaciones son aquellas que se pueden considerar como causa principal de la alta susceptibilidad a desarrollar una cardiopatía hereditaria. Dentro de este tipo de mutaciones encontramos:

- **Mutaciones sin sentido o “nonsense”:** aquellas en las que se produce el cambio de uno o más nucleótidos que en lugar de codificar para el aminoácido (aa) correcto codifican para un codón de parada prematuro y pueden dar lugar a una proteína truncada.
- **Mutaciones de cambio en el marco de lectura o “frameshift”:** están causadas por inserciones y deleciones que alteran el patrón de lectura. Al agruparse los tripletes de una forma distinta suele aparecer un codón de parada prematuro que da lugar a la terminación anticipada de la traducción y con ello a una proteína truncada. Esta proteína carece de algunos de los dominios funcionales importantes y su efecto se presupone patológico.
- **Mutaciones que afectan a la maduración del mRNA o mutaciones de “splicing”:** Son cambios, inserciones o pérdidas de nucleótidos que a menudo con llevan pérdida o amplificación de algún exón y por tanto dan lugar a un transcrito y una proteína anómala y de efecto patogénico. Este tipo de

mutaciones suelen afectar a los sitios críticos de procesamiento situados en las zonas de unión intrón-exón-intrón.

- **Mutaciones con cambio de sentido o “missense”:** Son aquellas que con un simple cambio de aminoácido tienen un efecto patogénico. Su caracterización requiere ensayos que determinen que la funcionalidad o estructura de la proteína se ve gravemente afectada por la mutación, así como estudios poblacionales y de segregación. Este tipo de ensayos son costosos y largos, por lo que no hay muchas mutaciones “missense” claramente clasificadas como patogénicas.
- **Mutaciones silenciosas:** normalmente son no patogénicas, pero hay excepciones en los casos donde la mutación afecta a las regiones implicadas en el proceso de *splicing*. Algunas muy llamativas como es el caso de las mutaciones silenciosas de LMNA en el síndrome de la “progeria vera” [217].
- **Delecciones o inserciones que no alteran el marco de lectura:** son pequeñas delecciones o inserciones que son múltiples de 3 y por lo tanto introducen o eliminan uno o pocos aminoácidos, pero no cambian el marco de lectura de los tripletes.

b) Variantes no patogénicas

Dentro de este grupo, se encuentran las variantes presentes en la población general con una frecuencia mayor del 1% o polimorfismos, así como aquellas variantes que producen cambios de nucleótido que no dan lugar a cambio de aminoácido (“mutaciones silenciosas”) y que no afectan al *splicing*, mutaciones que aparecen en los intrones, en las zonas 3’ y 5’ no transcritas (zonas UTRs) que se demuestra que no afectan al *splicing*, y alguna variante de cambio de aminoácido que no repercute en la funcionalidad ni estructura de la proteína.

c) Variantes de significado clínico incierto o “unclassified variants (UVs)”

Son aquellas variantes donde el efecto del cambio de la secuencia sobre la función de la proteína se desconoce. En este grupo se incluyen las variantes de cambio de sentido o “missense”, delecciones o inserciones de un número de nucleótidos múltiplo de tres y las variantes de secuencia potencialmente implicadas en el *splicing* pero que no alteran los nucleótidos canónicos (AG/GT). La mayoría de las variantes UV son polimorfismos benignos, pero demostrar el significado funcional y clínico de este tipo de variantes es un problema común en el diagnóstico genético en general, el análisis funcional teóricamente sería la mejor forma de determinar su patogenicidad, no

obstante, es una estrategia muy laboriosa que no se puede abordar en un laboratorio de diagnóstico genético. Por ello, se ha optado por utilizar distintas herramientas:

- **Búsqueda de datos** sobre la variante tanto en la bibliografía como en bases de datos de mutaciones destacando la *Human Gene Mutation Database (HGMD)*, *Locus Specific Mutation Database (LSDBs)*, *Leiden Open Variation Database LOVD* y *Ensembl* entre otras. *ClinVar* en NCBI fue creada para compartir información acerca de la relación genotipo-fenotipo. Por otro lado las bases de datos de polimorfismos como la NCBI *dbSNP* aportan información a la hora de descartar una probable UVs. La presencia de una variante en un individuo no afectado en situación de riesgo de la población puede ser utilizada como prueba de no patogenicidad. Pero, a menudo no hay suposición acerca de la frecuencia mínima alélica (MAF), por lo tanto, los datos puede contener variantes tanto patógenas y no patógenas. Por lo que, no es recomendable el uso de la presencia en una base de datos de SNP como prueba de no patogenicidad en ausencia de información de frecuencia convincente.
- **Análisis de segregación en la familia.** Estudia si la UV cosegrega con la enfermedad (los miembros afectados deben ser portadores de la mutación y los no portadores no deben presentar la enfermedad). Al evaluar la segregación familiar, debe de tenerse en cuenta los diferentes tipos de herencia familiar así como la penetrancia incompleta entre las mutaciones con herencia autosómica dominante. En las cardiopatías, es frecuente que los portadores jóvenes no estén afectados, incluso portadores de más edad no desarrollen la enfermedad. Por esta razón, la ausencia en la expresión de la enfermedad en un portador de una determinada variante no excluye de patogenicidad [104]. Debido a que los familiares de primer grado tienen un 50% de posibilidades de compartir cualquier cambio específico de ADN, este análisis requiere de un gran número de personas con la UV para construir una relación de causalidad. Normalmente las cardiopatías son consideradas desordenes monogénicos, pero en algunos casos la enfermedad está causada por la combinación de dos o más mutaciones.
- **La conservación evolutiva entre distintas especies.** Los cambios en regiones y residuos altamente conservados entre especies diversas tienen mayor probabilidad de ser patogénicos. De igual forma, cuando el alelo menos frecuente aparece en otras especies probablemente se trate de un polimorfismo.

El alineamiento múltiple es una de las técnicas bioinformáticas más usadas, ya que por medio de ella podemos realizar diversos análisis, que van desde la filogenia hasta la búsqueda de motivos. Los tres métodos más comunes para realizar alineamientos múltiples son *ClustalW*, *T-Coffee* y *Muscle* realizados por el EBI (European Institute of Bioinformatics), para identificar el grado y lugar de conservación de los aa en los que se detectó una nueva variante, para esta identificación tienen en cuenta la secuencia consenso “*Clustal Consensus*”: Asterisco (*), indica que en dicha posición los residuos son 100% idénticos. Dos puntos (:), indican posiciones en las que se han realizado sustituciones conservativas. Punto (.), indica sustituciones menos conservativas.

- **Estudios funcionales.** Se han desarrollado ensayos funcionales mediante modelos animales que permiten el estudio de la expresión de una determinada mutación pudiendo aportar evidencias sobre su patogenicidad, especialmente cuando los animales reproducen el fenotipo observado en los humanos. Sin embargo estos ensayos son limitados por el coste y las dificultades en la obtención de dichos modelos [218]. No existe un *gold standard* por el cual comparar estos resultados, ya que las mutaciones patogénicas no afectan a todos estos criterios de valoración funcionales de la misma manera, por lo que se puede recurrir a múltiples ensayos para identificar una pérdida específica de funcionalidad. De todos modos, es necesaria una validación para estar seguro que la variante encontrada en el laboratorio en realidad se correlaciona con otros métodos que distinguen las variantes patogénicas de las neutrales.
- **Estudios *in silico*.** Existen métodos informáticos que permiten predecir si un cambio de aminoácido afecta a la función de la proteína. Estos algoritmos (métodos *in silico*) son herramientas útiles en la valoración del efecto funcional de variantes nuevas, en ausencia de estudios funcionales con modelos animales o celulares. Hay diversos algoritmos de predicción disponibles en la red como: *Polyphen*, *SIFT*, *Pmut*, *Mutation Taster*, *Align GVGD*. Para hacer una predicción, estos programas pueden servirse, además de la información sobre la función de la proteína, de la siguiente datos:
 - ❖ La conservación evolutiva entre distintas especies.
 - ❖ Región del gen y de la proteína a la que afecta a la mutación. Las mutaciones que afectan a las regiones codificantes (exones) son

probablemente más patogénicas que aquellas que afectan a las regiones no codificantes (intrones). Aunque las mutaciones intrónicas que afectan a regiones implicadas en procesos de *splicing*, serán más patogénicas que aquellas que están en el resto del intrón.

- ❖ Tipo de cambio de aminoácido. Si las propiedades químicas de uno y otro son muy diferentes podría afectar a la estructura de la proteína o a su función si reside en el sitio activo de la misma.

En cualquier caso, siempre se tratará de una aproximación, dan una idea general, pero nunca pueden sustituir a los ensayos funcionales, epidemiológicos y de segregación. La caracterización final debe hacerse siempre mediante análisis más exhaustivos.

Por otro lado también existen algoritmos que predicen si la mutación podría afectar a la maduración del RNA mensajero (*MaxEntScan*, *NNsplice*, *Splice Site Finder*). En general, las versiones actuales de distintos algoritmos tienen una sensibilidad del 80%, y en algunos casos hasta el 90% en la clasificación de variantes como patógenas o benignas [219]. Existen aplicaciones de software de apoyo a las decisiones como *Alamut*, desarrollada por *Interactive Biosoftware*, para el diagnóstico de mutaciones en la genética molecular en medicina. Es una aplicación que integra la información genética proveniente de diferentes fuentes para describir variantes utilizando la nomenclatura HGVS (*Human Genome Variation Society*) y ayuda a interpretar su condición patógena.

Algunas publicaciones sobre la aplicación clínica del estudio *in silico* de mutaciones de cambio de sentido, en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, son prueba de su espectacular desarrollo [220-224].

Aunque estos estudios tienen algunas limitaciones, pues consideran mínimamente las interacciones supramoleculares con moléculas homólogas y zonas relacionadas con la señalización intracelular junto con la posibilidad de la existencia de otra alteración en otro gen [225], su uso se ha popularizado en los últimos años.

En resumen, la información más valorable acerca de una determinada alteración genética, viene dada de la integración del genotipo-fenotipo, de esa misma variante en otros estudios familiares. La caracterización de una UV es complicada, ya que la

Capítulo I

mayoría de las variantes son únicas de una determinada familia y en muchos casos no hay datos relevantes en la bibliografía, por lo que este punto pasa a ser en la mayoría de los casos un factor limitante del estudio [212]. En la práctica clínica, las familias con pocos miembros y los individuos afectados que han fallecido limitan la posibilidad de analizar la cosegregación, y los estudios funcionales no suelen estar disponibles. Por todo ello, los modelos que consideran la conservación evolutiva, tipo de cambio de aa, frecuencia en controles, región del gen o de la proteína, son más fácilmente aplicables en la valoración de las UVs. Además en el estudio de relación genotipo-fenotipo debe tenerse en cuenta, la aparición de una variante en una posición muy cercana o incluso en el mismo aa (*hotstop*), de otra mutación patogénica, ya que podrían apoyar a establecer la patogenicidad [226].

Objetivos

1. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

A pesar de que los estudios genéticos, en las cardiopatías hereditarias, están recomendados en las diferentes guías de práctica clínica, su uso en el contexto de MS en nuestro medio está limitado por la falta un protocolo establecido de custodia de las muestras y ausencia en ocasiones de comunicación entre las diferentes instituciones (Justicia y Sanidad), así como la escasez de unidades de estudio de MS y cardiopatías familiares.

2. HIPÓTESIS

La causa más frecuente de MS no isquémica en la Región de Murcia es la miocardiopatía hipertrófica, seguida de otras miocardiopatías. En un porcentaje significativo de casos la autopsia no es definitiva. El estudio molecular dirigido permite identificar la mutación causal en hasta un 50% de los casos con cardiopatías hereditarias. Además el estudio genético permite identificar portadores en riesgo entre los familiares.

3. OBJETIVOS

- 1) Estudiar las causas de MS no isquémica en la Región de Murcia.
- 2) Describir desde el punto de vista histopatológico los casos de MS con sospecha o evidencia de miocardiopatía.
- 3) Evaluar el funcionamiento de un protocolo de estudio patológico, genético y familiar de los casos de MS no isquémica.
- 4) Identificar las alteraciones genéticas asociadas a las causas de MS con sospecha de cardiopatía hereditaria.
- 5) Estudiar mediante el uso de herramientas bioinformáticas la causalidad de las variantes encontradas y estimar su patogenicidad, mediante la relación entre el tipo de variante y las manifestaciones clínicas (correlación genotipo-fenotipo).
- 6) Estudiar la segregación de la enfermedad con el genotipo y su penetrancia a partir del estudio de familiares de primer grado de los afectados.

Material y Métodos

1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para el presente estudio se reclutaron un total de 82 casos índice de MS consecutivos recogidos prospectivamente en la Región de Murcia durante los años 2008-2012, de los cuales eran; 67 hombres (81,7%) y 15 mujeres (18,2%), con una media de edad al diagnóstico de $36,9 \pm 19,1$ años (intervalo de 1 día - 65 años). El estudio fue aceptado por el comité ético del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

Se definió MS como fallecimiento inesperado dentro de la primera hora del comienzo de los síntomas en personas menores de 60 años o en pacientes de más edad con diagnóstico previo de MCP o CP. La parada cardíaca resucitada se incluyó como equivalente de MS. Fueron excluidos los pacientes con alta sospecha o confirmación de enfermedad coronaria aórtica

Se realizó un estudio necrópsico completo con disección reglada del corazón por especialistas del Instituto de Medicina Legal de la Región de Murcia (IMLRM) y el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario Reina Sofía, que incluyó; una evaluación macroscópica y microscópica, así como estudios toxicológicos. Se descartaron anomalías valvulares y enfermedad coronaria. Se recogieron los datos de las medidas y los resultados de las exploraciones realizadas.

Además se procedió a la recogida, conservación y almacenamiento de muestras sanguíneas (2 tubos EDTA, 4 ml), para la realización del estudio molecular en el laboratorio de diagnóstico genético (LDG) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), dichas muestras de sangre fueron tratadas, siguiendo procedimiento habitual para purificación y amplificación del DNA.

Fueron excluidos del estudio genético los pacientes con MS por muerte cardiovascular no relacionada con MCP o CP.

Para la realización del estudio familiar, se trazaron árboles familiares de forma detallada a partir del interrogatorio de pacientes y familiares. Se indagó acerca de la presencia de enfermedades cardíacas en la familia, con especial atención a los antecedentes de insuficiencia cardíaca, trasplante, necesidad de dispositivos como marcapasos, tratamientos médicos relevantes y consanguinidad.

Se realizó una exploración, electrocardiograma, ecocardiograma, Holter, test de provocación farmacológica (flecainamida y adrenalina), prueba de esfuerzo y resonancia cardíaca, en función de cada caso.

Finalmente se interrogó acerca de la edad y las causas de los fallecimientos. Se recogió la historia médica, síntomas cardiovasculares, comorbilidades y tratamientos

relevantes en el momento del fallecimiento, además de los posibles desencadenantes como ejercicio, medicación e infecciones, y síntomas durante el día de la MS. Se revisaron electrocardiogramas, ecocardiogramas, historias clínicas, informes y detalles de las autopsias en los casos en que esta información estaba disponible. Los criterios diagnósticos para cada patología se recogen en el **Anexo I**.

En los casos en los que se identificó una variante causal o potencialmente causal de la enfermedad, en cualquiera de los genes estudiados se ofreció el estudio molecular a los familiares de primer grado (*Screening* familiar en cascada). Todos los familiares o pacientes (en caso de tratarse de parada cardíaca resucitada) fueron debidamente informados y firmaron una hoja de consentimiento (**Anexo II**). La **Figura 20** muestra un resumen del flujo de trabajo protocolizado seguido para este estudio.

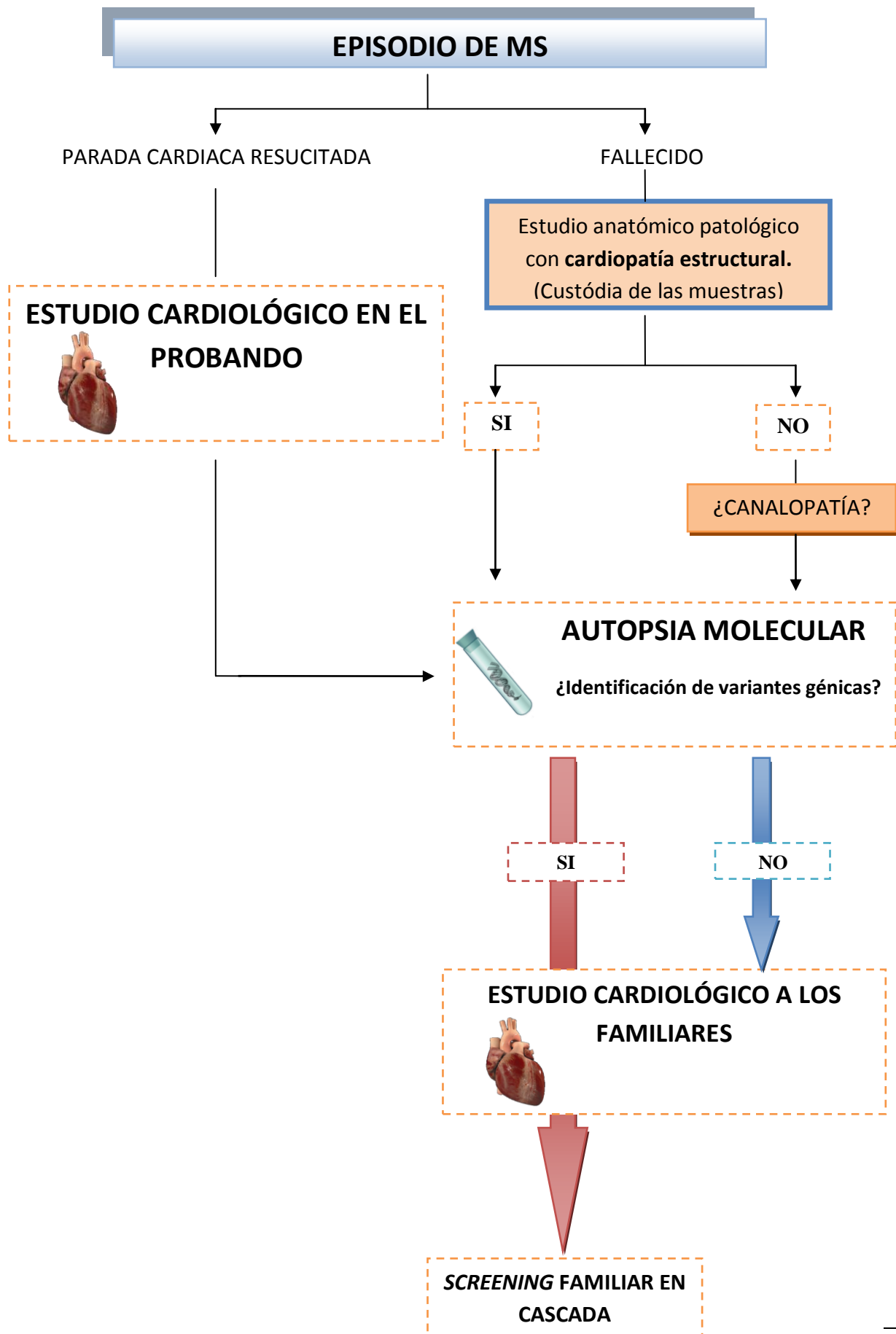


Figura 20: Flujo de trabajo protocolizado en MS

2. DISECCIÓN REGLADA DEL CORAZÓN

2.1. Estudio macroscópico del corazón

Tras retirar la parrilla costal se debe inspeccionar el saco pericárdico antes de abrirlo, para constatar si está completo. Recordar que tras la cirugía cardiaca se deja abierto. Tras su apertura se comprueba la posible existencia de adherencias fibrosas o de derrames intrapericárdicos, determinando su tipo (hemáticos, serosos, purulentos) y cantidad. Previo a la extracción cardiaca es preciso examinar “in situ” la luz de la arteria pulmonar, para descartar cuadro de tromboembolismo pulmonar. El corazón debe ser extraído seccionando la vena cava inferior por encima del diafragma; la vena cava superior; las venas pulmonares (comprobar su correcto drenaje en la aurícula izquierda); y la aorta y la arteria pulmonar unos 2 cm por encima de los anillos. Una vez extraído se lava y extraen los coágulos. En caso de hemopericardio hay que determinar su origen, que se debe por lo general a un infarto agudo de miocardio transmural con rotura de pared o a rotura de aorta ascendente. En este último caso se recomienda sacar el corazón unido a la aorta completa. En el examen externo se valorará peso, tamaño, forma y posición de las diferentes estructuras (es conveniente disponer de tablas con el peso cardiaco normal acorde al peso corporal). Los criterios de hipertrofia cardiaca se seguirán según los valores de relación entre el peso cardiaco y el peso corporal (el peso del corazón fijado en formol se incrementa en torno al 5%). Hay que examinar el aspecto del pericardio y la cantidad y distribución de grasa epicárdica. Existen diversas maneras de abrir y seccionar el corazón que dependen tanto de la enfermedad y la edad del fallecido, como de las preferencias y experiencia del prosector. En patología forense se recomienda el método propuesto en las figuras 1 y 2 ya que permite el diagnóstico de las enfermedades más frecuentes en jóvenes y adultos (cardiopatía isquémica y miocardiopatías). El corazón se apoya sobre su cara anterior y se efectúan secciones transversales desde la punta como una barra de pan (**figura. 21A**). En la sección del tercio medio debe medirse el grosor de la pared libre de ambos ventrículos y del septo interventricular (**figura. 21B**). Si el grosor del ventrículo izquierdo es mayor de 1,5 cm se considera hipertrofia y habrá que valorar si es concéntrica o asimétrica. No obstante, como ya se ha comentado previamente, el diagnóstico de hipertrofia debe basarse fundamentalmente en el peso del corazón en comparación al esperado para el peso corporal. El espesor del ventrículo derecho es de 3-4 mm. También hay que anotar el diámetro del ventrículo izquierdo (excluyendo las trabéculas y los músculos papilares)

(figura. 21B). Estas medidas no son equivalentes a las obtenidas en los estudios ecográficos en el vivo que se obtienen con el corazón en telediástole. La base se abre según la dirección de la corriente sanguínea y se examinan las válvulas, las aurículas y el tabique interauricular (figura. 22).

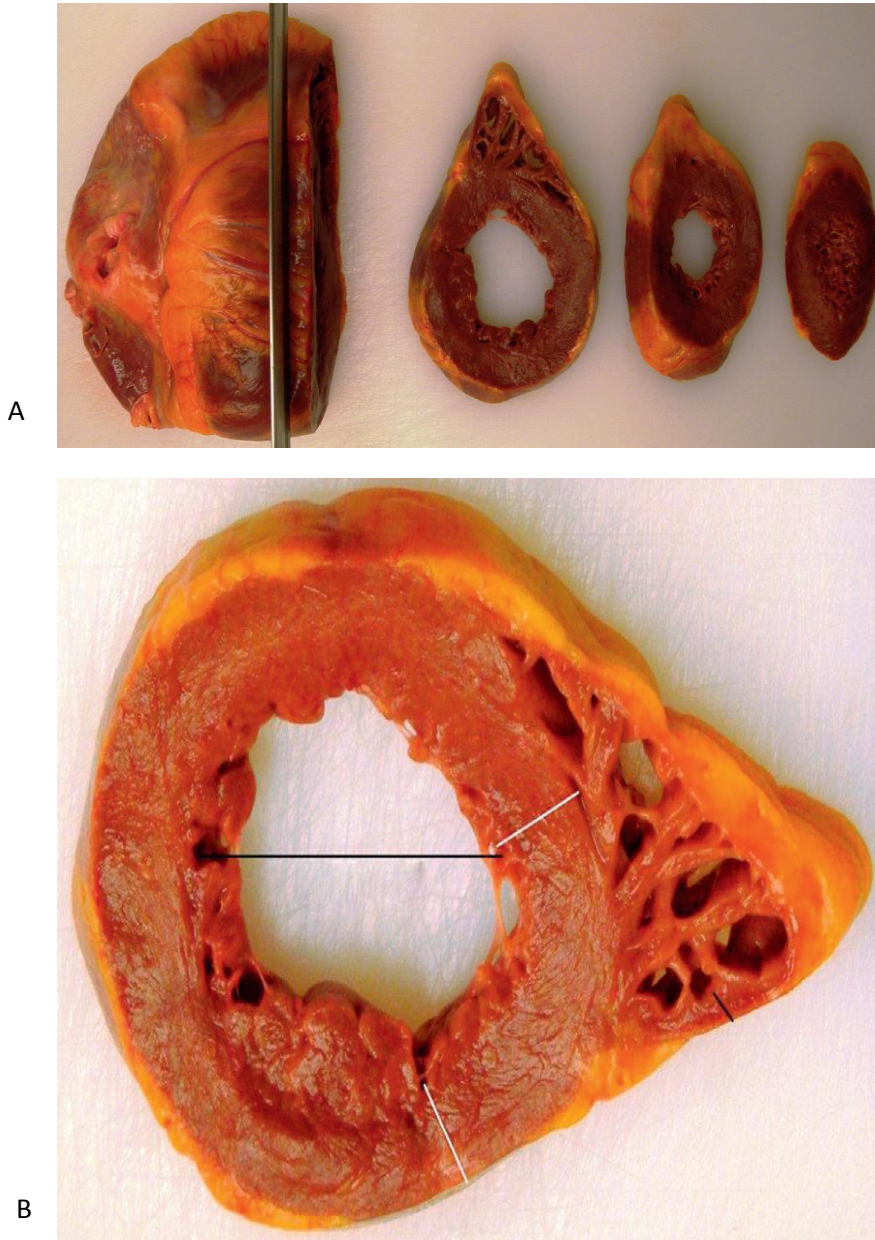


Figura 21. Método de estudio del corazón. Sección ventricular. Sección de los ventrículos «en barra de pan» mediante 3 o 4 cortes transversales de 1-2 cm de grosor paralelos al surco auriculoventricular posterior desde el ápex hasta los músculos papilares de la válvula mitral (A). Este método posibilita un mejor análisis de las lesiones del miocardio y una mejor medición del espesor de las paredes y del diámetro de los ventrículos (B). Así mismo, permite preservar la base cardiaca con el aparato valvular íntegro.

2.2. Estudio de las coronarias

En primer lugar hay que observar su origen en los senos de Valsalva aórticos (**figura 22G**), anotando número, localización y forma. Suele haber un solo ostium en cada seno, pero existen variaciones dentro de la normalidad. Cuando el origen de las 2 coronarias se encuentra en el mismo seno se puede producir MS. En caso de que exista un solo ostium coronario, se puede estar frente a una coronaria única. Antes de hacer este diagnóstico se debe buscar el origen de la otra coronaria (más frecuente la izquierda) en la arteria pulmonar. Posteriormente, debe determinarse su distribución, la presencia de puentes intramiocárdicos y la permeabilidad mediante cortes seriados transversales cada 2-3 mm (**figura 23**). Las coronarias derecha, izquierda, descendente anterior y circunfleja deben examinarse siempre, anotando la dominancia (derecha, izquierda, balanceada o codominancia). En determinados casos es aconsejable examinar también las ramas marginales, diagonales, descendente posterior y obturatriz. Se debe valorar la presencia de ateromas, trombos, disección espontánea y aneurismas. El grado de estenosis se clasifica en 4 grados: ligera (25-50% de estenosis); moderada (50-75%); severa (> 75%); y oclusiva (100%). Hay que especificar su localización (proximal, media o distal). Si están calcificadas hay que disecarlas en toda su longitud o en los segmentos afectados y sumergirlas en solución descalcificadora (ácido nítrico al 7%, por ejemplo) antes de realizar los cortes pertinentes.

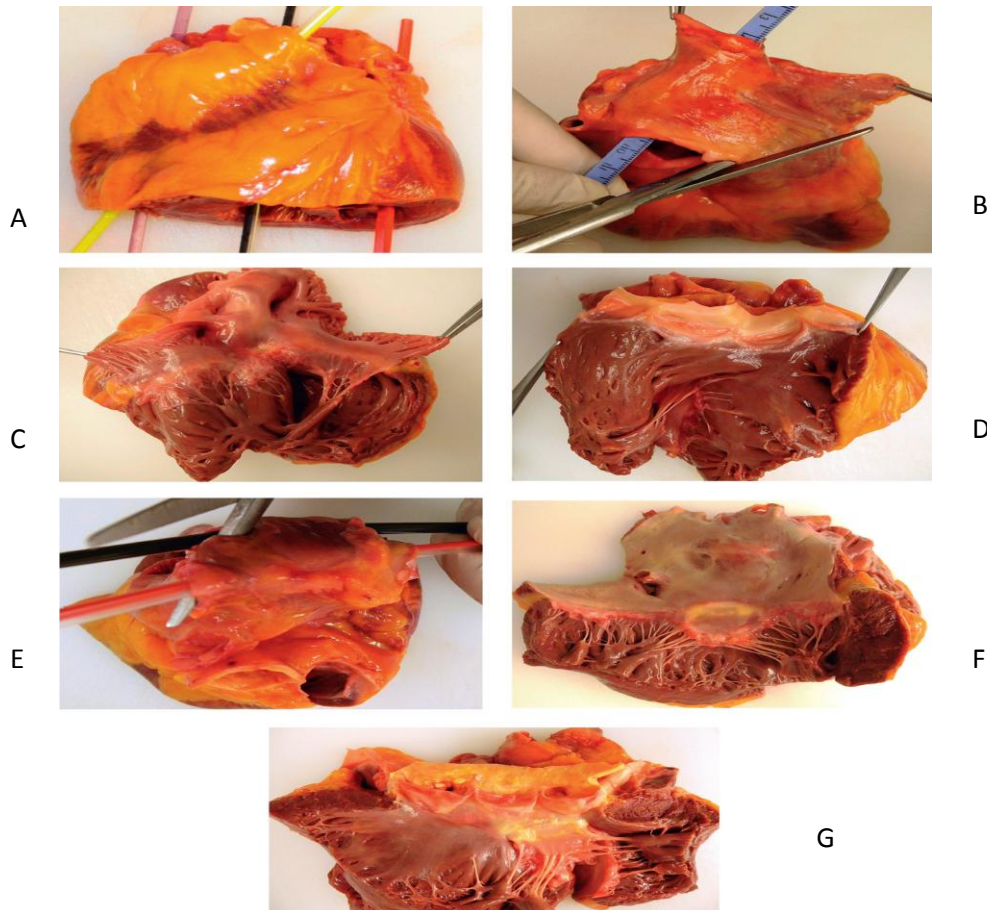


Figura 22. Método de estudio del corazón. Base cardíaca: apertura de cavidades. En la figura A, que muestra la base cardíaca se han introducido varias guías de colores para señalar las incisiones a realizar. La aurícula derecha se abre desde la desembocadura de la vena cava inferior a la punta de la orejuela (sujeta por la pinza) para preservar el nodo sinusal (B, la regla azul atraviesa la entrada de ambas cavas). A continuación, se secciona el borde lateral del ventrículo derecho (A, guía de color lila nº 1), examinándose la aurícula derecha, la válvula tricúspide y el ventrículo derecho (C) y se abre el tracto de salida del ventrículo y la arteria pulmonar (A; guía de color amarillo nº 2, D). Seguidamente se abre la aurícula izquierda entre las venas pulmonares derechas e izquierdas (E, las guías de color rojo y negro indican la entrada de las venas pulmonares) y posteriormente el VI lateralmente mediante corte Longitudinal (A, guía de color rojo nº 3). Se examinan la aurícula izquierda, la válvula mitral y el ventrículo izquierdo (F). Tras ello se abre el tracto de salida del VI mediante incisión oblicua en la pared anterior próxima al tabique (A, guía de color negro nº 4) y se inspecciona la válvula aórtica, los senos de Valsalva y la aorta ascendente) (G).

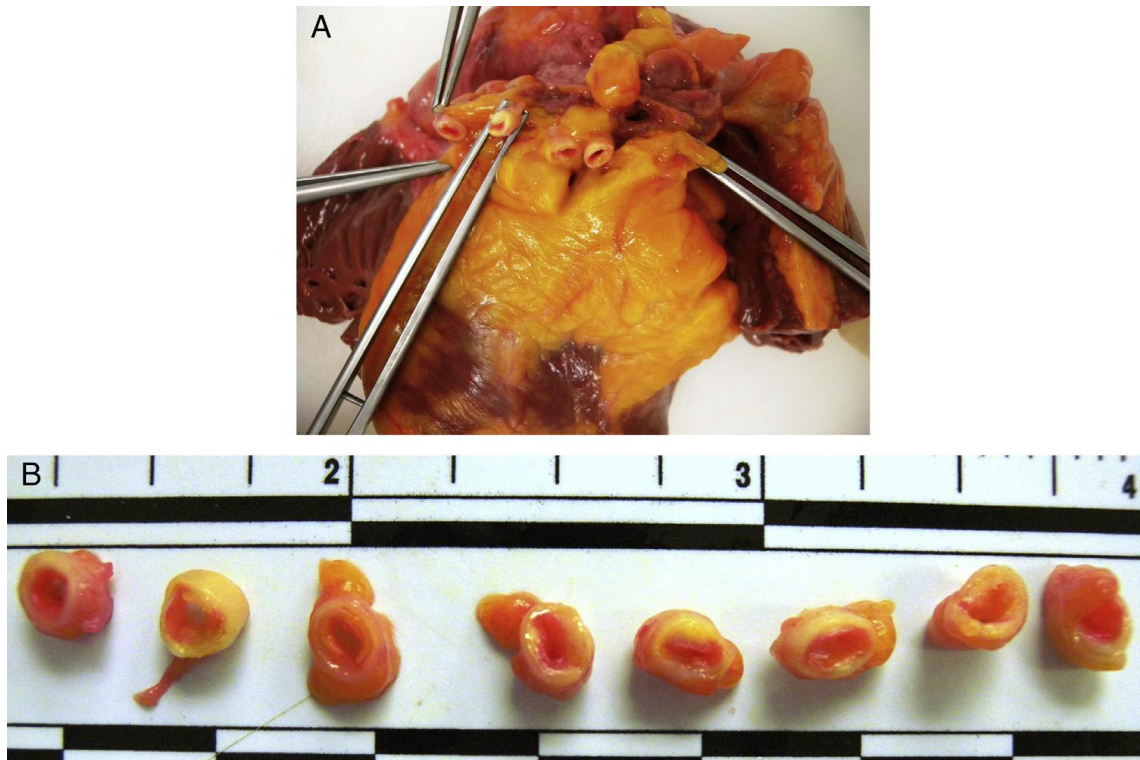


Figura 23. Método de estudio de las coronarias. Cortes transversales seriados de la coronaria derecha en el corazón en fresco (A, los segmentos han sido girados para mostrar la luz vascular). Este tipo de estudio se efectúa mejor con la base del corazón fijada en formol. Secciones transversales de la misma coronaria en la que se valora el grado de estenosis y el tipo de lesión (B).

2.3. Estudios histopatológicos

Las muestras que se tomen del corazón para el estudio microscópico dependerán de los antecedentes clínicos y los hallazgos macroscópicos. En determinadas enfermedades es necesario ampliar este muestreo. Si hay sospecha de miocardiopatía arritmogénica se debe añadir ventrículo derecho lateral y su tracto de salida; y si hay sospecha de miocardiopatía hipertrófica 3 secciones del tabique interventricular de base, tercio medio y punta. En MS sin hallazgos macroscópicos hay que analizar varios bloques del tercio apical en sentido transversal y el sistema de conducción. En caso de enfermedad aórtica (disección, aneurisma, aortitis, etc.) incluir un corte en sentido longitudinal y un corte transversal de la zona patológica y la zona sana. En los casos de muerte no cardíaca el número de bloques a estudiar es menor, siendo suficiente un corte de pared anterior y posterior de cada ventrículo, otro del tabique interventricular, y las zonas con patología macroscópica tanto del miocardio como de las coronarias.

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se creó una base de datos específica para el estudio. Se empleó el programa estadístico SPSS (versión 15.0) para el análisis de resultados. Las variables continuas se representan como media y desviación estándar. Las variables cualitativas se presentaron en forma de tabla incluyendo las frecuencias relativas y absolutas.

Las condiciones de aplicación de los análisis estadísticos se verificaron previamente a los mismos. La normalidad se contrastó mediante el test de *Kolmogorov-Smirnoff* y la homocedasticidad mediante la prueba de *Levene*. En caso de incumplimiento de alguna de las condiciones se procedió al análisis mediante pruebas no paramétricas

Se empleó el test no paramétrico *U de Mann-Whitney* para comparar las variables cuantitativas. El test de *Chi-cuadrado de Pearson* (X^2) para variables cualitativas y el test exacto de *Fisher* para variables cualitativas con cuentas esperadas < 5 entre los grupos.

En todos los estudios, las diferencias fueron consideradas significativas cuando el valor de p asociado a la prueba estadística de contraste era menor de 0,05.

4. PROGRAMACIÓN DEL ESTUDIO MOLECULAR

En los casos en los que existió una sospecha o diagnóstico de miocardiopatía se procedió a la secuenciación automatizada por electroforesis capilar, de los genes con mayor prevalencia mutacional relacionados con: miocardiopatía hipertrófica (*MYH7*, *MYBPC3*; 60 fragmentos), miocardiopatía dilatada (*LMNA*; 11 fragmentos), miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (*PKP2*, *DSP2*, *DSG2*; 52 fragmentos) y Dilatada/espongiforme (*MYH7*, *MYBPC3*, *LMNA*, *Cypher/ZASP*; 83 fragmentos). En los casos de "necropsia blanca" o cuando el diagnóstico no era definitivo se procedió al estudio de alteraciones en la secuencia de los genes *RyR2*, *KCNH2*, *KCNQ1* y *SCN5A*, en los casos índice con diagnóstico previo o sospecha de canalopatía se incluyó el test genético según **Tabla 9**.

Aquellas muestras en las que el *screening* molecular, fue negativo un juego de alícuotas con ADN fue remitido a un laboratorio externo especializado (*Health in Code*, La Coruña), en el que se estudiaron otros genes relacionados con cada patología mediante secuenciación convencional (*Sanger*) ó a través de la realización de un panel de genes más amplio mediante secuenciación de nueva generación ó *NGS* (*Illumina Hi-seq2000*[®]), con el fin de completar y ampliar la necropsia molecular de estos pacientes.

Miocardiopatías	Genes estudiados
MCH	MYBPC3, MYH7
HIV1	MYBPC3, MYH7
MAVD	PKP2, DSP, DSG2
MCD	LMNA
Dilatada/Espangiforme	MYBPC3, MYH7, LMNA, Cypher/ZASP
Canalopatías	Genes estudiados
SQTL	SCN5A, KCNQ1, KCNH2
SB	SCN5A
SQTC	KCNQ1, KCNH2

Tabla 9. Resumen de los genes estudiados por secuenciación directa para cada una miocardiopatías y/o canalopatías.

Existen otras cardiopatías, como la TVPC ó miocardiopatía no clasificable, no recogidas en la tabla anterior para las cuales el análisis de los genes más prevalentes, fue realizado directamente en laboratorios externos especializados; *RyR2* y *CASQ2* para TVPC y *NGS* con múltiples genes asociados a miocardiopatías cuando estas eran no clasificables.

5. EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO

Se extrajo el ADN (ácido desoxirribonucleico) genómico de todos los casos índices mediante el sistema automático de Promega (*Maxwell 16 Blood DNA Purification Kit*. (Figura 24) a partir de 400µL de sangre periférica, extraída en tubo con anticoagulante EDTA. La técnica se basa en la actuación de unas partículas paramagnéticas que funcionan como una fase sólida móvil que optimiza la captación, lavado y elución de la muestra.

Para realizar la extracción de ADN se centrifugan los tubos 5´a 3500 rpm y se extrae la capa de leucocitos (capa blanca) para conseguir mayor concentración y pureza del material génico extraído. Las muestras de ADN se llevan a una concentración de 20 ng/mL y el resto se congela a -20°C incluyéndose en la ADNteca de LDG.

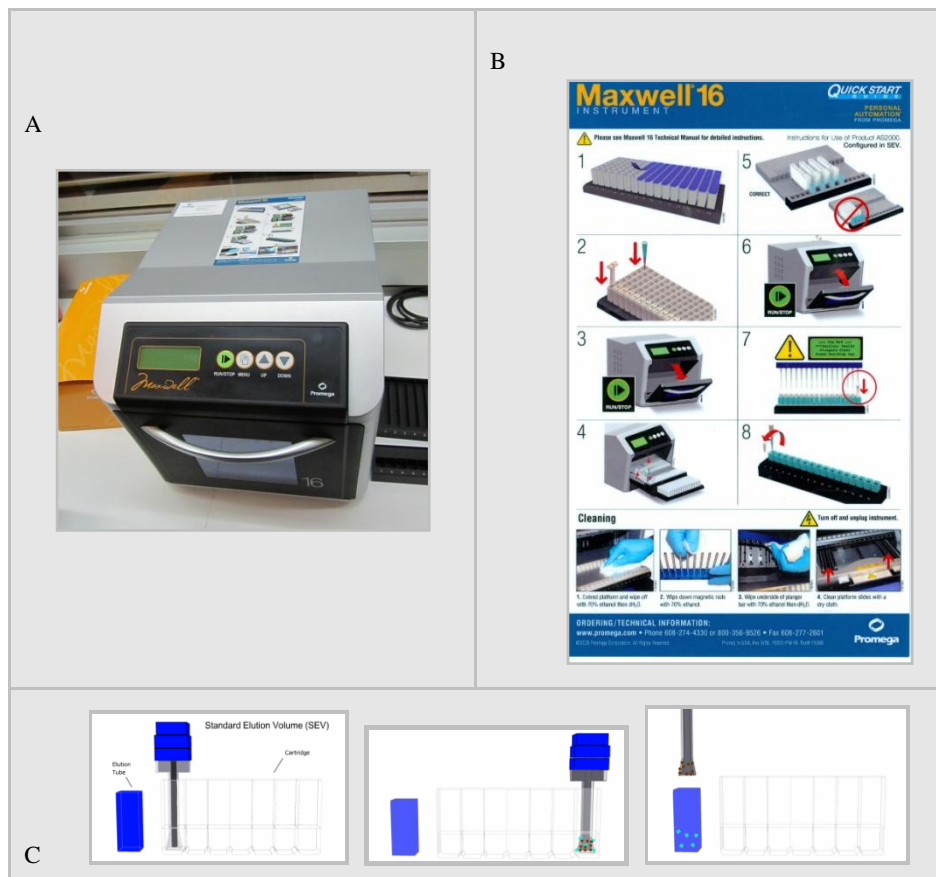


Figura 24: A. Maxwell 16 System. B. Guía de utilización del Maxwell 16. C. Esquema detalle de la extracción de ADN.

Se midió la concentración y pureza del ADN mediante espectrofotetría utilizando el equipo de *Thermo Scientific*, *Nanodrop 1000* (**Figura 25**). Las medidas se realizan a una absorbancia (A) de 260 nm, a la que absorben los ácidos nucleicos, para la concentración y la obtenida de la relación entre A260/A280 nm para determinar la calidad del ADN extraído, considerándose un ratio entre 1,9 como aceptable.

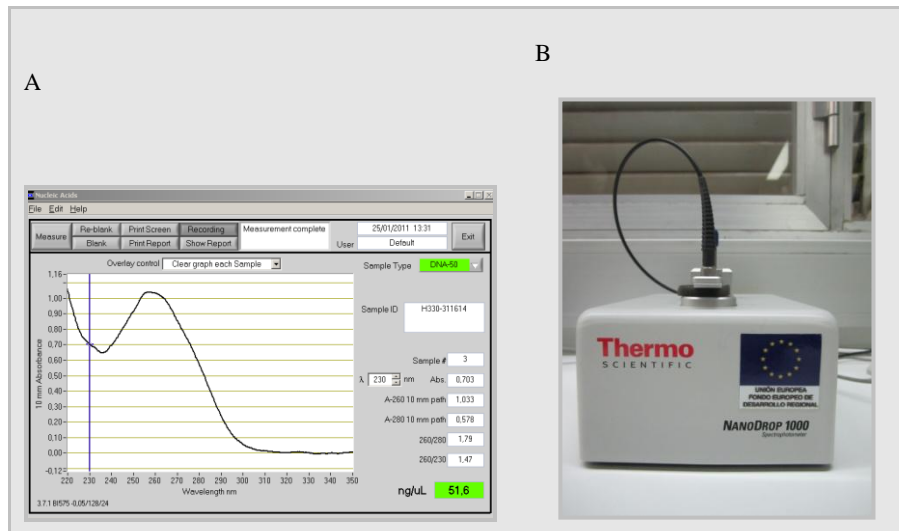


Figura 25. A. Curva de absorbancia de una muestra de ADN. B. Nanodrop1000 (Termo).

6. AMPLIFICACIÓN Y PURIFICACIÓN DE ADN GENÓMICO

Se amplificó cada uno de los exónes de los genes que muestran un mayor rendimiento genético según la patología estudiada, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los cebadores empleados se obtuvieron de bases de datos y de la bibliografía correspondiente (los cebadores utilizados para las amplificaciones y la temperatura de anillamiento (T^a) vienen detallados en las **Tablas 10-20**.

GENES SARCOMÉRICOS

MYBPC3		
EXÓN	(T^a)	PRIMERS
3	62	F-5'-GTGCACGCTCCAACCAGG-3' R-5'-CAGCCAAACTCAGGGAAGG-3
4	62	F-5'-TTTCCTCATCCACAGCGGG-3' R-5'-GCTTTTGAGACCTGCCCTGG-3
5	62	F-5'-GATTGTGCCTCTGCACTCCAG-3' R-5'-CTGCAAAGGCAGGGCGA-3
6	64	F-5'-CCAGCATTGGGGTGGGA-3' R-5'-CGGTGGACCCACCTTGCT-3
7	65	F-5'-AGGGTGCGGAGCCTTGCT-3' R-5'-AGACCAGGACCCATGGGGA-3
8	62	F-5'-GCTTCTCAAACGGCCCCCTG-3' R-5'-AGTCCGCCCGCAAATCATCC-3
9	60	F-5'-TCAGGGCTGGGGATGATTTG-3' R-5'-TCTCAGACCCCTGGGGTCT-3
10	62	F-5'-CTTCCAGTCCCTCACTGCAG-3' R-5'-AGCCCTTAACTCCTCCACACT-3
11	60	F-5'-TGCGCCAACTGACTTA-3' R-5'-CCCATGGGCTTTACTT-3

Tabla 10 (continuación)

12	62	F-5'-GTGCCGAAAATAGGGAGGAAGT-3' R-5'-CCCAGGCCAGGCAGGACT-3
13	66	F-5'-AGGAAGCCCCGCCAGGG-3' R-5'-TCTCCTGTGTAGGGAAGGGCT-3
14	62	F-5'-GGCGGCACAGAGGGGATT-3' R-5'-CAGGAGGCAAGGCTATGGGG-3
15	62	F-5'-ATCCGGCTGACCGTGGAACT-3' R-5'-CAGTGCGCCCCGTGATAATC-3
16	66	F-5'-ATGGGGCGCACTGGGCCC-3' R-5'-TGGCTCCCCTGAGGCCATCT-3
17	62	F-5'-GATGTGGGAACCTGGGGAGG-3' R-5'-GGGTGGCAAGTGTGTGGC-3
18	62	F-5'-AGAGGCCACAGCACTTGCCA-3' R-5'-CCTACAGGGCTAGGTGGGGTG-3
19	66	F-5'-CACGCCACACCACACACCTC-3' R-5'-CCATCTCAGTCTCCACCTGTC-3'
20	65	F-5'-AGAATACCAACAAGCCAGGACAAG-3' R-5'-ACTGCCCGACCCACCCTA-3
21	62	F-5'-TGCCTTTGCCCCGTGCTACTTG-3' R-5'-GCCCCAGGACCCCACTTTTGAT-3
22	65	F-5'-TGGCTCTCCCGTTTCTCTGAA-3' R-5'-GGCTGGTCCACACACCCA-3
23	64	F-5'-GCTCCTCTGCTCCCTACTTCC-3' R-5'-ATGGCCATCAGTACACTTAC-3
24	65	F-5'-GGTCTGACTTGGATCTCACCCC-3' R-5'-GCTGCCCTCTGTGTTCTCC-3
25	62	F-5'-CGGTTAGTTGGAGTGGGAA-3' R-5'-CCAGGCATCCCCACAGCAC-3
26	60	F-5'-TCCGAGGGAAGGTGGTGTG-3' R-5'-CTGCTATTATTGGAGGTTTTTAA-3
27	62	F-5'-GGGCATGGATCTCCAGCTTC-3' R-5'-TGTTCTTCTTTGGGGAGG-3
28	62	F-5'-GGAGTGGGGTGTGAGTGGTG-3' R-5'-ACTGGACACCAAGGGCCTG-3
29	62	F-5'-CTGTGGAGCCCCTCAGAGCTG-3' R-5'-CCTACTGGATGGGAACAACACAC-3
30	65	F-5'-GCGGCCGGCCCTTGGAGT-3' R-5'-CAGCAGCCAGCCAGGGA-3
31	62	F-5'-AGCCAGTGACCCCTGCT-3' R-5'-TGGGTCTGCCGGCCTA-3
32	62	F-5'-AGGAGAGGCTCTCGGCATCAG-3' R-5'-CCTCCCTGCCCCAGCCCCT-3
33	64	F-5'-TGTGGGAACAGGGAGAGGGG-3' R-5'-TCGGGGCCTGTGAGCCCT-3
34	63	F-5'-CCTGCCAGGTCCCCTCTCA-3' R-5'-CCTACTGCCGCCGCTCTT-3
35	62	F-5'-TACAGCCTCCCATTTACTGAT-3' R-5'-TACAGCCTCCCATTTACTGAT-3

Tabla 10. Cebadores utilizados para las amplificaciones de *MYBPC3*. Tª de hibridación recomendada (Tª). Secuencia de referencia del NCBI (NC_000011.9).

MYH7		
EXÓN	(Tªa)	PRIMERS
3	62	F5'-TCTTGACTCTTGAGCATGGTGCTA-3' R5'-CCAGGTGTACAGGTGGCAGG-3'
4	66	F5'-ACCTCTTGAGGAAGGAGGGAA-3' R5'-AACAGAGATCCCAACGTAGGGCCA-3'
5	60	F5'-CCTTCTCTTCTTCTCTCCTGGG-3' R5'-GCACAGGATGCTCTCGTGG-3'
6	60	F5'-AAGGGAAGTGGGATAGGCCG-3' R5'-AGAGGCTGAGTCTATGCCTCGG-3'
7	60	F5'-AGGCCAGGCATTCTCTCC-3' R5'-TGCCCTGCAGAGGCCAA-3'
8+9	65	F5'-CTCTCACCTGCCTCCTTCTGG-3' R5'-GCTGAGCCTAGCAGATTCATGG-3'
10	58	F5'-CCTTTGCTTGCTACATTTATCAT-3' R5'-GCCACAAGCAGAGGGGACCAG-3'
11	62	F5'-TCCTCAGGCATGTGCTGTGG-3' R5'-ACCCCTGTTGCCCTCAC-3'
12	62	F5'-CACAGGGATTAAGGAGACAAGTTT-3' R5'-TTACAGCTGCCCAAGAATC-3'
13	68	F5'-CAGGCATGAACCACACAATG-3' R5'-TCTCATCCCACCATGCCAGT-3'
13	63	F5'-AGTCATCTCTTACCACTTTGCTA-3' R5'-ATTATCATCTGAAGATGGACCA-3'
14	62	F5'-TCACTCTTCCCAACAACCCTG-3' R5'-AGAAATAGCTGTTGAATGTGGG-3'
15	62	F5'-GCACAGCCCAATGGCCA-3' R5'-ATGTGTTCTTGTGGTGTGCG-3'
16	65	F5'-GCAGAAATCCATGTCCACCTGTGTGA-3' R5'-AATTGACCTGGCTCAGAACCTTG-3'
17	60	F5'-GGCTGTGATTCTTACTCACACCCT-3' R5'-AATGCACAAGGAGACAGGGAA-3'
18	62	F5'-CTCCTCTCTTCTTCTGCATCTCT-3' R5'-GAATTGTGGTTGGAAACCACTG-3'
19	62	F5'-CAGAAACCCAGAATTCAGTCCAGT-3' R5'-CCCATCCCATCAGGGCA-3'
20	58	F5'-TGACCCTGGAATTCATGGGC-3' R5'-AGCATCAGAGGAGTCAATGGAA-3'
21	58	F5'-AATCCCACATCTCTTCTCGTA-3' R5'-TGACACTGCCCTGAACCA-3'
22	62	F5'-GGTTTCAGGACCTCAGGTAGGAA-3' R5'-TCTGTGGGAAGTGAAGGCAGA-3'
23	60	F5'- CAAGAATGAGGACCTTACCCC-3' R5'- CGGGTCTCATCAGGACTCTCAG-3'
24	63	F5'-GCACCAAGCTGGTGACCTTTGA-3' R5'-CTGGGCACAGATAGACATGGCATA-3'
25	58	F5'-GAACAACAAAATCACCAAGTCA-3' R5'-TGGGTCTGCTTGTACTGTTATG-3'
26	64	F5'-ATTACCATTTTCAACTGGTGGGA-3' R5'-TAGAGGAGGGGGCAGGGGAA-3'
27	62	F5'-GTGGGTCTGAGCCTTGTGTCT-3' R5'-AAGTTGGAGGAGGGAGGCC-3'
28	60	F5'-TGCACCTTTACACCCCTTATT-3' R5'-AGACTGTGGTGGGAACCATGGA-3'
29	62	F5'-CAGGAAAATGGGGCCTGAG-3' R5'-GGAAGGGAAGTGATTTGATGCA-3'
30	64	F5'-TGGGGTTGCTTTATGGAGAAA-3' R5'-CCTCAGCCAGAAGTCAAGGCT-3'

Tabla 11 (continuación)

31	65	F5'-CACACCCTCCATCCTCCCC-3' R5'-TTGCCCTGCATGCTGGC-3'
32	65	F5'-GGACATGGGGCTGAGGCT-3' R5'-CAGCTCCCTGCACCCCG-3'
33	64	F5'-CTGGGCAAAGAGGCGTGTC-3' R5'-CAGCTCCCTGCACCCCG-3'
34	62	F5'-TGTCTGCCTGCATCCCCT-3' R5'-GCCACGTGGAGGCCAGT-3'
35	62	F5'-CTGGCTCCCTGCTCATGC-3' R5'-AGCCTTGCTTGCTGAGCCC-3'
36	63	F5'-GCTATGCATAGATGCTCAATGCT-3' R5'-GTCCTCACACACTTGCTGCC-3'
37	62	F5'-TTGACCAGACCATGTGCCAC-3' R5'-TCTGCCTGGAGTCACCGC-3'
38	60	F5'-AATTGGGTCAAGATATCAGATGAAG-3' R5'-GGAGGTGGGAGCATGAGGTG-3'
39	60	F5'-TCGTCCCAAGCCAGGAGT-3' R5'-TGCTCTGTCTGGGTATGCCTG-3'
40	62	F5'-TGCCCAATACCATCTCTCCAA-3' R5'-AGGCCTCCTAGGCCAGGC-3'

Tabla 11. Cebadores utilizados para las ampliaciones MYH7. Tª de hibridación recomendada (Tª). Secuencia de referencia secuencia de referencia del NCBI (NC_000014.8).

GENES DESMOSÓMICOS

PKP2		
EXÓN	(Tªa)	PRIMERS
1	55	F-5'-GTCCAGAGGCAGGCGAGCAG-3' R-5'-GCGGGATAGGAGGAGGTG-3'
2	55	F-5'-GTTCTTGGCCTTCATTAC-3' R-5'-CACTAGGGTTACATTCTTTG-3'
3.1	55	F-5'-GGGTAATAGTCCCAGAGTAATT-3' R-5'-AAACGGTGTGCTAACAG-3'
4	55	F-5'-GGCTGAATCTGTGCCTGTT-3' R-5'-CCAAAGTGTGGGAATAT-3'
5	55	F-5'-ACAGATACTGCCTTATAGCC-3' R-5'-CCATCAATCATTTGCTCC-3'
6	55	F-5'-AAGTCTGCCACATTTGCT-3' R-5'-TCTCCTGCCTCAGTCTCC-3'
7	55	F-5'-AGTCATAGCCCTGGAGTT-3' R-5'-AAGAACCAAGGCAGAAT-3'
8	55	F-5'-CCAAACACCTGGAAGAAG-3' R-5'-TGGGATTACAGGCGTGAG-3'
9	55	F-5'-TTTTCTAGCCATACTCATTG-3' R-5'-CTCCCTTTCTCATTCTTT-3'
10	55	F-5'-ATTTCTGGTCTCCTGGTT-3' R-5'-TCTTCCCTCACTGTTCA-3'
11	55	F-5'-GTGGAGTTGTGGTGAGC-3' R-5'-CATCTTTGTGAACGGGAG-3'
12	55	F-5'-CTGGGCAACAGAGCAAGA-3' R-5'-GACCGCACATTCACAACC-3'
13	58	F-5'-AGTTGAGGAGCGAAGAGGTC-3' R-5'-TTTCTTCCAGGGTCAAGTC-3'

Tabla 12. Cebadores utilizados para las ampliaciones PKP2, Tª de hibridación recomendada (Tª). Secuencia de referencia de NCBI (NC_000012.1).

DSP		
EXÓN	(T ^º a)	PRIMERS
1	65	F-5'-GGTAGCGAGCAGCGACCTC-3' R-5'-AAAACCTTTCCACCTTCGGG-3'
2	62	F-5'-AGGGTCTCACAGGAGTGGTT-3' R-5'-TCTGTTCTGAAAAAGCGTGTCT-3'
3	62	F-5'-TGGTTCATGAATCTCCGTCTGT-3' R-5'-GGGAACATTTGTGCTGCCTT-3'
4	55	F-5'-TTAAGTCCTGGGGTAAAGAAAA-3' R-5'-GGAGGAAAATCCTGCAAACAG-3'
5	62	F-5'-GCATTAGCCATTTGGGAACC-3' R-5'-TTCCCATTTAAGAAGTGGGATT-3'
6	62	F-5'-GGGATCTGAGGCCAGTATCTGA-3' R-5'-ATCGATGAACAGGTGCCTCC-3'
7	62	F-5'-TGGTCAGTGAATGCACAAGG-3' R-5'-AGACCAATCATTCCCCGAGA-3'
8	62	F-5'-AACAGCGTGATTTTGGCA-3' R-5'-CCAACCCTGGGTAGGGTA-3'
9	62	F-5'-AGCTTTCATGCAGGCTCACC-3' R-5'-GCACTCAAATCAATGAAGAGG-3'
10	65	F-5'-ATAGTTTCCCGCTGCCACAT-3' R-5'-AAATGCTTGCTGGCTCTGG-3'
11	62	F-5'-TGCCGACGAATTTGTGATTT-3' R-5'-TTGTTCCATAGCTGCTGATTTCC-3'
12	62	F-5'-TCAGCTTCATTTGAGGGGAAA-3' R-5'-GGCAAGGCATCGTGTGTCTA-3'
13	65	F-5'-GGTTTTTGTGCAGTGGTGTGA-3' R-5'-AGGAGGGCTGAGCTGACTTG-3'
14	58	F-5'-CCCCTCTAGTGGGTGGCATT-3' R-5'-CCAGTTTTATGCAAACCTCCCTT-3'
15	50	F-5'-GAAATTCAAAGGAAGAAGG-3' R-5'-TACAGGGTAACCAGGCAAA-3'
16	50	F-5'-GTATTAACAGCATATTGTAC-3' R-5'-AAGAAGCTTGAGAAAAGGA-3'
17	50	F-5'-GCTTTGACGTTGTTCCCTT-3' R-5'-ACTGAAACCAATAATCCT-3'
18	50	F-5'-GCATACAATGGGAGAAGGG-3' R-5'-TGAACAACAAAAGGGGAG-3'
19	62	F-5'-TCAAGTGAATTTCTGGGTGA-3' R-5'-AAGCCTCACAAAATGGGT-3'
20	62	F-5'-TGCTCATCTCCTAAGCTGTAAC-3' R-5'-CGCTTTACAACAAATCAGCA-3'
21	62	F-5'-TAGACGTGCAGCCCAATGAT-3' R-5'-AAGACAGGCAGGAGACAGGG-3'
22	62	F-5'-TAGGGGAAACAGCCTGGAGA-3' R-5'-CAGCGTATTGGAGCATGGAA-3'
23.1	62	F-5'-GAATGCACATTGGTCTGGGA-3' R-5'-CACATTGCCTTCTTCTGC-3'
23.2	62	F-5'-TACCAGGCAGAGTGTCCCA-3' R-5'-CTCCTTGATGGTGGTCTTCG-3'
23.3	62	F-5'-AGGCACCCGGAAGAGAGAAT-3' R-5'-GCCTCCTCTGAAACTCAGC-3'
23.4	62	F-5'-ACTGAAGCAGGTCATGCAGC-3' R-5'-CCAGCTGCTGTTTCTCTGA-3'
23.5	62	F-5'-TCACCCGAGAAAAACAGGAGC-3' R-5'-AACCGCTGATATCCTGGTC-3'
23.6	62	F-5'-GCAAACAGTAGTGCAGCGGA-3' R-5'-TGCTCATCTCAAGTGAGCTT-3'

Tabla 13 (continuación)

23.7	65	F-5'-CGGAACCTGAGGCTGGAGTA-3' R-5'-AAAGAACAGCAGGGCACACA-3'
23.8	62	F-5'-GAGCAGGCATCCATTGTTA-3' R-5'-CTGTCCGCTTCGCTTCGTC-3'
24.1	62	F-5'-CAAGCTCACAGTGTATCCAGGG-3' R-5'-TGCTTGGAGTCTTTTCGATCTCA-3'
24.2	62	F-5'-GGAAGACTCAATATCCCGCA-3' R-5'-AAGCAGATGCTCCAGCGATA-3'
24.3	62	F-5'-GAAGGTGACAGCAATGCAGC-3' R-5'-CTGAAGCAATCTGGGCTTCC-3'
24.4	62	F-5'-TTGATGATCCATTTTCAGGCA-3' R-5'-CAGCTTGAACCCTGGAGGAA-3'
24.5	65	F-5'-CCTTCCAAGGAATCAGACAACC-3' R-5'-CGAATACCGTGGCCCTTTT-3'
24.6	62	F-5'-CAGAACGAGCTGTCACTGGG-3' R-5'-TGCTCACACAGTCTTTGAAGG-3'
24.7	65	F-5'-CCTCAGGAAGCGTAGAGTGG-3' R-5'-GTCAAAGATGGCTGCAATGG-3'
24.8	62	F-5'-TTAGCAGCTCCCGACATGAA-3' R-5'-TTCGGTGCTTATCCTCCCAT-3'
24.9	62	F-5'-CATAGGCTTCGAGGGTGTGA-3' R-5'-GTGGCGTCAAAGCTTCTCT-3'
24.10	65	F-5'-GGATGCCATAAATCGCTCCA-3' R-5'-GACGCACTGCATCCAAGTGA-3'

Tabla 13. Cebadores utilizados para las amplificaciones DSP, Tª de hibridación recomendada (Tªa). Secuencia de referencia de NCBI NC_000006.11.

DSG2		
EXÓN	(Tªa)	PRIMERS
1	62	F-5'-CCAGGGAGGAGCCGAGTG-3' R-5'-GATTTTCCGAAGCCCCAGGT-3'
2	62	F-5'-AGATTTCTCCTCGGGCACT-3' R-5'-TGCACTGAATACCCCTGGAT-3'
3	60	F-5'-GCCTCATAGGAAATACGAAGCA-3' R-5'-CCGGAATGGGAAAGAGAATC-3'
4	62	F-5'-GGCTTTTGGCTAAGATCAAATC-3' R-5'-GCATCCAAAGCGTAACTGT-3'
5	60	F-5'-TTCTTGATCGAGAAGAAACACCA-3' R-5'-AAGCAATGGCATGTAAAGTCC-3'
6	62	F-5'-CCCATTACGCTTATGCCT-3' R-5'-TGGACAGCACATCCCTAAAA-3'
7-8	64	F-5'-TCTACAACCTCCCGAGGCTTTTCT-3' R-5'-TTTTAAGTGTTTCAGGGCTCAAA-3'
9.1	64	F-5'-TGCTGCTATATTTCTGTGCAT-3' R-5'-TCCAATTATTTGGCCTTTC-3'
9.2	63	F-5'-CCTACACCCATTCCCATCAA-3' R-5'-GGTGAAAATCCCCCTCATC-3'
10	64	F-5'-GAGAGGGGCTTTTAGGATGG-3' R-5'-TCAATGGTTTCTGATGTTGGAA-3'
11	60	F-5'-TTAGTACCTTCTCCACTCCAAA-3' R-5'-GGTTCAGGACCTCATTTTCAT-3'
12	60	F-5'-GCAATGAAAGAACATTTGTGGA-3' R-5'-GCACTCAGATTCCTCAAAAAGC-3'
13	62	F-5'-GACAAGTCCAGGAAGGGACAT-3' R-5'-CACTCCCTAGGCCCTTTA-3'
14.1	60	F-5'-CTGGCCTCAGTGGAAATAGC-3' R-5'-GCAGGCTTCTGTGTTCTTCC-3'

Tabla 14 (continuación)

14.2	60	F-5'-TCATTCTGCCAGTGGATCA-3' R-5'-TCTTCGTTCACTGCAACAGC-3'
14.3	62	F-5'-GATGGAAGGTGGGAAGAACA-3' R-5'-CCCCACCACCAATACATAA-3'
14.4	62	F-5'-TGACCACTGAAACCACGAAG-3' R-5'-GGGTCCCATTCTCTTTCCT-3'
15.1	64	F-5'-TTTCCCTGATGGTTCCTTGT-3' R-5'-GCGGTCATCTAGCTCTCCTT-3'
15.2	62	F-5'-CGGCCTTTACTACTGAGGAA-3' R-5'-ACTGGGAAGCTACTGCCAGA-3'
15.3	60	F-5'-TCGCTGAATGCTTCTATTGG-3' R-5'-CTAGAAGCCATTGGGTCAGG-3'
15.4	62	F-5'-TCTGGCAGTAGCTTCCCAGT-3' R-5'-GCTGGAGCATAACCCTCTC-3'
15.5	62	F-5'-CACCTTCTCTGACCCAATG-3' R-5'-GAAGATGCTGAGTGCCTCC-3'
15.6	62	F-5'-CCTTGGTAGATCAGCCTTATGC-3' R-5'-TGCTATGCTTGGTAACTCTGGTGG-3'
15.7	62	F-5'-ACGGTGTCTGGAGCTGGA-3' R-5'-GGAAGCAGAGACAGTGTGGTC-3'
15.8	62	F-5'-GCCACAACTGACCCAGAGT-3' R-5'-AAAAGGCACCTAAGCAGCAG-3'

Tabla 14. Cebadores utilizados para las amplificaciones *DSG2*, T^a de hibridación recomendada (T^a). Secuencia de referencia de NCBI NC_000018.9.

GENES DE COMPONENTES DE ESTRUCTURAS NUCLEARES

LMNA		
EXÓN	(T^a)	PRIMERS
1.1	58	F-5'-GCGTCGGTGACTCAGTGTT-3' F-5'-GCGCTTTCAGCTCCTTAAAC-3'
1.2	58	F-5'-GCAGGAGAAGGAGGACCTG-3' F-5'-AGGGAGGAGACTATGGCAA-3'
2	58	F-5'-AAATCTACTCTCCCCTCTTCTTT-3' F-5'-AAGAGTGAGTGACATGTGTTAGGTG-3'
3	58	F-5'-TGTTCTGTGACCCCTTTTCC-3' F-5'-AGCCCAAGTCTGTCATCACC-3'
4	58	F-5'-TCTGTGTCCTTCTCCAACC-3' F-5'-GTGAGGGAACCAATCGAGAG-3'
5	56	F-5'-CTATGCCTTCTGGGGATCAG-3' F-5'-GGGACACTTTTCATCCCTCTC-3'
6	58	F-5'-GTCCTCCTTCCCATACTT-3' F-5'-CCAAGTGGGGTCTAGTCAA-3'
7	58	F-5'-GGCAACTGGCCTTGACTAGA-3' F-5'-ATCCCCTTAGACCCTGAGCA-3'
8	58	F-5'-GGGCCTTTGAGCAAGATACA-3' F-5'-TCTGGAGAGGAGAAAAGGACA-3'
9	58	F-5'-GCTGGGGTAAGTGTCTTTTC-3' F-5'-GAATTGGCAAACCTGGGTTG-3'
10	58	F-5'-CCATCACCACAGAGGACAGA-3' F-5'-CAGCCAGCGAGTAAAGTTC-3'
11	58	F-5'-AGTGGTCAGTCCCAGACTCG-3' F-5'-CAGGATTTGGAGACAAAGCAG-3'

Tabla 15. Cebadores utilizados para las amplificaciones *LMNA*. T^a de hibridación recomendada (T^a). Secuencia de referencia de NCBI NC_0000011.1.

GENES DEL DISCO Z

Cypher/Zasp		
EXÓN	(Tªa)	PRIMERS
1	61,5	F-5'-GTGCCCTCTCACTCAACCCT-3' R-5'-ACACATGCCCTCCTCCAAGC-3
2	59,4	F-5'-TGGCCTTTCTCAGGACCAC-3' R-5'-TCCTGCACAGTTTTGTAGCC-3
3	59,4	F-5'-TGACTCTGGCTCTCTTGCT-3' R-5'-TCCAGGAACCAGGGCTGAGT-3
4	61,5	F-5'-GGCTCGCGCTAACACATCTG-3' R-5'-GCCACCTGTGGAGAGCTGTA-3
5	59,4	F-5'-CACTCCTTGCTCTCCTACC-3' R-5'-CTCTATCCAGCCAGACACA-3
6	61	F-5'-TGTAACCGCCACCTGTTGCC-3' R-5'-TCCAGGAGGTCCAACGTGAG-3
7	61,5	F-5'-CCACCAATGGGCATGGAGCA -3' R-5'- AGCAGGACTCCCTGGCTTCT -3
8	59,4	F-5'-TTGCTGTGTCTCCCGTGAAGT-3' R-5'-GAGTCCCTTCCATGAGTGA-3
9	59,4	F-5'-GGTGAACACATTCCCTAACCC-3' R-5'-CCCAGCAGAGTTATACATTG-3
10	59,4	F-5'-GCTCCCTTGACCTGTTGTCT-3' R-5'-GCCCTAACTACCTGGACAC-3
11	59,4	F-5'-GGCTGTCCTTCTGGGTGTAA-3' R-5'-TCTTGGCTCTGTGGCTCCT-3
12A	59,4	F-5'-CATTCTCTGGCTAGGAGTG-3' R-5'-CTGGGAGAAGCTATCATCTG-3
12B	61,5	F-5'-TGCACCCTCGGTGGCCTACA-3' R-5'-CTCCAACCAGGGCTCAGAC-3
13	59,4	F-5'-GTTCTGGGAGCTGCCTTACT-3' R-5'-GGAAGAGACATGGGTCAGAG-3
14	59,4	F-5'-AGTCAAGCCGCTCCCTCTC-3' R-5'-CACATGCCATCGAAGTGTTTC-3
15	59,4	F-5'-TGATTTGGGGTTTGTCTTGG-3' R-5'-CTAGCGTGGCAAGGTATGTA-3
16	59,4	F-5'-GTCTCACGCAGGTCTGTTCT-3' R-5'-GCTTCTCTCTCCCCATT-3

Tabla 16. Cebadores utilizados para las amplificaciones **Cypher/Zas**, Tª de hibridación recomendada (Tªa). Secuencia de referencia de NCBI NC_000010.9.

CANALES IÓNICOS

SCN5A		
EXÓN	(Tªa)	PRIMERS
2	65	F 5'-GGTCTGCCACCCTGCTCTCT-3' R 5'-CCTCTTCCCCCTGCTCCATT-3'
3	61	F 5'-AGTCCAAGGGCTCTGAGCCAA-3' R 5'-GGTACTCAGCAGGTATTAAGTCAA-3'
4	65	F 5'-GGTAGCACTGGCCTGGCAGTGAT-3' R 5'-CCTGGACACAAGCCCCCTTC-3'
5	59	F 5'-TCAGGCCTCCCTAAGAAACC-3' R 5'-GGCATAGCACAGCATAGCAA-3'
6	60	F 5'-CCTTTCCTCCTCTGACTGTGTG-3' R 5'-GGTATTCTGGTGACAGGCACATTC-3'
7	60	F 5'-CGTGCTTGTCTTGCCTTC-3' R 5'-CCAGCTGCAGAGCAAGTTCG-3'
8	59	F 5'-AGGGGCAGAGAAGAAGGAAG-3' R 5'-CAGTTGAGAAAACACCAGGAGA-3'
9	65	F 5'-GGGAGACAAGTCCAGCCCAGCAA-3' R 5'-AGCCACACTTGCTGTCCCTTG-3'
10	59	F 5'-GAACCCCTGGCACAAGTACA-3' R 5'-CCACAGGCACCAGCTTTAAC-3'
11	60	F 5'-TGATAGGGAAAACCAAGTCACTG-3' R 5'-TGCTAGGCCCTGTACAGTC-3'
12	60	F 5'-CACATGTCATGGTCGTGCC-3' R 5'-GGTCTGGTCTCCCAAAGTGA-3'
13	60	F 5'-AGGTCCAGCAGGACAGGAG-3' R 5'-TCTTTATCCAGCCTGACCC-3'
14	61	F 5'-GGAAGGTATTCCAGTTACATATGA-3' R 5'-GCAGCTGGCACAGCCTTCATGGGT-3'
15	61	F 5'-CTTCCATCCCAAACAATTCCT-3' R 5'-ACTGCATGGGGGATGGTGGGG-3'
16	61	F 5'-GTCCCCTCCTCTCCTCCTT-3' R 5'-ATCTACCCAGTACCCACCC-3'
17	65	F 5'-GGGACTGGATGGCTTGGCATGGT-3' R 5'-CATGTATAAGGCACCTACATATACAG-3'
18	58	F 5'-CATGGGCAGGGTCTGAAAC-3' R 5'-CTGGCTTCAGGGACAAAGG-3'
19	65	F 5'-GAGGCCAAAGGCTGCTACTCAG-3' R 5'-CCTGTCCCCTCTGGGTGGAAGT-3'
20	63	F 5'-ACAGGCCCTGAGGTGGGCCTGA-3' R 5'-TGAACCTGACTTCCAGCTGGAGA-3'
21	65	F 5'-TCCAGGCTTCATGTCCACCTGTCT-3' R 5'-TCTCCCGCACCGCAATGGGT-3'
22	65	F 5'-AGTGGGGAGCTGTTCCCATCCT-3' R 5'-GGACCGCCTTCCCACTCC-3'
23	60	F 5'-GGTCTTGAAAAGGGCATGTG-3' R 5'-CCATTGGAGGAAGGAAGTC-3'
24	61	F 5'-CTCAAGCGAGGTACAGAATTAATGA-3' R 5'-ATCAGTGTCTGCATCTGAAAGCCC-3'
25	61	F 5'-GCCTGTCTGATCTCCCTGTG-3' R 5'-CAACAGGGAAGGTGAGATGG-3'
26	65	F 5'-CCATGCTGGGGCCTCTGAGAAC-3' R 5'-CACATGGCCAGCCATCAGAGCC-3'
27	61	F 5'-CCCTGCTGAGCACTTCCATTTG-3' R 5'-TACAAGTCAGCTGGACGGAGAAGC-3'
28.1	61	F 5'-ACCAGTAGCCACAGTCTCTGTTG-3' R 5'-CCAACAGCATGCTGTGCCTTTC-3'

Tabla 17 (continuación)

28.2	65	F 5'-AAGTGGGAGGCTGGCATCGAC-3' R 5'-GCGTGGCCACGGAGGAGAGCAC-3'
28.3	65	F 5'-GAGCCCAGCCGTGGGCATCCT-3' R 5'-CTGCCATGGTGAGTGGGGAC-3'
28.4	61	F 5'-CCAACCAGATAAGCCTCATCAACA-3' R 5'-TCCTCTCCGTGAGCAGGCGG-3'
28.5	60	F 5'-TGCTGCAACGCTCTTTGAAGCAT-3' R 5'-AGGACACACTGAAAAGCAGCCTTT-3'

Tabla 17. Cebadores utilizados para las amplificaciones *SCN5A*. Tª de hibridación recomendada (Tª). Secuencia de referencia de NCBI NC_000003.11.

KCNQ1		
EXÓN	(Tªa)	PRIMERS
1A	58	F 5'-CTCGCTTCGCTGCAGCTC-3' R 5'-GCGCGGGTCTAGGCTCACC-3'
1B	63	F 5'-CGCCGCGCCCCAGTTGC-3' R 5'-CAGAGCTCCCCACACCAG-3'
2	63	F 5'-ATGGGCAGAGGCCGTGATGCTGAC-3' R 5'-ATCCAGCCATGCCCTCAGATGC-3'
3	60	F 5'-GTTCAAACAGGTTGCAGGGTCTGA-3' R 5'-CTTCTGGTCTGAAAACCTGG-3'
4	63	F 5'-CTCTTCCCTGGGGCCCTGGC-3' R 5'-TGGCGGGGGAGCTTGTGGCACAG-3'
5	63	F 5'-TCAGCCCCACACCATCTCCTTC-3' R 5'-CTGGGCCCCGCACCCCTAACCC-3'
6	63	F 5'-TCCTGGAGCCCGACACTGTGTGT-3' R 5'-TGTCTGCCACTCCTCAGCCT-3'
7	63	F 5'-TGGCTGACCACTGTCCCTCT-3' R 5'-CCCCAGGACCCAGCTGTCAA-3'
8	63	F 5'-GCTGGCAGTGGCCTGTGTGGA-3' R 5'-AACAGTGACAAAATGACAGTGAC-3'
9	56	F 5'-TGGCTCAGCAGGTGACAGC-3' R 5'-GACACAGGCTGTACCAAGCCAA-3'
10	56	F 5'-GCCTGGCAGACGATGTCCA-3' R 5'-CAACTGCCTGAGGGGTTCT-3'
11	56	F 5'-CTGTCCCCACATTTCTCCT-3' R 5'-TGAGCTCCAGTCCCCTCCAG-3'
12	56	F 5'-TGGCCACTCACAATCTCCT-3' R 5'-GCCTTGACACCCTCCACTA-3'
13	56	F 5'-CACTGCCTGCATTTGAGCC-3' R 5'-GTGAGGAGAAGGGGGTGGTT-3'
14	56	F 5'-CCAGGGCCAGGTGTGAAGT-3' R 5'-TGGGCCAGAGTAACTGACA-3'
15	56	F 5'-GGCCCTGATTTGGGTGTTTA-3' R 5'-GCAGGAGCTTACGTTTACA-3'
16	56	F 5'-CACCACTGACTCTCTCGTCT-3' R 5'-CCATCCCCAGCCCCATC-3'

Tabla 18. Cebadores utilizados para las amplificaciones *KCNQ1*, Tª de hibridación recomendada (Tª). Secuencia de referencia de NCBI NC_000011.9.

KCNH2		
EXÓN	(Tªa)	PRIMERS
1	57	R 5'-CCGTCCCCTCGCAAAGC-3'
2	65	F 5'-GGTCCCGCTCACGCGCACTCT-3' R 5'-TTGACCCCGCCCTGGTCGT-3'
3	60	F 5'-TGCCCACTGAGTGGGTGC-3' R 5'-TGACCTTGACAGCTCACAG-3'
4A	68	F 5'-CTCCGGGGCTGCTCGCGAT-3' R 5'-CACCAGCGCACGCCGCTCCT-3'
4B	68	F 5'-CCCTGGACGAAGTGACAGCCAT-3' R 5'-GGCTGGGGCGGAACGGGTCC-3'
5	60	F 5'-GCCTGACCACGCTGCCTCT-3' R 5'-CCTCCAAGGTGAGAGGAGA-3'
6A	60	F 5'-CAGAGATGTCATCGCTCCTG-3' R 5'-CAGGCGTAGCCACACTCGGTAG-3'
6B	60	F 5'-TTCTGCTGAAGGAGACGGAAG-3' R 5'-TACACCACCTGCCTCCTTGCTGA-3'
7A	63	F 5'-TGCCCATCAACGGAATGTGC-3' R 5'-CAGCCAGCCGATGCGTGAGTCCA-3'
7B	63	F 5'-TAGCCTGCATCTGGTACGC-3' R 5'-GCCCGCCCTGGGCACACTCA-3'
8	65	F 5'-CTGTGGGTGGGTGGGTCC-3' R 5'-CTTCCAGCCTGCCACCCACT-3'
9	60	F 5'-CCAAGGGAGGGTGTGCTGAG-3' R 5'-GGCATTTCAGTCCAGTGC-3'
10	61	F 5'-AGAAGGTGCCTGCTGCCTG-3' R 5'-TCCAGCTCAGGGCAGCCAA-3'
11	57	F 5'-AAGGGCCCTGATACTGATTTT-3' R 5'-TTCCAGCTCCAGCCTCA-3'
12A	61	F 5'-CCCCTCTCTGAGGCCATT-3' R 5'-CTTCTCGCAGTCTCCATCA-3'
12B	63	F 5'-TGAGAGCAGTGAGGATGA-3' R 5'-TAGACGCACCACCGCTGCC-3'
13	63	F 5'-CTACCCAGCTCTGCTCTG-3' R 5'-CGCCAGGACCTGGACCAGACT-3'
14	60	F 5'-GTGGAGGCTGCACTGGTGT-3' R 5'-GAGGAAGCAGGGCTGGAGCTT-3'
15	63	F 5'-TGCCATGCTCTGTGTATTG-3' R 5'-CGGCCAGCAGCCTTGATC-3'

Tabla 19. Cebadores utilizados para las ampliaciones **KCNH2**, Tª de hibridación recomendada (Tªa). Secuencia de referencia de NCBI NC_000007.13.

Se utilizaron cebadores de diferentes genes (**Tabla 20**) para comprobar por *Sanger* (electroforesis capilar) las variantes encontradas en otros genes de aquellos casos índices en cuyo estudio genético por *NGS* en laboratorios externos, se habían identificado variantes: patogénicas, probablemente patogénicas o de significado incierto, así como para realizar el estudio genético de los familiares.

Gen	Exón	Tªa	PRIMERS
<i>TNNT2</i>	16	65	F-5'-CTACTACCTGCCTGTGTCTCC-3' R-5'-TGGTGTGGAGTGGGTGTG-3'
<i>TNNI3</i>	5	55	F-5'-TATCCTGAAGCCCCGGGTGG-3' R-5'-ATTCCGGGACTAGAAACCTCGCA-3'
<i>DSG2</i>	15.1	64	F-5'-TTTCCCTGATGGTTCCTTGT-3' R-5'-GCGGTCATCTAGCTCTCCTT-3'
	15.2	62	F-5'-CGGCCTCTTACACTGAGGAA-3' R-5'-ACTGGGAAGCTACTGCCAGA-3'
	15.3	60	F-5'-TCGCTGAATGCTTCTATTGG-3' R-5'-CTAGAAGCCATTGGGTCAGG-3'
	15.4	62	F-5'-TCTGGCAGTAGCTTCCAGT-3' R-5'-GCTGGAGCATACACCCTCTC-3'
	15.5	62	F-5'-CACCTTTCCTGACCCAATG-3' R-5'-GAAGATGCTGAGTGCCTTCC-3'
	15.6	62	F-5'-CCTTGGTAGATCAGCCTTATGC-3' R-5'-TGCTATGCTGGTAACTCTGGTGG-3'
	15.7	62	F-5'-ACGGTGTCTGGAGCTGGA-3' R-5'-GGAAGCAGAGACAGTGTGGTC-3'
	15.8	62	F-5'-GCCACAACTGACCCAGAGT-3' R-5'-AAAAGGCACCTAAGCAGCAG-3'
<i>PKG/JUP</i>	2	58	F 5'-CATGGTGATGATGTGGGAAG-3' R 5'-CCCTCCCTACTGATGGTTCA -3'
<i>GJA1</i>	2A	60	F-5'-GTGATCCTTGAATTGTCTTTTGT -3' R-5'-ACCATGCTCTTTCAATACCGTACT -3'
<i>KCNE2</i>	2	60	F-5'-GCACAGCTCCTCAAATCCAG-3' R-5'-TGACCCATCTTGACCAGTACC -3'
<i>CACNA2D1</i>	26	55	F-5'- TTGCAAAGTCTTGTGGCTAA-3' R-5'-CCACACTCAAGCAATCATTTTG-3'
<i>RyR2</i>	100	58	F-5'-CGGCTGTGTTCTCACTAGAGC-3' R-5'- GACTGCTGCAGAAGCAGGAGACA-3'
	13	59	F-5'- GGCCATTATTTTCAGGGGACT-3' R-5'-GCCAATTATTTTGACTTGTGC -3'

Tabla 20. Cebadores utilizados para las amplificaciones de *TNNT2*, *TNNI3*, *DSG2*, *JUP*, *GJA1*, *KCNE2*, *CACNA2D1*, *RyR2*, *KCNQ1*. Tª de hibridación anillamiento (Tªa). Secuencias de referencia del NCBI NC_000001.9, NC_000019.9, NC_000018.9, NC_000017.10, NC_000006.11, NC_000021.8, NC_000007.13 NC_000001.10 respectivamente.

Se utilizaron los modelos de termociclador: 2720 *Thermal Cycler de Applied Biosystems*, *GeneAmp PCR System 9700* y modelo *Veriti* de la misma casa. Se escogió el kit de Promega *Go Taq Hot Start polymerase*. La enzima de Promega necesita un tiempo de activación menor que otras de las que están disponibles en el mercado, además reduce la formación de productos inespecíficos y la formación de dímeros de cebadores.

Las reacciones de amplificación se realizaron en un volumen final de 25µL, (Tabla 21). Primeramente se realiza una fase de reactivación de la polimerasa a 94°C durante 2', seguido de un programa de 35-40 ciclos que incluye tres temperaturas: 94°C 1' (desnaturalización de hebra molde), 55°C-68°C (Tª anillamiento varía en función del

cebador) 45'', 72°C 1' (tiempo de extensión); por último una fase de extensión final 72°C 10' y 4°C indefinidamente.

PCR	V (μL)	[Final]
H ₂ O	10,88	-
Buffer (5X)	5,0	1x
Cl ₂ Mg (25mM)	2,0	2mM
dNTP's (2mM)	2,5	0,2mM
Primer F + R (10mM)	1+1	0,4 μM
Taq (0,5 U/μL)	0,125	0,625U
DNA (20ng/μL)	2,5	50ng
Vol. total	25 μL.	

Tabla 21. Reacción en cadena de la polimerasa.

Se verificó la correcta amplificación de los fragmentos mediante la técnica de electroforesis en un gel de agarosa al 2% con tampón TBE 1X (Tris 89mM –ácido bórico 89 mM–EDTA (2mM) a pH8, 4. Bio-Rad (161-0770) utilizando para el revelado *GelRed* (0,1 μL *GelRed*/1μL gel) (*GelRed Nucleic Acid Gel Satín*, 10000X in Water. Catalog number: 41003. Biotium), una solución de tinción fluorescente de ácido nucleico. Se carga aproximadamente 3μL de producto amplificado junto con 1μL de tampón de carga (0,25% (W/V) azul de bromofenol, 0,25% (W/V) cianol xileno, 30% (V/V) de glicerol en agua). El tamaño de las muestras se compararán con un marcador de tamaño de peso molecular (*pGEM DNA Markers*. Promega). Se utilizaron para el revelado el trasiluminador Alpha Innotech y la cámara *PowerShot A640 AiAF* de Canon.

A continuación se purificaron los amplicones mediante un método enzimático, con el kit *Exosap-It* (usb. Affimetrix. **Figura 26**). Este kit incluye dos enzimas, la exonucleasa I, que elimina las cadenas simples de ADN residuales que se puedan formar en la PCR o restos de cebadores y una fosfatasa alcalina que elimina los restos de dNTP's. Se mezclan 5μL del producto de reacción de PCR con 2μL de *Exosap-It*, se incuba 15' a 37°C y seguidamente 15' a 80°C para su inactivación.

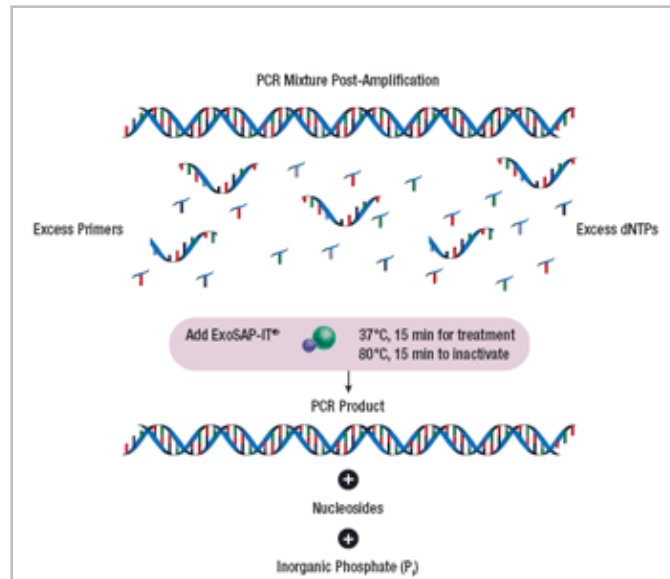


Figura 26. Reacción enzimática para la purificación del producto de PCR.

7. SECUENCIACIÓN AUTOMÁTICA DIRECTA

Se utilizó la secuenciación automática por electroforesis capilar (modelo ABI3130) como técnica para detectar alteraciones en la secuencia de los genes candidatos en cada caso. Se empleó el Kit *BigDye Terminator (BDt) v1.1* de Applied Biosystems, una adaptación de la reacción enzimática dideoxi de Sanger (1977) (**Figura 27**).

Tras la purificación del amplicón y utilizando los mismos cebadores que para la PCR, se realizó la reacción de secuenciación. Para confirmar los posibles cambios en la secuencia se hizo una secuenciación bidireccional.

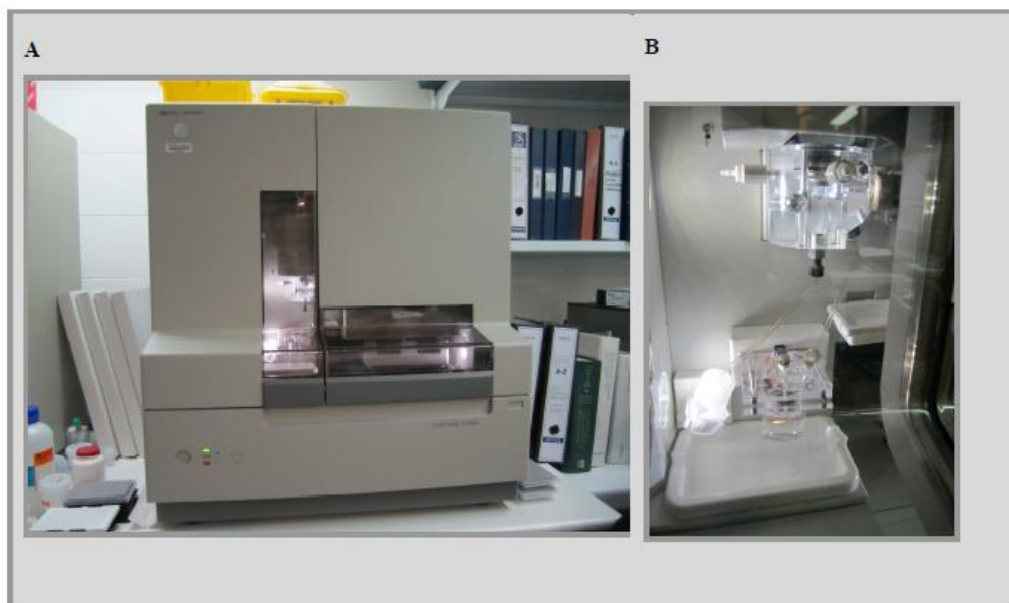


Figura 27. A) Analizador ABI 3130. B) Detalle del circuito del polímero.

El programa del termociclador para la reacción de secuenciación consta de una desnaturalización a 96°C 1', seguido de un programa de 25 ciclos de tres temperaturas, 96°C 10'', 50°C 5'' y 4' a 60°C terminando a 4°C indefinidamente. Se trabajó con un volumen final de 5 µL; 1,75 µL "Buffer enhancer sequencing" (10X), 1,5 µL agua miliQ, 0,25 µL de BDt v1.1, 0,5 µL cebador (*Forward* o *Reverse* 3,2 µM) y por último 1 µL del producto de PCR purificado (**Tabla 22**).

REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN	V (µL)
H2O	1,5
<i>Buffer enhancer sequencing</i>	1,75
<i>Primer F ó R</i> (3,2 mM)	0,5
<i>Big Dye</i>	0,25
Producto PCR	1,0
Vol. total	5 µL.

Tabla 22. Reacción de secuenciación.

Tras la reacción de secuenciación se eliminaron los restos de dNTP's sobrantes y posibles impurezas, mediante purificación en placa de columnas de *Quiagen* [*DyeEx*® (96 pocillos)]. Se centrifugaron las placas a 1000 g durante 1', después se añadió 300 µL de agua desionizada a cada una de las columnas y se volvió a centrifugar a 1000 g durante 3'. Al mismo tiempo se llevó el volumen de reacción de secuenciación hasta 20µL. Una vez descartado el filtrado de las columnas se aplicó el volumen de reacción a

cada uno de los 96 pocillos de la placa y se volvió a centrifugar a 1000 g durante 3', en esta última centrifugación se utilizó una placa de 96 pocillos (*MicroAmp™. Optical 96-Well Reaction Plate. Applied Biosystems*) adaptada para el secuenciador, para recoger el eluido con las muestras ya purificadas. Se añadieron 10 µL de formamida *Hi-Di* (*Applied Biosystems*) a cada pocillo, con el objetivo de desnaturalizar la doble hebra del ADN.

Cuando el número de muestras no era elevado se utilizaron las columnas de centrifugación de *EdgeBio [Performa DTR (Dye Terminator Removal)]. Gel Filtration Cartridges*. Se centrifugan las columnas a 3000 rpm durante 2 minutos. Se retira el agua restante y colocamos la columna en un vial de 1,5ml nuevo. Añadimos a los 5µL de la reacción de secuenciación 10µL de agua miliQ, el volumen final (15µL) lo depositamos en el centro de la columna. Volvemos a centrifugar a 3000 rpm durante 2 minutos. Se añaden 10 µL de Formamida *Hi-Di* (*Applied Biosystems*), seguidamente se traspasan las muestras purificadas a una placa de 96 pocillos (*MicroAmp™. Optical 96-Well Reaction Plate. Applied Biosystems*).

Ambos Kits se basan en la descripción de *Sambrook y col.* (1989) de filtración de ADN en gel para separar fragmentos de más de 16 pares de bases (pb) de restos de dideoxinucleótidos marcados, dNTP's y otras sales o compuestos de bajo peso molecular (elimina hasta el 98% de sales presentes).

Las secuencias fueron analizadas por electroforesis capilar a través del equipo ABI3130, utilizando cuatro capilares de 50 cm y polímero POP7 (*Applied Biosystems*). Las condiciones electroforéticas fueron las siguientes: tiempo de carrera 45 minutos, temperatura de 60°C y el tipo de análisis fue *Sequencing Analysis*.

Los análisis de las secuencias se realizaron con los soportes informáticos suministrados por la casa *Applied Biosystems: Foundation Data Collection v. 3.0, Sequencing Analysis v. 5.2 y Seqscape v. 2.5*.

8. “NEXT GENERATION SEQUENCING” (NGS). *Illumina Hi-Seq2000*[®]

Para las muestras procesadas mediante NGS se utilizó la plataforma de ultrasecuenciación *Illumina Hi-Seq2000*[®]. De manera general, la base científica del sistema *Hi-Seq2000*[®] es la selección de las regiones de interés del genoma (*targeted resequencing o exome sequencing*) mediante una solución de enriquecimiento (*TruSeq*) que permiten la separación específica de estas regiones del resto del genoma, aumentando la especificidad de la prueba y disminuyendo los costes asociados a su estudio.

La técnica, consta de dos partes; en primer lugar se realiza un fraccionamiento del genoma, seguido de la amplificación de fragmentos de ADN sobre la superficie sólida de una celda de flujo. El siguiente paso consiste en la secuenciación mediante síntesis. Lo característico de este sistema es el empleo de los cuatro nucleótidos (A, C, T, G), marcados con fluorescencia de distintos colores, para la secuenciación de los millones de fragmentos presentes en la superficie de la celda de flujo. Estos nucleótidos modificados contienen terminaciones reversibles, lo que permite que cada ciclo del proceso de secuenciación ocurra en presencia de los cuatro nucleótidos simultáneamente.

9. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LAS VARIANTES ENCONTRADAS

Se realizó una búsqueda exhaustiva de todas las variantes encontradas, para lo cual se utilizaron las siguientes bases de datos, con el objetivo de comprobar si estas habían sido previamente descritas además de conocer su significado patogénico:

- *Human Gene Mutation Database* (HGMD) (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>). Existe información sobre gran cantidad de enfermedades hereditarias. Nos permite conocer citas bibliográficas de cada variante, analiza las propiedades biofísicas de los aminoácidos sustituidos, realiza análisis de conservación (PSI-BLAST) y calcula predicciones de algunos estudios *in silico* (SIFT y MutPred).
- *Leiden Open Variation Database* (LOVD) (<http://www.lovd.nl/3.0/home/>). Se trata de una base de datos pública desarrollada por *Leiden University Medical Center* en Holanda. Tiene información sobre una gran cantidad de genes e importante información sobre citas bibliográficas, además está diseñada para recopilar datos sobre los individuos en los cuales ha sido hallada la variante.
- *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Plataforma pública estadounidense referente mundial en información biomédica y genómica. La cantidad de recursos que el NCBI pone en línea a disposición del público son realmente amplios, tanto en número como en los ámbitos de conocimiento que cubren. tiene gran cantidad de bases de datos según la información y características de la búsqueda. Utilizamos la base de datos dbSNP (repositorio central tanto para sustituciones como

pequeñas eliminaciones e inserciones de bases de nucleótidos únicos) para obtener información sobre el posible efecto fisiopatológico de la variante y de su frecuencia en población europea (a través de la información *de Haplotype Map; HapMap*). dbSNP También almacena variaciones raras y comunes con sus genotipos y frecuencias alélicas, e incluye tanto variantes clínicamente significativas en humanos como polimorfismos benignos. Actualmente cuenta con 53 millones de RefSNP clústers (o códigos rs, que son los códigos únicos de identificación de las variaciones una vez procesadas tras su envío). Originalmente fue creada para dar soporte al descubrimiento de polimorfismos a gran escala, como el del proyecto *HapMap*, pero enseguida fue considerado como repositorio mundial también para otros tipos de variaciones.

- *Ensembl Genome Browser* (<http://www.ensembl.org/index.html>). Otra muestra de los enormes esfuerzos públicos por proveer de recursos genómicos a la comunidad científica es el del proyecto *Ensembl* que, aunque con enfoque particular en el genoma humano, contiene información de otros genomas cordados de muchos organismos modelos como el ratón, la rata o el pez cebra. El proyecto comenzó en 1999 con el fin último de anotar automáticamente el genoma, integrar dicha anotación con otros datos biológicos disponibles, y publicar toda esta información en línea y de manera gratuita, algo que viene haciendo desde el 2000. Actualmente, en su versión *Ensembl Release 68*, disponen de información de 70 especies distintas. La cara más visible del proyecto es su visor genómico y su repositorio de recursos genómicos integrados, cuya densidad varía en función de la especie, siendo las de mayor completitud la de humano, ratón, rata y pez cebra, precisamente los genomas más consultados. Todas las especies disponen de anotaciones genéticas basadas en evidencias, así como de recursos de genómica comparativa, incluyendo alineamientos y relaciones de homología, ortología y paralogía. Todas estas anotaciones se integran con una enorme cantidad de fuentes externas de referencia, lo que convierte a *Ensembl* como un recurso integrador único. Además de todos los datos integrados en *Ensembl* y accesibles vía web, el proyecto también publica sus librerías de programación, lo que permite una interacción flexible y programática con sus datos para ser usados en el análisis genómico, tanto a través de la *Ensembl API* como del *Ensembl BioMart*.

- *NHLBI Exome Sequencing Project (ESP)* (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>).

Esta base de datos fue creada con la importante misión de descubrir nuevos genes y mecanismos, mediante técnicas novedosas, como la ultrasecuenciación (NGS) de las proteínas que codifican regiones del genoma humano, fenotipado de la población, así como de compartir su información y sus hallazgos con la comunidad científica para expandir y enriquecer el diagnóstico, manejo y tratamiento de desórdenes relacionados con corazón, pulmón y sangre.

Todas las variantes de ESP se recogen en *Exome variant Server (EVS)*. Actualmente recopila información de aproximadamente 5400 exomas y además de muchos otros campos, proporciona datos de MAF de población Americana-Europea y Americana-Africana.

Con la información bibliográfica recopilada, las variantes se clasificaron siguiendo el mismo criterio utilizado por el *Laboratory for Molecular Medicine (LMM)* [227] junto a la evaluación integrada de variantes en genes de BRCA desarrollado por *Goldgar DE y col* [228]. El algoritmo descrito en la **Figura 28**, fue utilizado en este estudio como herramienta de ayuda a la clasificación de las variantes detectadas.

- **Variantes patogénicas (VP)**: son aquellas que presentan una clara cosegregación con la enfermedad, están ausentes en controles sanos y/o tienen información contrastada de su patogenicidad en las distintas bases de datos
- **Variantes Probablemente Patogénicas (VPP)**: el requerimiento para clasificar una variante como probablemente patogénica es su ausencia en controles o en una extensa cohorte de pacientes (frecuencia en la población <1%). Las nuevas variantes encontradas son frecuentemente clasificadas como UVs debido a la falta de información sobre la frecuencia de la variante en la población en la población general.
- **Variante Probablemente no Patogénica (VPNP)**: Aquellas variantes que han sido descritas previamente, presentan una frecuencia en la población <1% y que se consideran neutras desde el punto de vista de los métodos de predicción de patogenicidad.
- **Variante benigna o probablemente benigna (VB)**: Son aquellas en las que la frecuencia en la población general es >1% y no presentan ninguna sospecha de patogenicidad.

- **Variantes de efecto clínico desconocido o *unclassified variants* (UVs):** En este grupo se incluyen variantes en las que se desconoce todavía su clasificación por falta de estudios que lo corroboren y, además, que no cumplan los criterios de probabilidad de no patogenicidad propuestos.

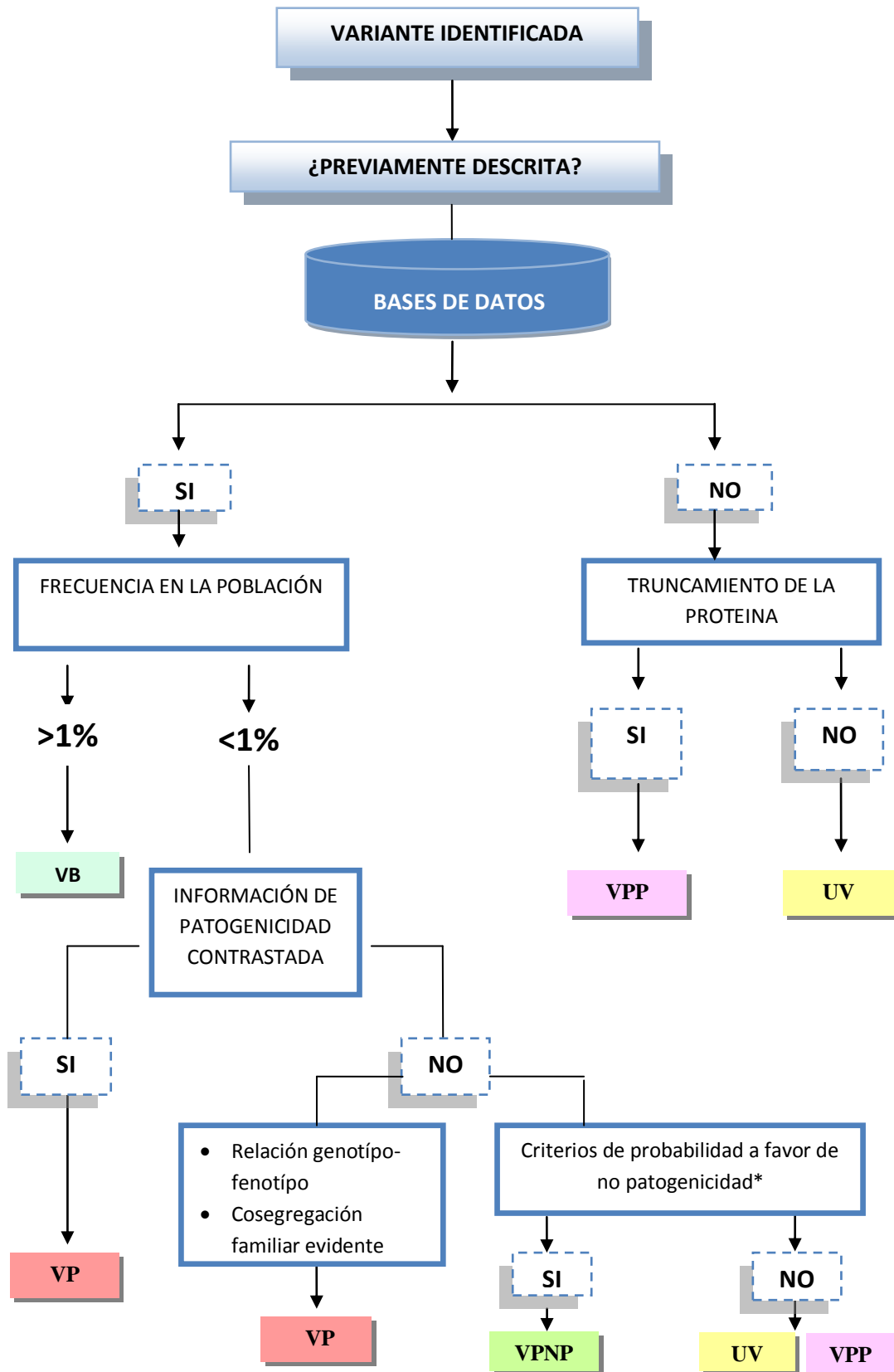


Figura 28: Algoritmo usado para la interpretación de las variantes detectadas en este estudio. Modificado de LMM: Laboratory for Molecular Medicine y LSDBs: Locus Specific Databases, bases de datos. * Criterios propuestos: a) descritas en Deffenbauch (2002), Tavtigian (2005.); b) Punto de corte 1:100 a favor de neutralidad según Goldgar (2004) o Chevenix-Trench (2006).

10. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LAS NUEVAS VARIANTES IDENTIFICADAS: ESTUDIOS *IN SILICO*

A todas las nuevas variantes identificadas, se les aplicaron análisis a través de herramientas bioinformáticas (estudios *in silico*), para poder predecir el efecto de estas variantes sobre la proteína. Se realizaron estudios en las propiedades de los aminoácidos sustituidos (*Grantham matrix score*), de análisis del grado y conservación de los aa sustituidos (*ClustalW* y/o *Align-GVGD*), de predicción del efecto patógeno de las variantes *missense* (*SIFT*, *Pmut*, *Polyphen-2*), de predicción de forma teórica del efecto de las variantes en el *splicing* (*SpliceSiteFinder* (SSF), *MaxEntScan* (MES) y *NNSPLICE*) y de estudios conjuntos de los factores anteriores (*Mutation Taster*) (Tabla 23).

10.1. Propiedades de los Aminoácidos sustituidos

Grantham matrix score (GMS).

GMS se trata de una medida compuesta por el grado de sustitución de aminoácidos, teniendo en cuenta la composición de la cadena lateral, la polaridad, y el volumen molecular de los dos aminoácidos [229]. Los tres parámetros se combinan en una fórmula que da el mejor ajuste con las frecuencias relativas con las que los aminoácidos pueden sustituirse mutuamente en diversas proteínas de diferentes especies. Cuanto mayor es la puntuación, mayor es la “distancia” biofísica entre los dos aminoácidos.

Los valores en la matriz Grantham varían sustancialmente, los cambios de aa fueron catalogados como conservados, moderadamente conservados, moderadamente disímiles y fuertemente disímiles, en función de los *scores* de Grantham (1974); 0-50, 51-100, 101-150 o >100 respectivamente.

10.2. Predictores de patogenicidad basados en la conservación filogenética

Generalmente asignan una mayor puntuación a la variante en función de su efecto potencialmente dañino sobre la estructura de la proteína y su función.

- ***Align-Grantham Variation Grantham Deviation (Align-GVGD)***

Se realizó un alineamiento múltiple utilizando la implementación de *Align-GVGD* (<http://agvgd.iarc.fr/>), un algoritmo que combina las características biofísicas de los aa y el alineamiento múltiple para predecir donde se clasifican las sustituciones *missense* de genes de interés en un espectro que va desde **clase C0 (no conservado)**, **C25**, **C35**, **C45**, **C55** ó **C65 (muy conservado)**. *Align-*

GVGD es una extensión de la desviación de Grantham original hacia múltiples alineamientos de secuencias y verdaderas comparaciones múltiples simultáneas. Habría que tener en cuenta, que esta herramienta podría dar resultados más apropiados para las secuencia de alineamiento multiple o *multiple sequences alignment* (MSA) de los genes para los que ha sido optimizado.

Calcula dos variables cuantitativas, que, en conjunto, se relacionan con la severidad de la sustitución *missense*: *Grantham Variation* (GV) y *Grantham Deviation* (GD). GV refleja el grado de variación bioquímica entre los aa en una determinada posición dentro de secuencia de alineamiento multiple o *multiple sequences alignment* (MSA) y GD refleja la distancia bioquímica entre la variante y el aa *Wildtype* en un determinado residuo. El grado de conservación de las variantes, se hará tras el cálculo de estas variables (**Figura 29**).

Para clasificar las variantes, se utilizó el siguiente *cutoff* de GV/GD:

Si **GD=0**: la composición, polaridad y volumen del aa mutante estaría dentro del rango observado en la gama de especies que varían en esa posición proteica y sería considerada como **neutral**.

Además si:

GV ≤ 61,3 y **GD ≤ 3**. Solo hay una pequeña variación de aas, en la posición dada, con residuos que son bioquímicamente similares, por lo que cualquier variación en esta posición está considerada como **deletérea**

GV > 61,3 y **0 < GD ≤ 61,3**. La posición es tolerada más que “conservativa” la sustitución, composición, polaridad y volumen del aa mutante estaría dentro del rango observado en la gama de especies que varían en esa posición proteica y sería considerada como **neutral**.

Si el aa mutante no cumple ninguna de las reglas anteriores, se considerará **inclasificado**.

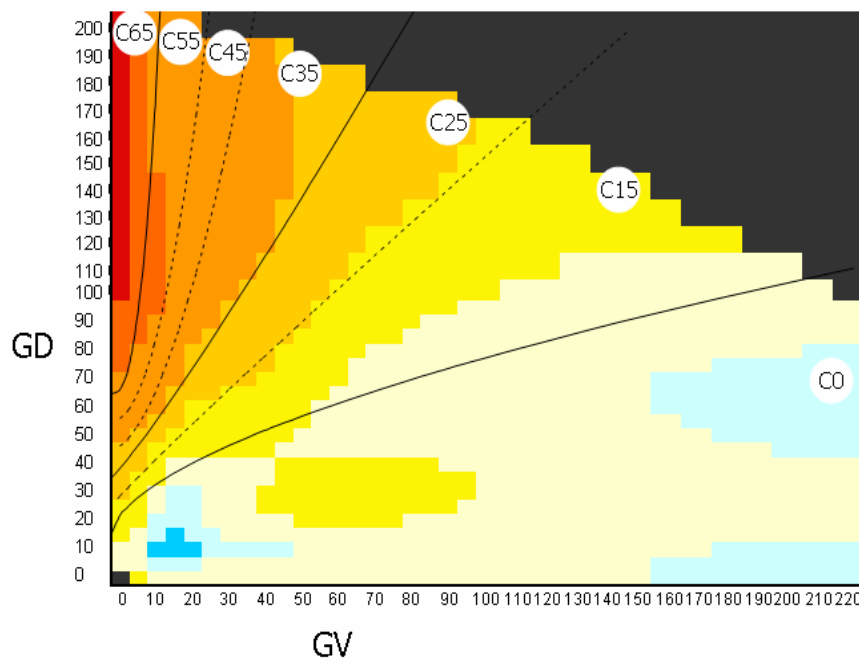


Figura 29. Gráfica de los grados de conservación de Align-GVGD en función de las variables GD y GV.

- **Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT)** (<http://sift.jcvi.org/>). Es una herramienta que clasifica las sustituciones de aminoácidos en una proteína dada y predice si estos cambios provocarán un efecto fenotípico en la misma. *SIFT* se basa en la premisa de que los aminoácidos importantes de una proteína están conservados en la evolución, por lo que cambios en los mismos deben afectar a la funcionalidad de la proteína. Con una secuencia proteica dada, *SIFT* escoge proteínas relacionadas y obtiene un alineamiento múltiple de estas con la proteína a analizar, y basándose en los aminoácidos presentes en cada posición del alineamiento realiza una predicción de las sustituciones que afectarán a la función de la proteína. Las sustituciones en una posición conservada en el alineamiento serán consideradas como “no tolerables” para la mayoría de los cambios, mientras que las posiciones que no están conservadas en el alineamiento tolerarán mejor los cambios de aminoácido [230].

Se introduce la secuencia a analizar en formato FASTA y el programa primero busca secuencias similares a la introducida por nosotros, después escoge secuencias estrechamente relacionadas que puedan tener una función similar a la nuestra, y luego obtiene el alineamiento de las secuencias escogidas. Por último, calcula las probabilidades normalizadas para todas las posibles sustituciones del

alineamiento. Las sustituciones con una puntuación menor de 0,05 serán clasificadas como deletéreas, y las de puntuación mayor o igual a 0,05 serán tolerables o neutrales.

10.3. Predictores de patogenicidad basados en redes neuronales artificiales

Las redes neuronales artificiales NN (*neural network*), se han popularizado en medicina debido a su flexibilidad y dinamismo. Su estructura consta de varias capas y deben someterse a capacitación antes de ser funcionales [231].

- **Pmut** (<http://mmb2.pcb.ub.es:8080/Pmut/>). Permite la predicción del carácter patológico de mutaciones *missense* basándose en las características de la secuencia y en un *software* de una o dos NN, que emplean bases de datos internas, predicción de estructura secundaria y conservación de la secuencia. Proporciona una respuesta afirmativa o negativa y un índice de credibilidad [232]. El programa también permite el rápido escaneo de mutaciones puntuales a lo largo de toda la secuencia (análisis mutacionales *hotspots*), lo cual ayuda a detectar las regiones donde se espera que las mutaciones tengan un gran impacto patológico.

Se introdujo la secuencia proteica a estudiar en formato FASTA y se incluye la localización y el cambio aminoacídico que se produce. Predice un valor mayor de 0,5 como patológico, variando la fiabilidad entre 0 (fiabilidad baja) y 9 (altamente fiable).

10.4. Predictores de patogenicidad basados en clasificadores Bayesianos

Los clasificadores bayesianos calculan la probabilidad de que un caso con un cierto atributo pertenezca a una categoría.

- **Mutation Taster** (<http://www.mutationtaster.org/>). Emplea tres modelos principales de predicción dependiendo del tipo de alteración; *Without_aae*, está diseñado para las variantes sinónimas y no codificantes que no conducen a sustitución de aminoácidos pero podrían tener un efecto en el patrón de empalme de la transcripción, *Simple_aae*, es para variantes *missense*; y *Complex_aae*, para las variantes con efecto más complejo como *frameshifts* o proteínas truncadas [233].

Utiliza un clasificador de *Naïve Bayes*, para predecir el potencial patológico de una alteración, el cual ha sido preparado con datos de variantes recopilados de diferentes fuentes. El conjunto de datos sobre variantes neutrales es una selección de SNPs, basada en las frecuencias poblacionales de *Haplotype*

Map (HapMap), lo que significa que para entrar a formar parte del conjunto de variantes neutrales, debe encontrarse en al menos un 10% de la población. Este filtro hace que las variantes raras que podrían causar enfermedades, queden excluidas.

Por otro lado, también se consideran las pequeñas deleciones o inserciones de dbSNP, cuya selección está basada en las frecuencias genotípicas, puesto que *Hap Map* no las recoge y utiliza como criterio de selección basada en que al menos dos genotipos diferentes deben encontrarse entre la población. Las variantes asociadas a enfermedades han sido recopiladas de *Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)*, *Human Gene Mutation Database (HGMD)* y de la literatura.

Las características que han sido incluidas por el clasificador son: la conservación filogenética del lugar afectado, cambios en el sitio de *splicing*, pérdidas en las características de la proteína, cambios en el RNAm así como en el tamaño de la proteína.

Se introdujo en el programa informático la secuencia en formato FASTA, y a continuación, el cambio a estudiar, *Mutation Taster* clasifica a la variante como polimorfismo o como patogénica, basándose en la probabilidad de patogenicidad. Si la probabilidad está por debajo de 0,05 es clasificada como polimorfismo, si por el contrario está por encima se clasifica como patogénica. Además da un valor (p) que refleja la seguridad de la predicción.

- ***Polymorphism Phenotyping [Polyphen-2 (v2.2r398)]*** (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>). Este programa predice el posible impacto de una sustitución aminoacídica en la estructura y función de una proteína humana. Para ello se basa también en un clasificador de Naïve Bayes, utilizando en este caso dos conjuntos de datos diferentes; *HumVar* o *HumDiv*. La información de *HumVar* procede de 3155 SNPs recogidos en la base de datos SwissProt y asociados a enfermedades mendelianas, y de 6321 SNPs neutrales. Por otro lado *HumDiv* contiene 13032 variantes causantes de enfermedades en humanos también recogidas en la base de datos *SwissProt* y 8946 SNPs de humanos que no han sido asociadas a enfermedades.

La secuencia de la proteína se introduce en el programa en formato FASTA. Se lleva a cabo un alineamiento de la misma con las secuencias pertenecientes a las proteínas homólogas en las especies que se encuentren

descritas en BLAST. El resultado del alineamiento múltiple es empleado por el *software PSIC (Position-Specific Independent Counts)* para calcular la matriz del perfil. Los elementos de la matriz (valores del perfil) son ratios logarítmicos que indican la probabilidad de que en una posición determinada se encuentre un aminoácido, frente a que este aminoácido se localice en cualquier posición (frecuencia de fondo).

El programa analiza los valores absolutos de la diferencia entre los valores de perfil de las dos variantes alélicas en la posición polimórfica. Un valor muy alto de esta diferencia podría indicar que la sustitución estudiada aparece poco o nada en la familia de proteínas. *PolyPhen* también muestra el número de secuencias alineadas en la posición de búsqueda. Este número indica la credibilidad de los cálculos del valor del perfil.

Polyphen-2 clasifica a las variantes en una de estas tres categorías: benigna, posiblemente dañina y probablemente dañina, basándose en la probabilidad de patogenicidad dada por el clasificador de Bayes. La variante es considerada benigna cuando la probabilidad de patogenicidad es $<0,15$. Las variantes serán consideradas posiblemente dañinas cuando la probabilidad de patogenicidad este entre $0,15$ y $0,85$. Por último serán considerada como parablemente dañina cuando la probabilidad de patogenicidad sea $>0,85$. Además el programa da una estimación de falsos positivos y falsos negativos.

10.5. Estudio de variantes intrónicas

Los programas utilizados para identificación de sitios donadores y aceptores de *splicing* y proteínas intervinientes (*Splice site Finder*, *MaxEntScan*, *Splice Site Prediction By Neuronal Network*), usan los conocimientos actuales en cuanto a la composición de secuencias en los sitios de empalme. Pero ejecutan diferentes algoritmos que permiten la identificación de secuencias, que por homología y grado de conservación con otras especies, pueden funcionar como donadores y aceptores de *splicing*, generando una matriz de puntuación en cada caso. Finalmente asignan un valor determinado a la probabilidad de que la posición estudiada esté en un sitio aceptor o donador, ayudando a predecir el efecto patogénico que puede tener la nueva mutación.

- *Splice site Finder (SSF)* (<http://www.umd.be/searchSpliceSite.html>). Este método está basado en la utilización de una puntuación y un esquema de clasificación basado en tablas de peso de nucleótidos (*nucleotide weight tables*) [234].

- **MaxEntScan (MES).**

(http://genes.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq.html).

Este método se basa en el principio de máxima entropía, fue desarrollado por el Instituto Tecnológico de Massachusetts y descrito en [235]. Utiliza grandes conjuntos de datos de los sitios de empalme humanos y tiene en cuenta las dependencias adyacentes y no adyacentes. Estos modelos de sitio de empalme asignan un log odd ratio (MAXENT *score*) a secuencias de 9 pb (sitio de empalme 5'') o de 23 pb (sitio de empalme 3''). Cuanto más alta sea la puntuación, mayor es la probabilidad de que la secuencia sea un sitio de empalme verdadero [235].

- **Splice Site Prediction By Neuronal Network (NNSsplice)**

(http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html).

Utiliza un método basado en redes neuronales que identifica patrones de secuencia, a la vez que realiza pruebas con un conjunto de señales de empalme reales. Cuanto mayor sea el conjunto de señales de empalme real utilizado, las predicciones obtenidas serán mejores [236].

4 Programas	Tipo de variantes analizadas	Método	website
<i>Align-GVGD</i>	<i>missense</i>	GV,GD	(http://agvgd.iarc.fr/)
<i>Pmut</i>	<i>missense</i>	Redes neuronales	(http://mmb2.pcb.ub.es:8080/Pmut/)
<i>SIFT</i>	<i>missense y nonsense</i>	Conservación de proteínas homólogas	(http://sift.jcvi.org/)
<i>Polyphen</i>	<i>missense</i>	Bayesianos	(http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/)
<i>Mutation Taster</i>	<i>missense, nonsense, silentes, deleciones (con y sin desplazamiento del marco de lectura) e intrónicas</i>	Bayesianos	(http://www.mutationtaster.org/)
<i>SSF</i>	Intrónicas y silentes	Tablas de peso de nucleótidos	http://www.umd.be/searchSpliceSite.html
<i>MES</i>	Intrónicas y silentes	Principio de máxima entropía	http://genes.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq.html
<i>NNSsplice</i>	Intrónicas y silentes	Redes neuronales	http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html

Tabla 23. Características de las herramientas bioinformáticas utilizadas en la predicción patógena de las nuevas variantes identificadas.

Resultados

1. CAUSAS DE MUERTE SÚBITA EN NUESTRA POBLACIÓN

De los 82 casos índice incluidos en el presente estudio, 65 pacientes (79,2%) habían sufrido una muerte súbita (MS) mientras que el resto, 17 (20,7%) habían sufrido una parada cardíaca resucitada (**Figura 30**).

De estos 82 probandos, 71 (86,5%), se incluyeron en el estudio molecular por presentar diagnóstico o sospecha de MCP, CP (**Figuras 30 y 31**), clasificándose de la siguiente forma; 22 (30,9%) presentaron MCH, 8 (11,2%) HIVI, 6 (8,4%) MAVD, 1 (1,4%) MCNC, 4 (5,6%) SQTL, 1 (1,4%) SB, 1 (1,4%) TVPC, 4 (5,6%) se consideraron miocardiopatías no clasificables, 1 (1,4%) falleció por una convulsión febril (sin evidencias de enfermedad cardíaca), 1 (1,4%) se clasificó como MS del lactante y los 22 (30,9%) casos índice restantes fueron clasificados como SADS por presentar una autopsia; blanca (3 casos), no concluyente (2 casos) ó incompleta (10 casos) y por último 7 pacientes de estos 21 casos, clasificados como SADS fueron paradas cardíacas resucitadas.

En 11 pacientes (13,4%), del total de los 82 casos índice, la MS se relacionó con enfermedades cardiovasculares, no tratándose estas de MCP ni CP (Chagas, sarcoidosis, disección de la aorta, miocarditis, etc.), de manera que estos casos se excluyeron del estudio molecular (**Figura 30**).

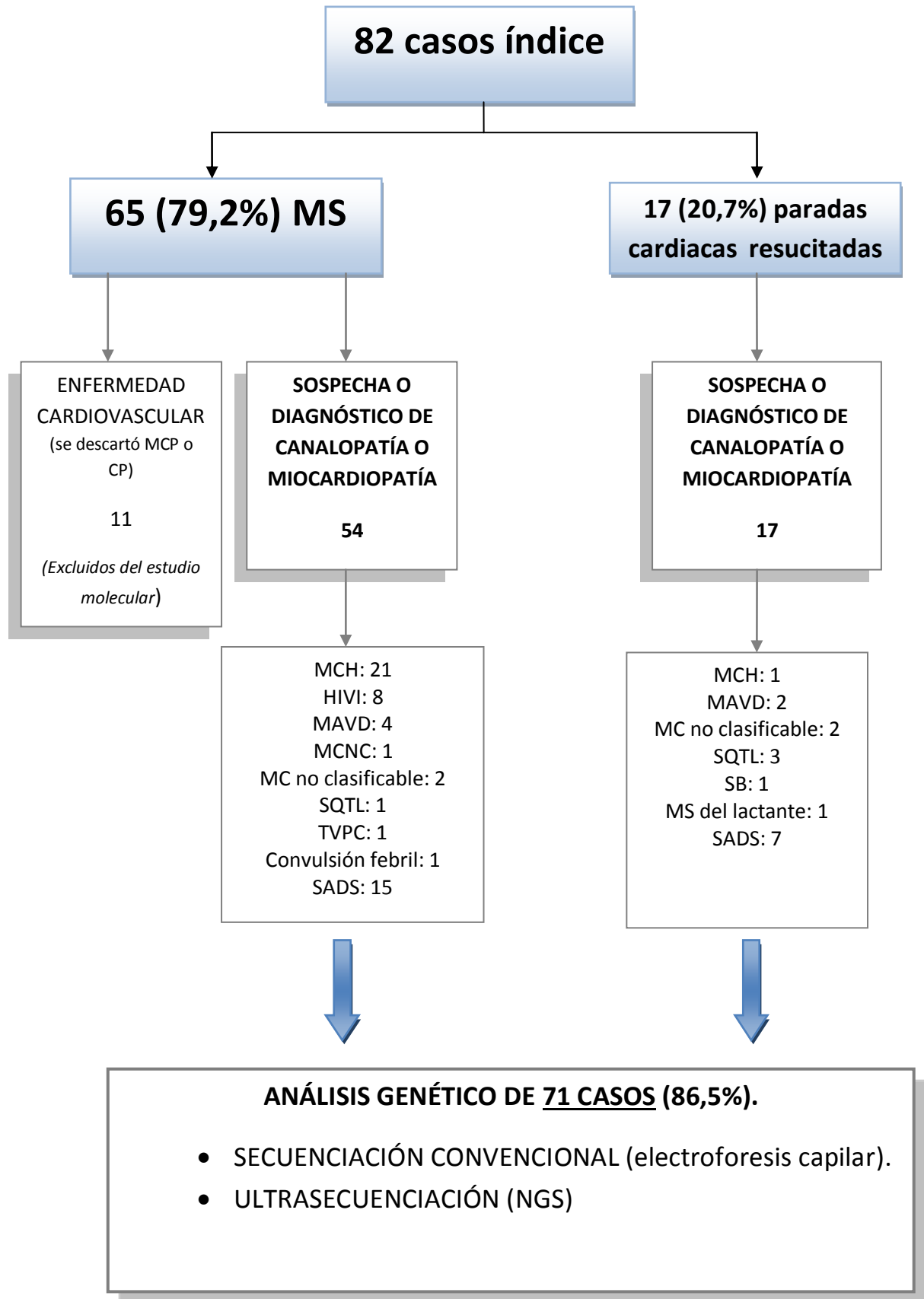


Figura 30: Esquema de la distribución de los casos de MS.

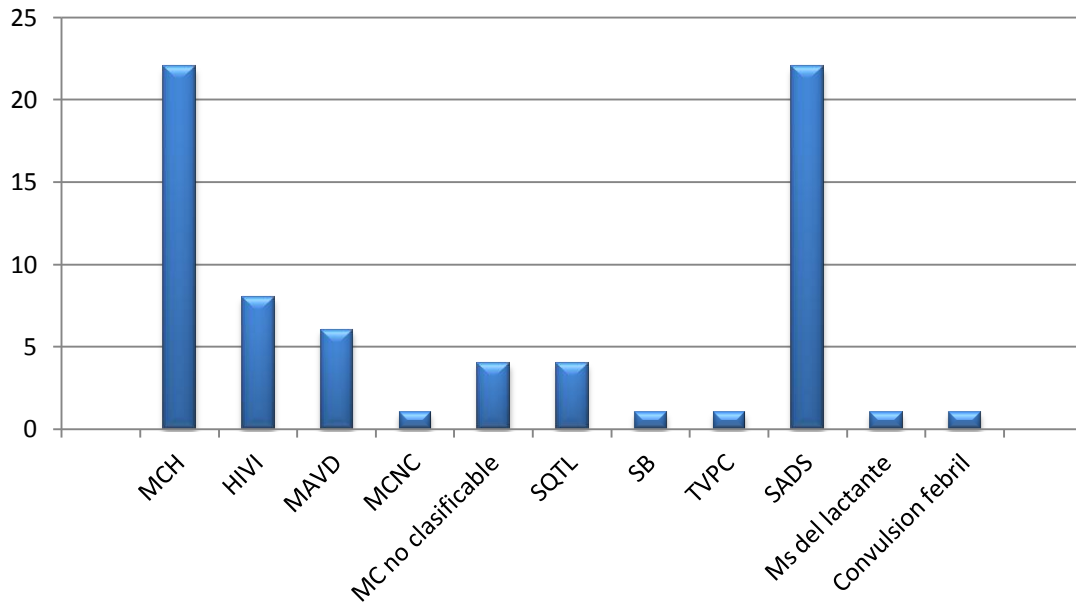


Figura 31. Número de casos incluidos en el estudio molecular, en función de la cardiopatía.

1.1. Características de la población respecto al diagnóstico de MCP ó CP

Hubo un total de 41 (50,0%) casos con diagnóstico de MCP y 6 (7,3%) casos con diagnóstico de CP. Las características de la población están detalladas en la **Tabla 24**. El diagnóstico se consiguió tras una parada cardiaca resucitada en el 83,3 % de los casos de CP frente al 12,1 % del grupo de las MCP ($p=0,001$). Once (23,3%) estaban en tratamiento médico en el momento del fallecimiento.

	MCP	CP	<i>p</i>
Casos	41	6	
Varones	38 (92,6)	3 (50,0)	0,021
Edad (años)	40,1±13,3	38,8±20,8	0,675
Deportistas	7 (17,0)	2 (33,3)	0,344
En tratamiento	10 (24,3)	1 (16,6)	0,676
Diagnóstico tras parada cardiaca resucitada	5 (12,1)	5 (83,3)	0,001

Tabla 24. Características de la MS en relación con el diagnóstico de la cardiopatía. Los datos expresan n: número de casos (%) y media ± desviación estándar.

1.2. Características de la población según el sexo y edad media

El sexo masculino se asoció significativamente a los casos de MS: 67 (81,7%) varones frente a 15 mujeres (18,2%); $p < 0,05$). Las medias de edad de los varones y las mujeres fueron similares $38,3 \pm 16,3$ frente $30,8 \pm 28,3$ respectivamente; ($p = 0,494$). Los casos de MS entre los hombres se produjeron con más frecuencia, aunque de forma no significativa, durante la actividad de la vida cotidiana: 28 (24,4%) varones frente a 5 (6,1%) mujeres; ($p = 0,108$).

La edad se asoció significativamente con los desencadenantes de MS: 9 (69,2%) de los 13 casos de MS relacionada con el ejercicio tenían entre 1 y 35 años; ($p = 0,027$). Hubo una distribución similar de las circunstancias de la MS según la edad entre varones y mujeres. La edad al evento de MS en los grupos de MCP y CP fue similar (**Tabla 24**).

La edad media para cada una de las cardiopatías aparece reflejada en la **Tabla 25**. Respecto a otras MCP, la edad a la MS en los casos con MAVD fue algo inferior, aunque no significativa ($p = 0,274$). Las diferencias en los porcentajes de varones con MS entre los grupos con MCH y sin ella, no alcanzaron significación estadística ($p = 0,138$).

Hubo un claro predominio del sexo varón en todas cardiopatías, destacando que el sexo masculino se asoció significativamente con el grupo de las MCP: 38 (92,2%) varones frente a 3 (7,3%) mujeres ($p = 0,034$) (**Tabla 24**).

Cardiopatía	Varones	Mujeres	Total	Media de edad
MCH	21 (95.5)	1 (4,5)	22	40.3±12,3
HIVI	8(100)		8	40,8±17,6
MAVD	6(100)		6	33,6±6,2
MCNC	1 (100)		1	42
MC no clasificable	2 (50,0)	2 (50,0)	4	47,0±18,5
SQTL	2 (50,0)	2(50,0)	4	43,0±22,3
SB	1 (100)		1	44
TVPC		1(100)	1	15
SADS	18 (81.2)	4(18,1)	22	29,1±25,0
MS del lactante	1 (100)		1	<1
Convulsión febril	1(100)		1	1

Tabla 25. Resumen del número de casos de cada patología en función del sexo junto a la media de edad. Los porcentajes según el sexo, están calculados del número total de MS para cada patología. Los datos expresan n: número de casos (%) y media ± desviación estándar.

2. CARACTERÍSTICAS DE LA MUERTE SÚBITA

En la **Figura 32** queda resumido el porcentaje de casos, en función de las circunstancias en las que ocurrió el evento de MS; 11(13,4 %) en reposo, 19 (23,2%) durante el sueño, 25 (30,5 %) en actividad física diaria, 2 (2,4%) en situación de estrés, 13 (15,9%) mientras realizaban ejercicio, 1 (1,2%) presentó fiebre en las horas anteriores al episodio y 5 (6,1 %) fallecieron en otras circunstancias, de los 6 (7,3 %) restantes se desconoce la causa de la MS. La MS durante el ejercicio, estrés y actividades cotidianas, tendió a ocurrir con una frecuencia similar, en el grupo de MCP: 20 (48,7%) y en el de las CP: 3 (50,0%) ($p=0,542$).

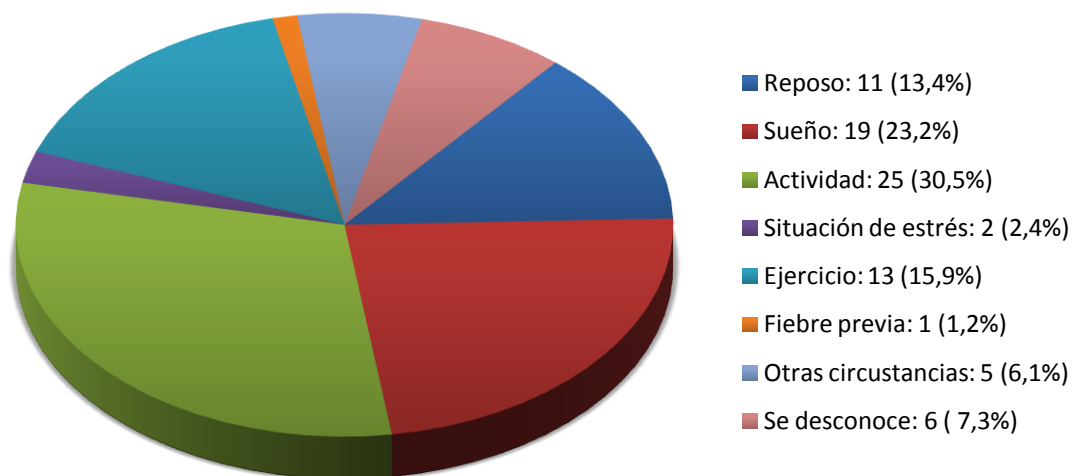


Figura 32: Número de casos en función de las características de la MS.

La **Tabla 26** resume las circunstancias de la MS respecto al diagnóstico de cardiopatía en cada caso.

CARDIOPATIA	REPOSO	SUEÑO	ACTIVIDAD	ESTRÉS	EJERCICIO	FIEBRE	OTROS	NO CONOCIDO	TOTAL
MCH	3(13,6)	7(31,8)	5(22,7)	1 (4,5)	2(9,1)		1(4,5)	3(13,6)	22(33,3)
HIVI	1(12,5)	1(12,5)	2(25,0)		2(25,0)			2(25,0)	8(11,2)
MAVD		2(33,3)	3(50,0)		1(16,7)				6(8,4)
MCNC			1(100)						1(1,4)
MC no clasificable	1(25,0)		3(75,0)						4(5,6)
SQTL	1(25,0)	1(25,0)	1(25,0)		1(25,0)				4(5,6)
SB	1(100)								1(1,4)
TVPC				1(100)					1(1,4)
SADS	2(9,0)	7(31,8)	5(22,7)		5(22,7)	1(4,5)	2(9,0)		22(33,3)
MS lactante							1(100)		1(1,4)
Convulsión febril							1(100)		1(1,4)
Relacionada con EC	2(18,1)	1(9,1)	5(45,4)		2(18,1)			1(9,1)	11(15,4)

Tabla 26. Circunstancias de la muerte súbita respecto al diagnóstico de cardiopatía. Los porcentajes en circunstancias de la MS están calculados del número total de MS para cada patología (filas). Los datos expresan n (%). EC= enfermedades cardiovasculares.

De las 41 casos de MS que tuvieron lugar en el grupo de las MCP (edad: $40,1 \pm 13,3$; el 92,6% varones), hubo 5 (12,1%) pacientes que fallecieron en relación al ejercicio físico: 2 (40,0%) fueron MCH, 2 (40,0%) HIVI y 1 (20,0%) de los casos fue MAVD. No hubo ningún caso en este grupo relacionado con MC no clasificable ni con MCNC.

Hubo 6 MS en el grupo de CP. La única MS durante el ejercicio se relacionó con SQTL. Un porcentaje importante de los casos de MS en el grupo de CP se produjo en reposo (33,3%). Destaca 1 caso de este grupo que fue desencadenado por estrés emocional y relacionado con TVPC. En un caso de SQTL la parada cardiaca resucitada, se relacionó con el tratamiento. Hubo 1 parada cardiaca resucitada relacionada con SB pero no refirió signos o síntomas que indicaran episodios febriles. Ningún caso fue relacionado con el parto, ni con una intervención quirúrgica.

2.1. Muerte súbita en deportistas

Dieciséis (19,5%) de los casos eran deportistas (edad $29,2 \pm 14,3$ años; 16 varones). En su mayoría, fallecieron durante el ejercicio 12 (75,0%), al hacer una comparación con el único caso entre los no deportistas que sufrió una MS en las mismas condiciones, se evidenció la diferencia significativa ($p < 0,05$).

Los deportistas fueron significativamente más jóvenes $29,2 \pm 14,3$ frente a $38,8 \pm 18,6$ años ($p = 0,032$). 4 (25,0%) deportistas se clasificaron como MCH, 2 (12,5%) HIVI, 1 (6,3%) MAVD, 1 (6,3%) SQTL, 1 (6,3%) SB, 5 (31,3%) SADS y 2 (12,5%) se relacionaron con enfermedades cardiovasculares.

3. SECUENCIACIÓN AUTOMATIZADA DE LOS GENES MÁS PREVALENTES EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA

3.1 Autopsia molecular.

De los 71 casos índice, en los que se valoró hacer el estudio genético, 59 eran hombres (71,9%) y 12 (14,6%) eran mujeres. Con una media de edad al diagnóstico de $36,0 \pm 19,6$ años (intervalo de 1 día-69 años).

En 23 casos (32,3%) (**Tabla 27; casos 1-23**) se identificaron una o más variantes génicas en alguno de los genes estudiados, en 27 casos (38,0%) (**Tabla 28; casos 24-50**) no se hallaron alteraciones moleculares, en los genes analizados. En 20 casos (28,1%) no se dispuso de muestra de DNA para realizar la autopsia molecular y 1 (1,4%) fue descartado por ser secundario a tóxicos.

Caso	Fenotipo	Genes estudiados	Variante identificada	Gen	Tecnología
1	MCH	<i>MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.</i>	p.Ala1637Thr	<i>MYH7</i>	<i>Sanger</i>
2	MCH	<i>MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.</i>	p.Ans1890Ser	<i>MYH7</i>	<i>Sanger</i>
3	MCH	<i>MYBPC3, MYH7</i>	p.Arg453Cys	<i>MYH7</i>	<i>Sanger</i>
4	MCH	<i>MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.</i>	p.Tri711*	<i>MYBPC3</i>	<i>Sanger</i>
5	MCH	<i>MYBPC3, MYH7</i>	IVS23+1G>A	<i>MYBPC3</i>	<i>Sanger</i>
6	MCH	Panel 195 genes* ¹	p.Glu74Asp	<i>KLF10</i>	NGS
			p.Tyr1172_Glu1175del	<i>TTN</i>	
7	HIVI	Panel 126 genes* ²	p.Ser169Gly	<i>PKP2</i>	NGS
			p.Leu178Pro	<i>PKP2</i>	
8	HIVI	<i>MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1</i>	p. Arg278Cyst	<i>TNNT2</i>	<i>Sanger</i>

Tabla 27 (Continuación)

9	HIVI	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1	p.Thr78Ser	TNNI3	Sanger
10	HIVI	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1	p.Val38Alafs*42	MYBPC3	Sanger
11	HIVI	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1	p.Ala833Val	MYBPC3	Sanger
12	MAVD	PKP2, DSP, DSG2, DSC2, LMNA	p. Ser140Phe	PKP2	Sanger
		Panel 195 genes* ¹	p. Ser376Phe	RyR2	NGS
13	MAVD	PKP2, DSP, DSG2, DSC2, PKG/JUP, LMNA	p. Pro35Thr	PKG/JUP	Sanger
14	MAVD	PKP2, DSP, DSG2, DSC2, PKG/JUP, LMNA	P. Thr19Ile	PKG/JUP	Sanger
15	MAVD	PKP2, DSP, DSG2, DSC2	p.Ala969Val	DSG2	Sanger
16	SQTL	KCNQ1, SCN5A, KCNE1, KCNE2, KCNH2, y KCNJ2	P. Arg533Trp	KCNQ1	Sanger
17	SQTL	KCNQ1, SCN5A, KCNH2	p. Asp2070Asn	DSP	Sanger

Tabla 27 (Continuación)

		PKP2, DSP, DSG2, DSC2, JUP, LMNA			
18	SQTL	Panel de 126 genes* ²	p.Ser661Leu	CACNA2D1	NGS
			p. Val490Ile	PTPN11	
19	SADS	Panel de 126 genes* ²	p.His126Asn	GJA1	NGS
20	TVPC	RyR2, CASQ2	p.Val4771Ile	RyR2	Sanger
21	MC no clasificable	Panel 15 genes* ³	p. Arg450Arg	DSC2	NGS
22	MC no clasificable	Panel 15 genes* ³	p.Val920Gly	DSG2	NGS
		Panel 56 genes* ⁴			NGS
23	Convulsión febril	KCNE1, KCNH2, KCNE2, KCNQ1 y KCNJ2	p.Ile57Thr	KCNE2	Sanger

Tabla 27. Resumen de las variantes génicas encontradas en 23 casos índice.

*1 ABCC9, ACTA2, ACTC1, ACTN2, ACVRL1, ADAMTSL4, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGL, AKAP9, ANK2, ANK3, ANKRD1, APOB, ASPH, BAG3, BMPR1B, BMPR2, BRAF, CACNA1B, CACNA1C, CACNA1D, CACNA2D1, CACNB2, CALM1, CALM2, CALR3, CAPN3, CASQ2, CAV1, CAV3, CBS, CHST14, CLIC2, CNBP, COL10A1, COL1A1, COL1A2, COL3A1, COL4A1, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL5A1, COL5A2, CRYAB, CSRP3, CTF1, CXADR, DES, DMD, DMPK, DOLK, DPP6, DSC2, DSG2, DSP, DTNA, ELN, EMD, ENG, ERF, EYA4, FBN1, FBN2, FHLL1, FHL2, FKRP, FKTN, FLNA, FLNC, FXN, GAA, GATA4, GJA1, GJA5, GLA, GPD1L, HCN1, HCN4, HRAS, JAG1, JPH2, JUP, KCNA5, KCND3, KCNE1, KCNE1L, KCNE2, KCNE3, KCNE4, KCNH2, KCNJ11, KCNJ12, KCNJ2, KCNJ3, KCNJ5, KCNJ8, KCNQ1, KCNQ2, KLF10, KRAS, LAMA2, LAMA4, LAMP2, LDB3, LDLR, LMNA, LRP6, MAP2K1, MAP2K2, MEF2A, MIB1, MURC, MYBPC3, MYH11, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK, MYLK2, MYOT, MYOZ2, MYPN, NBR1, NEBL, NEXN, NKX2-5, NOS1AP, NOTCH1, NPPA, NRAS, OBSL1, PDLIM3, PKP2, PKP4, PLEC, PLN, PLOD1, PNN, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, PTPN11, RAF1, RANGRF, RBM20, RBX1, RYR2, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SCNN1B, SCNN1G, SGCD, SHOC2, SLC25A4, SLC2A10, SLC39A13, SMAD1, SMAD3, SMAD4, SMAD9, SNTA1, SOS1, SQSTM1, SRF, SRY, TAZ, TBX20, TBX5, TCAP, TGFB3, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TKT, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNT3, TNNT2, TNXB, TPM1, TRDN, TRIM55, TRIM63, TRPM4, TTN, TTR, VCL. *2 ABCC9, ACTC1, ACTN2, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGL, AKAP9, ANK2, ANKRD1, BAG3, BMPR2, BRAF, CACNA1B, CACNA1C, CACNA1D, CACNA2D1, CACNB2, CALR3, CASQ2, CAV3, CRYAB, CSRP3, CTF1, DES, DMD, DSC2, DSG2, DSP, DTNA, ELN, EMD, EYA4, FHLL1, FHL2, FKTN, FLNC, FXN, GAA, GATA4, GJA1, GJA5, GLA, GPD1L, HCN1, HCN4, HRAS, JAG1, JPH2, JUP, KCNA5, KCND3,

KCNE1, KCNE1L, KCNE2, KCNE3, KCNE4, KCNH2, KCNJ11, KCNJ12, KCNJ2, KCNJ3, KCNJ5, KCNJ8, KCNQ1, KCNQ2, KRAS, LAMA4, LAMP2, LBD3, LMNA, LRP6, MAP2K1, MAP2K2, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOT, MYOZ2, MYPN, NEXN, NKX2-5, NPPA, NRAS, PDLIM3, PKP2, PKP4, PLEC, PLN, PNN, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, PTPN11, RAF1, RANGRF, RBM20, RYR2, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SCNN1B, SCNN1G, SGCD, SHOC2, SLC25A4, SNTA1, SOS1, TAZ, TBX20, TCAP, TGFB3, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN, TTR, VCL. *3 DSC2, DSG2, DSP, JUP, PKP2, TMEM43, CTNNA3, DES, LMNA, PKP4, PLN, PNN, RYR2, TGFB3, TTN. *4 ACTC1, GLA, MYBPC3, MYH7, MYL2, MYL3, PRKAG2, PTPN11, TNNI3, TNNT2, TPM1, ACTN2, AGL, ANKRD1, BRAF, CALR3, CASQ2, CAV3, CRYAB, CSRP3, CTF1, DES, DTNA, FH1, FHOD3, FXN, GAA, HRAS, JPH2, KLF10, KRAS, LAMP2, LDB3, MAP2K1, MAP2K2, MURC, MYH6, MYLK2, MYOZ2, MYPN, NEXN, NRAS, OBSL1, PDLIM, PLN, RAF1, SHOC2, SLC25A4, SOS1, TAZ, TCAP, TNNC1, TRIM63, TTN, TTR, VCL.

Caso	Fenotipo	Genes estudiados con resultado negativo	Tecnología
24	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
25	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
26	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1	Sanger
27	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
28	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
29	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
30	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
31	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
32	MCH	MYBPC3, MYH7, ACTC1, GLA, MYL2, MYL3, PRKAG2, PTPN11, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1.	Sanger
33	MCH	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
34	HIVI	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
35	HIVI	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI3, TPM1.	Sanger
36	MAVD	PKP2, DSP, DSG2, DSC2, JUP, LMNA, MYH7, MYBPC3.	Sanger
37	MAVD	PKP2, DSP, DSG2, DSC2, JUP, LMNA, MYH7, MYBPC3, RyR2.	Sanger
38	SB	SCN5A, KCNQ1, KCNH2, KCNE2.	Sanger

39	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2, LMNA.	Sanger
40	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2, LMNA.	Sanger
41	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2.	Sanger
42	SADS	KCNQ1, SCN5A, KCNH2, KCNE2.	Sanger
43	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2.	Sanger
44	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2.	Sanger
45	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2, LMNA, RyR2.	Sanger
46	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2.	Sanger
47	SADS	KCNQ1 y SCN5A, KCNH2, KCNE2, PKP2, DSP, DSG2, DSC2, JUP.	Sanger
48	MC no Clasificable	Panel 56 genes ^{*1}	NGS
49	MCNC	MYBPC3, MYH7, LMNA, Cypher/ZASP, PKP2, DSP, DSG2, DSC2, JUP.	Sanger
50	MS del lactante	SCN5A	Sanger

Tabla 28. Resumen de los genes estudiados con resultado negativo en 27 casos índice. ^{*1} ACTC1, GLA, MYBPC3, MYH7, MYL2, MYL3, PRKAG2, PTPN11, TNNI3, TNNT2, TPM1, ACTN2, AGL, ANKRD1, BRAF, CALR3, CASQ2, CAV3, CRYAB, CSRP3, CTF1, DES, DTNA, FHLL1, FHOD3, FXN, GAA, HRAS, JPH2, KLF10, KRAS, LAMP2, LDB3, MAP2K1, MAP2K2, MURC, MYH6, MYLK2, MYOZ2, MYPN, NEXN, NRAS, OBSL1, PDLIM, PLN, RAF1, SHOC2, SLC25A4, SOS1, TAZ, TCAP, TNNC1, TRIM63, TTN, TTR, VCL.

3.2. Tipo de variantes encontradas. Resultados globales

Se detectaron 27 variantes génicas (Tabla 45) en 23 casos índice, 16 (69,5%) estaban descritas en la bibliografía anteriormente. Veintitrés (88,4%) de las variantes encontradas en el grupo de estudio producían un cambio de sentido (*missense*), entre las cuales, una se identificó en una región intrónicas del gen *MYBPC3*, la variante NM_000256.3:c.2308+1G>A, descrita previamente y que produciría la desaparición del donador natural de *splicing* del exón 23.

Fue hallada 1 (3,8%) variante que producía un cambio en el marco de lectura o *frameshift* (NP_000247.2:p.Val38Alafs*42) en el exón 2 del gen *MYBPC3*, esta variante produciría un codón de *stop* provocando el corte de la proteína. Por otro lado, en el exón 22 de este mismo gen, se identificó 1 (3,8%) variante *nonsense* o codón de parada prematura (NP_000247.2:p.Tri711*), que al traducirse ocasionaría el truncamiento de la proteína. Se halló 1 (3,8%) única variante silente (NP_077740.1: p. Arg450Arg) en el gen *DSC2*. Por último se encontró en este grupo de pacientes una delección sin cambio en la pauta de lectura NP_003310.4: p.Tyr1172_Glu1175del en el gen *TTN* (Tabla 29).

Tipo de variante	Número de casos (%)
<i>Missense</i>	23 (88,4%)
<i>Nonsense</i>	1 (3,8%)
<i>Frameshift</i>	1 (3,8%)
Silente	1 (3,8%)
Delección sin cambio en la pauta de lectura	1 (3,8%)

Tabla 29. Resumen del tipo de variantes encontradas.

3.2.1. Miocardiopatía hipertrófica

Caso 1

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 1 era un varón de 42 años de edad, procedente de Nigeria. Meses antes del episodio de MS había acudido a urgencias por un dolor abdominal de evolución intermitente, durante 5 meses.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

Según los datos de la necropsia el corazón pesó 640 g. Presentaba signos de hipertrofia miocárdica en ambos ventrículos, con fibrosis intersticial severa y numerosas alteraciones caracterizadas por la desorganización arquitectural con patrón de fibras en “espina de arenque”. Además existía una severa calcificación distrófica que se continuaba de forma insensible con un miocardio hialinizado y en algunos puntos se observó metaplasma óseo con focos de hematopoyesis. Los estudios toxicológicos fueron negativos.

Finalmente la necropsia diagnosticó una MCH con una intensa calcificación endomiocárdica en el ventrículo izquierdo.

c) Estudio molecular

Se halló la variante génica NP_000248; p.Ala1637Thr, localizada en el exón 34 de la región codificante del gen de la *MYH7*. Afecta a un residuo moderadamente conservado (A1637) y produce un cambio de un aa no polar (alanina, A) (GCC) a otro polar no cargado (treonina, T) (ACC), lo que supone pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas de polaridad, hidrofobicidad y masa (distancia Grantham: 58).

Esta variante ha sido referenciada por las bases de datos NCBI, LOVD y *Ensembl* como una variante de **significado incierto**. También aparece en la dbSNP del NCBI con una frecuencia en la población general <1% y el identificador rs141122361 [237]. En la base de datos HGMD, con el identificador CM106108, se relacionó con MCH. En ESP, se detectó en heterocigosis en 1 de 4300 sujetos europeoamericanos (MAF: 0.0116) y en 5 de 2203 sujetos afroamericanos (MAF: 0.1135), lo que sugiere que esta variante genética, podría ser más frecuente en sujetos de raza negra.

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo.

No fue posible evaluar la cosegregación con el fenotipo, ni la penetrancia ya que no se pudo reclutar ningún familiar para su estudio.

Caso 2

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 2 era un varón de 44 años; sufrió un episodio de MS mientras dormía.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

El estudio necrópsico histopatológico evidenció cardiomegalia. El corazón pesó 480g. Las medidas de la pared anterior del VI y VD fueron respectivamente 2,5cm y 1,2cm. El grosor del tabique fue de 2,5cm. Además presentó aorta bivalva e insuficiencia aortica. El diagnóstico anatomopatológico fue de MCH y se estudió genéticamente como tal.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_000248.2;p.Ans1890Ser, que está localizada en el exón 39 de la región codificante del gen de la *MYH7*. Afecta a un residuo altamente conservado (N1890) y produce un cambio de un aa polar no cargado (asparagina, N) (AAC) a otro no polar (serina, S) (AGC) lo que supone pequeñas modificaciones en las

propiedades físico-químicas de hidrofobicidad, masa y polaridad (distancia Grantham: 46). El aa N1890 se encuentra en la cola de la β miosína (aa 1217-1935), próxima a un sitio que es crítico en el ensamblaje y estabilización de la misma.

Esta variante genética no fue hallada en bases de datos (NCBI, NHLBI o *Ensembl*). Fue identificada por primera vez por el grupo de cardiopatías hereditarias del HCUVA [238].

Se realizó el análisis *in silico* del efecto de la sustitución del aa N por S en el residuo 1890 (**Tabla 46**).

d) Estudio familiar: Correlación genotipo-fenotipo

Se desconoce la expresión de la variante con el fenotipo en esta familia ya que el estudio de cosegregación no se realizó por no existir familiares para ser evaluados.

Caso 3

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 3 era un varón de 15 años de edad y de nacionalidad ecuatoriana, que sufrió un episodio de MS mientras jugaba al fútbol, fue trasladado a urgencias del hospital más cercano, donde falleció evidenciándose FV y asistolia. Había tenido dos síncope previos al episodio de MS por lo que no consultó a su médico. Como datos adicionales el paciente tenía hipercolesterolemia desde los 11 años y diabetes tipo I.

b) Estudio histológico (macroscópico y microscópico)

Según los resultados de la necropsia el paciente presentaba características típicas de MCH. El corazón pesó 440g. Las medidas de la pared anterior del VI y VD fueron respectivamente 2,5cm y 0,4cm. El grosor del tabique fue 3,5cm. Además el tracto de salida del VI (TSVI) era estrecho y presentaba una posible obstrucción. En el estudio microscópico se observaron imágenes en “Y” y conexiones sarcoplásmicas anómalas, con fibrosis irregular arremolinada. Los hallazgos histológicos de MCH, también estaban presentes en el VD.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_000248.2:p.Arg453Cys, localizada en el exón 14 del gen de la *MYH7*, afecta a un residuo altamente conservado (R453), que produce un cambio de un aa polar positivo básico (arginina, R) (CGC) a otro polar no cargado (cisteína, C) (TGC) lo que supone elevadas modificaciones en las propiedades físico-químicas de hidrofobicidad y masa (distancia Grantham: 180). El aa R453 se encuentra

localizado en la región media de 50kDa (aa 216-619) de la cabeza globular de la cadena pesada de la β -miosina (**Figura 51**). En el dominio funcional de unión a la actina.

Esta variante ha sido referenciada por la base de datos NCBI y *Ensembl* como **patogénica**, y responsable de provocar MCH familiar (OMIN 162600). Además aparece en la base dbSNP del NCBI con el identificador rs121913625 [239] y en la base de datos HGMD con el identificador CM087715 [134].

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 3, fueron estudiados 6 individuos, 1 varón y 5 mujeres; I.1, I.2, II.2, II.3, II.4, II.5, todos presentaron ECO y ECG normales. Ninguno fue portador de la variante. En II.5 no se pudo realizar el estudio molecular por no existir muestra.

La penetrancia de la variante génica en esta familia es del 100%, el cálculo está basado sólo en un afectado portador. Por otro lado, no se pudo realizar el estudio de cosegregación al existir sólo un afectado con la alteración genética (**Figura 33 -Tabla 30**).

Familia 3

MYH7(R453C)

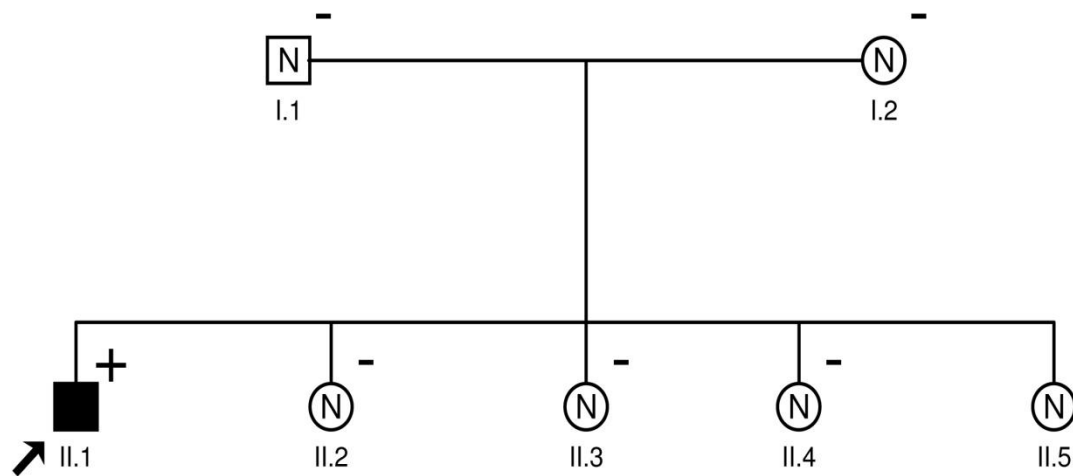


Figura 33. Árbol familiar de la familia 3 de casos portadores de la variante R453C en MYH7.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Grosor parietal (cm)	DAI
I.1	V	44	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	N
I.2	M	41	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	N
II.1	V	15	+	Afectado	P	N	NR	NR	2,5*	N
II.2	M	23	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	N
III.3	M	20	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	N
III.4	M	17	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	N
III.5	M	0.1	NR	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	N

Tabla 30. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 3. P/F Probando/ Familiar. NR no realizado. N no/ S sí. D diagnóstico/ AND anormal no diagnóstico. *grosor máximo en necropsia.

Caso 4)

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 4 era un varón de 40 años de edad y nacionalidad ecuatoriana, que sufrió episodio de MS mientras dormía.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

Según los datos de la necropsia, el corazón pesó 590 g, las medidas de la pared anterior del VI y VD fueron respectivamente 2,9 cm y 1,2 cm, el grosor del tabique fue de 3cm. Macroscópicamente existía un engrosamiento asimétrico del tabique y de ambos ventrículos. Presentó hipertrofia biventricular así como hipertrofia del tabique, de carácter excéntrico. Además se evidenció estenosis subaórtica y estenosis severa de ambas cavidades ventriculares. El examen microscópico mostró una notable desorganización de fibras miocárdicas que se disponían en remolinos y se unían de forma anómala (imagen en “Y”), había abundante fibrosis intersticial entre las fibras miocárdicas y células con núcleos grandes e hiper cromáticos. Finalmente el diagnóstico histológico fue de MCH.

c) Estudio molecular

Se identificó la variante génica de tipo *nonsense* NP_000247.2:p.Tri711*. Está localizada en el exón 22 de la región codificante del gen de la *MYBPC3*. Esta variante no fue hallada en bases de datos como: HGMD, NCBI, NHLBI o *Ensembl*. Fue identificada por primera vez por el grupo de cardiopatías hereditarias del HCUVA [238].

Se realizó el análisis *in silico* del efecto de la pérdida del aa W en el residuo 711 (**Tabla 46**). El cambio de nucleótidos (C por T) en la posición g47360890 produce un transcrito aberrante que si se tradujera produciría un codón de *stop* o parada en la posición 711. Este truncamiento de la proteína C de unión a la miosina se produciría en el dominio C5 (**Figura 52**), que participa en proveer a la región N-t la flexibilidad necesaria para interactuar con el dominio S2 de la miosina (**Figura 51**).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

No fue posible evaluar la cosegregación con el fenotipo, ni la penetrancia ya que no se pudo reclutar ningún familiar para el estudio.

Caso 5

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 5 era una mujer de 53 años que sufrió una parada cardiaca resucitada.

b) Estudio clínico

Presentó un ECG patológico con QS V1 y V2, R progresión tardía. Ascenso del ST en V1, V2 y aVL (máx. 2mm), descenso del ST de en cara inferior (máx. 2,5mm) y T negativa (máx. 4mm). QTc 470 mseg. La paciente sufrió 3 episodios de FV a las 48 horas de la ablación septal alcohólica que llevó a la implantación de un DAI. La paciente sufrió años mas tarde una descarga apropiada del DAI por FV.

c) Estudio molecular

Se detecto la variante génica NP_000247 IVS23+1G>A. Está localizada en el intrón 23 de la región no codificante del gen de la *MYBPC3*. Esta variante ha sido referenciada por la base de datos HGMD (CS971816), NCBI y *Esembl* como una variante de **patogenicidad comprobada**, claramente asociada al desarrollo de MCH y no presente en controles. También aparece en la base dbSNP del NCBI con el identificador rs112738974 [141]. Según ESP ha sido identificada, en heterocigosis en 1 de 4199 sujetos Europeo-Americanos (MAF: 0,0119).

Según la información previamente publicada [240] el cambio de C por T en la posición cromosómica NC_000011.9:g.47360070 se localiza en las proximidades del donador natural de *splicing* del exón 23. Los autores, mediante estudios sobre ARN de linfocitos, analizaron las consecuencias funcionales de esta variante y demostraron que la desaparición del donador natural de *splicing* que provocaría esta mutación, ocasiona un truncamiento, en el que se perdería el 44% de la proteína, incluyendo los sitios de unión a titina y miosina [240].

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 5 se evaluaron 16 familiares, 8 mujeres y 8 hombres. IV3, III.1, III.3, III.7, y IV1 que estaban afectados (ECG y ECO con parámetros dentro de los valores diagnósticos) y eran portadores de la mutación. IV.2, IV.5, IV.8, IV.16, IV.17 no estaban afectados, pero si eran portadores de la mutación. IV.12 portaba la mutación familiar y probablemente estuviera afectada, presentó ECG sospechoso y ECO normal. IV.4, IV.7, IV.15, IV.18 no estaban afectados y tenían genotipo negativo. La mutación identificada en la familia 5, segrega con una penetrancia incompleta del 55%, la media de edad de los afectados con genotipo positivo era de 57,8 años. La media de edad de los no afectados con genotipo positivo era de 35,6 años (**Figura 34 - Tabla 31**).

Familia 5

MYBPC3(IVS23+1G>A)

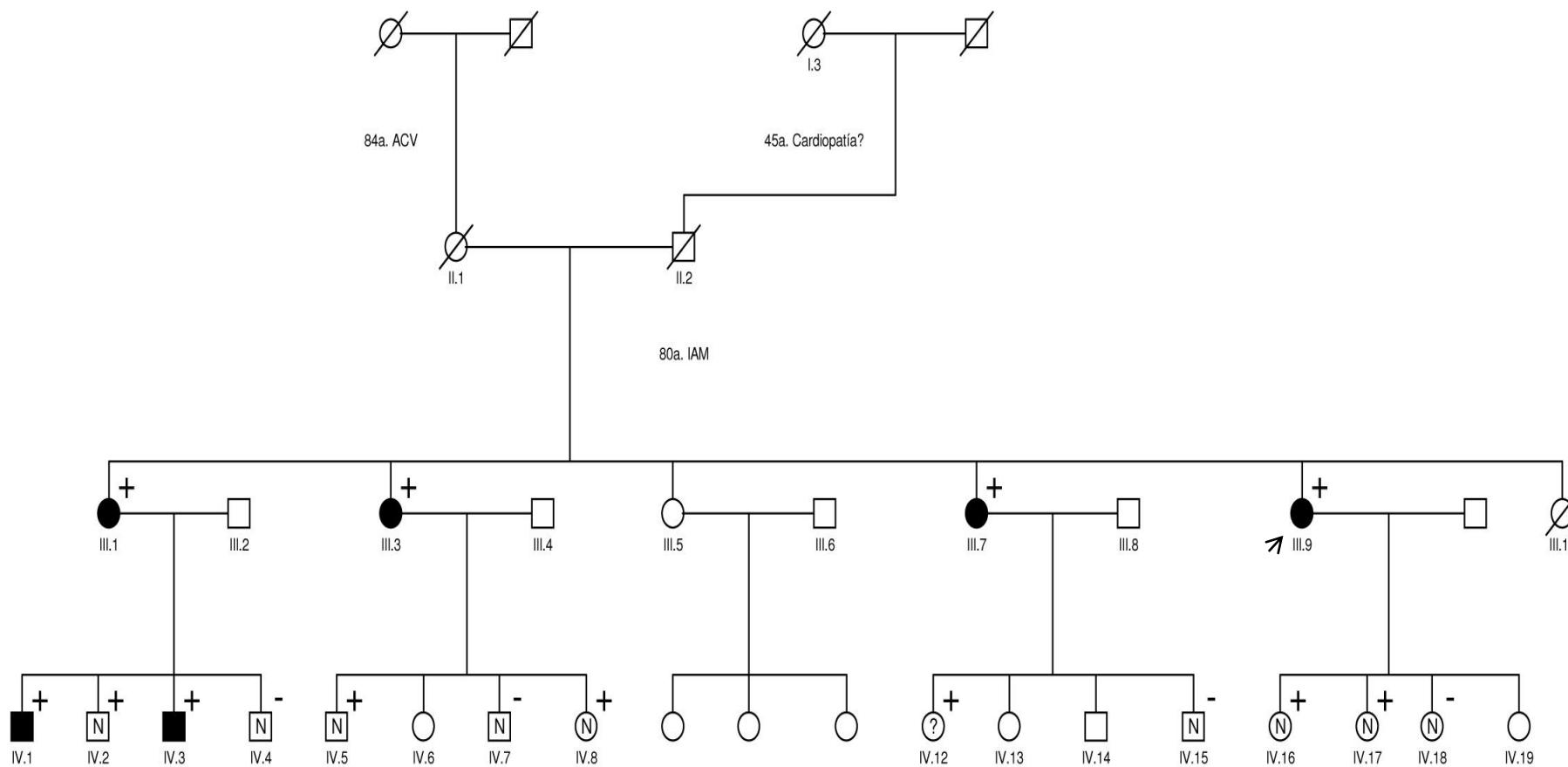


Figura 34. Árbol familiar de la familia 5 de casos portadores de la variante IVS23+1G>A en MYBPC3.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECC	Holter	Grosor parietal (cm)	DAI
III.1	M	72	+	Afectada	F	N	D	D	TVNS	1,6	N
III.3	M	69	+	Afectada	F	N	D	D	TVNS	1,9	N
III.7	M	65	+	Afectada	F	Presíncope	D	D	TVNS	1,7	N
III.9	M	53	+	Afectada	P	Presíncope	D	D	Normal (no TVNS)	2,2	S
IV.1	V	47	+	Afectado	F	N	D	D	Normal (no TVNS)	1,4	N
IV.2	V	44	+	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	1,4	N
IV.3	V	41	+	Afectado	F	N	D	D	Normal (no TVNS)	2,4	N
IV.4	V	33	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
IV.5	V	39	+	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal (no TVNS)	Normal	N
IV.7	V	31	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N

Tabla 31 (Continuación).

IV.8	M	29	+	No afectado	F	N	Normal	normal	NR	Normal	N
IV.12	M	40	+	Probablemente	F	N	AND	normal	NR	Normal	N
IV.15	V	27	-	No afectado	F	N	Normal	normal	NR	Normal	N
IV.16	M	33	+	No afectado	F	N	Normal	normal	NR	Normal	N
IV.17	M	29	+	No afectado	F	N	Normal	normal	Normal (no TVNS)	Normal	N
IV.18	M	23	-	No afectado	F	N	Normal	normal	NR	Normal	N

Tabla 31. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 5. P/F Probando/ Familiar. NR no realizado. N no/ S sí. D diagnóstico/ AND anormal no diagnóstico

Caso 6**a) Contexto demográfico**

El probando de la familia 6 era un varón de 18 años de edad que sufrió un episodio de MS mientras descansaba en su domicilio, no había tenido síntomas previos.

b) Estudio histológico (macroscópico y microscópico)

Según los resultados de la necropsia el corazón pesó 450 g, el grosor de VI y VD fue respectivamente 2,5cm y 0,3cm. El grosor del tabique fue 1,5cm. Presentó fibrosis endomiocárdica moderada y dilatación del VI, además se hallaron estrías blanquecinas en el espesor del tabique. El estudio histológico microscópico reveló evidentes signos de hipertrofia caracterizada por núcleos hipercromáticos con poliploidia de miocardiocitos. El citoplasma de los mismos mostraba frecuentes depósitos de pigmento de lipofucsina y focos de necrosis en bandas de contracción, de manera ocasional. No se observaron signos de arremolinamiento ni rotura de fibras. La disposición de la estructura miocárdica fue correcta sin imágenes de desorganización fibrilar. Con tricrómico de Masson se evidenció fibrosis moderada endomiocárdica. La pared el VD poseía características similares. Además hubo presencia de arterioesclerosis moderada, sin oclusiones. Los resultados de toxicología fueron negativos. Finalmente la necropsia diagnosticó de MCH.

c) Estudio molecular

Se identificaron, mediante un panel específico de 195 genes, dos variantes, ambas en heterocigosis; la primera de tipo *missense*, NP_005646.1 p. Glu74Asp, localizada en el exón 2 de la región codificante del gen *KLF10* (*Krupped like factor 10* o factor de transcripción *KLF10*) que codifica para la proteína de Kruppel. Afecta a un residuo moderadamente conservado (E74) y produce el cambio de un aminoácido polar positivo ácido (ácido Glutámico, E) (GAA) a otro polar positivo ácido (Ác. Aspártico, D) (GAC), hay pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas hidrofobicidad y masa entre E y D (distancia Grantham: 45). La segunda de tipo delección NP_001243779.1 p.Tyr1172_Glu1175del, está localizada en el exón 21 de la región codificante del gen *TTN*. Esta variante afecta a la isoforma N2B de la titina, (isoforma predominante en el ventrículo izquierdo de humanos) de la que no hay datos de conservación.

Ninguna de las dos variantes fue identificada en bases de datos ni estudios poblacionales previamente.

Se realizó el análisis *in silico* del efecto de la sustitución del aminoácido E por D en el residuo 74, así como de la delección entre los residuos 1172_1175 (**Tabla 46**), esta última variante identificada en el paciente provocaría la pérdida de 4 aminoácidos en la secuencia de titina sin alterar la pauta de lectura.

d) Estudio familiar: Correlación genotipo-fenotipo

En la familia 6, se estudiaron 9 familiares, 4 varones y 5 mujeres; según los datos de la ECO, I.2, estaba afectada de MCD sin hipertrofia y con una DTD 6.7 cm y FE 35-40%, además era portadora de la variante Y1172_E1175del. Por otro lado, III.2 presentó un estudio ecográfico anormal pero no diagnóstico, se consideró no afectado. El resto de individuos tampoco estaban afectados fenotípicamente. En esta familia se consideró la existencia de dos cardiopatías diferentes, por lo que, en la evaluación de la cosegregación no se tuvo en cuenta I.2, por no presentar esta el mismo fenotipo del probando. Ambas variantes presentaron una penetrancia del 100% (**Figura 35 –Tabla 32**).

Familia 6

KLF10 (E74D)/ TTN (Y1172_E1175del)

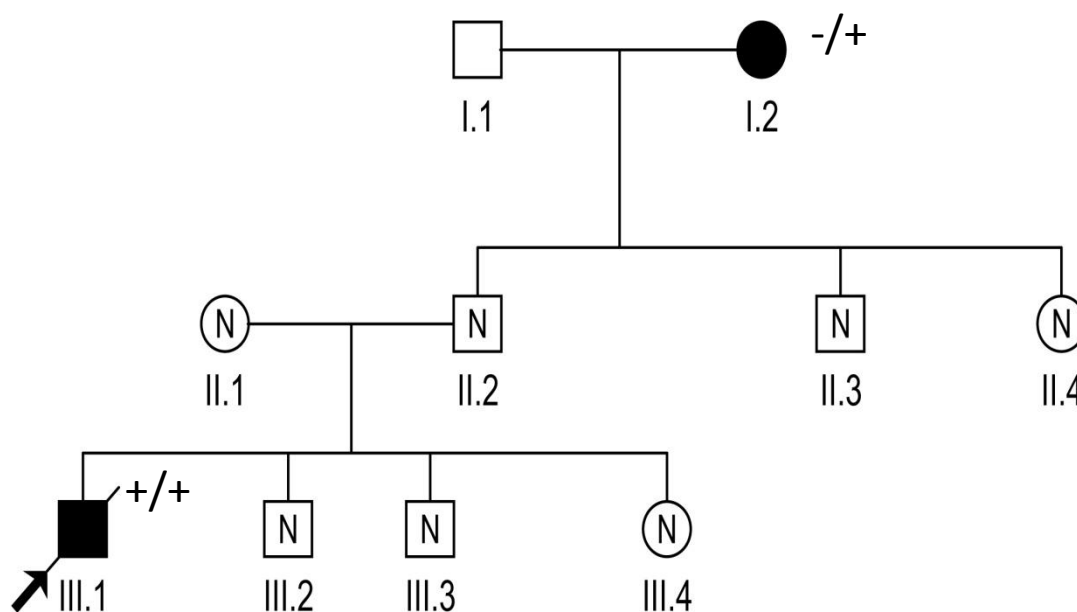


Figura 35. Árbol familiar de la familia 6 de casos portadores de las variantes: KLF10 (E74D)/ TTN (Y1172_E1175del).

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	Grosor parietal (cm)	DAI
I.2	M	78	-/+	Afectado	F	N	D	D	NR	1,0	N
II.1	M	51	NR	No afectado	F	N	NR	NR	NR	Normal	N
II.2	V	54	NR	No afectado	F	N	AND	AND	NR	Normal	N
II.3	V	43	NR	No afectado	F	N	N	N	NR	Normal	N
II.4	M	43	NR	No afectado	F	N	AND	AND	NR	Normal	N
III.1	V	18	+/+	Afectado	P	N	NR	NR	NR	*2,5	N
III.2	M	28	NR	No afectado	F	N	Normal	AND	NR	Normal	N
III.3	M	23	NR	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.4	V	26	NR	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N

Tabla 32. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 6. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico. *grosor máximo en necropsia.

3.2.2. Hipertrofia Idiopática del Ventrículo Izquierdo

Caso 7

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 7 era un varón de 51 años de edad que sufrió un episodio de MS mientras se encontraba en reposo.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

Según los datos de la necropsia el paciente presentaba hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo. El corazón pesó 340 g y las medidas de ambos ventrículos y tabique fueron las siguientes; VI 2cm, VD 0,5cm y tabique 1,8cm. Macroscópicamente presentaba un engrosamiento simétrico del tabique y de ambos ventrículos en los que el miocardio alternaba áreas de color marrón oscuro con áreas blanquecinas y fasciculadas. Por otro lado el examen microscópico mostró fibras miocárdicas de disposición habitual sin malformaciones y con importantes signos de hipertrofia con frecuentes núcleos irregulares, hiper cromáticos y cúmulos citoplasmáticos de lipofucsina. Además entre las fibras existía una fibrosis intersticial moderada de predominio subendocárdico. La histología no era típica de MCH, por lo que la necropsia diagnosticó de HIVI.

c) Estudio molecular

Ante la presencia de un fenotipo no definitivo, se decidió enviar para ser estudiado mediante un panel de ultrasecuenciación (NGS) con 126 genes relacionados con cardiopatías familiares o hereditarias y muerte súbita de origen cardíaco.

Se identificaron las siguientes variantes génicas de tipo *missense*: NP_004563.2:p.Ser169Gly y NP_004563.2:p.Leu178Pro, ambas en el gen de la PKP2.

S169G, fue hallada en heterocigosis y está localizada en el exón 3 y afecta a un residuo débilmente conservado (S169) que produce un cambio de un aa polar no cargado (serina, S) (AGC) a un aa polar no cargado (glicina, G) (GGC), lo que supone pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas de hidrofobicidad y la masa (distancia Grantham: 56). El aa 169 se encuentra en el extremo N-terminal de la PKP2 (aa 1-340). Esta variante ha sido referenciada por las bases de datos NCBI y *Ensemble* como una variante de **significado incierto**. Aparece en la base de datos dbSNP del NCBI con el identificador rs139139859 [241]. En la base de datos HGMD, con el identificador CM105193 [242], se relacionó con MAVD. Según ESP ha sido identificada, en heterocigosis en 16 de 4297 individuos de origen Americano-Europeo (MAF: 0.1862).

L178P, fue hallada también en heterocigosis y está localizada en el exón 3 del mismo gen, afecta a un residuo débilmente conservado, que produce un cambio de un aa no polar (leucina, L) (CTG) a un aa no polar (prolina, P) (CCG), lo que supone moderadas modificaciones en las propiedades físico-químicas de hidrofobicidad y la masa (distancia Grantham: 98). El aa 178 se encuentra en el extremo N-t de la PKP (aas 1-340) y No fue identificada en bases de datos, por lo que se realizó el análisis *in silico* del efecto de la sustitución del aa L por P en este residuo (**Tabla 46**).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

No fue posible evaluar la cosegregación con el fenotipo, ni la penetrancia ya que no se pudo reclutar ningún individuo de esta familia.

Caso 8

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 8 era un varón de 68 años de edad, que sufrió un episodio de MS mientras caminaba, este paciente tenía una lesión tratada, hacía 10 años, en la coronaria descendente anterior. Portaba un *stent* y presentaba HIVI progresiva leve desde 2003.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

Según los datos de la necropsia, se evidenciaba una hipertrofia biventricular concéntrica muy severa, superior a 3 cm en algún segmento. El corazón pesó 750 g y las medidas de la pared anterior del VI y VD fueron respectivamente 2,5 cm y 1,2 cm. El grosor del tabique fue de 2,5 cm. No tenía valvulopatías pero si existían placas complicadas en las arterias coronarias con reducción la luz <50%, el trayecto *intrastent* no pudo ser valorado. Microscópicamente presentó hipertrofia miocárdica bilateral, fibrosis colágena entre las fibras musculares, miocitosis y necrosis en las bandas de contracción subendocárdicas del VI. No presentaba desorganización de miocardiocitos. El diagnóstico anatomopatológico fue de HIVI.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_001001430.1: p. Arg278Cyst, que se localiza en el exón 16 de la región codificante del gen *TNNT2*, la variante afecta a un residuo conservado en todas las secuencias conocidas de la troponina T y afecta a zonas de unión con la tropomiosina y las otras troponinas. Se produce un cambio de un aa polar positivo básico (arginina, R) (TCC) a otro no polar (Cisteína) (TGC), lo que supone importantes modificaciones en las propiedades físico-químicas en la masa, carga,

hidrofobicidad y polaridad (distancia Grantham: 180). El aa 278 se encuentra en el extremo C-t de la proteína.

Esta variante ha sido referenciada por la base de datos NCBI como **patológica** asociada a MCH familiar (OMIN:191045.0004). Además aparece en la base de datos dbSNP del NCBI con el identificador rs121964857 [243]. En HGMD, donde se relaciona con MCH, fue referenciada con el identificador CM951222 [242]. Por otro lado y según ESP, ha sido identificada hasta el momento en heterocigosis en 5 de 4301 individuos de origen Americano-Europeo (MAF: 0.0582).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 6, se han estudiado 5 familiares, 2 varones y 3 mujeres; II.3, III.2, III.4: no estaban afectados ni portaban la mutación. III.6, III.8, tampoco estaban afectados pero tuvieron genotipo positivo con una media de edad de 40,5 años. La variante presentó una penetrancia incompleta del 33%, (**Figura 36, Tabla 33**) y no se realizaron estudios de cosegregación ya que solo existía un afectado portador de la variante.

Familia 8

TNNT2 (R278C)

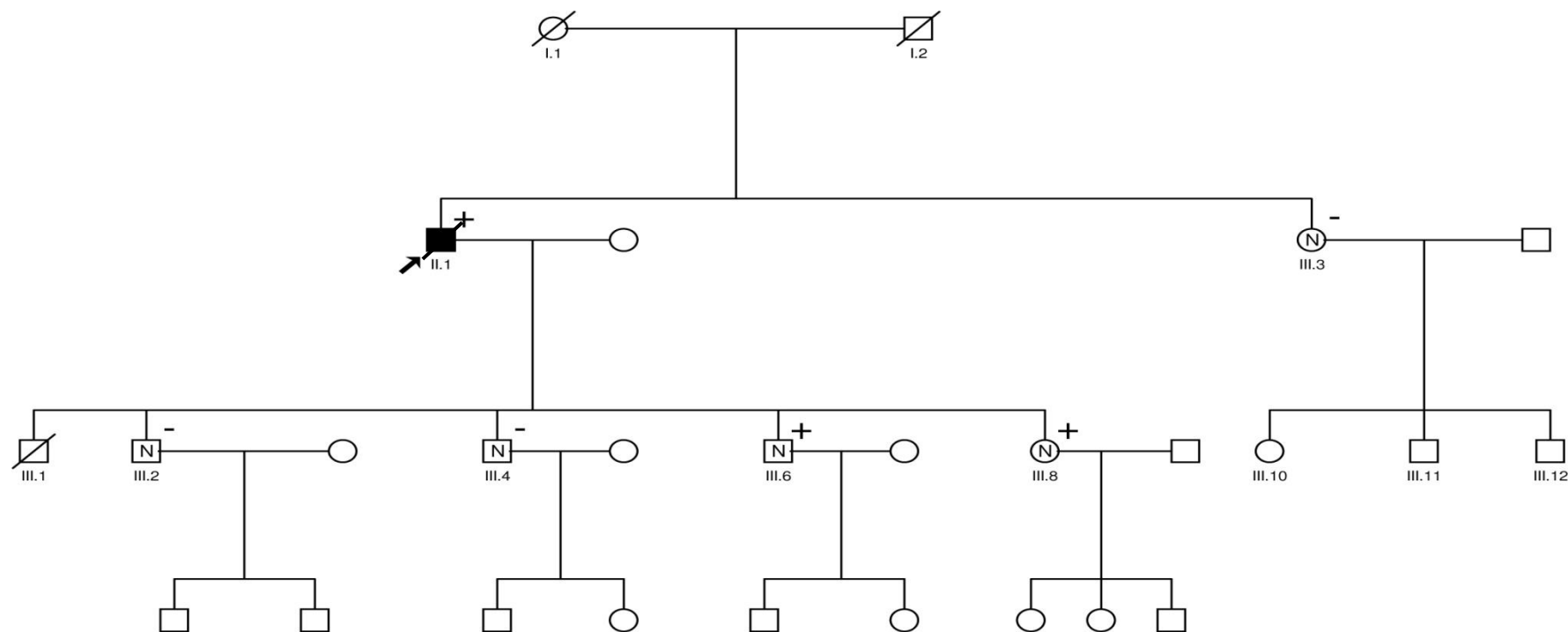


Figura 36. Árbol familiar de la familia 8 de casos portadores de la variante R278C en TNNT2.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	Grosor parietal (cm)	DAI
II.1	V	68	+	Afectado	P	N	NR	NR	NR	3,0*	N
II.3	M	63	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.2	M	42	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.4	M	40	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.6	V	44	+	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal (no TNVS)	Normal	N
III.8	V	37	+	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal (no TNVS)	Normal	N

Tabla 33. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 8. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.
*grosor máximo en necropsia

Caso 9**a) Contexto demográfico**

El probando de la familia 9 era un paciente de 17 años de edad que sufrió un episodio de MS en su domicilio, mientras realizaba alguna actividad de la vida cotidiana, no se tienen más datos.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

El examen *postmortem* demostró que la causa de la muerte fue un edema y hemorragia pulmonar masiva cuyo origen es un fracaso ventricular izquierdo. El corazón pesó 360 g y las medidas del VI y tabique fueron las siguientes: VI 2cm y 1,7 respectivamente. El corazón era hipertrófico, con notable descenso del calibre de la luz y mostraba focalmente, criterios de miocardiopatía hipertrófica aunque fenotípicamente, no estaba totalmente desarrollada la lesión. Microscópicamente, se observó una hipertrofia de miocardiocitos de carácter irregular con frecuentes imágenes en “Y” y conexiones sarcoplásmicas anómalas que se acompañaba de una fibrosis irregular en forma arremolinada. Estos cambios eran escasos y en la mayoría de los campos, el miocardio mostraba rasgos hipertróficos pero sin desorganización.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_000354.4 p.Thr78Ser. Está localizada en el exón 5 de la región codificante del gen *TNNI3*. Afecta a un residuo moderadamente conservado (T78), y produce un cambio de un aa polar no cargado (Treonina, T) (ACC) a otro polar no cargado (Serina, S) (TCC) lo que provoca pequeñas modificaciones físico-químicas en las propiedades de hidrofobicidad y masa entre Thr y Ser (distancia Grantham: 58). Esta variante génica no fue identificada en las bases de datos consultadas.

Se realizó el estudio *in silico* para comprobar el efecto de la sustitución del aa T por S (**Tabla 46**). El aa Thr78 se localiza en la mitad N-terminal de la troponina I y pertenece a la región de unión al dominio N-terminal de la Troponina C (residuos 32-79), provocando un cambio de aas en dicha región, además se encuentra muy cerca del aa 80, uno de los sitios de unión entre *TNNI3* y *TNNT2*.

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

No fue posible evaluar la cosegregación con el fenotipo, ni la penetrancia ya que no se pudo reclutar ningún familiar para el estudio.

Caso 10

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 10, era un varón de 22 años de edad que sufrió un episodio de MS mientras hacía deporte. No tuvo síntomas previos, ni tampoco había tenido infecciones recientes.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

Según el estudio necrópsico el corazón pesó 520 gr, presentaba hipertrofia concéntrica del VI, con una cavidad de 2cm de diámetro interno y trabéculas prominentes. Los focos de isquemia y de fibrosis en las trabéculas existentes fueron interpretados como secundarios a la hipertrofia. Además había presencia de depósito mixoide focal en el velo anterior de la válvula mitral.

Según el estudio microscópico, en todas las muestras examinadas hubo hipertrofia de los miocitos y fibrosis intersticial, pero sin desorden arquitectural ni displasia de las coronarias intramurales. Finalmente la necropsia diagnosticó de HIVI, con cambios en las trabéculas por isquemia, secundarios a la hipertrofia.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante en heterocigosis de tipo *frameshift*, NP_000247.2: p. V38Afs*42, localizada en el exón 2 de la región codificante del gen *MYBPC3*. Esta variante genética no se identificó en bases de datos.

Se realizó el análisis *in silico* del efecto de la delección de 17 nucleótidos entre las posiciones g2283_2299 de la secuencia genómica de *MYBPC3*. La variante V38Afs*42 crea un cambio de lectura a partir del aa 38 y da un codón de stop 4 aas más tarde, dando lugar a un transcrito aberrante que si se tradujera provocaría un codón de *stop* prematuro en el aa 42. Esto produce un truncamiento en la proteína C de unión a la miosina a nivel del dominio C0 (**Figura 45**), por lo que se perdería la mayor parte de su masa nativa.

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 10, Se estudiaron 12 familiares, 10 varones y 2 mujeres; II.5, II.7, II.8, III.2, III.4, III.5, III.6, III.7, los cuales no estaban afectados fenotípicamente y presentaron genotipo negativo. II.3 posiblemente estaba afectada pues presentó ECG y ECO dudosos, pero no era portadora. II.6 (52 años) no estaba afectada pero si presentó genotipo positivo y III.1 no portaba la variante del probando a pesar de estar afectado con un ECG con parámetros claros de MCH y ECO con grosor parietal límite (1,2-1,3

cm). La variante presenta una penetrancia incompleta del 50 %, y no cosegrega con la enfermedad (**Figura 37-Tabla 34**).

Familia 10

MYBPC3 (V38Afs*42)

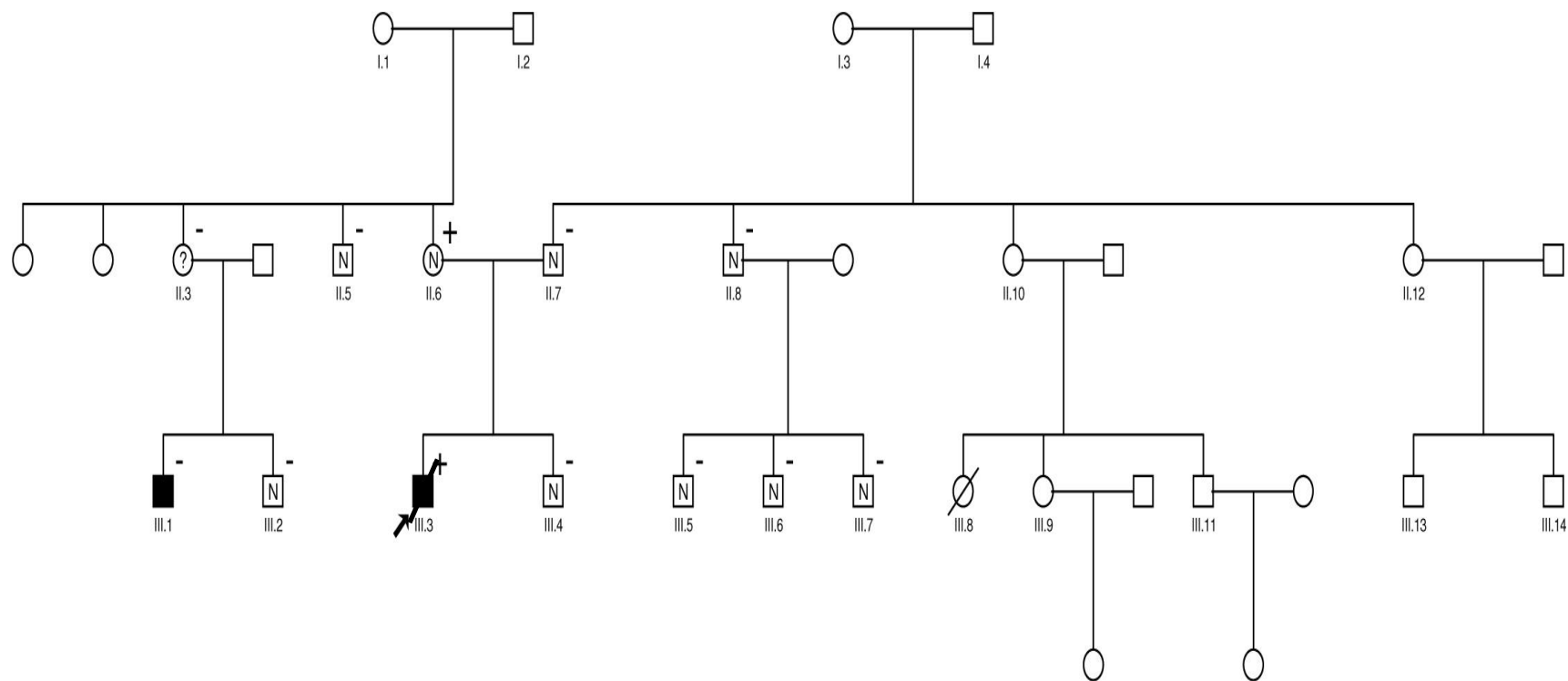


Figura 37. Árbol familiar de la familia 10 de casos portadores de la variante V38Afs*42 en MYBPC3

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	Grosor parietal (cm)	DAI
III.1	V	32	-	Afectado	F	N	D	D	Normal (no TVNS)	1,3	N
III.2	V	33	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.3	V	22	+	Afectado	P	N	NR	NR	NR	2,0*	N
III.4	V	24	-	No afectado	F	N	AND	Normal	Normal (no TVNS)	Normal	N
III.5	V	29	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.6	V	24	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal (no TVNS)	Normal	N
III.7	V	18	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal (no TVNS)	Normal	N
II.5	V	44	-	No afectado	F	N	normal	Normal	NR	Normal	N
II.7	V	60	-	No afectado	F	N	normal	Normal	Normal (no TVNS)	Normal	N
II.8	V	57	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal (no TVNS)	Normal	N

Tabla 34 (Continuación).

II.3	M	59	-	Posiblemente afectada	F	N	Posiblemente patológico	Posiblemente patológico	NR	1.5	N
II.6	M	52	+	No afectada	F	N	AND	Normal	Normal (no TVNS)	Normal	N

Tabla 34. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 10.P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

*grosor máximo en autopsia.

Caso 11**a) Contexto demográfico**

El probando de la familia 11, era un varón de 26 años de edad y procedente de Burkina Faso, que sufrió un episodio de MS mientras hacía deporte.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

Según el estudio necrópsico el corazón pesó 489 g y las medidas de VI, tabique y VD fueron las respectivamente; 1,5 cm, 1,5 cm y 0,5 cm. Presentaba miocarditis crónica e hipertrofia que no se consideró como dentro de la compensación al ejercicio, llamando especialmente la atención la hipertrofia concéntrica. Microscópicamente se observó, en las muestras ventriculares la existencia de parches de distribución irregular donde el miocardio estaba remplazado por tejido fibroso o fibroadiposo junto con algunos focos de infiltrado linfocitario alrededor de miocitos necrópsicos, pero sin desorden de los mismos. Finalmente la necropsia diagnosticó una HIVI.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_000247.2 p.Ala833Val, localizada en el exón 25 de la región codificante del gen *MYBPC3*. Afecta a un residuo altamente conservado (A833), que produce un cambio de un aa no polar (alanina, A) (GCC) a otro no polar (valina, V) (GTC) lo que supone pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas, hidrofobicidad y masa (distancia Grantham: 64).

Esta variante está referenciada en las bases de datos NCBI y *Ensembl* como **probablemente benigna o no patogénica**. También aparece recogida en otras fuentes como; el proyecto 1000 genomas, en dbSNP con el identificador rs3729952 [244], en la base de datos HGMD con el identificador CM031262 [242], cuya relación con MCH fue dudosa y por último, en el proyecto *HapMap* donde fue catalogada como polimorfismo. Por otra parte en el ESP, se identificó en heterocigosis en 2 de 4265 sujetos Europeo-Americanos (MAF: 0,0234) y en 96 (1 homocigoto) de 2165 sujetos Afro-Americanos (MAF: 2,24), según esta información la variante parece ser un polimorfismo bastante común en Africanos pero muy rara en Europeos [245;246].

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

El hecho que el paciente no tuviese nacionalidad española y no tener familia en nuestro país, hizo imposible el reclutamiento de familiares para la evaluación de la cosegregación con el fenotipo, ni la penetrancia.

3.2.3. Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho

Caso 12

a) *Contexto demográfico*

El probando de la familia 12, era un varón de 29 años que sufrió un episodio de MS mientras realizaba una actividad normal de su vida diaria, terminaba de dar de comer a su hija y no hubo ningún desencadenante. No tenía antecedentes cardiológicos, ni había sufrido síncope. Únicamente presentaba una elevación transaminasas en control es analíticos anteriores con estudio hepático normal y posible patología neuromuscular de la cintura escapular.

b) *Estudio histológico (macroscópico y microscópico)*

Inicialmente el estudio necrópsico informó de MCH, concéntrica medioapical, sin signos de SAM. El corazón pesó 420g, la pared anterior del VI medía 2,0 cm. El VD también era hipertrofico (grosor máximo de 1,0 cm) con zonas de fibrosis y grasa en ambos ventrículos.

El estudio microscópico informa de fibrosis muy llamativa en VI, no se observó *disarray* aunque si hipertrofia, la pared de VD presentó remplazo grasa y fibrosis, con alguna área de inflamación linfocitaria, se planteó la posibilidad que pudiera ser secundaria a un proceso inflamatorio, además presentó signos de edema pulmonar crónico. Finalmente la necropsia diagnosticó una MAVD.

c) *Estudio molecular*

Se detectó la variante génica NP_001005242.2 p.S140F. Se localiza en el exón 3 de la región codificante del gen de la *PKP2*. Afecta un residuo conservado entre especies que produce un cambio de un aa polar no cargado (serina, S) (TCC) por un aa polar aromático (fenilalanina, F) (TTC) lo que supone grandes modificaciones en las propiedades físico-químicas, hidrofobicidad, carga, masa, y polaridad (distancia Grantham: 155). El aa 140 se encuentra en el extremo N-t de la proteína.

Esta variante está referenciada en la bases de datos NCBI y *Ensembl* como **probablemente benigna o no patogénica**. También aparece reportada en dbSNP del NCBI con el identificador rs150821281 [247] y en HGMD con el identificador CM043054 [115;242], donde se relaciona con displasia arritmogénica del ventrículo derecho. Por otra parte en ESP se ha identificado, en heterocigosis en 25 de 4300 sujetos de origen Europeo-Americano (MAF: 0,2907).

En este caso se decidió continuar el estudio y comprobar si había otros genes implicados y se detectó la segunda variante génica; NP_001026.2 p.S376F. Se localiza

en el exón 13 de la región codificante de la *RyR2*. La sustitución, afecta a un residuo conservado e implica el cambio de un aa polar no cargado (Serina, S) (TTT), a un aa polar aromático (fenilalanina, F) (TGT), lo que supone elevadas modificaciones en las propiedades físico-químicas polaridad, hidrofobicidad y masa (distancia Grantham: 155). El aa 376 se encuentra en el extremo N-t. Esta variante no ha sido previamente publicada ni ha sido informada en las principales bases de datos de genotipado en población general. Se realizó el estudio *in silico* del efecto de la sustitución del aa S por F en el residuo 376 (**Tabla 46**).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 12, se estudiaron 21 familiares, 9 varones y 13 mujeres; IV.8 con la cual existe consanguinidad, no estaba afectada y no presentó ninguna de las dos variantes.

V.9, III.3, III.7, IV.10, IV.6, V.2, V.3 tampoco estaban afectados ni presentaron ninguna de las dos variantes. IV.12 no estaba afectada y III.9 presentó un ECO anormal pero no diagnóstico, ambas eran portadoras de S376F pero no de S140F.

III.8, III.1, IV.4, V.1 ninguno de ellos estaba afectado. III.4 posiblemente estuviera afectada y IV.2 presentó ECG rigurosamente normal y ECO con una FE en el límite bajo, endocardio con irregularidades y VD con hipertrabeculaciones, la resonancia realizada mostró dilatación leve de ambos ventrículos con hipertrabeculaciones, todos ellos presentaron genotipo positivo para S140F y negativo para S376F.

IV.1 no fue evaluada fenotípicamente y no es portadora de S140F, V.11, V.4, V.5 ninguno estaba afectado fenotípicamente y no eran portadores de S140F. III.5 falleció por leucemia a los 60 años.

La variante S140F presentó, una penetrancia incompleta del 28,5%, la edad media de los portadores no afectados fue de 50,8 años. Destaca que los únicos dos afectados de esta familia son portadores de la variante. (**Figura 38-Tabla 33**). Por otro lado, la variante S376F presenta una penetrancia incompleta del 33,3% y no cosegrega con la enfermedad, siendo la edad media de los portadores no afectados de 46,5 años.

Familia 12

PKP2(S140F)/RyR2(S376F)

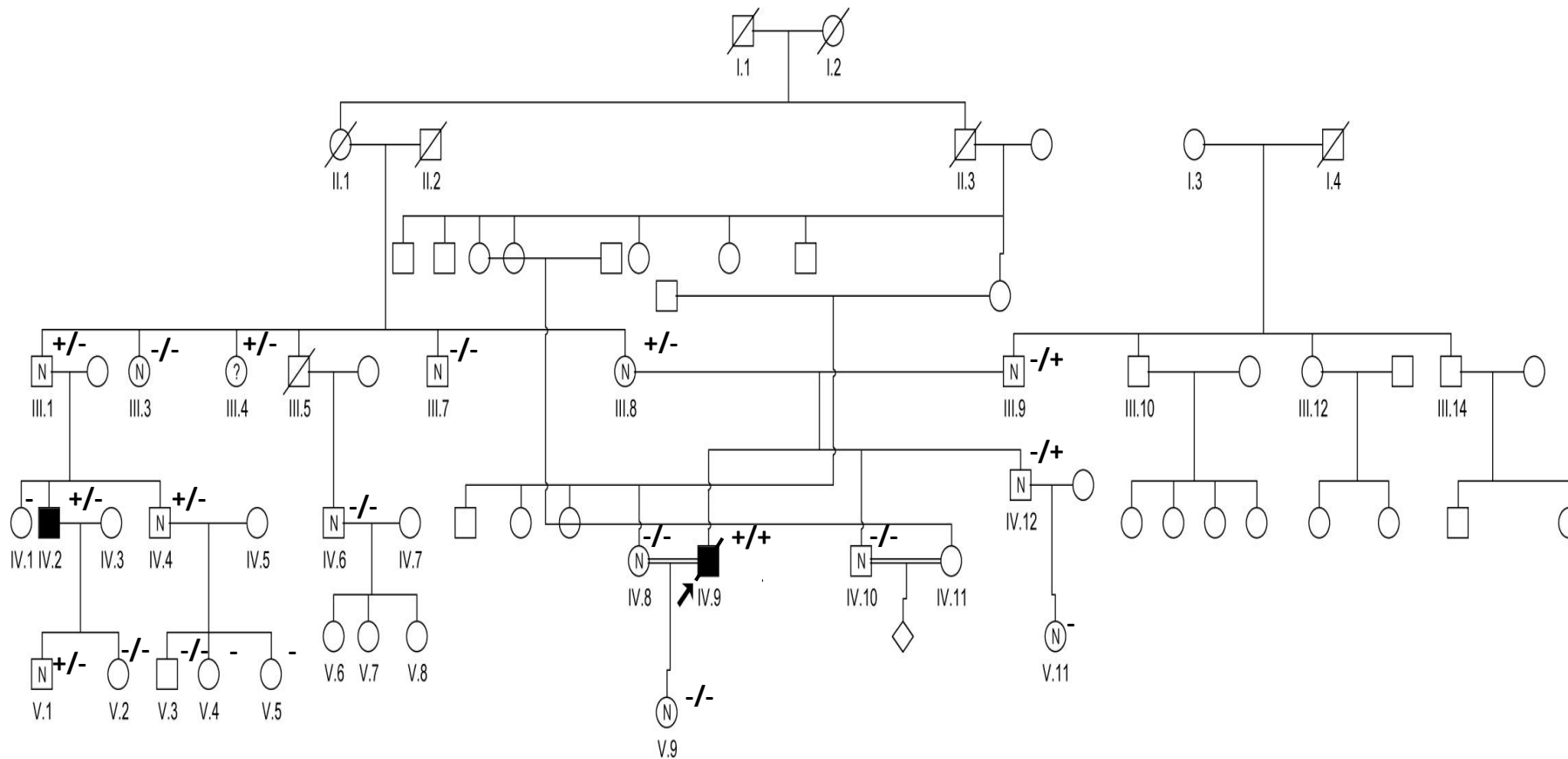


Figura 38. Árbol familiar de la familia 12 de casos portadores de las variantes S140F en PKP y S376F en RyR2

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo S140F/ S376F	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	DAI
IV.9	V	29	+/+	Afectado	P	N	NR	D	NR	N
IV.8	M	29	-/-	No afectada	F	S (vasovagal)	Normal	Normal	NR	N
V.9	M	6	-/-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	N
IV.10	V	26	-/-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	N
IV.12	V	33	-/+	No afectado	F	N	Normal	normal	NR	N
V.11	V	3	-/NR	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	N
III.8	M	60	+/-	No afectada	F	S	AND	Normal	Normal (no TVNS)	N
III.9	V	60	-/+	AND	F	N	Normal	AND	Normal (no TVNS)	N
III.1	V	77	+/-	No afectado	F	N	Normal	AND	NR	N
III.3	M	70	-/-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	N
III.4	M	74	+/-	Posiblemente afectada	F	N	Posiblemente patológico	Normal	NR	N
III.7	V	63	-/-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	N
IV.1	M	39	-/NR	No evaluada	F	N	NR	NR	NR	N

Tabla 35 (Continuación)

I.2	V	41	+/-	Afectado	F	N	Normal	D	Normal (no TVNS)	N
IV.4	V	42	+/-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	N
IV.6	V	46	-/-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	N
V.1	V	1	+/-	No afectado	F	N	NR	NR	NR	N
V.2	M	5	-/-	No afectada	F	N	NR	NR	NR	N
V.3	V	5	-/-	No afectado	F	N	NR	NR	NR	N
V.4	M	7	-/NR	No afectada	F	N	NR	NR	NR	N
V.5	M	0.5	-/NR	No afectada	F	N	NR	NR	NR	N

Tabla 35. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 12. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

Caso 13**a) Contexto demográfico**

El probando de la familia 13 era una mujer de 35 años de edad, de nacionalidad Suiza, que sufrió un episodio de MS mientras dormía. Era deportista, llevaba una vida muy activa, y no tenía factores de riesgo conocidos.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

El examen *postmortem* demostró que la causa de la muerte fue un fracaso ventricular, el corazón pesó 210 g y las medidas de VI, tabique y VD fueron las siguientes; 1 cm, 1 cm y 0,1 cm respectivamente. Presentaba una fibrosis e infiltración grasa de la pared ventricular derecha muy superior a la esperable en una mujer de su edad. Además, existían criterios morfológicos que sugirieron una fibrilación ventricular, como son las fibras entrecortadas alternadas con otras elongadas.

Microscópicamente se observó que el ventrículo derecho mostraba una sustitución parcial del miocardio por tejido fibroso, de manera frecuente en el subendocardio y también en parches en el espesor miocárdico. Este tejido se acompañaba de focos de infiltración grasa que se extendía por toda la pared, sustituyendo al miocardio que, en los fascículos respetados, mostraba cambios hipertróficos. No se apreciaron anomalías en el sistema de conducción. El miocardio de ambos ventrículos y sobre todo el izquierdo, mostraba elongación de fibras con aspecto ondulado que contrastaba con fascículos entrecortados y fragmentados. No se apreciaron cambios de tipo *disarray* ni signos inflamatorios. Finalmente la necropsia diagnosticó una MAVD.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_002221.1 p.P35T. Está localizada en el exón 2 de la región codificante del gen de la *PKG/JUP*. Afecta a un residuo moderadamente conservado (P35) y produce un cambio de un aa no polar (Prolina, P) (CCC) a otro polar no cargado (Treonina, T) (ACC). Hay pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas hidrofobicidad, masa y polaridad entre P y T (distancia Grantham: 38). El aa P35 pertenece dominio N-t de la PKG (aas 1-131), región que constituye el dominio regulatorio de esta proteína y que participa en la unión de los filamentos intermedios y el citoesqueleto de la actina con los complejos transmembrana que conectan las células adyacentes.

La variante génica P35T no ha sido identificada hasta la fecha en bases de datos que incluyen información genética de miles de individuos de distintas etnias (dbSNP del NCBI, ESP, *Ensemble*). Por otro lado en ESP, se informa de más de 60 variantes que afectan a la misma isoforma que P35T, identificadas con baja frecuencia en individuos sanos, algunas de ellas asociadas a cambios más significativos en las propiedades fisicoquímicas del residuo mutado.

Se realizó el estudio *in silico* de la sustitución del aa P por T en el residuo 35 (**Tabla 46**).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 13, se estudiaron 13 familiares; III.7 no era portador ni estaba afectado fenotípicamente. II.11, III.12 fallecieron en circunstancias extrañas, al parecer no estaban afectados fenotípicamente según datos anteriores al fallecimiento, no tenían realizado el estudio molecular, además III.12 fue donante de corazón, el receptor no tiene MAVD, aunque el tratamiento inmunosupresor en el trasplante podría haber tenido un factor protector. IV.2 e IV.3 no estaban afectas. II.5, II.10 presentaban genotipo positivo pero no se consideraron afectados fenotípicamente, aunque II.10 si resultó tener un *Holter* patológico con extrasistólia auricular frecuente con dupletes y taquicardia ectópica auricular, sin arritmias ventriculares ni bloqueo. III.1 presentó un genotipo positivo y III.5, II.8 negativo, los tres tuvieron un QRS de bajo voltaje en la ECG, que se consideró anormal pero no diagnóstico. II.6 con genotipo positivo presentó parametros alterados con QRS de bajo voltaje pero menos llamativo que los anteriores.

Por otro lado III.3, con genotipo negativo, presentó una prueba de esfuerzo postiva para isquemia, tanto la ECO como la RMN realizadas se consideraron anormales, observandose en esta ultima, el VI con hipertrofia septal asimetrica con maximo de 1,6 cm y VD normal. II.4, no es portador, según la ECO cumpliría criterios de MCH.

La variante presentó en la familia 13 una penetrancia incompleta del 20,0%, no se pudo realizar estudio de cosegregación por que sólo hay un afectado de MAVD con la alteración genética (**Figura 39 - Tabla 36**).

Familia 13

PKG/JUP (P35T)

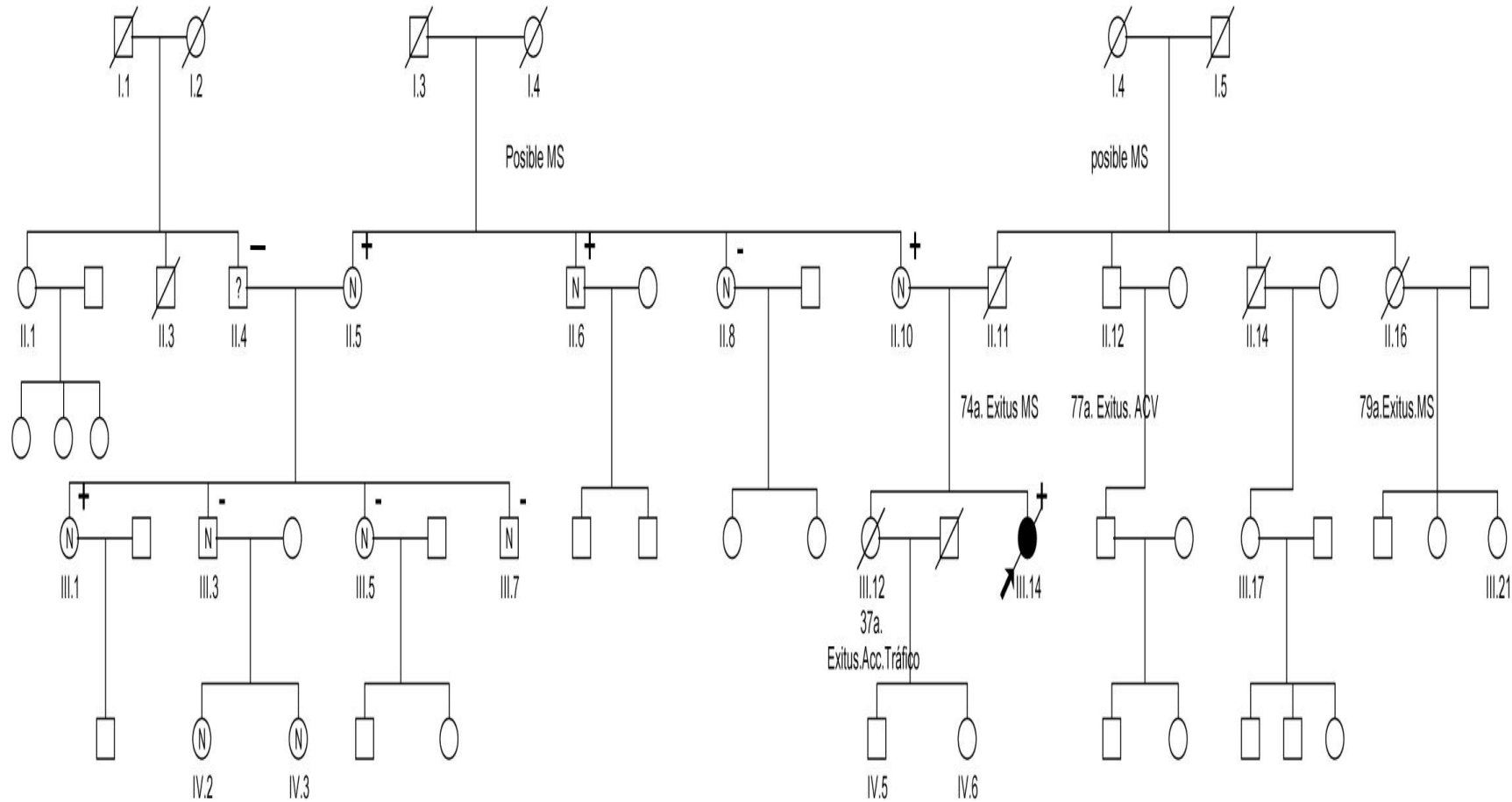


Figura 39. Árbol familiar de la familia 13 de casos portadores de la variante P35T en PKG/JUP.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	DAI
II.4	V	67	-	AND	F	N	AND	AND	NR	N
II.5	M	70	+	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	N
II.6	V	81	+	AND	F	N	Normal	AND	NR	N
II.8	M	78	-	AND	F	N	Normal	NR	NR	N
II.10	M	73	+	No afectada	F	N	Normal	Normal	Patológico	N
II.11	V	71	NR	No	F	N	Normal	NR	NR	N
III.1	M	43	+	AND	F	N	AND	Normal	NR	N
III.3	V	42	-	AND	F	N	Normal	AND	Normal (no TVNS)	N
III.5	M	41	-	AND	F	N	AND	Normal	NR	N
III.7	V	30	-	No	F	N	Normal	Normal	NR	N
III.12	M	39	NR	No afectada	F	N	Normal	AND	NR	N
III.14	M	35	+	Afectada	P	N	NR	NR	NR	N
IV.2	M	11	NR	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	N
IV.3	M	18	NR	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	N

Tabla 36. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 13. P/F Probando/ Familiar. NR no realizado. N no/ S sí. D diagnóstico/ AND anormal no diagnóstico.

Caso 14

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 14 era un varón de 45 años de edad, que sufrió un episodio de parada cardiaca resucitada, mientras conducía. No había tenido síncope previos. Padecía HTA reactiva sin tratamiento, como datos adicionales; era dislipémico leve y exfumador.

b) Estudio clínico

La ECO era normal salvo porque el ventrículo derecho podría estar dilatado y por la presencia de la FE en límite bajo de la normalidad. En el TAC realizado con

anterioridad se informó de pequeña saculación discinética en pared libre de VD y leve acinesia segmentaria del TSVD (3,3cm). Se implantó un DAI monocameral por prevención secundaria. Se estudio genéticamente como MAVD.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_068831.1p:Thr19Ile. Se localizada en el exón 2 de la región codificante del gen de la *PKG/JUP*. Afecta a un residuo conservado y produce un cambio de un aa polar no cargado (treonina, T) (ACC) a otro no polar (isoleucina, I) (ATC), lo que supone moderadas modificaciones físico-químicas en la masa, polaridad e hidrofobicidad (distancia Grantham: 89). Esta variante ha sido descrita como **variante de significado clínico incierto** en la base de datos LOVD, también fue identificada en la base de datos HGMD con el identificador CM098198 [248], donde se relacionó de manera dudosa con MAVD. No se encontró en otras bases de datos con información sobre la materia.

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 14, se estudiaron 4 familiares; 3 varones y una mujer; III.15, III.19, IV.9, ninguno estaba afectado y tuvieron genotipo negativo. III.13 estaba afectado, los resultados de ECG, ECO y resonancia fueron normales. El Holter fue patológico con 735 EVs, un episodio de TVNS de 5 latidos a 140 lpm y un episodio de taquiarritmia de 8 segundos que se inicia con 4 latidos de QRS ancho aunque el individuo estaba claramente afectado, fue imposible obtener muestra sanguínea para el estudio molecular. Basando el cálculo en el único portador, la variante presentó una penetrancia del 100%, el hecho de que el hermano estuviera afectado fenotípicamente, hizo suponer que podría ser también portador la variante. Por otro lado en esta familia hay historia familiar de MS (**Figura 40 - Tabla 37**).

Familia 14

PKG/JUP (T19I)

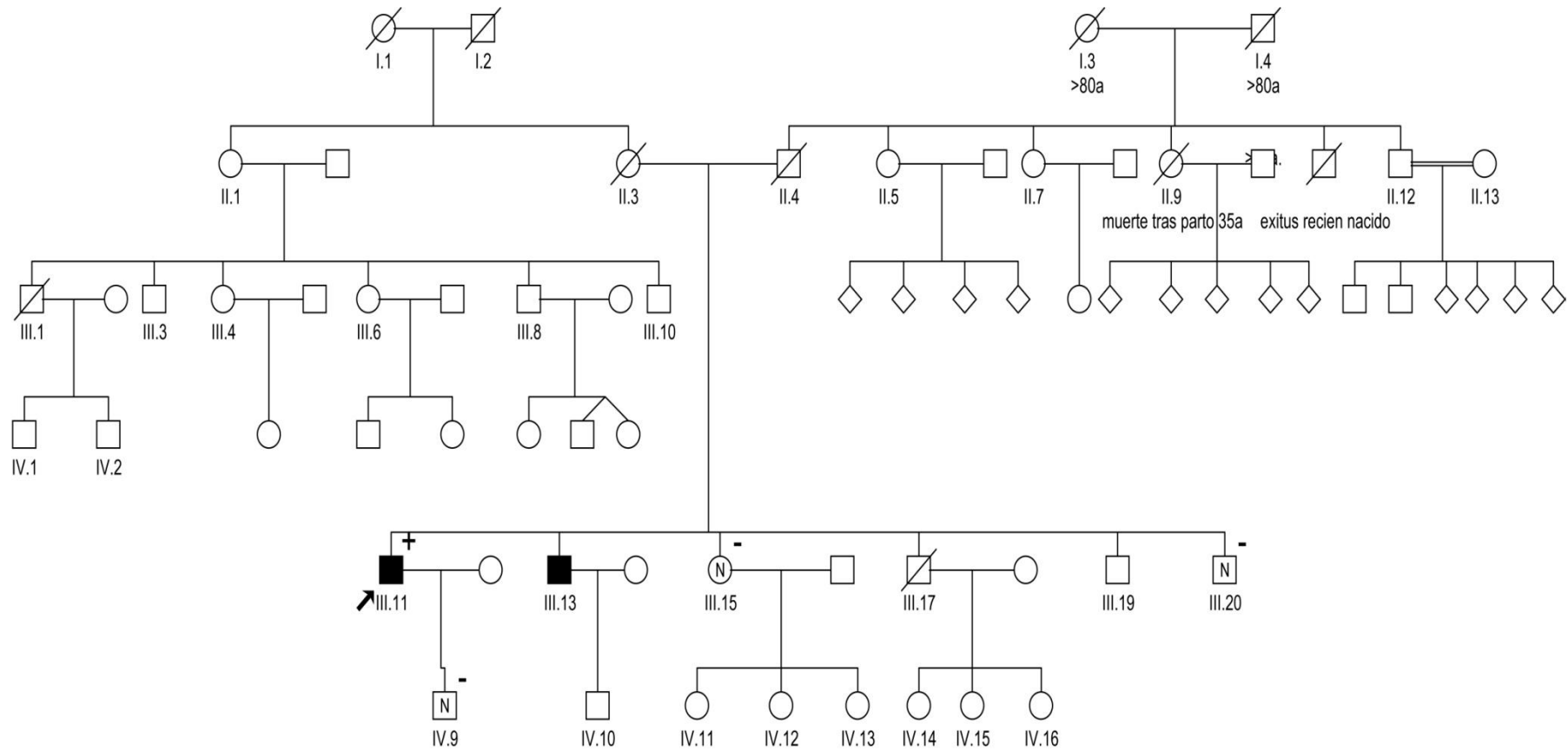


Figura 40. Árbol familiar de la familia 14 de casos portadores de la variante T19I en PKG/JUP.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECG	Holter	DAI
III.11	V	45	+	Afectado	P	N	AND	Normal	Normal	SI
III.13	V	48	NR	Afectado	F	N	Normal	Normal	Patológico (TVNS)	N
III.15	M	48	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	N
III.20	V	29	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	N
IV.9	V	6	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	N

Tabla 37. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 14. P/F Probando/ Familiar. NR no realizado. N no/ S sí. D diagnóstico/ AND anormal no diagnóstico.

Caso 15

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 15 era un varón con 33 años de edad, procedente de Rumania, sin episodios previos de síncope ni síntomas cardiológicos, que sufrió un episodio de MS mientras se encontraba en reposo.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

El examen *postmortem* demostró que la causa de la muerte era atribuible a un fracaso cardíaco izquierdo por el edema pulmonar masivo bilateral observado. En lo que concierne a la lesión cardíaca, existía hipertrofia que afectaba a ambos ventrículos aunque era más acusado en el izquierdo donde, junto a los criterios de hipertrofia nuclear se observó una severa fragmentación con adelgazamiento y desorganización de fibras. El corazón pesó 380 g y las medidas de VI, tabique y VD fueron las siguientes; 1 cm, 1 cm y 0,4 cm respectivamente. Según la información con la que se dispuso, el patrón general no era de MCH clásica pero la fibrosis de fibras aisladas podría haber correspondido con una forma restrictiva de la misma. También se observó una infiltración grasa del ventrículo derecho, focalmente importante. Las lesiones miocárdicas no fueron concluyentes, por lo que se investigaron genes asociados tanto a MCH y a MAVD. En cuanto al estudio microscópico se observaron signos de hipertrofia biventricular. Fibras miocárdicas fragmentadas con formas irregulares y fibras muy adelgazadas casi filiformes. La pared del VD tenía un área con infiltración fibroadiposa.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante, NP_001935:p.Ala969Val, localizada en el exón 15 de la región codificante del gen de la *DSG2*. Afecta a un residuo altamente conservado (A969), que supone el cambio de un aa no polar (alanina, A) (GCT), a otro no polar (valina, V) (GTT) lo que supone pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas, hidrofobicidad y masa (distancia Grantham: 64). El aa A969 se encuentra en el extremo C-t citoplasmático, entre los aas (881-1051), este dominio se considera que forma las láminas β de la proteína. La variante, ha sido identificada en diferentes bases de datos: NCBI, *Ensemble*, donde la catalogan como una **variante de significado clínico incierto**, también aparece en la dbSNP con el identificador rs373598034. En el proyecto ESP se identificó en heterocigosis en 1 de 4166 sujetos de origen Europeo-Americano y MAF (0,012).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 15, se estudiaron 3 familiares, todas ellas mujeres; I.2 no estaba afectada y no presentó la variante. II.3 mostró un ECG normal, ECO con hipertrabeculación apical y FE con límite bajo, fue la resonancia cardiaca la que confirmó que estaba claramente afectada, orientando el diagnóstico hacia MAVD, aunque su genotipo fue negativo. III.1 se estudió en pediatría y presentó ECG normal, excepto por la hipertrabeculación (<2 de ratio), aunque con sospechosa de estar afectada no se dispuso de muestra de DNA para la realización del estudio molecular. La variante presentó una penetrancia del 100% y no cosegrega con la enfermedad en esta familia (**Figura 41-Tabla 38**).

Familia 15

DSG2 (A969V)

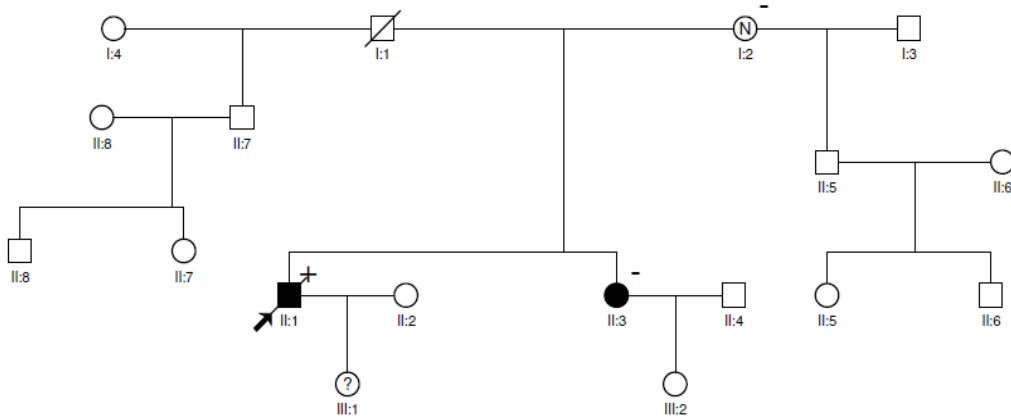


Figura 41. Árbol familiar de la familia 15 de casos portadores de la variante A969V en DSG2.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	DAI
I.2	M	60	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	N
II.1	V	33	+	Afectado	p	N	NR	NR	NR	N
II.3	M	34	-	Afectada	F	N	Normal	D	Normal (no TVNS)	N
III.1	M	4	NR	Probablemente afectada	F	N	Normal	Probablemente patológico	NR	N

Tabla 36. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 15. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

3.2.4. Síndrome de QT Largo

Caso 16

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 16, era un niño de 10 años de edad que sufrió un episodio de parada cardíaca resucitada, mientras se encontraba de campamento. Una semana antes del episodio de muerte súbita resucitada tuvo un síncope (etiquetado de crisis convulsiva), en relación con la natación (tras salir de la piscina). El paciente era autista y estaba en tratamiento neuroléptico y simpaticomimético.

b) Estudio clínico

Sufrió daño cerebral muy importante, en muerte encefálica. Ingresó en UCI, se realizó una ECO al parecer normal y en el ECG se objetivó QT largo (QTc 470 mseg).

c) Estudio molecular

Se detectó NP_000209.2:p.Arg533Trp, localizada en el exón 13 de la región codificante del gen *KCNQ1*. Afecta a un residuo altamente conservado (R533), que produce un cambio de un aa polar positivo básico (arginina, R) a otro no polar (triptófano, W), lo que supone modificaciones en las propiedades físico-químicas en la masa, carga, hidrofobicidad y polaridad (distancia de Grantham: 101). El aa R533 se encuentra en el extremo intracelular C-t, del canal de K⁺ Kv7.1 responsable de la corriente IKs (**Figura 42**).

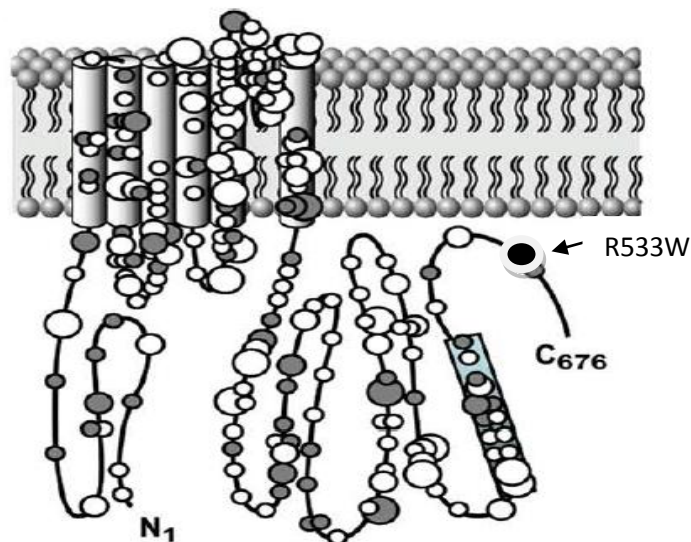


Figura 42. Localización esquemática de la variante asociada a SQT en KvLQT1, identificada en este estudio. Adaptado de Kapplinger y col. [249].

Esta variante ha sido referenciada por la base de datos NCBI y *Ensemble* como una variante **patogénica o probablemente patogénica**, donde se ha relacionado con

SQTL congénito. También aparece descrita en dbSNP del NCBI con el identificador rs199472793 [250] y en HGMD con el identificador CM003453 [250], donde también se relaciona con SQTL.

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 16, se estudiaron 3 familiares; 2 varones y 1 mujer; II.2 era portador de la variante de su hijo y aunque todas las pruebas diagnósticas fueron normales, la ECO presentó algunas alteraciones inespecíficas. II.1 fue considerada como probablemente afectada, por presentar ECG con leve elevación del ST en V1V2 y ECO normal. Además, tenía antecedentes de taquicardias paroxísticas, el Holter solicitado fue patológico con TVNS de 5 latidos a 160 lpm. Sin embargo no era portadora de la alteración genética de su hijo, por lo que en ésta familia se consideró la posibilidad de que pudieran existir dos patologías distintas. III.2 presentó ECG y ECO normales y no era portador. La variante génica presentó una penetrancia incompleta del 50,0%, el estudio de cosegregación no pudo ser realizado por existir solamente un individuo claramente afectado. **(Figura 43- Tabla 39).**

Familia 16

KCNQ1(R533W)

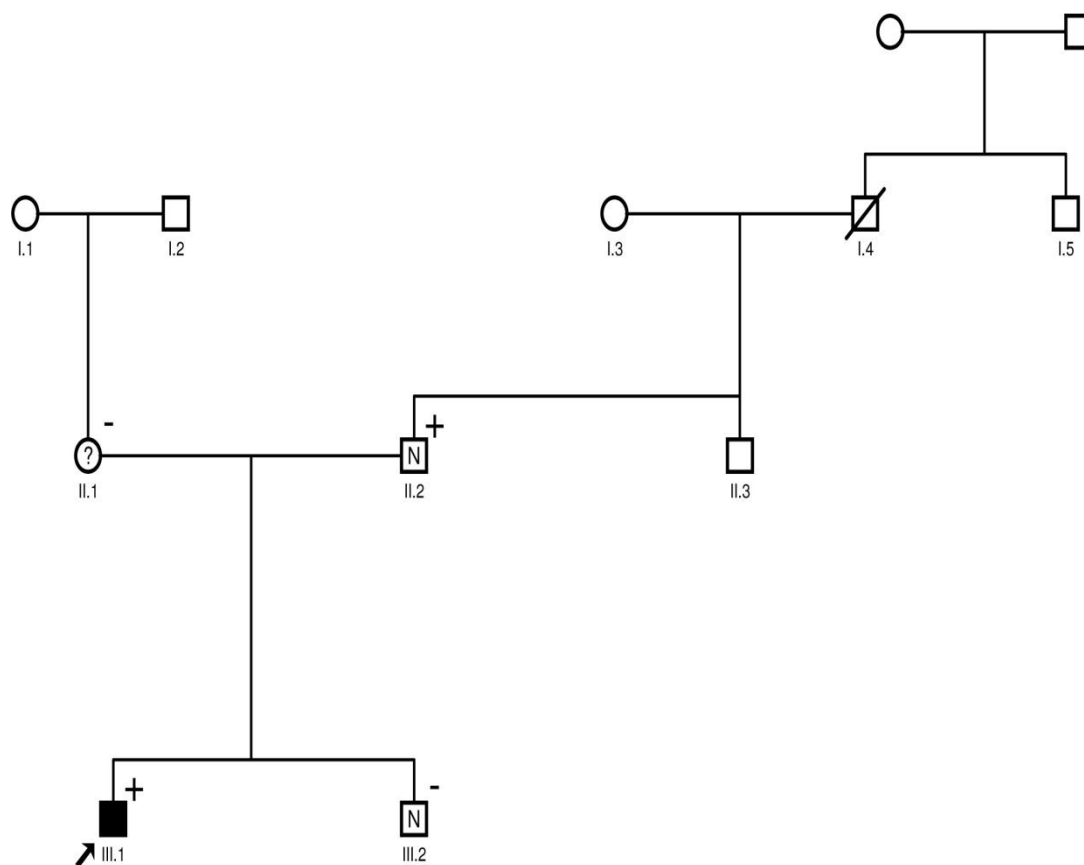


Figura 43. Árbol familiar de la familia 16 de casos portadores de la variante R533W en KCNQ1.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	QTc	DAI
II.1	M	47	-	Probablemente afectado	F	N	Normal	Normal	Patológico (TVNS)	Normal	N
II.2	V	49	+	AND	F	N	Normal	AND	Normal (no TVNS)	Normal	N
III.1	V	10	+	Afectado	P	S	AND	Normal	NR	470	N
III.2	V	8	-	No Afectado	F	N	Normal	Normal	NR		N

Tabla 39. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 16. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

Caso 17

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 17, era una mujer de 54 años de edad, que sufrió, episodio de parada cardiaca resucitada, cuando realizaba una actividad de su vida diaria (salió a tirar la basura por la noche). Al parecer no tuvo síntomas previos. Se evidenció FV, se realizó una reanimación prolongada y un tratamiento de hipotermia con muy buen resultado, sin quedar secuelas cerebrales. Había consultado al cardiólogo por palpitaciones, en el Holter realizado presentó TVNS.

b) Estudio clínico

Se realizó test de adrenalina que fue negativo (QTc basal de 470 mseg que no se modificó). La ECO mostró disfunción del VI con FE 45%, VD normal. El ECG mostró BAV de primer grado, QS V1-V2, T aplanada, QT 480 mseg. En la Resonancia el VI presentaba una dimensión normal con disfunción sistólica severa a expensas de hipocinesia global, VD era normal en volumen y función, sin imágenes de fibrosis en la secuencia de realce. A la paciente se le implantó un DAI monocameral. Aunque se sospechó SCTL, la paciente quedó sin diagnóstico clínico concluyente.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_001008844.1:p.Asp2070Asn, localizada en el exón 24 de la región codificante del gen *DSP*. La variante afecta a un residuo altamente conservado (D2070) que produce un cambio de un aa polar positivo ácido (ácido aspártico, D) (GAC) a otro polar no cargado (asparragina, N) (AAC), lo que supone

pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas en la masa y en la carga (distancia Grantham: 23). El aa 2070 se encuentra en el extremo C-t de la DSP.

Esta variante está referenciada en las bases de datos NCBI y *Ensembl* como una variante **probablemente no patogénica**. También aparece recogida en otras fuentes como; el proyecto 1000 genomas, en dbSNP con el identificador rs41302885 [251]. Por otra parte en el proyecto ESP, fue identificada en heterocigosis en 39 de 4261 individuos de origen Americano y Europeo (MAF: 0.4535). Estos datos sugieren que D2070N podría considerarse un polimorfismo.

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

En la familia 17 se estudiaron 7 familiares; 3 varones y 4 mujeres; II.4 presentó un ECG anormal con Q o mínima R de V1-V6. T negativa de V1-V3, BAV primer grado (222 ms), la ECO fue normal. Aunque se consideró como probablemente afectada, no portaba la variante de su hija.

III.8, IV.1, IV.6, IV.7, tenían ECG y ECO normales y eran portadores y III.10, IV.8 que teniendo ECG y ECO normales eran portadores de la variante. En el caso de que el fenotipo fuese de SQTl, la variante génica tendría una penetrancia incompleta del 33,3 %. No fue posible realizar el estudio de cosegregación porque solo hubo un portador afectado (**Figura 44 -Tabla 40**).

Familia 17

DSP (D2070N)

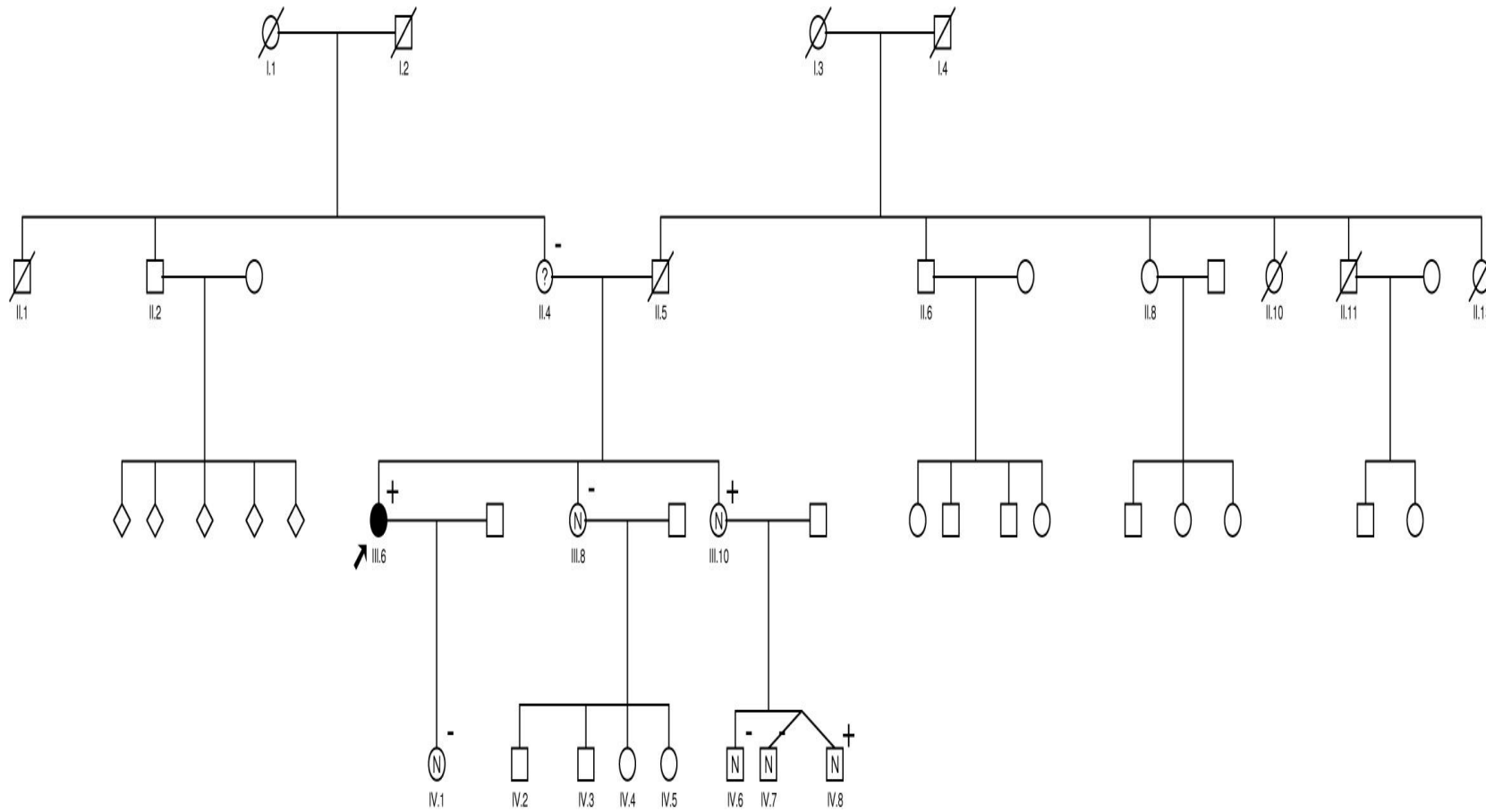


Figura 44. Árbol familiar de la familia 17 de casos portadores de la variante D2070N en DSP

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	QTc	DAI
II.4	M	90	-	Probablemente afectado	F	N	AND	Normal	NR	Normal	N
III.6	M	54	+	Afectada	P	N	D	D	Patológico (TVNS)	450	S
III.8	M	65	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.10	M	63	+	No afectada	F	N	Normal	Normal	Normal	Normal	N
IV.1	M	26	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
IV.6	V	36	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
IV.7	V	36	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
IV.8	V	39	+	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N

Tabla 40. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 17. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

Caso 18**a) Contexto demográfico**

El probando de la familia 18, era una mujer de 56 años de edad que sufrió un episodio de parada cardíaca resucitada, mientras dormía.

b) Estudio clínico

Fue diagnosticada de QT largo tras episodios de síncope (3 en las 24 horas previas al ingreso) y varios episodios en días posteriores (unos 5 episodios en 10 días), además empeoraba con betabloqueantes. QTc en ECG de 500 mseg y QTc normal, resto de ECG posteriores mostraron una morfología normal. Las EV, con fenómeno R sobre T, fueron frecuentes. Como prevención secundaria se le implantó DAI bicameral, se realizó además ablación del EV que causó la FV. Quedó estable. A los 3 años tuvo una recurrencia de la arritmia, que fue tratada adecuadamente por el DAI.

c) Estudio molecular

Se identificó la variante génica NP_000713.2: p. S661L, localizada en el exón 25 de la región codificante del gen *CACNA2D1*, el cual codifica para la cadena alfa-2-1 del canal de calcio dependiente de voltaje. Afecta a un residuo altamente conservado (S661), que produce un cambio de un aa polar no cargado (Serina, S) (TCG) a otro no polar (Leucina, L) (TTG) lo que supone grandes modificaciones en las propiedades físico-químicas masa, polaridad e hidrofobicidad (distancia Grantham: 145). El aa S661 se localiza en la región extracelular de *CACNA2D1* (aas 25-1073).

La segunda variante, NP_002825.3:p.V490I, está localizada en el exón 13 del gen *PTPN11*, el cual codifica una proteína que forma parte de la familia de las tirosin fosfatasas, encargadas de regular procesos como el crecimiento y diferenciación celular. La variante afecta a un residuo altamente conservado (V490), que produce un cambio de un aa no polar (Valina, Val) (GTT) a otro no polar (Isoleucina, I) (ATT), lo que supone pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas de hidrofobicidad y masa (distancia Grantham: 29). El aa V490 se encuentra en el dominio catalítico-PTP (*protein tyrosine phosphatase*).

Ninguna de las 2 variantes génicas fueron identificaron en bases de datos utilizadas. Se realizó el estudio *in silico* para ambas (**Tabla 46**).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

Se continuó el estudio genético de la variante S661L, pues la variante V490I, identificada en el gen *PTPN11* se consideró una modificación puntual en el probando que no se relacionaba con el fenotipo de esta familia. Se estudiaron 7 individuos de la familia 18; 2 varones y 5 mujeres; V.1, V.2, V.3, V.4 no estaban afectados pues presentaron ECO y ECG normales y no fue posible realizar el estudio molecular por no poseer muestra de estos individuos. IV.1, IV.4 no estaban afectados pero si presentaron genotipo positivo. IV.3 presentó genotipo negativo aunque posiblemente estuviera afectada con ECG sospechosa con T aplanada y QT difícil de valorar. ECO y Holter normales, aunque en la prueba de esfuerzo solicitada se consideró dudosa, ya que el QT estaba alargado basalmente y tuvo un comportamiento normal con esfuerzo (QTc 440 mseg). La variante génica, S661L presentó en la familia 18, una penetrancia incompleta del 33,3 %. No se pudo realizar el estudio de cosegregación porque sólo hubo un afectado con la alteración génica (**Figura 45-Tabla 41**).

Familia 18

CACNA2D1 (S661L)/PTPN11(V490I)

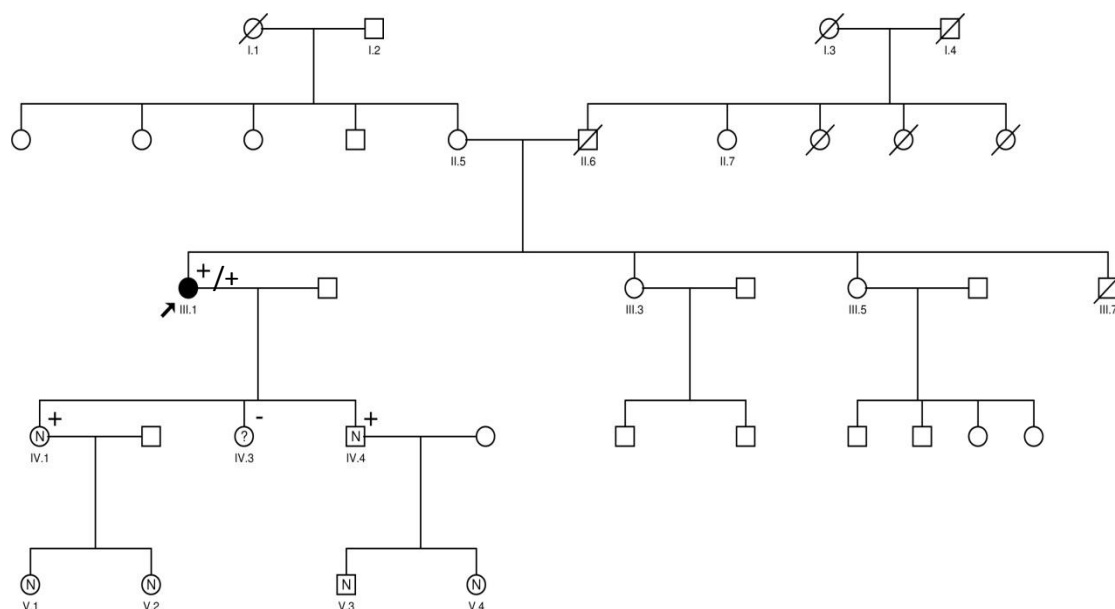


Figura 45. Árbol familiar de la familia 18 de casos portadores de las variantes S661L en *CACNA2D1* y V490I en *PTPN11*.

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	QTc (ms)	DAI
			CACNA2D1/PTPN11								
IV.1	M	36	+ / NR	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	Normal	N
IV.3	M	31	- / NR	Posiblemente afectada	F	N	AND	Normal	Normal	Normal	N
IV.4	V	40	+ / NR	No afectado	F	Presíncope	Normal	Normal	Normal	Normal	N
III.1	M	56	+ / +	Afectada	P	S	AND	Normal	Normal	500 ms	S
V.1	M	16	NR	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	-	N
V.2	M	2	NR	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	-	N
V.3	V	16	NR	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	-	N
V.4	M	12	NR	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	-	N

Tabla 41. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 18. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. . D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

3.2.5. SADS

Caso 19

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 19, era un niño de 13 años de edad, que sufrió un episodio de parada cardiaca resucitada mientras hacía deporte. Sufrió daño cerebral, como consecuencia de una importante hipoxia. No había tenido síntomas ni tratamientos previos, tampoco procesos febriles.

b) Estudio clínico

Se realizó ECO, ECG y resonancia cardiaca sin contraste que fueron aparentemente normales, en ECG posterior se evidenció una repolarización precoz con elevación del punto J tipo Haissaguerre. Fue estudiada genéticamente como parada cardiaca resucitada de etiología no filiada ó FV idiopática.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_000156.1:p.His126Asn, está localizada en el exón 2 de la región codificante del gen *GJA1*, el cual codifica para la proteína conexina43, que constituye uno de los componentes más abundantes de las uniones *gap* en el corazón. La variante afecta a un residuo altamente conservado (H126), que produce un cambio de un aa polar positivo básico (histidina, H) (CAC), a otro polar no cargado (asparagina, N) (AAC) lo que supone pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas hidrofobicidad, masa, y carga (distancia Grantham: 50). El aa H126 se localiza en 1 de los 3 dominios citoplasmáticos de *GJA1* (Aas 100-154). Esta variante genética no ha sido identificada hasta la fecha en bases de datos, ni estudios poblacionales. Se realizó el estudio *in silico* de la sustitución del aa H por N (**Tabla 46**).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

Se estudiaron 9 familiares, 4 varones y 5 mujeres todos ellos con genotipo negativo; I.1, I.3, I.4, II.1 mostraron parámetros anormales, muy sutiles e inespecíficos, pero no diagnósticos en el ECG y/o en la ECO. Entre el resto de individuos (II.2, II.3, II.4, II.5, III.2) no hubo ningún afectado fenotípicamente. (**Figura 46- Tabla 42**). Basando el cálculo en el único portador, la variante presentó una penetrancia del 100%, No se pudo realizar el estudio de cosegregación porque solo había un afectado con la alteración.

Familia 19

GJA1/ H126N

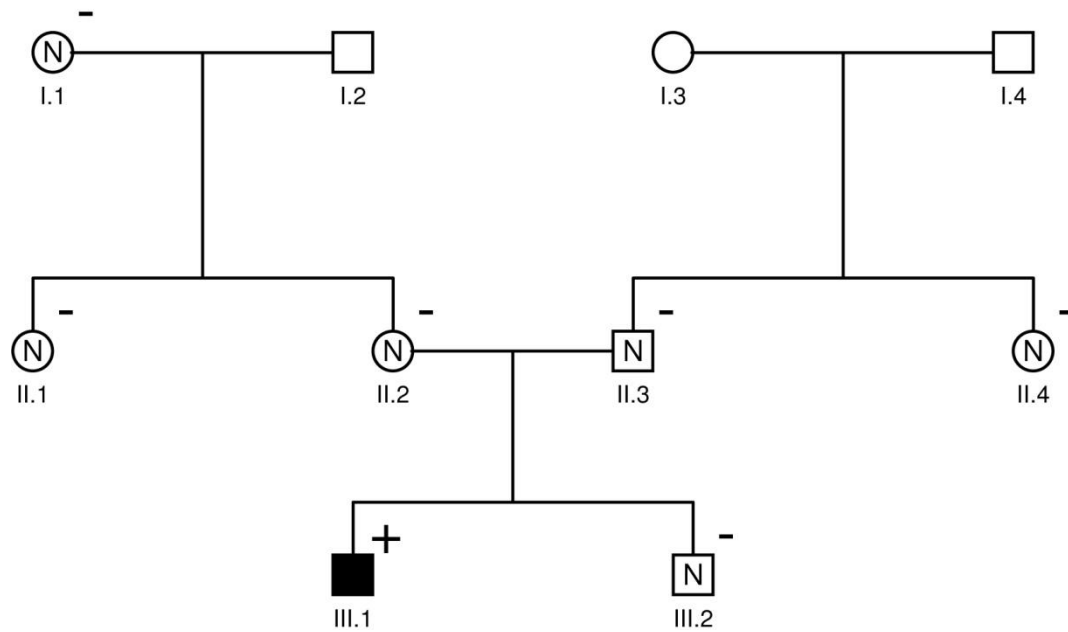


Figura 46. Árbol familiar de la familia 19 de casos portadores de la variante H126N en GJA1

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	QTc	DAI
I.1	M	78	-	AND	F	N	Normal	AND	NR	Normal	N
I.3	M	80	-	AND	F	N	AND	Normal	NR	470	N
I.4	V	84	-	AND	F	N	Normal	AND	NR	470	N
II.1	V	44	-	AND	F	N	AND	AND	NR	Normal	N
II.2	M	45	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
II.3	M	51	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	Normal	Normal	N
II.4	V	55	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	470	N
II.5	M	47	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
III.1	V	13	+	Afectado	P	N	Anormal	Normal	Normal	Normal	N
III.2	V	9	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	Normal	Normal	N

Tabla 42. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 19. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

3.2.6. Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica

Caso 20

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 20 era una niña de 15 años de edad que sufrió un episodio de MS en condiciones de estrés emocional, mientras presenciaba una pelea entre dos amigos. Había sufrido síncope desde la infancia (el primero a los 6 años) no relacionados con fiebre ni medicación, si con estrés y ansiedad. Las pruebas ecocardiográficas realizadas previamente al evento habían sido normales.

b) Estudio histológico (macroscópico y microscópico)

Tanto el estudio necrópsico macroscópico como microscópico fueron rigurosamente normales, el corazón pesó 220 g, las medidas del VD, tabique y VI fueron las siguientes: VI 1,1cm, Tabique 1,0cm, VD 0,4cm. Fue catalogada como autopsia blanca y estudiada genéticamente como taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica.

c) Estudio molecular

Se identificó la variante génica NP_001026.2: p.ValV4771Ile, localizada en el exón 100 de la región codificante en el gen *RyR2*. Afecta a un residuo altamente conservado (V4771), y produce un cambio de un aa no polar (Valina, Val) (GTT) a otro no polar (isoleucina, Ile) (ATT), lo que supone pequeñas modificaciones en las propiedades físico-químicas de hidrofobicidad y masa, (distancia Grantham: 29). El aa V477 se localiza en el segmento transmembrana de la proteína. La variante génica no se identificó en las bases de datos como HGMD, NCBI o *Ensembl*, tampoco ha sido descrita en estudios poblacionales. Se realizó un estudio *in silico* del cambio de los aas V por I en el residuo 4771 (**Tabla 46**).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

Se estudiaron 4 familiares, 2 varones y 2 mujeres (todos ellos de la familia materna pues la rama paterna rechazó el estudio); II.2, III.1, III.2, III.3 ninguno de ellos estaba afectado y ninguno presento la alteración. Si basamos el cálculo de la penetrancia en el único portador afectado, esta sería del 100% y por esta misma razón, el estudio de cosegregación no pudo realizarse (**Figura 47 - Tabla 43**).

Familia 20

RyR2(V4771I)

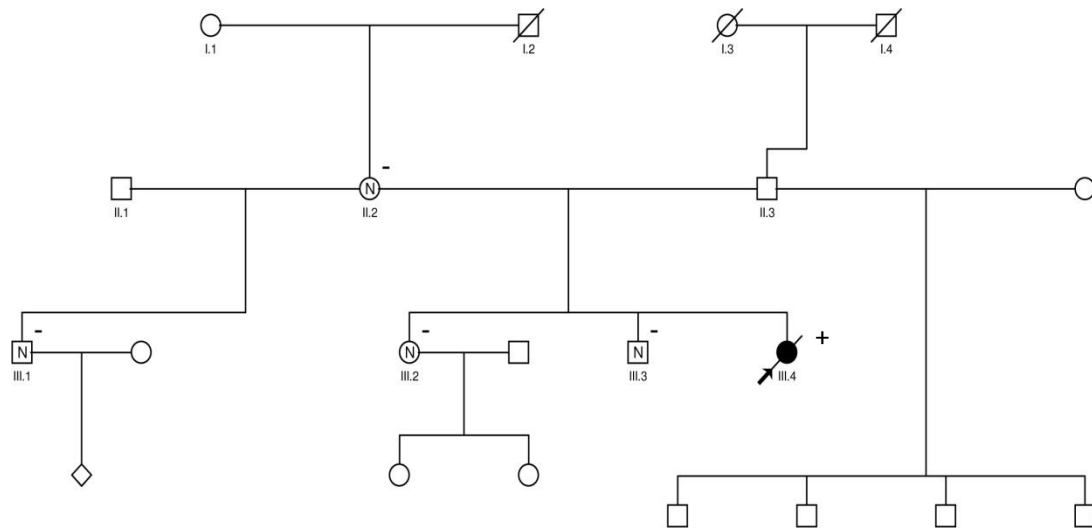


Figura 47. Árbol familiar de la familia 20 de casos portadores de la variante V4771I en RyR2

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	Prueba esfuerzo	TV clínica	DAI
II.2	M	48	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	NR	N	N
III.1	V	32	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	NR	N	N
III.2	M	15	-	No afectada	F	S	Normal	Normal	NR	Normal	N	N
III.3	V	19	-	No afectado	F	N	Normal	Normal	NR	NR	N	N
III.4	M	25	+	Afectada	P	S	Normal	NR	NR	NR	N	N

Tabla 43. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 20. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/ S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

3.2.7. Miocardiopatía no clasificable

Caso 21

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 21 era una mujer de 65 años de edad que sufrió un episodio de parada cardíaca resucitada tras una cena copiosa en casa. Notó dolor torácico y náuseas. A los 10 minutos de este episodio sintió rigidez y pérdida de conciencia. En el ECG realizado por los servicios de urgencia, se objetivó FV y 4 choques, tras cardioversión salió en ritmo sinusal lento con elevación de J y ST en V5 y V6 0.1 cm, presentaba alteraciones esqueléticas y aorta torácica con membrana en aorta descendente sin caída de presión, también sordera. Posteriormente el ECG se normalizó.

Esta paciente tenía antecedentes familiares de MS (tío paterno fallecido por MS a los 40 años de edad)

b) Estudio clínico

En revisiones posteriores presentó una ligera disfunción sistólica e hipertrabeculación, con; FE conservada, PR en el límite alto, RS de V1 V6 eje izquierdo y T aplanada en todas las derivaciones y negativa en V1-V2. En la resonancia realizada presentó necrosis transmural lateral. Fue estudiada como miocardiopatía no clasificable.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante silenciosa, NP_077740.1:p.Arg450Arg, se localiza en el exón 10 de la región codificante del gen *DSC2*. El aa R450 se encuentra en el dominio Cadherina 3 (aa 356-471) implicado en la adhesión célula a célula dependiente de Ca^{2+} . La variante fue identificada en bases de datos como NCBI, *Ensemble como benigna o probablemente benigna*. En dbSNP aparece recogida con el identificador rs144242114. Por otra parte según el proyecto ESP se halló en heterocigosis en 73 de 4263 individuos de origen Americano-Europeo (MAF: 0,4302).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

Aunque las bases de datos consultadas consideraban esta variante como probablemente benigna, por la HFMS que este caso presentaba, fueron estudiados genéticamente los familiares disponibles, 2 mujeres; IV.5 no estaba afectada y su genotipo fue normal y IV.6 probablemente afectada con ECG normal y ECO dudosa con hipertrabeculación posterior e inferior y también presentó genotipo negativo. Basando el cálculo en el único portador afectado la penetrancia fue del 100%, pero no fue posible realizar el estudio de cosegregación (**Figura 48-Tabla 44**).

Familia 21

DSC2 (R450R)

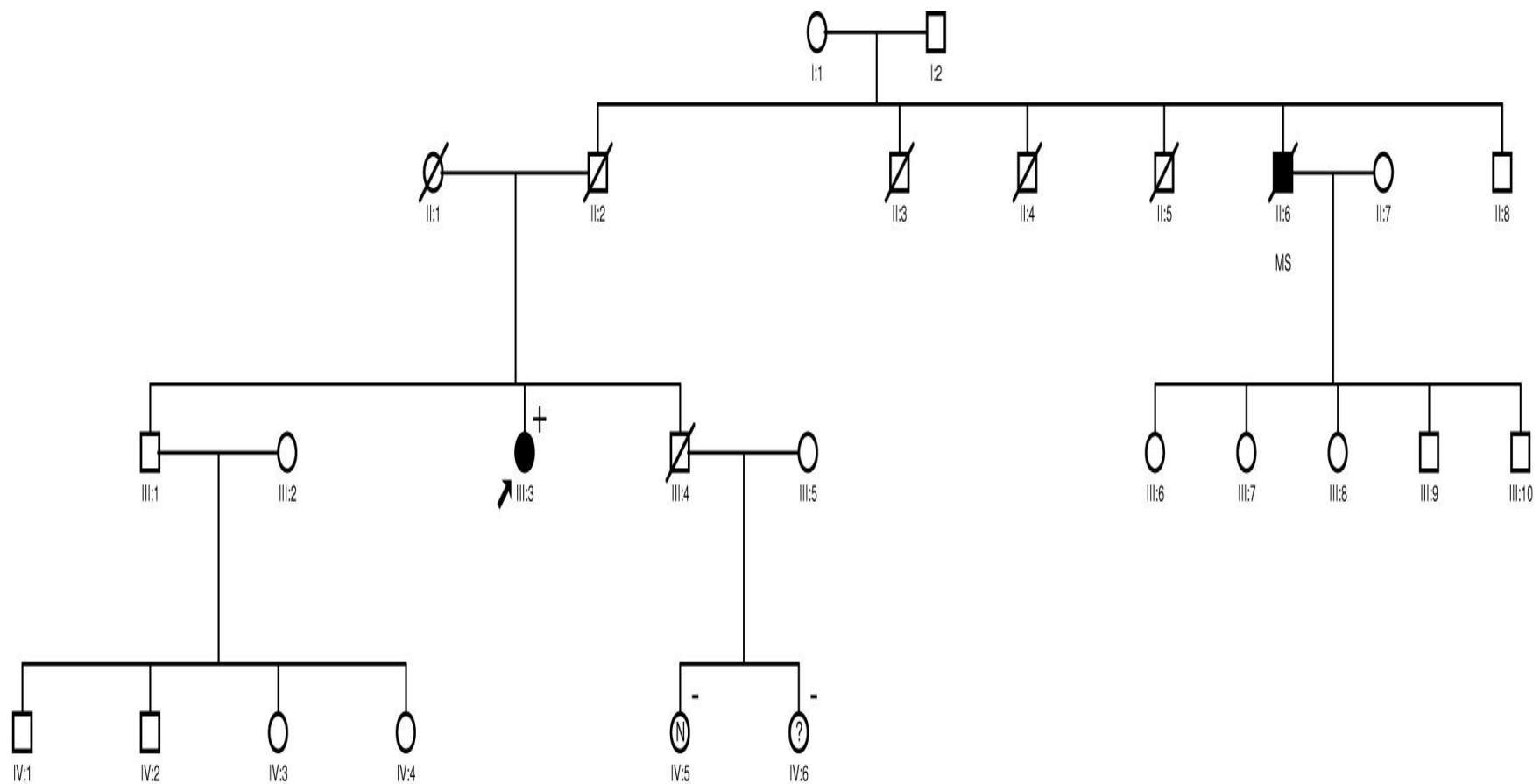


Figura 48. Árbol familiar de la familia 21 de casos portadores de la variante R450R en DSC2

Línea familiar	Sexo	Edad	Genotipo	Diagnóstico	P/F	Síncope	ECG	ECO	Holter	Grosor parietal (cm)	DAI
III.3	M	65	+	Afectada	P	N	D	AND	NR	Normal	N
IV.5	M	38	-	No afectada	F	N	Normal	Normal	NR	Normal	N
IV.6	M	38	-	Probablemente afectada	F	N	Normal	AND	NR	Normal	N

Tabla 44. Estudio genotipo-fenotipo de la familia 21. P/F: Probando/ Familiar. NR: no realizado. N: no/S: sí. D: diagnóstico. AND: anormal no diagnóstico.

Caso 22

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 22 era un varón de 21 años que sufrió un episodio de MS en su domicilio, mientras se encontraba en reposo. No tenía antecedentes excepto dislipémia.

b) Estudio histológico: macroscópico y microscópico

Macroscópicamente el corazón tenía aspecto globuloso y su peso fue de 525 g, las medidas de VI, tabique y VD fueron las siguientes, respectivamente: 1,0cm, 1,2cm y 0,5cm. Se apreciaba fibrosis con una cicatriz posterior en VI, junto al tabique. Además se observó fibrosis intersticial parcheada, difusa, similar a la que se puede observar con tóxicos y antraciclinas. Tenía hipertrofia, fibrosis que rodeaba a los fascículos nerviosos así como fibrosis neuromatosa que quizás produjera trastornos eléctricos. La fibrosis intersticial era importante y se halló algo de infiltrado inflamatorio (sin miocarditis). Microscópicamente no presentaba *disarray*, aunque si algo de desorganización. Los análisis de toxicología en el examen *postmortem* fueron positivos para cannabis pero negativo para otras drogas y tóxicos (negativo para cocaína), también presentaba edema pulmonar masivo bilateral. Fue estudiado como miocardiopatía no clasificable.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante génica NP_001934.2: p.Val920Gly en el gen de la *DSG2*, localizada en el exón 15 de la región codificante del gen. Afecta a un residuo altamente conservado entre especies y homólogos de *DSG2*. El cambio de valina (V) por glicina (G) en la posición 920 supone moderadas modificaciones en las propiedades físico-

químicas, hidrofobicidad y masa (distancia Grantham: 109). El aa V920 se encuentra en el extremo C-t citoplasmático de la proteína.

Esta variante ha sido referenciada por la base de datos NCBI y *Ensembl* como **probablemente benigna**. En la dbSNP aparece recogida con el identificador rs142841727 [110] y en la base de datos HGMD, con el identificador CM070920 [110;242;252] , donde se relaciona con MAVD. También aparece recogida en diversas bases de datos de genotipado en población general. La base ESP informa su identificación en 41 de 4135 individuos Europeo-Americanos (MAF: 0.4958). También aparece recogida en poblaciones de raza mixta en la base de datos del proyecto 1000 genomas, con frecuencias similares. Por tal motivo, su frecuencia en población general se acerca a la de un polimorfismo.

d) Estudio familiar: Correlación genotipo-fenotipo

No fue posible evaluar la penetrancia ni la cosegregación de esta variante en la familia, ya que no se reclutó ningún individuo para el estudio.

3.2.8. Convulsión febril (sin evidencia de enfermedad cardiaca)

Caso 23

a) Contexto demográfico

El probando de la familia 23, era una niña de 1 año de edad que sufrió un episodio de MS tras convulsiones febriles repetitivas.

b) Estudio histológico (macroscópico y microscópico)

Según el estudio necrópsico el corazón fue informado como normal.

c) Estudio molecular

Se detectó la variante genética, NP_751951.1:p.Ile57Thr, está localizada en el exón 2 de la región codificante del gen *KCNE2*. Afecta a un residuo altamente conservado (I57) y produce un cambio de un aa no polar (isoleucina, I) (ATC), a un aa polar no cargado (treonina, T) (ACC), que supone modificaciones moderadas en las propiedades físico-químicas hidrofobicidad, polaridad, y masa (Distancia Grantham: 89). El aa I57T se localizada en el segmento transmembrana de la proteína MiRP1 (aas 49-69). Esta proteína se ha descrito como una subunidad reguladora de diferentes corrientes cardíacas.

Pese a ser referenciada por la base de datos NCBI y *Ensembl*, hay controversia en cuanto al significado clínico de esta variante en las diferentes bases de datos, ya que además de considerarla **patogénica** y asociada a SQT6 (OMIN 613693), ha sido

clasificada por otros autores como una variante de **significado clínico incierto**, asociada a casos esporádicos de SQTl relacionado con fármacos [253]. Aparece en la base de datos dbSNP del NCBI con el identificador rs74315448 [249] y la base de datos HGMD la recoge con el identificador CM993509 [249;254], en esta última se relaciona con un fenotipo de arritmias cardíacas. Por otro lado, en ESP ha sido identificada hasta el momento en heterocigosis en 4300 individuos de origen Americano-Europeo (MAF: 0,0233).

d) Estudio familiar: correlación genotipo-fenotipo

No fue posible evaluar la patogenicidad de esta variante en la familia, ya que todos sus individuos, rechazaron cualquier estudio relacionado con las cardiopatías familiares.

Caso	Gen	Variante	Resultado	Exón	Efecto	Estado	Localización en la proteína	patogenicidad	Referencias	Segregación familiar	5000 exomas
1	MYH7	NP_000248.2:p.Ala1637Thr NM_000257:c.4909G>A CN_000014.8:g.23885257C>T rs141122361/CM106108	Heterocigosis	34	Missense	Descrita	Cola de la miosina (LMN)	UV	[237]	NP (no familiares)	Si
2	MYH7	NP_000248.2:p.Asn1890Ser NM_000257.2:c.5669A>G CN_000014.8:g.23883089T>C	Heterocigosis	39	Missense	Descrita	Cola de la miosina (LMN)	UV	[238]	NP (no familiares)	No
3	MYH7	NP_000248.2:p.Arg453Cys NM_000257:c.1357C>T CN_000014.8:g.23898214G>A rs121913625/CM087715	Heterocigosis	14	Missense	Descrita	Cabeza de la miosina (S1)	VP	[239;255-257]	NP (sólo un portador afectado)	no
4	MYBPC3	NP_000247.2:p.Trp711* NM_000256.3:c.2133G>A NC_000011.9:g.47360890 C>T	Heterocigosis	22	Nonsense	Descrita	Dominio-C5	VPP	[238]	NP (no familiares)	no

Tabla 45 (continuación)

5	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.2308+1G>A CN_000011.9:g.47360070C>T rs112738974/CS971816	Heterocigosis	IVS 23	<i>Missense</i>	Descrita	Dominio-C5	VP	[141;240]	si	si
6	<i>KLF10</i>	NP_005646.1:p.Glu74Asp NM_005655.2:c.222A>C CN_000008.10:g.103664440T>G	Heterocigosis	2	<i>Missense</i>	No descrita	-	UV	-	NP (sólo un portador afectado)	no
	<i>TTN</i>	NP_003310.4:p.Tyr1172_Glu1175 del NM_003319.4:c.3513_3524delGT ATGAAAAAGA CN_000002.11:g.179644808_179644819delTTTTTCATACTC	Heterocigosis	21	<i>Framesift</i>	No descrita	N-t	UV	-	NP (sólo un portador afectado)	no
7	<i>PKP2</i>	NP_004563.2:p.Ser169Gly NM_004572.3:c.505A>G CN_000012.11:g.33031309T>C rs139139859/ CM105193	Heterocigosis	3	<i>Missense</i>	Descrita	N-t	UV	[258-260]	NP (no familiares)	si
	<i>PKP2</i>	NP_004563.2:p.Leu178Pro NM_004572.3:c.533T>C CN_000012.11:g.33031281A>C	Heterocigosis	3	<i>Missense</i>	No descrita	N-t	UV	-	NP (no familiares)	no

Tabla 45 (continuación)

8	<i>TNNT2</i>	NP_001001430.1:p.Arg278Cyst NM_001001430: c.832C>T NC_000001:g.201328373G>A rs121964857/CM951222	Heterocigosis	16	<i>Missense</i>	Descrita	C-t	VP	[255;261]	NP (sólo un portador afectado)	si
9	<i>TNNI3</i>	NP_000354.4:p.Thr78Ser NM_000363.4: c.232 A>T NC_000019.9: g.55667619T>A	Heterocigosis	5	<i>Missense</i>	No descrita	N-t	UV	-	NP (no familiares)	no
10	<i>MYBPC3</i>	NP_000247.2:p.Val38AlafsX42 NM_000256.3:c.113_129delTGA AGGTGCGCTGGCAG NC_000011.9:g.47372955_47372971delGCCAGCGCACCTTCACT	Heterocigosis	2	<i>Frame Shift</i>	No descrita	Dominio C0	UV	-	no	no
11	<i>MYBPC3</i>	NP_000247:p.Ala833Val NM_000256.3:c.2498 C>T NC_000011.9:g.47359046 G>A rs3729952/CM031262	Heterocigosis	25	<i>Missense</i>	Descrita	Dominio C6	VPNP	[246] [245]	NP (no familiares)	si

Tabla 45 (continuación)

12	<i>PKP2</i>	NP_001005242.2:p.Ser140Phe NM_004572.3:c.419C>T NC_000012.11:g.33031395G>A rs150821281/CM043054	Heterocigosis	3	<i>Missense</i>	Descrita	N-t	UV	[247;262;263]	si	si
	<i>RyR2</i>	NP_001026.2:p.Ser376Phe NM_001035.2:c.1127C>T NC_000001.10:g.237604740C>T	Heterocigosis	13	<i>Missense</i>	No descrita	N-t	UV	-	no	no
13	<i>PKG/JUP</i>	NP_068831.1:p.Pro35Thr NM_021991.2:c.103 C>A NC_000017.10:g.39928004 G>T	Heterocigosis	2	<i>Missense</i>	No descrita	N-t	UV	-	NP (sólo un portador afectado)	no
14	<i>PKG/JUP</i>	NP_068831.1:p.Thr19Ile NM_021991.2:c.56 C>T NC_000017.10:g.39928051G>A CM098198	Heterocigosis	2	<i>Missense</i>	Descrita	N-t	UV	[248;264]	NP (sólo un portador afectado)	no
15	<i>DSG2</i>	NP_001935:p.Ala969Val NM_001943.3:c.2906 C>T NC_000018.9:g.29126255C>T rs373598034	Heterocigosis	15	<i>Missense</i>	Descrita	C-t (dominio RUD)	UV	<i>Ensemble, NCBI</i>	no	si

Tabla 45 (continuación)

16	<i>KCNQ1</i>	NP_000209.2:p.Arg533Trp NM_000218.2:c.1597 C>T NC_000209.2:g.2797196 C>T rs199472793/CM003453	Heterocigosis	13	<i>Missense</i>	Descrita	C-t (intracelular)	VPP	[250]	NP (sólo un portador afectado)	no
17	<i>DSP</i>	NP_001008844.1:p.Asp2070Asn NM_004415.2:c.6208G>A NC_000006.11:g.7583703 G>A rs41302885	Heterocigosis	24	<i>Missense</i>	Descrita	C-t	UV	[246;251]	NP (sólo un portador afectado)	si
18	<i>CACNA2D1</i>	NP_000713.2:p.Ser661Leu NM_000722.2:c.1982C>T NC_000007.13:g.81603842G>A	Heterocigosis	25	<i>Missense</i>	No descrita	Región extracelular de la proteína	UV	-	NP (sólo un portador afectado)	no
	<i>PTPN11</i>	NP_002825.3:p.Val490Ile NM_002834.3:c.1468G>A NC_000012.11:g.112926848G>A	Heterocigosis	13	<i>Missense</i>	No descrita	Dominio catalítico de la proteína	UV	-	NR	no

Tabla 45 (continuación)

19	<i>GJA1</i>	NP_000156.1:p.His126Asn NM_000165.3:c.376C>A NC_000006.11:g.121768369C>A	Heterocigosis	2	<i>Missense</i>	No descrita	Dominio citoplasmático	UV	-	NP (sólo un portador afectado)	no
20	<i>RyR2</i>	NP_001026.2: p.Val4771Ile NM_001035.2:c.14311G>A NC_000001.10:g.237972213G>A	Heterocigosis	100	<i>Missense</i>	No descrita	Segmento transmembrana	UV	-	NP (sólo un portador afectado)	no
21	<i>DSC2</i>	NP_077740.1:p.Arg 450 = NM_024422.3:c.1350A>G NC_000018.9:g.28660232T>C rs144242114	Heterocigosis	10	Silenciosa	Descrita	Dominio Cadherina 3 extracelular	VPNP	[241]	NP (sólo un portador afectado)	no
22	<i>DSG2</i>	NP_001934.2:p.Val920Gly NM_001943.3:c.2759T>G NC_000018.9:g.29126108T>G rs142841727/CM070920	Heterocigosis	15	<i>Missense</i>	Descrita	C-t (dominio RUD)	VPNP	[110]	NP (no familiares)	si

Tabla 45 (continuación)

23	KCNE2	NP_751951.1:p.Ile57Thr NM_172201.1:c.170T>C NC_000021.8:g.35742947T>C rs74315448/CM993509	Heterocigosis	2	Missense	Descrita	Segmento transmembrana	UV	[249;265;266]	NP (no familiares)	Si
----	-------	--	---------------	---	----------	----------	------------------------	----	---------------	--------------------	----

Tabla 45. Relación de las variantes detectadas en nuestra serie, indicando efecto (Missense= cambio de sentido, Nonsense= codón de parada prematura, Frameshift=delección con cambio en el marco de lectura), estado (Descrita/No descrita), localización en la proteína, patogenicidad (UV=Variante de significado incierto, VPP=Variante probablemente patogénica, VPNP =Variante probablemente no patogénica y VP=Variante patogénica), segregación familiar (Si, No, NP= No posible) Descrito en el estudio 5000 exomas.

Caso	Gen	Variante (cambio de aa)	<i>Polyphen</i> (score)	<i>Sift</i> (score)	<i>Pmut</i> (índice de fiabilidad)	<i>Mutation Taster</i> (probabilidad)	<i>Aling GVGD</i>
2	<i>MYH7</i>	N1890S	Benigna (0,192)	Deletérea (0,02)	Neutral (4)	Deletérea (0,999)	Neutral GV=93,88 y GD=42,24
4	<i>MYBPC3</i>	W711*	NR	Deletérea (-2.886)	NR	Deletérea (1)	NR
6	<i>KLF10</i>	D74N	Benigna (0,002)	Tolerado (0,15)	Neutral (9)	Polimorfismo (0,980)	NR
	<i>TTN</i>	Y1172_E1175del	NR	NR	NR	Polimorfismo (0,94)	NR
7	<i>PKP2</i>	L178P	Benigna (0,001)	Tolerado (0,12)	Patológica (4)	Polimorfismo (0,999)	Neutral GV=137,69 y GD=0
9	<i>TNNI3</i>	T78S	Tolerado (0,001)	Tolerado (0,25)	neutral (8)	causante de la enfermedad (0,847)	Neutral GV= 173,95 y GD=0
10	<i>MYBPC3</i>	V38Afs*42	NR	NR	NR	causante de la enfermedad (0,092)	NR
12	<i>RyR2</i>	S376F	Benigna (0,183)	Deletérea (0,01)	Patológica (6)	Causante de la enfermedad (0,999)	Neutral GV= 145,16 y GD=47
13	<i>PKP/JUP</i>	P35T	Benigna (0,081)	Tolerado (0,35)	Neutral (3)	Causante de la enfermedad (0,999)	Neutral GV= 109,62 y GD=24,03

Tabla 46 (continuación)

18	CACNA2D1	S661L	Dañina(0,796)	Podría afectar a la función (0,01)	Neutral (1)	Causante de la enfermedad (0,589)	Deletérea GV=46,24 y GD=127,63
18	PTPN11	V490I	Benigna (0,008)	Podría afectar a la función (0)	Neutral (8)	Causante de la enfermedad (0,999)	Deletérea GV=0 y GD=28,65
19	GJA1	H126N	Benigna (0,067)	Tolerado (0,11)	Neutral (1)	Causante de la enfermedad (0,999)	Deletérea GV=0 y GD=68,35
20	RyR2	V4771I	Posiblemente dañina (0,999)	Deletérea (0)	Neutral (8)	Causante de la enfermedad (0,999)	Neutral GV=155,03 y GD=11,33 (C=0)

Tabla 46. Predicciones in silico sobre las variantes no descritas.

Caso	Fenotipo	Variante (cambio de Aa)	Evento centinela	Historia familiar
1	MCH	A1637T	MS	Negativo
2	MCH	N1890S	MS	Negativo
3	MCH	R453C	Síncope	Negativo
4	MCH	W711*	MS	Negativo
5	MCH	IVS23+1G>A	Presíncope	Positivo Por; Presíncope, TVNS y posible MS
6	MCH	E74D Y1172_E1175del	MS	Positivo por; MCD
7	HIVI	S169G L178P	MS	Negativo
8	HIVI	R278C	MS	Negativo
9	HIVI	T78S	MS	Negativo
10	HIVI	V37Afs*42	MS	Positivo por; hipertrofia del miocardio.
11	HIVI	A833V	MS	Negativo
12	MAVD	S140F S376F	MS	Positivo por; dilatación de ambos ventrículos e hipertrabeculación.
13	MAVD	P35T	MS	posible HFMS en circunstancias extrañas
14	MAVD	T19I	MS	Positivo por; MS (rama paterna) y TVNS
15	MAVD	A969V	MS	Positivo por; hipertrabeculación apical
16	SQTL	R533W	Síncope	Negativo

Tabla 47 (continuación)

17	SQTL	D2070N	MS	Negativo
18	SQTL	S661L V490I	MS	Negativo
19	SADS	H126N	MS	Negativo
20	TVPC	V4771I	Síncope	Negativo
21	MC no clasificable	R450=	MS	Positivo por MS (rama paterna)
22	MC no clasificable	V920G	MS	Negativo
23	Convulsión febril	I57T	Convulsion febril	Negativo
24	MCH	Negativo	MS	Negativo
25	MCH	Negativo	MS	Negativo
26	MCH	Negativo	MS	Positivo por hipertrófia cardiaca
27	MCH	Negativo	MS	Negativo
28	MCH	Negativo	MS	Negativo
29	MCH	Negativo	MS	Negativo
30	MCH	Negativo	Síncope	Negativo
31	MCH	Negativo	MS	Negativo
32	MCH	Negativo	MS	Negativo
33	MCH	Negativo	MS	Negativo
34	HIVI	Negativo	MS	Negativo

Tabla 47 (continuación)

35	HIVI	Negativo	MS	Negativo
36	MAVD	Negativo	MS	Positivo por ; parada cardiaca resucitada y MCD
37	MAVD	Negativo	MS	Negativo
38	SB	Negativo	MS	Negativo
39	SADS	Negativo	MS	Negativo
40	SADS	Negativo	MS	Negativo
41	SADS	Negativo	Convulsion febril	Negativo
42	SADS	Negativo	Síncope	Negativo
43	SADS	Negativo	MS	Negativo
44	SADS	Negativo	Síncope	Negativo
45	SADS	Negativo	MS	Negativo
46	SADS	Negativo	MS	Negativo
47	SADS	Negativo	MS	Negativo
48	MC no Clasificable	Negativo	MS	Negativo
49	MCNC	Negativo	MS	Negativo
50	MS del lactante	Negativo	MS	Negativo

Tabla 47. Sumario de la información de aquellos casos en los que se realizó la autopsia molecular: evento centinela e historia familiar de MS (en caso de existir).

Discusión

1. CAUSAS DE MUERTE SÚBITA EN NUESTRA POBLACIÓN

En esta tesis doctoral se incluyeron 82 pacientes, recogidos en la región de Murcia durante los años 2008-2012. De los cuales 65 (79,2%), habían sufrido una MS y 17 (20,7%) una parada cardiaca resucitada. Del total de casos, 71 (86,5%) fueron incluidos en el estudio molecular por presentar diagnóstico o sospecha de MCP o CP y 11(13,4%) fueron excluidos, ya que se trataban de enfermedades cardiovasculares no relacionadas con MCP ni CP.

Existe poca información en la literatura sobre el estudio molecular en MS y esta proviene de unos pocos centros de referencia. Para establecer la correcta causa de la muerte, es imprescindible una investigación completa y protocolizada. Gracias a la colaboración multidisciplinar entre el Instituto de Medicina Legal de la región de Murcia y el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario Reina Sofía, junto al Servicio de Cardiología y el Laboratorio de Diagnóstico Genético (LDG), ambos pertenecientes al Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), se han logrado recopilar los informes de las necropsias, así como los informes clínicos de los fallecidos en el caso de que los hubiera, además este trabajo multidisciplinar ha permitido una valoración clínica exhaustiva de los familiares de primer grado de los casos de MS relacionados con MCP y CP, adquiriendo especial importancia en caso de hallarse, en un probando, una variante génica causante de la enfermedad o con alta probabilidad de causarla.

Pese a protocolizar el estudio, hay pacientes de los cuales no se consiguieron los datos completos de la necropsia o del contexto de la muerte (lo que retrasa o limita, en muchas ocasiones, el comienzo de la autopsia molecular). Esto se debió a que algunas de las necropsias han sido realizadas en otros centros diferentes al Instituto de Medicina Legal de Murcia.

Teniendo en cuenta los criterios diagnósticos para cada patología; el estudio histológico y/o la evaluación cardiológica exhaustiva, en caso de tratarse de una parada cardiaca resucitada, se obtuvo un rendimiento diagnóstico en el 60,9% de los casos de MS, dato que se asemeja al de otros estudios [11]. La identificación de una cardiopatía hereditaria (posible causa del fallecimiento del caso índice), constituyó una estrategia fundamental en la orientación del estudio genético familiar.

Esta cohorte de pacientes supone una de las series más extensas estudiada genéticamente en nuestro país. Es posible que intervengan ciertos factores genéticos

característicos en nuestra Región que hagan más prevalente la MS, o simplemente que exista un mayor interés por la patología en nuestro medio.

La incidencia anual estimada en España es de 4,000 personas/año (intervalo de edad entre los 16-60 años) [7]. Según los resultados obtenidos del presente trabajo, la incidencia media estimada en la Región de Murcia fue de 16 personas/año, con un intervalo de edad de 1 día a 75 años y una media de edad al diagnóstico $36,9 \pm 19,1$. Excluyendo los casos no relacionados con cardiopatías, la incidencia media fue algo más baja; 14 personas/año con un intervalo de edad 1 día a 69 años y la media de edad al diagnóstico se mantuvo prácticamente igual ($36,0 \pm 19,6$ años).

Según los datos publicados en otros países, como Estados Unidos la MS tiene lugar en más de 450,000 de personas al año, esto significaría 1000 muertes por día o una muerte cada 1,5 minutos [159].

A nivel mundial la prevalencia es bastante significativa, pues se considera que al menos 3 millones de personas fallecen de MS cada año [267;268].

Dentro de las miocardiopatías, la MCH generalmente es la más prevalente, se estima una incidencia de 1:500 en la población general [35;50-52], En nuestra población también fue la más común con 22 casos (30,9%). En cuanto a las canalopatías el SQT es la más frecuente, con una prevalencia estimada entre 1:2,500 y 1:5,000, [152;153]. En nuestra población de estudio, fue también la canalopatía mayoritaria y representó un 5,6% de los casos.

Según los datos publicados, el estudio morfológico y toxicológico es rigurosamente normal en un porcentaje de casos estimado en un 5-30% (individuos de cualquier edad). La genética permite la identificación de mutaciones en genes que codifican canales iónicos en hasta un 40-50% de estos casos con necropsia negativa [24;25]. De hecho, las nuevas guías sobre autopsias en MS, sugieren la realización de estudio genético *postmortem* de los canales iónicos en adultos jóvenes, además admiten que debería considerarse como un estándar más en la evaluación de casos de MS [26;28;269]. El 4,4 % de los casos de nuestra población, fueron catalogados como autopsias blancas, el estudio genético de los canales iónicos no permitió el diagnóstico definitivo en ninguno de ellos. Tampoco el estudio familiar, de gran ayuda en estos casos, aportó información relevante para el diagnóstico. Sin embargo, el contexto de la muerte y la historia clínica de una de estas autopsias blancas, si permitió orientar el estudio molecular, hacia TVPC (caso 20).

1.1. Características de la población respecto al diagnóstico de MCP ó CP

Hubo un claro predominio del sexo varón tanto en MCP como CP, destacando su asociación significativa con el grupo de las MCP ($p=0,021$) (**Tabla 24**). El diagnóstico tras una parada cardiaca resucitada pudo conseguirse en 83,3%, en el grupo de las CP. Los eventos de MS en deportistas fueron proporcionalmente más frecuentes en el grupo de las CP que en el de MCP (33,3%: 17,0%), aunque no se observó significación estadística. Como ya se citó anteriormente, generalmente son las miocardiopatías (MCH y MAVD) las que causan un mayor número de MS entre jóvenes atletas [6;270-272].

1.2. Características de la población según el sexo y edad media

Estas afecciones se caracterizan por heredarse con patrón autosómico dominante, hecho que no explica el claro predominio del sexo masculino entre los casos de MS en nuestra población (81,7%:18,2%: $p<0,05$). Se ha observado en diversos estudios, diferencias en el riesgo de los afectados según el sexo, especialmente en el SB, el SQTl y la MAVD [14;16;156], a diferencia de otras afecciones [13;19]. Tal y como quedó reflejado en el punto anterior, el sexo masculino predominó en la mayoría de las patologías desde MCP a CP, destacando su asociación significativa con el grupo de las MCP (**Tabla 24**). Cuando se analizaron los porcentajes de varones en el grupo de MCH con el resto de MCP no se observaron diferencias estadísticas significativas ($p=0.138$).

El SB se caracteriza también por la herencia autosómica dominante, por razones desconocidas, la expresión de la enfermedad predomina en los varones [14]. De forma similar, los varones predominaron entre nuestros casos de SB (100%). Otros autores han publicado que ciertas formas de SQTl presentan un peor pronóstico en las mujeres [156;273]. Aunque se dió una distribución equilibrada de ambos sexos en el grupo de SQTl.

A pesar de que la MS puede ocurrir a cualquier edad, las arritmias malignas en las MCP y las CP tienden a ocurrir con mayor frecuencia en un particular intervalo de edades [13;14;16;156]. Como fue anteriormente citado, la media de edad de los casos de MS relacionados con las cardiopatías hereditarias en nuestra población fue de $36,0\pm 19,6$ años (intervalo de 1 día - 69 años). Siendo la edad de los casos de MS similares tanto en varones como en mujeres. En este estudio la edad se

asoció significativamente a los casos de MS relacionados con la práctica de ejercicio ($p=0,027$).

La edad media en MAVD fue algo inferior, aunque no significativa, con respecto al resto de MCP y entre las CP; SB presentó una media de edad ligeramente inferior a los casos de SQTTL.

2. CARACTERÍSTICAS DE LA MUERTE SÚBITA

Se han descrito desencadenantes típicos asociados a MS en diferentes afecciones [18;158;160;274]. Estudios previos, relacionan particularmente la MS durante el ejercicio con la MAVD y el SQTTL [158;270;275], por el contrario, en nuestra población no destacan especialmente los casos de MAVD y SQTTL ocurridos durante el ejercicio, mientras que en el único SB se produjo en reposo.

Sólo un caso catalogado como SQTTL, se relacionó con la administración de fármacos y la MS, por lo que probablemente se trate de un desencadenante infrecuente en nuestra población.

A diferencia de los estudios iniciales [160], no se identificó ningún episodio febril como posible desencadenante de la MS en casos con SB. En un estudio en niños con diagnóstico de SB, el desencadenante de los eventos arrítmicos fue la fiebre en un 45,0% de los casos [274]. Esta diferencia estaría explicada por la menor incidencia de episodios febriles en adultos (edad media en nuestra población: $36,0\pm 19,6$).

La MS durante el ejercicio, estrés y actividades cotidianas, tendió a ocurrir con una frecuencia similar tanto el grupo de las MCP como en el de las CP (48,7%; 50,0%). Como cabía esperar, un porcentaje importante de los casos de MS (50,0 %) se produjo durante el reposo y el sueño en el grupo de las CP.

2.1. Muerte súbita en deportistas

Cuando se habla de MS relacionada con el deporte, se desconoce realmente cual es la magnitud del problema. Y es así, porque no hay registros que recopilen los datos completos cuando se produce una MS en el deporte: o no se realiza la autopsia o esta se realiza por profesionales no especializados en patología cardiovascular, con lo que muchas autopsias se dan como “blancas” cuando lo que realmente subyace es una cardiopatía familiar o una anomalía congénita de las arterias coronarias. En España, al igual que en el resto de países desarrollados, es difícil plantear un estudio epidemiológico de los casos de MS. Aunque la dificultad de la recogida de datos e incluso del conocimiento de los casos que se producen, constituye una barrera

importante cuando se trata este problema, en algunos países y con poblaciones seleccionadas se han hecho estimaciones y así en el estado de Minnesota en EEUU en atletas de la *High School* se ha estimado una incidencia de muerte súbita en el deporte de 1 cada 200.000 atletas/año [276]. En la región de Veneto del norte de Italia, país de referencia en cuanto a estudios predeportivos, estas cifras tomaban valores de hasta 2.1 por cada 100.000 atletas/año [277]. Recientemente se han hecho estimaciones utilizando los datos de los últimos años y se ha visto que las tasas de mortalidad en ambos registros son muy similares (0.87 muertes/100.000 persona/año en la región de Veneto frente a 0.93 muertes/100.000 personas/año en el estado de Minnesota) [278;279]. A pesar de la baja prevalencia, la MS en deportistas de alto rendimiento, conlleva un tremendo impacto social y familiar.

En nuestro País disponemos de datos de un registro publicado en el 2006 por el Dr. *Manonelles y col*, pero muy acertadamente sus autores comentan que sus cifras no tienen valor epidemiológico puesto que desconocen el número de personas que practican deporte su área de influencia.

En el presente estudio, una parte importante de las MS (13,2%) ocurrió en relación con el ejercicio físico. De forma similar a lo publicado por otros autores, la mayoría de los deportistas de este estudio fallecieron durante la realización de ejercicio físico (75%) [18;22;280], de hecho el riesgo a sufrir una MS durante el ejercicio físico es 2 o 3 veces superior en atletas comparado con los no atletas [281]. Los no deportistas que fallecieron durante la realización de ejercicio fueron el 1,5%, inferior al 9% publicado por *Corrado y col*. Realizado en una población amplia [18]. En estudios previos se ha descrito un claro predominio de varones (10:1) en las MS de deportistas, que no se justifica completamente por la menor práctica deportiva de las mujeres [18;280]. Todos los deportistas fallecidos de forma súbita en nuestra serie fueron varones.

3. SECUENCIACIÓN AUTOMATIZADA DE LOS GENES MÁS PREVALENTES EN FUNCIÓN DE LA PATOLOGÍA

La penetrancia incompleta y la expresividad variable, hacen que los resultados de los test genéticos deban ser interpretados de manera cautelosa e integrados dentro del contexto de una evaluación diagnóstica propia de las cardiopatías hereditarias, incluso cuando la variante genética ha sido publicada previamente como causante de la enfermedad

3.1. Autopsia molecular

En la autopsia molecular realizada en 50 casos índice; 3 variantes explicaron claramente la causa de la muerte: **IVS23+1G>A en MYBPC3**, **R453C en MYH7** y **R278C en TNNT2** (Tabla 45). Las dos primeras además de asociarse al fenotipo, se relacionan con mal pronóstico y según la bibliografía, los individuos portadores de estas mutaciones tendrán un riesgo importante de sufrir MS [142;240;241;256;258]. Además otras 2 variantes se consideraron como probablemente patogénicas (**W711* en MYBPC3** y **R533W en KCNQ1**) (Tabla 45). Estos datos supondrían un rendimiento genético global del 10,0%, inferior a lo descrito anteriormente en otras series de pacientes: *Behr y col.* [282] Obtuvieron un rendimiento en el diagnóstico genético del 21%, en un estudio realizado sobre 57 casos MS, con diagnóstico o sospecha de distintas cardiopatías. Por otro lado, *Kaufenstein y col* [283], en un estudio con 15 probandos obtuvieron un rendimiento más alto (27%), aunque ninguna de las variantes encontrada se describió como claramente patológica.

En otro estudio, como el realizado por *Campuzano. O y col* [284], se describió que un 41,37% de los casos eran portadores de al menos una variante patogénica y/o potencialmente patogénica, este porcentaje tan elevado podría explicarse teniendo en cuenta que se analizaron conjuntamente genes arritmogénicos y genes estructurales en todos los casos.

Recientemente, *Tan Hanno. L y col.* [11] En un grupo de 17 familias, alcanzó un rendimiento genético del 62,5%. Si se compara con los anteriores, este resultado tan elevado, podría deberse a que el estudio se realizó en familiares con diagnóstico clínico de cardiopatía hereditaria, que además contaban con una o más víctimas de MS en la familia de edad ≤ 40 años.

Como ya se ha citado anteriormente, las cardiopatías son desordenes genéticamente heterogéneos causados por mutaciones en múltiples genes. La frecuencia de predicción patogénica, sugiere que muchas de las variantes serían insuficientes para causar la enfermedad por si solas aunque en ocasiones, podrían modificar el fenotipo de portadores genéticamente susceptibles.

En cuanto a la distribución de las mutaciones a nivel molecular; el 2,0% de los casos eran portadores de una mutación en genes arritmogénicos, relacionados con CP, mientras que el 8,0% eran portadores de variantes patogénicas o potencialmente patogénicas, en genes estructurales.

3.2. Tipo de variantes encontradas. Resultados globales

El análisis molecular de los genes asociados a cada caso de MS, reveló un total de 27 variantes (**Tabla 48**). Al igual que en estudios similares [32;104], el 40,7 % de las variantes identificadas no habían sido previamente descritas, y ninguna se repitió entre las distintas patologías. Esto confirma el alto grado de heterogeneidad genética entre las diferentes cardiopatías hereditarias [26].

Por otro lado, se detectó, que el 30,0% de los casos portaba al menos una alteración génica de significado clínico incierto.

No se consiguió la identificación de ninguna variante en el 54,0%, lo cual podría estar relacionado con errores a la hora de estudiar el fenotipo del paciente, a la presencia de variantes en genes no analizados.

Tipo de variante	Porcentaje* (n=50)	Porcentaje ** (n=27)
Claramente patogénica	3 (6,0%)	3 (11,1%)
Probablemente patogénica	2 (4,0%)	2 (7,4%)
Probablemente no patogénica	3 (6,0%)	3 (11,1%)
UV	15 (30%) †	19 (70,3%)
No se identificaron variantes	27 (54,0%)	-

Tabla 48. Prevalencia de las variantes identificadas, según su efecto fisiopatológico.

*Los porcentajes están calculados del número total de casos con autopsia molecular realizada. **Los porcentajes están calculados del número total de variantes identificadas.

† El 30% de los casos portaba una o más UV.

Cuando se llevó a cabo el *screening* genético, mediante la secuenciación de los genes más prevalentes y por tanto mejor caracterizados molecularmente, se identificaron 17 variantes en los 43 casos en los que se realizó (39,5%) (**Figura 49**). Este porcentaje es mayor a los obtenidos en otros estudios; 11,0% [285], 13,0% [286], 15,0% [287], aunque en todos ellos el *screening* se realizó en casos de MS en jóvenes, sobre genes que explicaban las canalopatías y sin causas concluyentes que confirmaran la muerte, así como la ausencia de anomalías macroscópicas. En otro estudio similar que contaba con los mismos criterios de inclusión anteriormente citados pero con edades comprendidas entre los 1-69 años, este valor (26%), se acercó más al obtenido por el presente estudio [288].

En los 8 casos en los que se utilizaron paneles de genes más amplios, a través de la tecnología *NGS*, un total de 7 casos fue portador de al menos una variante

(87,5%) (**Figura 50**). El alto porcentaje obtenido con la tecnología *NGS* en comparación con la secuenciación convencional es explicado esencialmente por el mayor número de genes analizados.

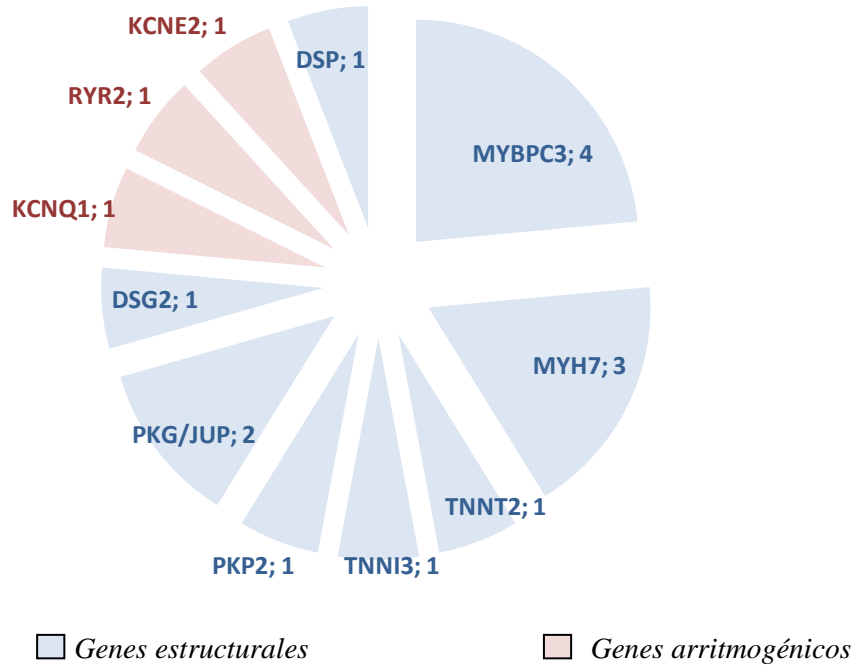


Figura 49: Genes y número de variaciones genéticas identificadas mediante secuenciación de los genes mas prevalentes.

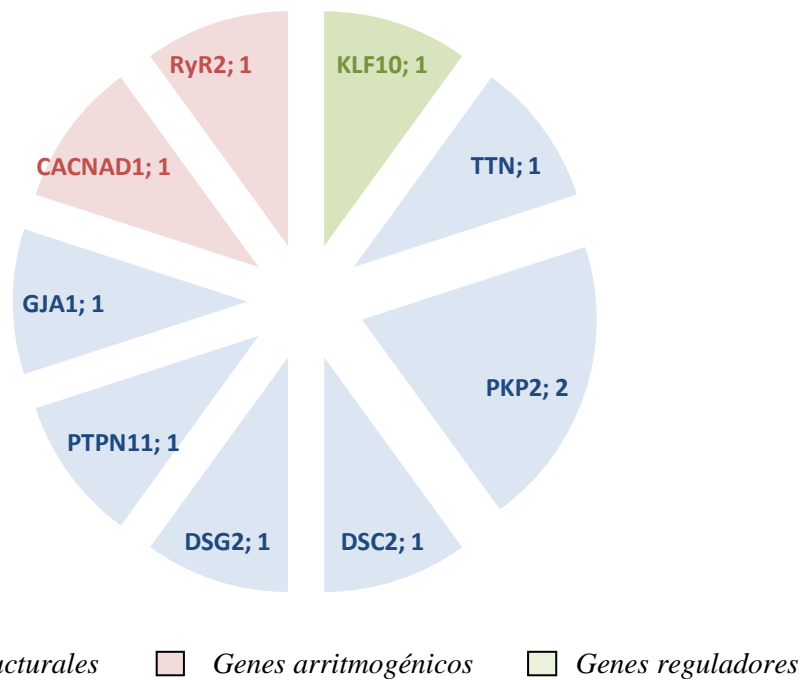


Figura 50: Genes y número de variaciones genéticas identificadas mediante tecnología *NGS*.

3.2.1. Miocardiopatía hipertrófica

La MCH es una enfermedad del músculo cardíaco, es la cardiopatía hereditaria más prevalente y la causa más común de MS en adultos jóvenes. La penetrancia es mayor en hombres que en mujeres [289]. Se caracteriza por un alto grado de heterogeneidad clínica, lo que ha supuesto un estímulo para investigar los mecanismos fisiopatológicos implicados en su origen y desarrollo [38;42].

Las manifestaciones clínicas características en la MCH suelen aparecer durante la tercera o cuarta década de la vida; sin embargo el inicio es relativamente variable y depende principalmente del gen afectado y del tipo de mutación que origina. Se caracteriza por la presencia de hipertrofia miocárdica, desorganización de los miocitos y fibrosis [290]. La expresión fenotípica no solo es debida a la mutación causal, sino que otros factores genéticos, genes modificadores y factores ambientales, contribuyen a modular el fenotipo de la enfermedad. Varios estudios han revelado que la mayor parte de los pacientes con formas moderadas o severas de MCH son portadores de una mutación en *MYH7*, *MYBPC3* [291-293].

En el presente estudio se realizó el screening molecular en un total de 16 casos con diagnóstico o sospecha de MCH. Fueron identificadas 7 variantes en 6 casos índice (**casos 1-6: Tabla 27**), de las cuales, dos (**R453C en el gen *MYH7* y IVS23+1G>A en el gen *MYBPC3***) explicaban el fenotipo de MCH y estaban catalogadas como patológicas previamente. Se identificó también una variante (**W711* en el gen *MYBPC3***) que fue clasificada como probablemente patogénica por su efecto sobre la proteína.

Estos datos suponen un rendimiento génico positivo para MCH, del 18,7%, lo cual no coincide con estudios recientes como el *EUROGENE Heart Failure Project* en el que se determinó la secuencia completa de 9 genes en 197 familias y el diagnóstico positivo se consiguió en el 63% de los casos [294], esta discordancia puede deberse a un mayor número de genes estudiados como *screening* o a que los casos seleccionados habían presentado MCH familiar o esporádica previamente.

Por otro lado, con el estudio familiar de estos 3 casos índice se ha conseguido un rendimiento en el diagnóstico positivo del 59%. El resto de variantes identificadas fueron catalogadas como variantes de significado incierto debido a que no existía concordancia entre los resultados de los estudios *in silico* y/o la falta de información en la familia no permitió hacer un estudio completo de la relación genotipo-fenotipo.

La distribución de los genes causales de la patología, en el total de los 16 casos índice estudiados, fue la siguiente: *MYBPC3* (12,5%) y *MYH7* (6,25%), estos resultados diferirían de los descritos en estudios iniciales, donde se estimaba que *MYH7* era el gen en que se identificaban mutaciones con más frecuencia, seguido de *TNNT2* y *MYBPC3* [293]. Los datos actuales demuestran que las mutaciones en *MYBPC3* se encuentran en una proporción igual o incluso mayor que las mutaciones en *MYH7* [47;294;295].

Al analizar los genes en función del pronóstico en las familias, la variante hallada en *MYH7* presentó un peor pronóstico y mayor riesgo de MS.

3.2.1.1. Variantes identificadas en *MYH7*

Es un gen, que codifica la cadena pesada de la β -miosina cardiaca. *MYH7* está formado por 40 exones distribuidos a lo largo de 23 Kb de ADN genómico, de los cuales 38 codifican una proteína de 1.935 aa y 23 kD. Es el primer gen que fue asociado con la MCH y el que ha sido más estudiado, es responsable de la enfermedad con una proporción del 20-30% [104], como se ha citado anteriormente, la prevalencia en este estudio fue más baja (6,25%). Se han identificado hasta la fecha más de 200 mutaciones asociadas la mayoría con la MCH, pero también hay mutaciones relacionadas con miocardiopatía dilatada familiar y con miopatía esquelética. La mayor parte de las mutaciones en este gen conllevan a cambios de aas, que no alteran la pauta de lectura. Estos aas mutados están muy conservados entre las especies, lo que permite suponer que son fundamentales para la función de la proteína y cualquier cambio en su naturaleza podría tener consecuencias deletéreas [296].

Las mutaciones en este gen se asocian en general con formas típicas de MCH, con hipertrofia septal asimétrica de grado moderado a severo que se manifiesta en adolescencia o en adultos jóvenes [294;297]. La mayor parte de las mutaciones asociadas con MCH afectan a la cabeza (dominio S1) y cuello de la beta-miosina (dominio S2), donde se localiza la función motora de la proteína [255;298] (**Figura 51**). Por otra parte, algunos autores han sugerido que cuando se analizan los 38 exones codificantes de la proteína, hasta un 20% de las mutaciones corresponden a la cola (dominio LMM y codificada por los exones del 24 al 40) [297;299].

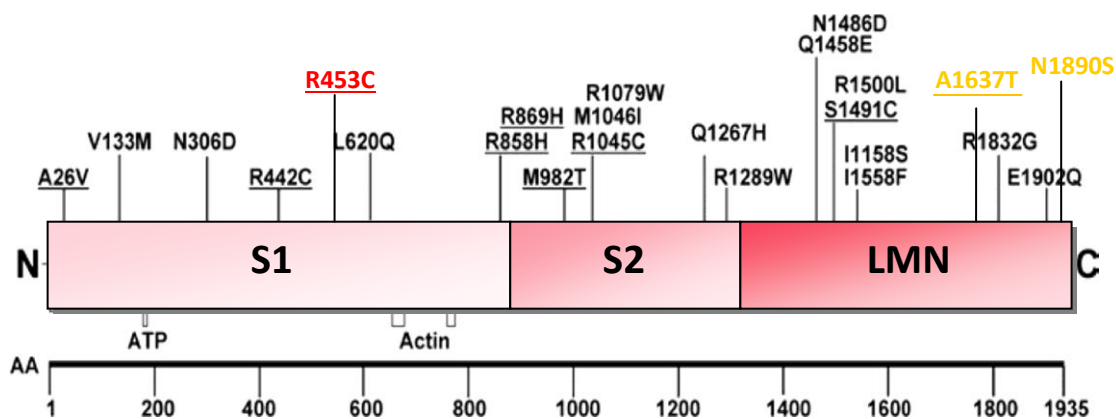


Figura 51. Representación esquemática de la MYH7. Variantes missense identificadas en MYH7 en el proyecto 1000 genomas (Febrero 2012). Las variantes reportadas como patogénicas en HGMD están subrayadas, las variantes identificadas en este estudio aparecen en color. Adenosina trifosfato (ATP) y actina hacen referencia a los sitios de unión de ATP y actina respectivamente. Modificado de Golbus y col. [245].

La variante **R453C (Caso 3)**, se identificó en el dominio S1, fue descrita en otros estudios como patológica, donde se asoció con formas malignas [255;300;301] por lo que se consideró como claramente causal de MCH, con expresión severa y precoz. Además presentaría un riesgo de MS a edad temprana muy significativo. Esta es una de las primeras mutaciones descritas en el primer artículo de mutaciones asociadas a MCH de 1992 [302]. El probando del presente estudio, de 15 años de edad, presentaba características típicas de MCH y síntomas previos. Debe considerarse como una mutación de novo, ya que los dos padres estaban sanos y el estudio genético mostró que ninguno de los familiares era portador de la mutación. Esta variante fue ampliamente evaluada a nivel funcional por varios grupos independientes, los trabajos describen en general alteraciones funcionales que tienen relación con esta importante localización.

En cuanto al efecto sobre la proteína entre el 90%-95% de las variantes son cambios de un sólo nucleótido [62;295;297]. Variantes identificadas en MYH7 son de tipo *missense* introducen cambios en la carga de la proteína, más concretamente R453C que afecta al dominio de unión a la actina, produce elevadas modificaciones en las propiedades físico-químicas, hidrofobicidad y masa lo que podría aumentar el potencial patogénico, en esta familia las edades de comienzo de la enfermedad se dan antes de la adolescencia, *Woo y cols.* Describieron 15 portadores de mutaciones en MYH7 en 70 pacientes (21,0%) y analizaron el pronóstico de las mutaciones según su localización en los dominios funcionales del gen y el efecto sobre la carga eléctrica [257]. No encontraron diferencias en el grado de hipertrofia o en las características

entre los portadores, aunque la supervivencia media fue significativamente menor entre sujetos portadores de la mutación con cambio de carga, y aquellas que afectaban al dominio de unión a la actina y a la región bisagra.

Las otras dos variantes identificadas en *MYH7* fueron clasificadas como variantes de significado incierto; hay información disponible de un portador de la variante A1637T (**Caso 1**), descrita por un grupo de investigación francés [237], donde la asocian con MCH, en un sujeto también de raza negra, pero no se dan detalles del fenotipo ni del estudio familiar, la información disponible sugiere esta variante genética podría ser más frecuente en sujetos afroamericanos. Ya que no se pudieron aportar más datos en este estudio, se consideró como una UV, al igual que información que aportan las bases de datos consultadas.

Por otro lado, N1892S (**Caso 2**) pese a tratarse de un residuo conservado y encontrarse próximo a una región importante en el ensamblaje y estabilización de la proteína, no todos los *softwares* del estudio *in silico* coincidieron en sus resultados acerca de su patogenicidad y además no se dispuso de datos para realizar el estudio de correlación genotipo-fenotipo, de manera que también fue catalogada como UV.

3.2.1.2. Variantes identificadas en *MYBPC3*

Las mutaciones en *MYBPC3* aparecen en un 15-25% de los pacientes con MCH, por tanto, son tanto o más frecuentes que las mutaciones en *MYH7*, como ya se citó anteriormente [47;294;295]. En este estudio la prevalencia fue del 12,5%. Es también un gen grande, con 35 exones. En este gen, además de las variantes que producen el cambio de un único aa, son especialmente frecuentes las variantes en las zonas responsables del corte y empalme de los diferentes exones, que tienen como consecuencia la síntesis de proteínas truncadas o con deleciones importantes, también son frecuentes las mutaciones que producen cambios de la pauta de lectura (a partir del punto de la mutación todos los tripletes se ven modificados). Se han postulado hipótesis de haploinsuficiencia para mutaciones que originan proteínas más pequeñas, donde el péptido al ser de menor tamaño no se incorporaría de forma efectiva al sarcómero, con la consiguiente deficiencia cuantitativa de *MYBPC3* [303].

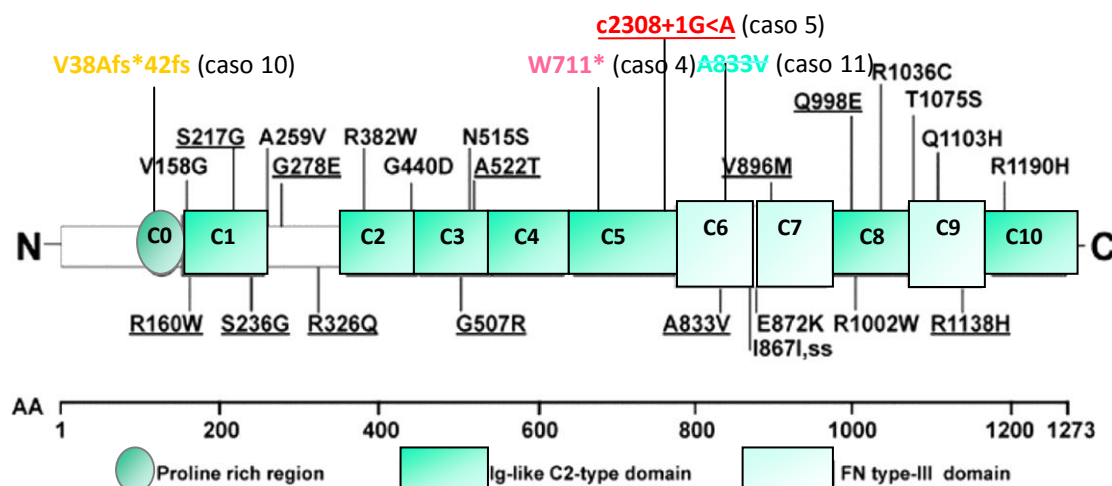


Figura 52. Representación esquemática de la MYBPC3. Variantes missense identificadas en MYBPC3 en el proyecto 1000 genomas (Febrero 2012). Las variantes reportadas como patogénicas en HGMD están subrayadas, las variantes identificadas en este estudio aparecen en color. Modificado de Golbus y col. [245].

En general, los portadores de mutaciones en MYBPC3 pueden no manifestar clínicamente la MCH hasta la cuarta, quinta o sexta década de la vida [304], pero también existen casos con expresión clínica precoz, hipertrofia severa y alto riesgo de MS [25]. Se han hallado en nuestro grupo de estudio 2 variantes, en MYBPC3, ambas alteran la pauta de lectura de la proteína, originando una proteína aberrante con un codón de terminación prematuro en el dominio C5 (**Figura 52**); **W711*** y **IVS23+1G>A**.

W711*(caso 4) ha sido identificada en un varón de 40 años, con una evidente hipertrofia miocárdica. Aunque no ha sido previamente descrita, existen varias variantes en el gen MYBPC3, que tienen una consecuencia funcional similar y producirían también un truncamiento a nivel del dominio C5; D637fs, Q642*, L667fs, W683*, Q689fs, A693fs, P699fs, C719* y E744fs (Carballo y cols, 2008; Jacques y cols, 2008). Todas han sido asociadas con el desarrollo de miocardiopatía hipertrófica y dos de ellas también han sido identificadas en pacientes con miocardiopatía dilatada. La mayoría de portadores de estas variantes son casos índices sin detalles clínicos disponibles. Los dos programas bioinformáticos de predicción de patogenicidad utilizados prevén que la variante pueda estar asociada con la enfermedad. Al no existir familiares para ser estudiados y no haber sido descrita previamente, no fue posible demostrar la expresión de la variante en esta

familia. Finalmente se catalogó como probablemente patológica, teniendo en cuenta su efecto sobre la proteína.

Por otro lado, la variante intrónica **IVS23+1G>A (caso 5)** que según los datos recogidos en la bibliografía [141;255;294;305], es una mutación de patogenicidad comprobada y alta penetrancia por encima de los 30 años, aunque los síntomas pueden manifestarse más tardíamente sobre todo en mujeres. Debe tenerse en cuenta la posibilidad de evolución a fallo sistólico ventricular izquierdo, a menudo sin dilatación y la evaluación periódica de arritmias auriculares subclínicas que predispongan a eventos embólicos. Muchas veces la primera manifestación de la enfermedad es la MS por lo que es aconsejable una adecuada valoración de riesgo entre los portadores, especialmente si tienen espesores parietales mayores de 2,5 cm que generan obstrucción, 21 de los casos índice recogidos con esta mutación han sido descritos por el grupo de cardiopatías hereditarias del HCUVA, y se ha demostrado un efecto común fundador mediante análisis de haplotipos [141]. Según la bibliografía, la penetrancia de la enfermedad aumenta conforme aumenta la edad de los portadores, además los hombres de las familias reportadas desarrollan 10 años antes la enfermedad que las mujeres. La enfermedad suele manifestarse en varones, con fenotipos más severos y de peor pronóstico.

Al igual que la información recopilada, en el presente estudio, IVS23+1G>A se asoció a un desarrollo tardío de la enfermedad, probablemente potenciado por el hecho de que 4 de los 6 portadores afectados fueran mujeres, este grupo presentó una edad media al diagnóstico 57,8 años, mientras que la edad media de los familiares con genotipo positivo que no habían desarrollado la enfermedad, era de 35,6 años. Por lo tanto la mutación tendría en esta familia una penetrancia incompleta. Serían importante destacar que entre los portadores, los dos más afectados clínicamente, tenían un grosor parietal cercano a 2,5 cm.

3.2.1.3. Dobles portadores en MCH

Según la bibliografía, aproximadamente el 5% de los casos tienen dos o más variantes, sin embargo en muchas ocasiones, al menos una de estas variantes es de significado incierto [102;103]. Sólo en uno de los probandos del grupo de MCH, se identificó más de una alteración genética; E74D en el gen *KLF10* y Y1172_E1175del en el gen *TTN* (**Caso 6**), fueron catalogadas por los estudios *in silico* como neutral y polimorfismo respectivamente. La abuela del caso índice era portadora de la segunda variante y aunque era la única afectada, presentó un fenotipo de MCD, diferente al del

probando, por lo que no se pudo demostrar cosegregación de la variante con la enfermedad y si la posibilidad de la existencia de dos cardiopatías en esta familia.

Las mutaciones en el gen *TTN*, han sido asociadas con múltiples formas de cardiopatías, incluyendo MCD y MAVD [306;307]. También, existen trabajos publicados que asocian a la *TTN* con MCH [99], pero en ellos se sugiere que las variantes en *TTN* probablemente no sean causantes de esta patología por si solas.

Aunque, por el efecto que producía sobre la proteína todo indicaba a que Y1172_E1175del podría ser la responsable de la patología y explicar así el fenotipo en esta familia. Se catalogó como UV al igual que E74D, ya que por la información recopilada hasta la fecha, no se consideró que ninguna de ellas fuera responsable de la MCH.

En muchas ocasiones los estudios moleculares ven limitada su sensibilidad, debido a los genes de gran tamaño, como es el caso de *TTN* (363 exones) el cual, normalmente no está incluido en la mayoría de los test genéticos, queda así demostrado una vez más el desarrollo de las nuevas tecnologías en el campo de la ultrasecuenciación facilita el estudio de este tipo de genes [308].

Habría que señalar que el hecho de que en el resto de casos de MCH estudiados genéticamente, no se hallaran dobles variantes, no significa que no exista otra mutación en otros genes o en otras regiones no estudiadas del gen.

3.2.2. Hipertrofia idiopática del ventrículo izquierdo

La HIVI es diagnosticada *postmortem* en un porcentaje significativo de los casos de muerte súbita (15,0%). En nuestra cohorte de pacientes la HIVI representa un 12,6%. Normalmente, consiste en una hipertrofia concéntrica sin causa aparente. El desorden fibrilar debe estar ausente para descartar el diagnóstico de MCH y generalmente se suelen estudiar mutaciones sarcoméricas típicas de esta última [309].

En el presente estudio se realizó el *screening* molecular en un total de 7 probandos con diagnóstico o sospecha de HIVI. Fueron identificadas 6 variantes en 5 casos índice, de las cuales, sólo una variante **R278C en el gen *TNNT2***, se consideró **patológica**. Este dato supone un rendimiento génico positivo del 14,2%, cifra muy similar a lo obtenido en este mismo estudio para MCH. El análisis molecular en esta familia ha supuesto un rendimiento en el diagnóstico positivo del 50 %, también similar al porcentaje que se alcanzó en MCH. El resto de variantes identificadas han sido catalogadas como UVs o VPNP.

3.2.2.1. Variantes identificadas en *TNNT2* y *TNNT3*

Las mutaciones en los filamentos finos del sarcómero, codificados por los genes *TNNT2*, *TNNT3*, *TPM1*, *ACTC*, se han descrito en aproximadamente un 20% de los pacientes con MCH [310]. En los primeros estudios las mutaciones en *TNNT2* (**Figura 53**) se hallaron hasta en un 20% de los casos, las mutaciones en *TNNT3* también están asociadas a hipertrofia cardiaca pero en una proporción mucho más baja. Datos más recientes revelan que las mutaciones en estos genes son menos frecuentes de lo que se había estimado [310].

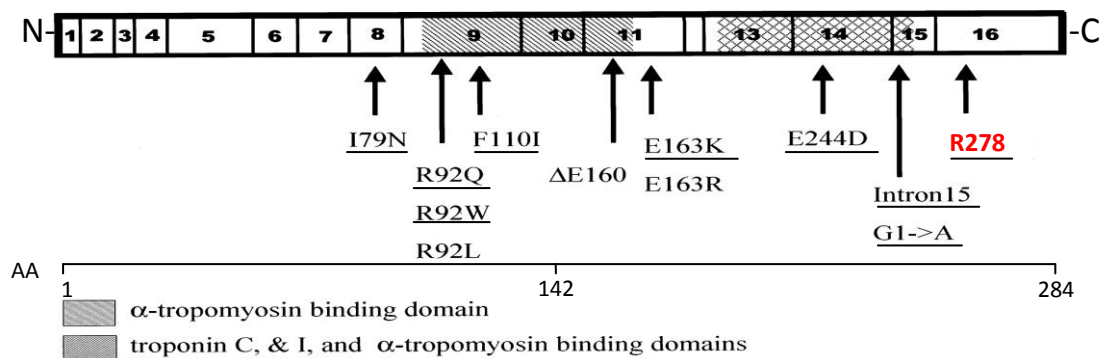


Figura 53. Representación esquemática de la *TNNT2*. Variantes missense identificadas en *TNNT2*. Las variantes reportadas como patogénicas en HGMD están subrayadas, las variantes identificadas en este estudio aparecen en color. Modificado de Duanxiang Li y col. [311].

R278C en *TNNT2* (caso 8) ha sido asociada con el desarrollo de MCH en diversos estudios de pacientes occidentales. Los datos disponibles sugieren que presenta una penetrancia incompleta en adultos jóvenes, tanto en mujeres como en varones. El desarrollo de hipertrofia ligera-moderada se hace manifiesto en edades más avanzadas, así la edad media de diagnóstico está en torno a los 40 años, con un promedio del grosor parietal máximo 2 cm en mayores de 30 años [255;261]. Llama la atención la frecuente asociación de R278C con una segunda mutación patogénica (casi una cuarta parte de las familias). Lo que sugiere que la presencia de un factor genético adicional puede ser determinante en la expresión clínica de la enfermedad [261].

En el presente estudio, R278C se identificó en un varón de 68 años, se asoció con el desarrollo de hipertrofia miocárdica desde hacía 10 años. La necropsia evidenció hipertrofia concéntrica muy severa. Coincidiendo con lo citado anteriormente la variante presenta en esta familia una penetrancia incompleta en

edades menos avanzadas, la edad media de los familiares con genotipo positivo que no han desarrollado la enfermedad, es de 40 años, la ausencia de una segunda mutación podría explicar una manifestación de la enfermedad ligera o moderada en edades más avanzadas, mientras que su presencia podría determinar el episodio de MS a una edad más adulta.

Por otro lado, se identificó la variante T78S en *TNNI3* (**caso 9**), de la cual no se tienen datos en otras poblaciones pero si han sido descritas otras variantes de tipo *missense* (R74P, R79P) en la misma región, incluso en el mismo exón 16, que han resultado ser variantes raras o polimorfismos exclusivos de determinados grupos étnicos; R74P [312] ó R79P [33]. En cuanto al efecto sobre la proteína, el cambio puntual de nucleótido en esta región moderadamente conservada, introduce pequeños cambios en la carga de la proteína, además cuatro de los programas bioinformáticos de predicción de patogenicidad utilizados la clasifican como neutral. Al no existir familiares estudiados desconocemos la expresión de la variante en la familia, pero muy probablemente no sea la causa de la MS. Con la información disponible la variante fue clasificada como UV.

3.2.2.2. Variantes identificadas en *MYBPC3*

V38Afs*42fs (**Caso 10**) (**Figura 52**), ha sido identificada en un varón de 22 años de edad que presentaba hipertrofia concéntrica, como ya se ha citado previamente las deleciones con cambio en la pauta de lectura son frecuentes en *MYBPC3* y se basan en la teoría de la haploinsuficiencia para confirmar su patogenicidad. No hay información de esta variante disponible en la bibliografía, aunque hay otras variantes como S47fs, Q76X, Y79X, V71fs, D75fs y V94fs [294;313-315] que producen truncamientos en aa muy próximos al aa 38 y a pesar que los estudios familiares recopilados son incompletos han sido relacionadas con casos de MCH en adultos jóvenes y MS en adultos. *Mutation Taster* la cataloga como causante de la enfermedad. Aunque la información disponible sugiere que la variante presenta una alta probabilidad de estar asociada con el desarrollo de hipertrofia ventricular, uno de los familiares está afectado clínicamente sin embargo no presenta la deleción. Esta falta de cosegregación sugiere; que podrían existir dos patologías en la familia, dos tipos de variantes implicadas o incluso que el caso índice fuese portador de una segunda variante, que junto a la ya identificada explicara el evento de MS, si esto fuese así, en el familiar de 32 años, que presenta un fenotipo menos severo,

probablemente no se combinarían ambas mutaciones. Con la información disponible se consideró a la variante V38Afs*42fs, como UV.

Por otra parte, el **caso 11** fue identificada la variante A833V, en el dominio C6 (aas 771-863), de tipo fibronectina III que está relacionado con la incorporación de la *MYBPC3* a la banda A del sarcómero. Los dominios C-t de la *MYBPC3*, están implicados en interacciones con la meromiosina ligera (*LMM*) y con la titina, que permiten estabilizar la estructura del sarcómero. Si bien desde el punto de vista funcional el residuo A833 es un residuo conservado que mutado, podría comprometer el correcto ensamblaje de la proteína, en este estudio, al igual que las bases de datos consultadas, no se cree que sea la causa de la MS y se clasificó como una variante probablemente no patogénica. Además no se dispuso de información suficiente para evaluar la relación genotipo-fenotipo.

3.2.2.3. Dobles portadores en HIVI

S169G y L178P (**caso 7**) fueron identificadas en *PKP2* (descrita en 3.2.3.3), en un varón de 68 años con historia clínica cardiológica, por presentar HIVI progresiva.

Se han descrito más de 20 variantes *missense* en el exón 3 de *PKP2* y llama la atención que en la gran mayoría de los casos, la relación con el desarrollo de MAVD es débil, por alguna de las siguientes razones: se han identificado también en controles sanos, los portadores no cumplían criterios estrictos de la enfermedad, la cosegregación en la familia no había sido demostrada o bien había una segunda mutación patogénica que explicaba el fenotipo [241].

Por otra parte, se ha descrito la presencia de hipertrofia ventricular izquierda concéntrica de carácter leve, en un porcentaje significativo de corazones con MAVD, en estos estudios, con series de necropsias de pacientes con MAVD, hasta el 40% de los pacientes con MAVD tenían HIVI, aunque en todos los casos hay criterios de MAVD como fibrosis y adipocitosis [295].

S169G había sido previamente descrita y aunque se encuentra en un gen ampliamente estudiado en la MAVD, la relación de esta variante con la miocardiopatía es dudosa, Sin embargo si ha sido relacionada con hipertrofia miocárdica [241;260]. Por otro lado L178P no había sido previamente descrita y además de afectar a un residuo débilmente conservado, tan sólo uno de los *softwares* bioinformáticos utilizados la cataloga como patológica. Por todo lo anteriormente descrito no se creyó que ninguna de las variantes fuese por si sola, la responsable de la patología y por la

falta de información acerca de la expresión de las variantes en la familia, ambas fueron consideradas como UVs.

3.2.3. Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho

La MAVD es una enfermedad del músculo cardiaco caracterizada por pérdida de miocardiocitos y su sustitución por tejido fibroso o fibroadiposo, siendo una de las principales causas de muerte súbita en adultos jóvenes <35 años (15-20%) [316;317] con una incidencia aún mayor entre los deportistas.

La enfermedad se hereda con frecuencia en forma de rasgo autosómico dominante y tiene mayor penetrancia en hombres [318]. El síncope puede ser la primera manifestación de la enfermedad [319]. Si la enfermedad es reconocida en una etapa temprana y se usa tratamiento apropiado, la MS puede ser prevenida, estudios recientes han demostrado la eficacia del DAI como terapia preventiva a la MS [320].

Hasta la fecha se han sido identificadas más de 300 mutaciones patogénicas en 12 genes que codifican proteínas desmosómicas y no desmosómicas que son las responsables del 60-65% de los casos de MAVD [27;241;263;321]. A pesar de los continuos estudios genotipo-fenotipo no se ha contribuido todavía a la estratificación del riesgo genético de esta enfermedad. La variable expresividad y la penetrancia incompleta en pacientes con MAVD, podría ser explicada por el tipo de mutación en el gen causal y/o la presencia de múltiples variantes genéticas en genes modificadores.

En esta serie de pacientes con diagnóstico o sospecha de MAVD, había una mayor prevalencia de hombres, la edad media del evento fue de 33,6±6,2 años, ninguno presentó síncope anteriores, ni tampoco había ningún deportista. Dos pacientes sufrieron una parada cardiaca resucitada, a los cuales se les implantó un DAI como prevención secundaria.

En el *screening* molecular realizado en 6 casos índice con diagnóstico o sospecha de MAVD. Se identificaron 5 variantes génicas en 4 probandos. Todas las variantes identificadas fueron catalogadas como UV debido a que no existía concordancia entre los resultados de los estudios *in silico* y/o la falta de información en la familia no permitió hacer una relación genotipo-fenotipo completa. Otros estudios realizados, muestran un rendimiento genético aproximadamente del 50%, teniendo en cuenta que eran individuos con alta probabilidad de MAVD y en los que se ha realizado un análisis de la secuencia completa de todos los genes del desmosoma [26]. En un estudio realizado en América del Norte con pacientes diagnosticados de

MAVD, el 52% presentaron una mutación en alguno de los genes desmosomales ocurriendo la mayoría de ellas en el gen de la *PKP2* y de manera notable se apreció que varios individuos tuvieron mutaciones en más de un gen. En este último estudio el rendimiento génico de los pacientes en los que se sospechaba MAVD fue del 28% [248].

3.2.3.1. Variantes identificadas en PKG/JUP

La *PKG* (Figura 54) es un miembro de la familia de proteínas denominadas “armadillo”, fue el primer componente del desmosoma implicado en la patogénesis de la MAVD. Tiene un importante papel en la unión de *DSG* y *DSC* al citoesqueleto. Hasta la fecha menos de 20 mutaciones han sido identificadas en este gen y el 50% corresponden con mutaciones extracelulares de tipo *missense*. El resto son deleciones/inserciones en un sitio de *splicing*. De todas ellas sólo 5 se han identificado en homocigosis para la enfermedad de Naxos [241]. La prevalencia de las mutaciones en este gen según los artículos publicados varían entre el 7 y el 26% [105;110;116].

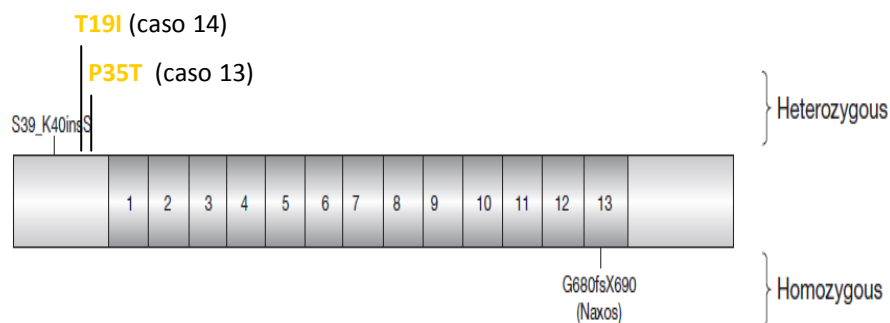


Figura 54: Esquema de mutaciones identificadas y publicadas de la proteína desmosómica PKG/JUP: Aparecen numerados los 13 dominios “armadillo”, las variantes identificadas en este estudio aparecen en color. Modificada de Awad y col. [105].

Las dos variantes identificadas en *PKG/JUP* (Tabla 45), estaban localizadas en el extremo N-t el cual, participa en la unión de los filamentos intermedios y el citoesqueleto de la actina con los complejos transmembrana, que conectan las células adyacentes. Por lo que las alteraciones estructurales, como ocurre con estas sustituciones aminoacídicas podrían favorecer un sustrato intercelular inestable, que impida tanto la adecuada interacción entre los miocitos como el mantenimiento de la integridad celular; la primera, P35T (Caso 13), no había sido descrita previamente y los estudios *in silico* la catalogaron como no patogénica, por otro lado y teniendo en cuenta que el caso índice tenía 35 años y que la edad media de los portadores no

afectados fue de 66,7 años, parecería poco probable que la variante fuese la causa de la MS en esta familia, pese al efecto que dicha sustitución tendría sobre la proteína. Por la falta de información, ya que el estudio genotipo-fenotipo no pudo ser completado al existir solo un individuo claramente afectado, esta variante se clasificó con UV.

La segunda alteración génica identificada, T19I (**Caso 14**), afecta a un residuo conservado e introduce moderadas modificaciones en la polaridad. La variante ha sido descrita en otras poblaciones, donde se ha relacionado con MAVD y con eventos de MS [248;264;322]. Por otro lado, la única base de datos (*LOVD*) la describe como UV.

El probando era un varón de 45 años, que sufrió una parada cardiaca resucitada. Clínicamente presentó un criterio mayor para el diagnóstico de MAVD y como prevención secundaria se le implantó un DAI. Fue imposible comprobar la cosegregación en esta familia, ya que no se dispuso de muestra para el estudio molecular del único afectado (el hermano) y pese a que su información clínica (Holter patológico con TNVS) hacía suponer que podría ser portador y explicar, la patogenicidad de la variante, se consideró como UV, pues los datos fueron insuficientes.

Sería importante destacar que la información recogida en la bibliografía sugiere que en la mayoría de los casos, la presencia de mutaciones *missense* en el gen *PKG/JUP* no serían suficientes para producir la enfermedad, requiriendo la presencia de factores genéticos o ambientales adicionales [323].

3.2.3.2. Variantes identificadas en DSG2

Las DSG (**Figura 55**) junto con las DSCs, forman los dos componentes esenciales de los desmosomas. La *DSG2* es la única isoforma expresada en los miocitos cardiacos. Más de 50 variaciones patogénicas han sido asociadas con MAVD, de las cuales alrededor del 60% son mutaciones *missense*, el 20% corresponde con pequeñas deleciones/inserciones y otro 20% con sitios de *splicing* [241]. A pesar del hecho, de que la mayoría de las variantes poseen herencia autosómica dominante, la herencia recesiva ha sido también descrita en pacientes con MAVD [105].

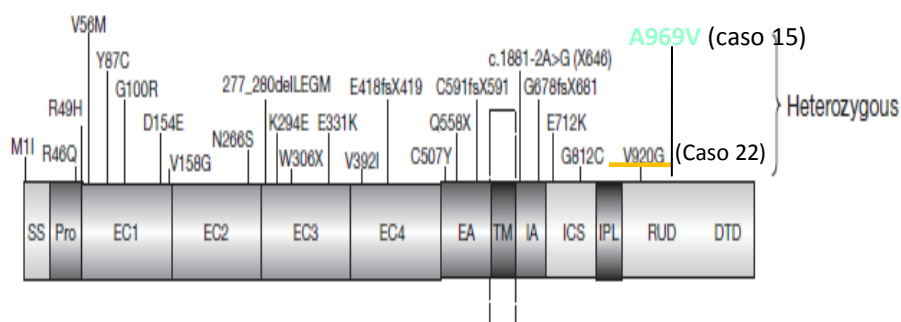


Figura 55. Esquema de las mutaciones identificadas y publicadas de la proteína desmosómica DSG2. Aparecen nombrados los diferentes dominios: dominio terminal: EA, dominio extracelular: EC1-4, dominio intracelular: IA, segmentos cadherina intracelulares: ICS, Propetido: Pro, dominio 6 unidades de repetición: RUD, secuencia del péptido señal: SS, dominio transmembrana: TM, dominio específico terminal de la desmogleina: DTD, las variantes identificadas en este estudio aparecen en color. Modificada de Awad y col. [105].

Se identificó la variante A969V (**Caso 15**) en un varón de 33 años, que según los datos de la necropsia no tenía características anatómicas típicas de MAVD. Al igual que en las bases de datos consultadas la variante fue catalogada como UV en este estudio, pues aunque afectaba a un residuo altamente conservado, tras estudiar a los individuos de la familia, se comprobó que no segregaba con el fenotipo. Este hecho nos sugiere una vez más, que otras variantes y/o modificadores ambientales podrían estar influyendo en el fenotipo de esta familia.

3.2.3.3. Dobles portadores en MAVD

Las formas más prevalentes de MAVD están causadas por mutaciones en *PKP2* (**Figura 56**) que corresponden con pequeñas deleciones e inserciones con cambios en la pauta de lectura (40%), variantes *missense* (15%). La mayoría de ellas con una herencia autosómica dominante [241;247]. Incluso en estos casos la penetrancia es, con frecuencia tardía o incompleta en pacientes que no tengan mutaciones adicionales o factores añadidos, como la práctica de deporte de competición. Muchas de las mutaciones *missense* descritas como patogénicas inicialmente aparecen también en controles sanos. En general se considera que este tipo de alteraciones no suelen ser suficientes para producir la enfermedad, pero pueden contribuir a su desarrollo en portadores de múltiples variantes.

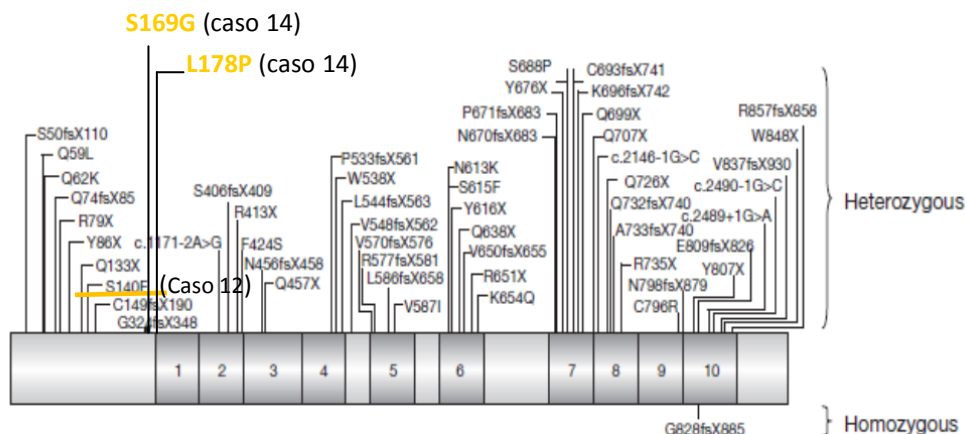


Figura 56. Esquema de las mutaciones identificadas y publicadas de la proteína desmosómica PKP2, aparecen numerados los 10 dominios “armadillo”, las variantes identificadas en este estudio aparecen en color. Modificada de Awad y col. [105].

S140F (Caso 12) fue identificada en un varón de 29 años que presentó una hipertrofia con infiltración grasa y fibrosis en ambos ventrículos. La variante ha sido hallada en controles sanos pero no con una distribución poblacional homogénea. Aunque hay publicaciones que la describen como un polimorfismo [247], en un estudio publicado por Christensen y col, la relacionan con MAVD. Según la bibliografía, la presencia de esta variante en pacientes portadores de otras mutaciones, determinó en algunos casos un fenotipo más severo y en otros podría haber permitido la expresión de la enfermedad. Estos eventos ocurrieron por debajo de los 50 años de edad [123].

Una vez estudiado el caso, se consideró la ampliación del análisis, hallándose una nueva variante *missense* S376F, localizada en el exón 13 del gen *RyR2*, donde han sido identificadas otras variantes como la G357S por Wanguermert Pérez y col, asociadas al desarrollo de TVPC

El gen *RyR2* es un gen muy poco polimórfico y la presencia de una variante no sinónima en uno de los exones donde se han identificado previamente mutaciones, tiene una probabilidad del 95% de ser la causa de la enfermedad en un sujeto con diagnóstico clínico de TVPC [324]. Al mismo tiempo, el exón 13 pertenece a una región denominada región I (aminoácidos 77-466) (existen 3 regiones similares en el gen; dominio I (N-t), II (central) y III (región del canal), que han sido considerados "hot spot", debido a que la mayoría de las mutaciones identificadas hasta el momento, en este gen, se concentran en alguna de estas 3 regiones [324].

Respecto a la relación entre el desarrollo de cardiopatía estructural y mutaciones en el gen de la *RyR2*, ha sido descrita pero sólo se sustenta en unos pocos casos, sin datos completos de cosegregación en la familia. Algunos trabajos han sugerido que la presencia de una variante potencialmente patogénica en el gen *RyR2* en un paciente con una miocardiopatía podría aumentar el riesgo de arritmias ventriculares [325].

Por otro lado, se ha postulado que este gen podía ser responsable de una forma de miocardiopatía arritmogénica que se la denominó MAVD2. Diversos estudios que incluyeron cohortes de casos relacionados con este diagnóstico, identificaron mutaciones en el gen *RyR2* [326]. Otros estudios realizados en modelos animales (por ejemplo *knock* en la variante R176Q), han demostrado el desarrollo de infiltración fibroadiposa y alteraciones estructurales observadas en modelos de displasia arritmogénica [327]. De todos modos la asociación clínica no ha sido demostrada de forma contundente.

Respecto a la estructura de la proteína, el residuo S376 pertenece a la porción citosólica N-t del receptor de la rianodina cardiaca (aminoácidos 1-4281), región que contiene múltiples sitios de unión y sirve para regular la actividad del receptor a través de su interacción con el dominio central, que regula la apertura y cierre del canal. Dentro de esta región, dicho residuo pertenece al dominio MIR-5 de la proteína (aas 349-406), este tipo de dominios MIR pueden tener una función ligando-transferasa y están formados por motivos de aproximadamente 50 residuos que a menudo se encuentran en múltiples copias.

En el receptor de la rianodina cardiaca salvaje (**Figura 13**), la región N-t y el dominio central interactúan, esta interacción se conoce como “*domain switch*”. De manera que, cuando ambas regiones interactúan estrechamente el canal se abre (“*subdomain zipping*”) y su disociación cierra el canal (“*subdomain unzipping*”). Se sabe que las mutaciones localizadas en los dominios N-t y central pueden debilitar esta interacción interdominios y causar lo que se conoce como “*domain unzipping*”, proceso que consiste en la activación errónea del canal con liberación de calcio en diástole lo que conlleva a una disfunción en la contractilidad por estrés oxidativo o una hiperfosforilación por la protein Kinasa A (PKA) y la disociación de las subunidades reguladoras que estabilizan el canal de calcio FKBP12.6 [328].

En general se ha visto que sustituciones basadas en cambios de polaridad y/o carga (como la identificada) predominan en la región N-t, mientras que cambios más

conservativos y basados cambios en las propiedades hidrofóbicas son las más frecuentemente encontradas en el dominio central de la proteína.

Una vez estudiados a los individuos de esta familia se observó una penetrancia incompleta del 28,5% para la variante S140F, destacando que los únicos dos afectados de esta familia eran portadores y que ambos pertenecían a la rama materna.

Teniendo en cuenta los datos de la bibliografía [124], donde se recogen variaciones fenotípicas entre miembros de familias que comparten la misma variante en PKP2, es muy probable que su presencia de forma aislada, no fuese la causa suficiente para el desarrollo de patología.

Cabe destacar que los individuos con genotipo positivo para la variante S376F pertenecían a la rama paterna, y sólo en caso índice se dió un genotipo complejo, sugiriendo que la combinación de ambas variantes, podría ser la responsable de la MS y donde, S140F, pudo haber actuado como polimorfismo modulador de la enfermedad, en presencia de S376F.

Además resulta paradójico que los portadores de S140F afectados (ambos; varones y deportistas) sean más jóvenes que los portadores no afectados (edad media de los portadores afectados; 35,0 años, edad media de los portadores no afectados; 50.8 años), lo cual podría deberse de igual forma a otros factores genéticos o ambientales como la práctica de deporte.

Con la información disponible, se consideró que S140F, podría haber actuado como un factor genético modificador en presencia de otra variante, como la S376F, asociada con anterioridad con MAVD2, aunque no de una manera evidente. Finalmente las dos variantes se clasificaron como UVs por no tener más datos relevantes que afirmaran esta hipótesis.

3.2.4. Síndrome de QT Largo

El SQTl, es una canalopatía arritmogénica caracterizada por una grave alteración en la repolarización, traducida electrocardiográficamente por una prolongación del intervalo QT. Aunque la heterogeneidad genética en el SQTl es considerable, hay tres genes que intervienen de manera principal y explican más del 70% de los casos de SQTl: *KCNQ1* (SQTl1), *KCNH2* (SQTl2) y *SCN5A* (SQTl3). Estas tres variantes genéticas del SQTl de mayor prevalencia presentan diferencias en sus manifestaciones, indicadores de riesgo y respuesta al tratamiento [156].

Además hay polimorfismos comunes en los genes relacionados con la enfermedad, con cualidades reguladoras que pueden exacerbar o silenciar la gravedad de una mutación [193]. A pesar de los avances aproximadamente el 30%-40% de los casos de SQTL no quedan genéticamente explicados, mediante el estudio de estos tres genes [26].

Se realizó el *screening* molecular en 3 casos índice con diagnóstico o sospecha de SQTL. Fueron identificadas 4 variantes génicas. De las cuales 1 fue catalogada como **probablemente patogénica (R533W en el gen *KCNQ1*)** y las otras tres restantes como variantes de significado incierto. Este dato supone un rendimiento génico en SQTL, del 33,3 %, dato que no concuerda con lo anteriormente citado. El estudio molecular de esta única familia afectada supone un rendimiento diagnóstico positivo del 50%.

3.2.4.1. Variantes identificadas en *KCNQ1*

Codifica la subunidad α , del canal de potasio Iks, este es el gen afectado en el SQTL1 que es el subtipo más frecuente, explicando el 30-35% de los casos de SQTL. La mayoría de las mutaciones descritas en este gen se localizan en la región citoplasmática de proteína y en la región C-terminal [329;330]. La penetrancia en este subtipo es cercana al 62%. Con frecuencia estos pacientes presentan una onda T de base ancha, con una duración muy prolongada [331].

Los pacientes con SQTL1 suelen presentar episodios de arritmias al realizar ejercicio o al estimular el simpático [158], más concretamente la natación se ha descrito como deporte disparador de arritmias en este subtipo de canalopatía. Generalmente el SQTL se manifiesta antes de los 40 años, principalmente en la niñez y en la adolescencia [193].

R533W (Caso 16), se identificó en un niño de 10 años de edad, con síncope previos relacionados con la natación. En el estudio clínico tras la parada cardiaca resucitada, el ECG evidenció un QTc prolongado de 470 mseg.

La variante ha sido descrita y relacionada previamente con SQTL en otras poblaciones con herencia autosómica dominante y recesiva [250;332]. Los casos de MS reportados en estas familias fueron portadores homocigóticos.

La variante no ha sido hallada en controles sanos, afecta a un residuo altamente conservado y se encuentra en el extremo C-t del canal de Kv7, 1 (**Figura 42**), este dominio modula la activación voltaje-dependiente del canal. Toda esta información refuerza la patogenicidad de la variante.

Después de estudiar a los individuos de esta familia, se vio que la variante presentaba una penetrancia incompleta del 50%. La madre de 47 años no es portadora pero presenta un Holter patológico con TVNS, se consideró probablemente afectada. En este caso, se debería tener en cuenta la posibilidad de que existan dos patologías en la familia (“teoría del doble *hit*”), con el agravante del tratamiento médico del caso índice, que podrían haber jugado un papel importante como desencadenante de la parada cardiaca resucitada.

Por otro lado, el padre de 49 años es portador y presenta ECG con parámetros anormales pero no diagnósticos, puede haber una segunda mutación que intervenga en la expresión de la enfermedad. Si esto fuese así, el riesgo de los familiares a sufrir MS sería menor por no portar ambas variantes [102]. Los factores epigenéticos también pueden tenerse en cuenta para explicar la variabilidad en su expresión, al igual que en otros casos ya reportados con esta misma variante [250]. Con la información disponible y puesto que no pudo demostrarse la segregación de la variante entre los familiares, fue considerada como probablemente patológica.

3.2.4.2. Variantes identificadas en DSP

Desde que el gen de la *DSP* fue relacionado con la síndrome de Carvajal, un número importante de nuevas mutaciones, tanto con herencia recesiva como dominante, han sido identificadas en este gen, en individuos con presencia de pelo lanoso, queratoderma palmo plantar y cardiomiopatía [333;334]. Además otras mutaciones *missense* y *nonsense* identificadas en la *DSP* (**Figura 57**), han sido relacionadas con MAVD o MAVI, en las cuales, los pacientes no presentaban anomalías en el pelo o en la piel [117;335;336].

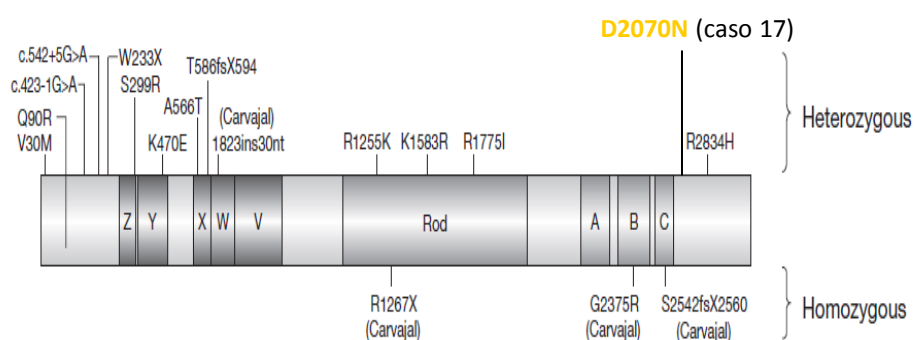


Figura 57. Esquema de las mutaciones identificadas y publicadas de la proteína desmosómica *DSP*. Se muestran las 5 α hélices enrolladas N-terminales (Z, Y, X, W, V), seguido del dominio Rod y los subdominios A, B y C. las variantes identificadas en este estudio aparecen en color. Modificada de Awad y col. [105].

Aunque en las bases de datos consultadas, la variante D2070N (**Caso 17**), esté catalogada como probablemente no patogénica y su frecuencia en la población se acerque a la de un polimorfismo, hay información disponible de dos portadores de la variante donde se relaciona con MAVD y MCD [247]. En este estudio fue identificada en una mujer de 54 años con historia cardiológica previa y que entre otros valores alterados destacó el QT alargado, por lo que se sospecho en un primer momento de SQTl, sin embargo quedó sin diagnóstico clínico definitivo por presentar además una disfunción sistólica severa del VI, con dimensiones normales.

Esta variante se localiza en el extremo C-t, región que une los filamentos intermedios del desmosoma, afecta a un residuo altamente conservado y el cambio de aa introduce pequeñas modificaciones en la proteína. Es importante destacar la dificultad para el diagnóstico de SQTl con T planas en pacientes tras una parada cardíaca, ya que la gran mayoría suelen tener QT largo transitoriamente durante unos días. Por otro lado tras la parada cardíaca suele quedar disfunción sistólica del ventrículo izquierdo (a veces persistente). Con lo cual algunos pacientes con diagnóstico de SQTl podrían ser miocardiopatías arritmogénicas izquierdas y viceversa, alguna miocardiopatía dilatada o arritmogénica izquierda podría ser una canalopatía.

Varios estudios han mostrado que la presencia de un intervalo QT prolongado es un hallazgo frecuente (hasta un 10%) en pacientes con MCH [337;338], En este sentido algunos trabajos proponen que el aumento del intervalo QT podría ser reflejo de un fenotipo más severo en términos de hipertrofia, Sin embargo, en algunos casos se ha observado prolongación del intervalo QT en pacientes con HIVI ligera, lo que puede sugerir una característica primaria de la enfermedad [338].

La información disponible es insuficiente para determinar la patogenicidad de la variante y por lo que se considero como una variante de significado incierto.

3.2.4.3. Dobles portadores en SQTl

En el presente estudio se identificaron, en heterocigosis, las variantes; **S661L** y **V490I** localizadas *CACNA2D1* y *PTPN11* respectivamente (**Caso 18**), el caso índice era una mujer de 56 años diagnosticada de SQTl, tras un episodio de parada cardíaca resucitada y síncope repetidos en días previos a la misma. El ECG evidenció un QTc de 500 mseg, Este valor de QTc, junto con los síncope sufridos de

manera repetida, deben considerarse como factores de alto riesgo en SQTl [156]. Como prevención secundaria a la paciente se le implanto un DAI bicameral.

CACNA2D1 pertenece a la cadena alfa-2-1 del canal de calcio dependiente de voltaje y debido a que este gen ha sido poco estudiado, se han identificado pocas mutaciones en él, los fenotipos asociados a ellas corresponde al SB, SQTc y síndrome de repolarización precoz, todas estas entidades están englobadas dentro del denominado síndrome de onda J [176;339]. Las mutaciones descritas producirían pérdida de la función de la subunidad que codifica este gen, pero no existe evidencia hasta la fecha de asociación entre mutaciones en *CACNA2D1* y *SQTl*.

Por otra parte *PTPN11* codifica una proteína que forma parte de la familia de las tirosin fosfatasas. Encargadas de regular procesos como el crecimiento y diferenciación celular, V490 se encuentra en el dominio catalítico de la proteína, pero por su localización se cree que tendría un papel más importante en el mantenimiento estructural del dominio PTP.

Las mutaciones en este gen ocasionan síndromes tales como el síndrome de Noonan y Leopard, más concretamente en un residuo continuo P491 considerado como un sitio “hot spot”, donde se han sido identificadas 4 mutaciones relacionadas con estos dos síndromes [340]. Se desconoce si la variante identificada V490I, puede tener consecuencias funcionales homólogas. No evidenciaron rasgos sugerentes de Noonan ni miocardiopatía en la probando ni en los portadores de esta familia, por lo que se descartó que estuviese implicada en el desarrollo de la patología, considerándose como UV.

Sería importante destacar que este caso, no se consideró un caso típico de SQTl y podría clasificarse como FV idiopática, pues el QT largo sólo pudo demostrarse temporalmente tras la reanimación, por lo que establecer la relación entre el fenotipo-genotipo se hace más complicado si cabe. En referencia a este punto sería importante destacar, que si existen mutaciones en el gen *CACNA2D1* que han sido asociadas con FV idiopática [341]. Pese a ello y con la información disponible, la variante S661L fue considerada como UV, pues el estudio de la relación genotipo-fenotipo no aportó información que aclarase su expresión en esta familia.

3.2.5. SADS

Un número significativo de MS en jóvenes <35 años permanecen sin explicar incluso después de un exhaustivo estudio *postmortem*. Estos son catalogados como

autopsias blancas o SADS [342;343]. La mitad de las víctimas tienen buena salud sin ningún síntoma previo. Su muerte normalmente ocurre como un primer evento de la patología [15]. Según la bibliografía, al menos en una tercera parte de los SADS en jóvenes, tienen origen genético [344], por lo tanto la autopsia molecular pasa a tener una gran importancia en estos casos. Más del 35% de estas muertes súbitas inexplicables se relacionan con canalopatías, tras su estudio genético. Estos desordenes arritmogénicos primarios como SQT, TVPC, y SB pueden predisponer a sufrir una MS. Las mutaciones estudiadas más comunes, se dan en los siguientes genes; *RyR2*, *KCNQ1*, *KCNH2* y *SCN5A*.

En el *screening* molecular de los 10 pacientes catalogados como SADS, fue hallada la variante **H126N** en el *GJA1* (**caso 19**), el probando de 13 años, presentó un ECG, ECO y resonancia normales, tras un evento de parada cardíaca resucitada.

Como ya se citó anteriormente, el gen de la *GJA1* codifica para la proteína conexina43, la cual constituye uno de los componentes más abundantes de las uniones *gap* en el corazón, por lo que su anormal funcionamiento podría estar implicado en el desarrollo de arritmias. Las mutaciones descritas, se han asociado fundamentalmente a la displasia oculodentodigital [345]. También han sido asociadas a malformaciones cardíacas congénitas como hipoplasia del ventrículo izquierdo, anomalías conotruncuales cardíacas y defectos septales [346]. Este gen no ha sido muy estudiado, por lo que se desconocen otros fenotipos probablemente asociados.

Aunque esta variante no había sido descrita en la bibliografía, según un trabajo publicado han sido identificadas dos mutaciones en este gen, en pacientes víctimas de síndrome de muerte súbita del infante (individuos de 2 y 3 meses de edad), siendo una de ellas de ocurrencia "de novo" [347]. Por otro lado, existen series de pacientes estudiados por FV idiopática con mutación en *GJA1*[348].

En este caso, el cambio de aa afecta a un residuo altamente conservado e introduce pequeñas modificaciones en la polaridad, por otro lado, los programas bioinformáticos de predicción de patogenicidad, en su mayoría, sugieren que la sustitución sería benigna. Se llevó a cabo el estudio de los familiares entre los cuales no había ningún portador, fenotípicamente, tampoco hubo ningún afectado. Es importante destacar la imposibilidad de hacer estudios de cosegregación cuando se trata de FV idiopática, ya que es una enfermedad esporádica, que se considera

genética y en la que es difícil de tener más de un afectado, además no hay ningún dato ecocardiográfico ni electrocardiográfico para hacer un diagnóstico precoz.

Ya que el diagnóstico se hace a posteriori, es importante aprovechar la tecnología de ultrasecuenciación para identificar genes como *GJA1*, así como los registros multicéntricos.

La información disponible es insuficiente para determinar la patogenicidad de la variante y debe considerarse como UV.

3.2.6. Taquicardia ventricular polimórfica catecolinérgica

La TVPC es un tipo de taquicardia que se presenta en corazones estructuralmente sanos. Se caracteriza por desencadenarse ante episodios de liberación de catecolaminas, es decir, ante situaciones de estrés físico o emocional (habitualmente en niños y adolescentes). Esta taquicardia puede dar lugar a episodios sincopales y puede derivar en fibrilación ventricular con riesgo de muerte súbita. Se encuentran antecedentes familiares de síncope o muerte súbita en el 40% de los casos [349]. Se han descrito dos formas principales: una autosómica dominante (la más frecuente apareciendo hasta en el 70% de los casos) ligada a mutaciones en el gen de la rianodina cardíaca (*RyR2*) y otra recesiva (mucho menos frecuente, sólo en el 1-2% de los casos) ligada a mutaciones en el gen de la calsequestrina (*CASQ2*) [350].

En este estudio se realizó el *screening* molecular del gen de la *RyR2* en el probando de la **caso 20**, por tratarse de una niña de 15 años de edad, con historia de síncope y que fallece en condiciones de estrés emocional, El corazón era rigurosamente normal en la autopsia. La variante identificada, V4771I, había sido descrita en otras poblaciones, los datos recogidos, pertenecen a dos familias con: 3 portadores con TCVP y 5 no portadores sanos. En cuanto a las características clínicas, estos pacientes presentaron un inicio de síntomas a edades tempranas, con arritmias desencadenadas por el ejercicio y episodios sincopales [186;187]. El hecho de que no haya sido hallada en controles reforzaría su carácter patogénico.

Pese a que el gen de la *RyR2*, es uno de los genes más grandes del genoma humano y el tiempo necesario para la determinación del genotipo es largo, la realización de su estudio molecular podría ser de gran utilidad para establecer el diagnóstico de los familiares, debido al alto riesgo de MS de los pacientes no tratados y la buena respuesta al tratamiento con bloqueadores beta, teniendo en cuenta que 20% de los portadores no presentan manifestaciones fenotípicas [187]. Entre los

familiares del presente estudio, no hubo ningún portador ni tampoco ningún individuo afectado, tampoco había HFMS. Aunque el fenotipo del paciente podría estar asociado a esta variante, fue clasificada como UV, ya que no se pudo demostrar su patogenicidad en esta familia y la información disponible no fue suficiente.

3.2.7. Otras miocardiopatías

En pacientes que expresan fenotipos heterogéneos, inclasificables o que no se asocian con una patología en concreto, se consideró la posibilidad de que hubiese más de un gen involucrado en la expresión del fenotipo.

3.2.7.1. MC no clasificable

En esta tesis se realizó el estudio molecular en 3 casos considerados miocardiopatía no clasificable, identificándose las siguientes variantes en 2 de los probandos: **R450R en DSC2 (Figura 58)** y **V920G en DSG2 (Figura 55) (casos 21 y 22 respectivamente)**. Las dos variantes se consideraron benignas o probablemente benignas.

La *DSC* junto a la *DSG* (descrita anteriormente), constituye una parte esencial del desmosoma. Participan en la adhesión celular calcio dependiente, así como proceso de señalización intracelular [351]. Entre las proteínas que componen el desmosoma la *DSC* ha sido la última en identificarse y por tanto la más recientemente relacionada con MAVD. Las mutaciones descritas de tipo *missense* e inserción/delección/*frameshift*, en el gen *DSC2* hasta la fecha, han sido muy pocas (**Figura 58**).

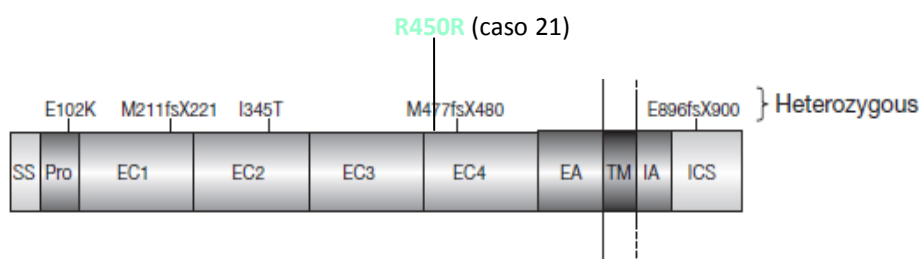


Figura 58. Esquema de las mutaciones identificadas y publicadas de la proteína desmosómica *DSC2*. Aparecen nombrados los diferentes dominios: dominio extracelular: EA, dominio extracelular: EC1-4, dominio intracelular: IA, segmentos cadherina intracelulares: ICS; Propetido: Pro, dominio 6 unidades de repetición: RUD, secuencia del péptido señal: SS, dominio transmembrana: TM. Modificada de Awad y col. [105].

R450R (Caso 21) se identificó en una mujer de 65 años, cuyo estudio clínico tras el evento de parada cardiaca resucitada presentó diferentes alteraciones

morfológicas, sin ningún patrón característico de ninguna miocardiopatía concreta. Esta variante aparece descrita en un paciente por un grupo de investigación holandés pero no se tienen detalles del fenotipo en este artículo [241], aunque en las diferentes bases de datos consultadas aparece como benigna o probablemente benigna

Una vez estudiados a los individuos de esta familia, se comprobó que ninguno de los familiares estudiados era portador y, aunque una sobrina presentó signos morfológicos sospechosos no fueron suficientes para considerarla como afectada. Con la escasa información disponible, y pese a que los datos recogen un caso de MS en un familiar (del cual no se conocen más datos), se consideró esta variante como probablemente no patogénica.

Por otro lado **V920G (Caso 22)** se identificó en un varón de 21 años, en cuyo estudio *postmortem* se hallaron varias alteraciones morfológicas, sin presentar un patrón característico de ninguna de las miocardiopatías. Esta variante había sido publicada por haberse identificado en individuos diagnosticados de MAVD, MCD e inclusive eventos de MS. Sin embargo, la cosegregación no se demostró en todos esos trabajos [110;352], por lo que es posible que los eventos descritos no se asocien a esta variante en particular. Además, está considerada como benigna o probablemente benigna por diferentes bases de datos, donde estiman que su frecuencia en población general se acercaría a la de un polimorfismo. Pese a que el cambio afecta a un residuo altamente conservado. Con la información disponible, esta variante fue considerada en este trabajo como probablemente no patogénica.

3.2.7.2. MS por convulsión febril

La variante identificada en el gen *KCNE2*, **I57T (Caso 23)**, ha sido hallada en otras poblaciones donde la relacionan con el SQT6 aunque 2 de los portadores, que tenían una clara afectación, tenían además una segunda mutación patogénica [353]. En otros dos portadores afectados no se descartó la presencia de un genotipo complejo [154;354].

Según la información disponible en las diferentes bases de datos utilizadas, parece existir controversia en cuanto a su significado clínico, ya que además de asociarla claramente al SQT6 ha sido considerada como UV por otros autores, pues la asocian a casos esporádicos de SQT6 relacionado con fármacos [253].

Como se citó anteriormente, *KCNE2* es el gen responsable del SQT6, aunque las mutaciones encontradas expliquen menos el 1% de los casos [110;193].

Por otro lado, este gen se expresa también en el sistema nervioso central, se han descrito variantes raras, que aunque no están asociadas directamente con epilepsia, podrían llegar a causar convulsiones febriles por la combinación de cambios moleculares [353]. Pese a ello, con la información disponible y ya que no se han estudiado individuos en esta familia, no hay datos que puedan relacionar esta variante con la convulsión febril maligna, por lo que fue considerada como UV.

4. AMPLIACIÓN DEL ESTUDIO GENÉTICO HACIA NUEVOS GENES CAUSALES DE MCP Y CP

Se debe tener en cuenta, que este ha sido un estudio parcial basado principalmente en la secuenciación convencional (electroforesis capilar) y que los esfuerzos por dar explicación a aquellas familias en las que no fue identificada una mutación causal de la enfermedad, irán orientados a la ampliación del espectro mutacional hacia genes causales de MCP y CP, que con una elevada prevalencia han hecho aparición en los últimos años, y que hoy en día están a la vanguardia de los nuevos descubrimientos genéticos, en lo que a cardiopatías se refiere.

En algunas MCP como la MCH, los datos bibliográficos muestran que, pese a estar causada generalmente por mutaciones en genes sarcoméricos, en alrededor de un 40% de los pacientes, no se encuentra la mutación causante de la enfermedad [355]. La necesidad de identificar mutaciones que den explicación a este tipo de casos, hace que el análisis molecular se amplíe y se centre, en el estudio de otros genes tales como; *FLHI*, *FLNC*, *TTN* y *PLN* entre otros.

FLHI es un miembro de la familia de proteínas FHL y es la principal isoforma en el músculo estriado. Forma parte del sarcómero y contribuye a su ensamblaje. *FLHI*, codifica para la proteína 1 de cuatro dominios y un medio LIM, las mutaciones en este gen han sido previamente asociadas a desordenes del musculo esquelético ligados al cromosoma X, como la distrofia muscular de Emery-Dreifuss, que presenta una implicación a nivel cardiaco variable [356]. Sin embargo, varios estudios [355;357;358] describen mutaciones causales de MCH aislada, en pacientes con ausencia de miopatía esquelética en el fenotipo. Lo cual podría reflejar una posible especificidad cardiaca de algunas variantes en este gen.

Frieddrich y col [355] apoya la posibilidad de que las proteínas mutadas puedan acumularse y actuar como péptidos tóxicos, desencadenando hipertrofia, disfunción sistólica y/o contractilidad alterada, es decir todas las características clínicas de la MCH.

Con todo lo que se conoce hasta el momento, sería importante tener en cuenta para futuros estudios génicos, el análisis de *FHLI* en todos aquellos casos con fenotipo de MCH, en los que pueda ser considerada una subjetiva patogénesis ligada al cromosoma X.

Por otro lado y gracias a la reciente aportación de *Valdés R y col.* [101]. Se considera la *FLNC* en estudios futuros, como una nueva causa de MCH familiar, con la peculiaridad de poseer una mayor incidencia de MS. En este estudio, hasta el momento, se ha analizado el gen de la *FLNC* en un 10% de los casos.

Son varios los trabajos que recientemente observan mutaciones en el gen de la *TTN*, como causa común de MCD, MCH o MAVD [100;131;132]. Si bien por su gran tamaño, este gen no se incorpora a la gran mayoría de los test genéticos, es ya un hecho, que el avance tecnológico está facilitando su estudio y por lo tanto aumentando el rendimiento diagnóstico de estas patologías. En este estudio, hasta el momento, se ha analizado el gen de la *TTN* en un 18% de los casos.

En cuanto al gen *PLN*, implicado en MAVD y MCD. Puede considerarse de gran importancia en nuestra región, ya que recientemente ha sido hallada con una elevada prevalencia, una mutación de mal pronóstico y efecto fundador con procedencia Holandesa (c.40_42delAGA) [123].

5. ESTUDIO FAMILIAR: CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

Como se ha puesto de manifiesto, el análisis genético tiene un papel fundamental en el estudio familiar de MCP y CP. Permite, por un lado y gracias a su alto valor predictivo positivo, la identificación de portadores silentes, que pueden beneficiarse de una terapia eficaz y de una modificación en su estilo de vida. Y por otro, evita la incertidumbre y la repetición de pruebas seriadas en los no portadores (alto valor predictivo negativo). La utilidad diagnóstica en el probando es más limitada, siendo útil en aquellos casos índice de MAVD que cumplan con los criterios diagnósticos para esta patología (**Figura 59**).

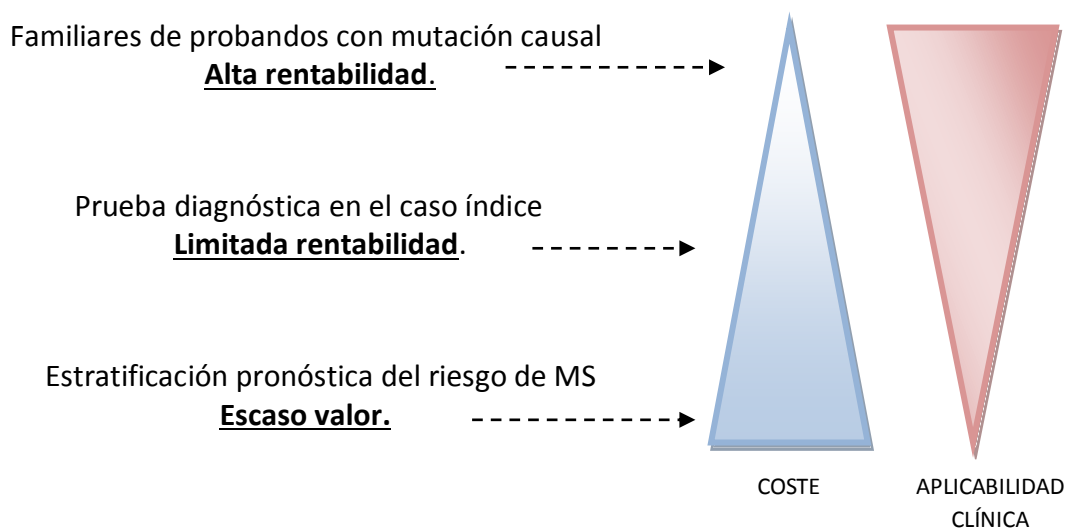


Figura 59. Puntos clave para el uso de los test genéticos en la práctica clínica. El mayor valor de los mismos, consiste en la detección de portadores subclínicos entre los familiares así como descartar la patología entre los no portadores.

La identificación temprana de los individuos de alto riesgo, permite el inicio de terapias orientadas a prevenir las complicaciones de esta particular patología.

Sería importante destacar que se consiguió la evaluación clínica y molecular de 29 familiares de primera y segunda línea, de aquellos casos índice que presentaron variantes patogénicas o probablemente patogénicas. Ocho (27,5%) pacientes, portaban la misma alteración que había sido detectada en el probando, considerándose, este último grupo de pacientes alto riesgo, además 5 de ellos (16,6%) estaban afectados clínicamente y además pertenecían a la misma familia. Por lo tanto el estudio molecular junto con una evaluación clínica exhaustiva, permitió la intervención terapéutica preventiva de cualquier evento cardiológico. El resto 3 (10,3%) permanecían asintomáticos en el momento del estudio, lo cual coincide con la penetrancia incompleta de las cardiopatías en general (**Figura 60**), haciendo especial hincapié que la MS puede ser la primera manifestación de la patología [1]. En referencia a este último punto, sería importante destacar que el 82,0% de los casos índice de esta tesis doctoral sufrió una MS como primera manifestación de la enfermedad.

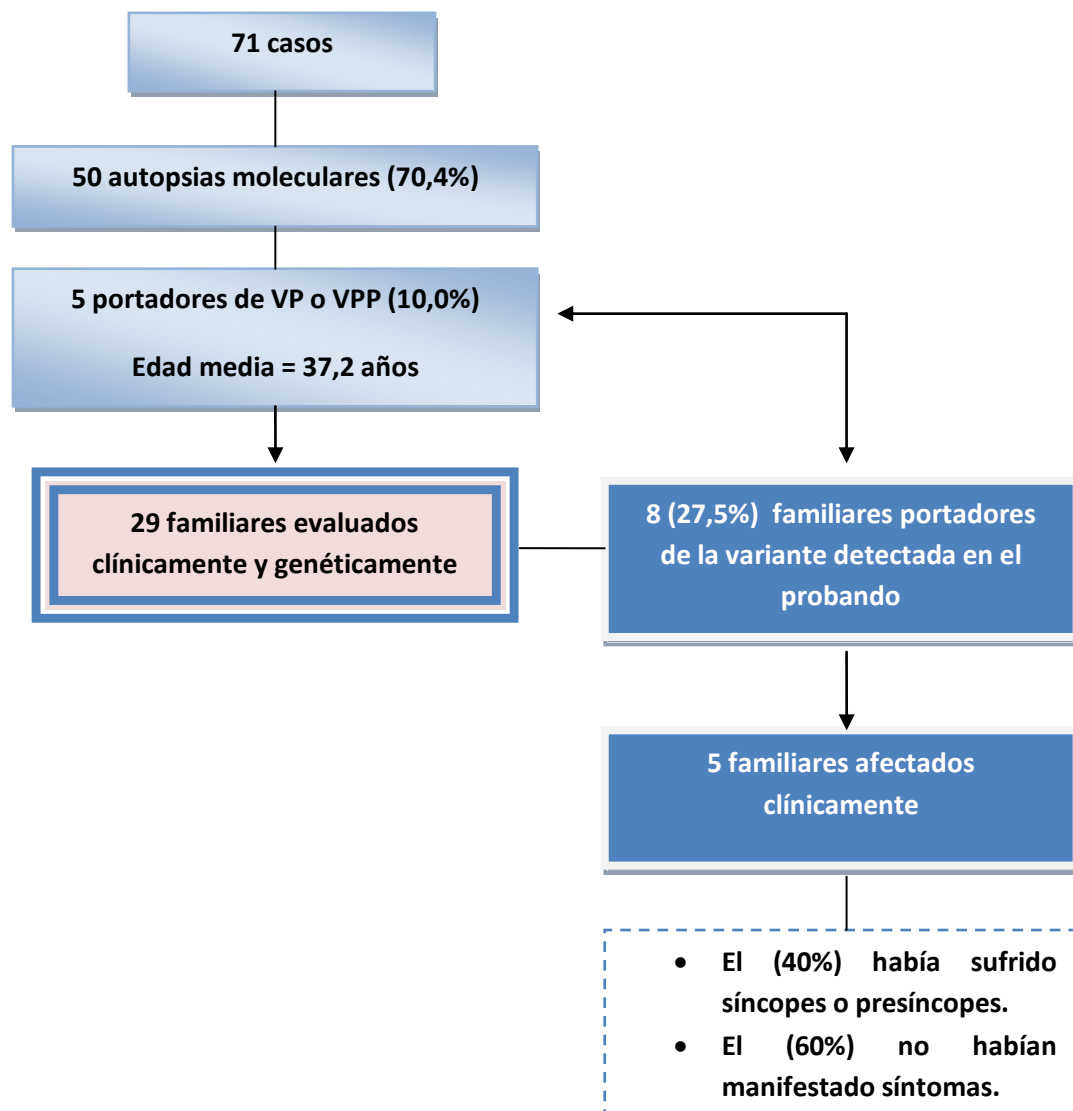


Figura 60. Esquema de la distribución de familiares portadores de la mutación y afectados clínicamente.

En la mayoría de las ocasiones los signos de alarma, tales como; síncope, ataques epilépticos, paradas cardíacas resucitadas o sensación de ahogo, que podrían conducir al diagnóstico clínico y en ocasiones ayudar a eludir la MS en un miembro de la familia, pueden pasar desapercibidos, de manera que no siempre se realizaría una profilaxis adecuada. En esta cohorte de autopsias moleculares el 18,0% de los casos presentó historia familiar positiva con eventos cardíacos. Destacando que el 6,0% contaban con un evento de MS entre sus familiares. Al contrario de lo cabría

esperar no se observó un mayor rendimiento en el diagnóstico genético positivo en aquellos casos con un historia familiar positiva.

6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Como ya se ha sabido, el genotipado es un punto crucial y crítico a la hora de explicar la patogenicidad de las variantes de significado incierto. Una de las limitaciones más importantes de este trabajo, fue el reclutamiento de familiares, debido entre otras razones; a dificultades en la puesta en marcha del protocolo o al elevado número de casos de nacionalidad extranjera que no tenían familiar alguno en nuestro país. Este hecho provocó que muchas de las variantes identificadas se catalogaran como UV, al no disponer de pruebas suficientes que explicaran su posible patogenicidad. Teniendo en cuenta que todas ellas fueron excluidas a la hora de calcular el rendimiento genético positivo, a través de la autopsia molecular, podría considerarse que el resultado obtenido en esta cohorte de pacientes (10,0%) estaría posiblemente subestimado.

Por otro lado, debido a la penetrancia incompleta y a la alta heterogenicidad fisiopatológica, característica de las cardiopatías, los estudios de correlación no aportaron información, en su gran mayoría.

Otra limitación importante, es la falta de estudios *in vitro* en todas las UV, que aclarasen su papel potencialmente patogénico. Aunque las distintas herramientas bioinformáticas se utilicen como fuente de información y sean una parte importante de los estudios moleculares, los estudios *in vitro* pueden ayudar también a dilucidar el papel de las UV en la fisiología cardiaca.

7. LIMITACIONES ACTUALES Y PAPEL DE LAS PRUEBAS GENÉTICAS

Debido al mayor uso de las pruebas genéticas, el consejo genético ha pasado a ser una parte fundamental del proceso. En algunos casos, los efectos beneficiosos obtenidos con la identificación de una mutación patógena pueden ser sustanciales. En otros, la misma identificación podría tener inconvenientes importantes [110;359]. El diagnóstico, la prevención, el riesgo de episodios y la respuesta al tratamiento se ven influidos por el genotipo, aun cuando su papel clínico es esencialmente específico para cada enfermedad. La determinación del genotipo puede no ser apropiada en todos los casos de cardiopatías y la decisión de ofrecer o no el análisis debe tomarse en el contexto de cada familia y con su colaboración. Además en muchos casos la identificación de un número considerable de genes menores que explican pocos casos incrementa la incertidumbre existente en la interpretación.

Para maximizar la posibilidad de obtener resultados clínicamente útiles y minimizar el riesgo de identificar variantes de trascendencia desconocida que pueden conllevar problemas importantes de interpretación de los resultados de las pruebas genéticas, sería adecuado estudiar solo los genes más adecuados para cada patología desde el punto de vista de rendimiento genético. El reciente documento de consenso publicado conjuntamente por la *Heart rhythm society* y la *European Heart Rhythm Association* ha delimitado los pros y los contras de las pruebas genéticas para cada uno de los trastornos hereditarios [26;110].

Inevitablemente, el desarrollo tecnológico que ha supuesto la ultrasecuenciación llevará a la identificación de nuevos genes candidatos para cada una de las patologías hereditarias cardíacas. La interpretación correcta de los resultados obtenidos y la relación de las variantes encontradas precisarán de la recogida exhaustiva de datos clínicos y la colección en registros multicéntricos. Otros autores explican la necesidad de utilizar *scores*, con escalas semicuantitativas que discriminen el carácter patogénico que puedan tener las nuevas variantes génicas [360].

Es posible que la respuesta a las variantes de significado clínico incierto que se han identificado en este trabajo, sean definitivamente clasificadas como patogénicas o neutrales, en un futuro próximo. Con la ultrasecuenciación la supuesta monogenicidad de las cardiopatías familiares, pasa a quedar en entredicho con la identificación de 2, 3 ó varias alteraciones genéticas implicadas en el desarrollo del fenotipo de los pacientes.

Conclusiones

CONCLUSIÓN 1

La incidencia media de casos de MS relacionados con cardiopatías hereditarias, estimada en la Región de Murcia, fue de 14 personas/año con una media de edad al diagnóstico de $36,0 \pm 19,6$ años.

CONCLUSIÓN 2

Existe un claro predominio del sexo varón en todos los casos de MS de nuestra población, destacando la asociación significativa en el grupo de las MCP.

CONCLUSIÓN 3

El estudio histológico o la evaluación cardiológica exhaustiva (en caso de tratarse de una parada cardíaca resucitada), permitieron obtener un rendimiento diagnóstico en el 60,9% de los casos, siendo la MCH la causa de MS más común en nuestro medio.

CONCLUSIÓN 4

Mediante el estudio molecular dirigido de en los 50 casos de MS, con sospecha o evidencia de cardiopatía hereditaria, se ha conseguido un rendimiento global del diagnóstico genético positivo del 10,0%. Habiendo sido identificadas las variantes génicas patogénicas: IVS23+1G>A (*MYBPC3*), R453C (*MYH7*), R278C (*TNNT2*), W711* (*MYBPC3*) y R533W (*KCNQ1*).

CONCLUSIÓN 5

Tras el análisis con herramientas *in silico*, la consulta en la literatura científica y el estudio de la relación genotipo-fenotipo, se ha considerado que el 30,0% de los casos portaba al menos una variante de significado clínico incierto, se han identificado entre ellas, variantes *missense* de mayor probabilidad patógena.

CONCLUSIÓN 6

Como estrategia diagnóstica, el análisis molecular contribuyó a aumentar el rendimiento diagnóstico positivo; de los familiares estudiados clínica y genéticamente, el 27,5% era portador de al menos una de las mutaciones identificadas como causantes o

probablemente causante de la enfermedad, el 16,0% estaba afectado clínicamente y el 10,3% no lo estaba.

CONCLUSIÓN 7

La creación de un grupo multidisciplinar que integra patólogos, cardiólogos y biólogos moleculares, ha permitido profundizar en las causas de MS en la Región de Murcia.

Anexos

ANEXO 1

MIOCARDIPATÍAS	CASO ÍNDICE		FAMILIARES
MCH	ADULTOS	NIÑOS	Grosor de VI ≥ 13 mm sin otra causa que lo justifique. (Doppler miocárdico o strain anormal, SAM incompleto o elongación de las valvas mitrales y músculos papilares anormales, principalmente en presencia de un ECG anormal, aumentan la posibilidad de padecer la enfermedad en familiares)
	Grosor ≥ 15 mm uno o más segmentos del VI medidos con cualquier técnica de imagen	Grosor del VI > 2 desviaciones estándar del previsto	
MAVD	CASO ÍNDICE / FAMILIARES		
	CRITERIOS MAYORES		CRITERIOS MENORES
	CRITERIO I (Disfunción global o regional y alteraciones estructurales)	<p>Por ECO-2D:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aquinesia o disquinesia regional o aneurisma de VD + Uno de los siguientes (medidos al final de la diástole): <ul style="list-style-type: none"> - diámetro del tracto de salida de VD, medido en eje paraesternal largo ≥ 32 mm (≥ 19 mm/ m² si es indexado por superficie corporal) ó ≥ 36 mm medido en eje paraesternal corto (≥ 21 mm/m² si es indexado por superficie corporal) - cambio fraccional del área del VD ("Fractional área change"=FAC) $\leq 33\%$ * <p>Por resonancia:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aquinesia o disquinesia o disincronía regional de la contracción de VD + Uno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> - Cociente entre el volumen de fin de diástole y la superficie corporal ≥ 110 ml/m² (hombres) ó ≥ 100 ml/m² (mujeres) - Fracción de eyección de VD $\leq 40\%$ <p>Por angiografía de VD:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aquinesia regional, disquinesia o aneurisma 	
CRITERIO II (Características tisulares de la pared)		Sustitución fibrosa del miocardio en al menos una muestra de biopsia endomiocárdica, con $< 60\%$ de miocitos residuales por análisis morfométrico (o menos del 50% si es estimado), con o sin sustitución grasa	

MAVD

<p>CRITERIO III (Alteraciones de la repolarización)</p>	<p>Inversión de onda T de V1 a V3 (o en más derivaciones precordiales) en pacientes >14 años de edad, en ausencia de BCRDHH (QRS \geq120 ms)</p>	<ul style="list-style-type: none"> •Inversión de onda T en V1-V2 en pacientes >14 años de edad y en ausencia de BCRDHH) o en V4, V5 o V6 •Inversión de onda T en V1, V2, V3 y V4 en pacientes >14 años de edad, en presencia de BCRDHH
<p>CRITERIO IV (Alteraciones de la despolarización)</p>	<p>Onda Epsilon en las derivaciones V1 a V3 (señales de baja amplitud reproducibles, entre el final del complejo QRS y el inicio de la onda T)</p>	<ul style="list-style-type: none"> •Potenciales tardíos positivos (electrocardiograma de señal promediada) en al menos uno de tres parámetros, en ausencia de un QRS con duración \geq110 ms en un ECG standard •Duración del QRS filtrado (fQRS) \geq114 ms •Duración del QRS terminal <40 μV (duración de la señal de baja amplitud) \geq38ms •Raíz cuadrada del voltaje de los 40 ms terminales \leq20 μV (RMS) •Duración de la activación final del QRS \geq de 55 ms (medido desde el nadir de la onda S hasta el final del QRS, incluyendo R') en las derivaciones V1, V2 ó V3 en ausencia de BCRDHH
<p>CRITERIO V (Arritmias)</p>	<p>Taquicardia ventricular, sostenida o no sostenida, con morfología de BRI con eje superior (eje del QRS negativo o indeterminado en derivaciones II, III y aVF y positivo en aVL)</p>	<ul style="list-style-type: none"> •Taquicardia ventricular, sostenida o no sostenida, con morfología de origen en tracto de salida de VD, BRI con eje inferior (eje del QRS positivo en II, III y aVF y negativo en aVL) o eje indeterminado. •Más de 500 extrasístoles ventriculares en un Holter de 24 horas
<p>CRITERIO VI (Historia familiar/genética)</p>	<ul style="list-style-type: none"> •MAVD confirmada en un familiar de 1º grado que cumpla los actuales criterios diagnósticos • MAVD confirmada por anatomía patológica en autopsia o cirugía, en familiar de 1º grado •Identificación de una mutación patogénica asociada o probablemente asociada con D/ MAVD en el paciente en evaluación. 	<ul style="list-style-type: none"> •Historia de MAVD en un familiar de 1º grado en el que no es posible determinar si cumple los actuales criterios diagnósticos •Muerte súbita prematura (<35 años) de un familiar de 1º grado en el que se sospecha una posible MAVD •MAVD confirmada por anatomía patológica o mediante los actuales criterios diagnósticos, en un familiar de segundo grado
<p>MAVD CONFIRMADA</p>	<p>dos criterios mayores ó - uno mayor y dos menores ó - cuatro menores (en categorías diferentes)</p>	
<p>MAVD "BORDERLINE"</p>	<p>un criterio mayor y uno menor ó - tres menores (en categorías diferentes)</p>	

	<p>- un criterio mayor ó - dos menores (en categorías diferentes) - un criterio mayor ó - dos menores (en categorías diferentes)</p>												
MCD	CASO ÍNDICE /FAMILIARES												
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>CRITERIOS MAYORES</th> <th>CRITERIOS MENORES</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> •Fracción de eyección del VI <45% y/o fracción de acortamiento <25%, diagnosticado por ecocardiograma, isótopos o ventriculografía •Diámetro telediastólico ventricular izquierdo >117% del valor previsto corregido por la edad y superficie corporal, que corresponde a 2 desviaciones standard del límite normal previsto + 5% (de acuerdo con fórmula de Henry; diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo previsto = $45,3 [superficie\ corporal]^{1/3} - 0,03[edad]$) </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> •Arritmias supraventriculares (fibrilación auricular o arritmias sostenidas) o ventriculares frecuentes (>1000/24 horas) o repetitivas (tres o más latidos con >120 l/m) antes de los 40 años de edad • Dilatación ventricular izquierda (>112% del valor previsto) •Disfunción ventricular izquierda con fracción de eyección<50% o fracción de acortamiento <28% •Enfermedad del sistema de conducción no explicada: bloqueos AV de 2º ó 3º grado, BCRHH o disfunción del nodo sinusal •Muerte súbita inexplicada o accidente cerebrovascular antes de los 50 años •Anormalidades segmentarias de la contractilidad (<1 segmento o uno si no estaba presente previamente) en ausencia de defectos de la conducción intraventricular o cardiopatía isquémica </td> </tr> <tr> <td colspan="2">CRITERIOS DE EXCLUSIÓN</td> </tr> <tr> <td colspan="2"> <ul style="list-style-type: none"> • Hipertensión arterial (>160/110 mmHg) • Enfermedad arterial coronaria (obstrucción >50% del diámetro luminal de una rama principal) • Consumo excesivo de alcohol (>40 gr/día en mujeres y >80 gr/día en varones durante más de 5 años) • Taquiarritmias supraventriculares persistentes • Enfermedades sistémicas • Enfermedades del pericardio • Enfermedades cardíacas congénitas • Cor pulmonale </td> </tr> <tr> <td>MCD AFECTADO</td> <td> <ul style="list-style-type: none"> •Presencia de los dos criterios diagnósticos mayores ó •Dilatación ventricular izquierda (>117%) + un criterio menor ó •Tres criterios menores </td> </tr> <tr> <td>MCD FAMILIAR</td> <td> <ul style="list-style-type: none"> •Presencia de dos o más individuos afectados en la misma familia o Presencia en la familia de un paciente con MCD de un familiar de 1º grado con una muerte súbita de causa no aclarada con menos de 35 años </td> </tr> </tbody> </table>	CRITERIOS MAYORES	CRITERIOS MENORES	<ul style="list-style-type: none"> •Fracción de eyección del VI <45% y/o fracción de acortamiento <25%, diagnosticado por ecocardiograma, isótopos o ventriculografía •Diámetro telediastólico ventricular izquierdo >117% del valor previsto corregido por la edad y superficie corporal, que corresponde a 2 desviaciones standard del límite normal previsto + 5% (de acuerdo con fórmula de Henry; diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo previsto = $45,3 [superficie\ corporal]^{1/3} - 0,03[edad]$) 	<ul style="list-style-type: none"> •Arritmias supraventriculares (fibrilación auricular o arritmias sostenidas) o ventriculares frecuentes (>1000/24 horas) o repetitivas (tres o más latidos con >120 l/m) antes de los 40 años de edad • Dilatación ventricular izquierda (>112% del valor previsto) •Disfunción ventricular izquierda con fracción de eyección<50% o fracción de acortamiento <28% •Enfermedad del sistema de conducción no explicada: bloqueos AV de 2º ó 3º grado, BCRHH o disfunción del nodo sinusal •Muerte súbita inexplicada o accidente cerebrovascular antes de los 50 años •Anormalidades segmentarias de la contractilidad (<1 segmento o uno si no estaba presente previamente) en ausencia de defectos de la conducción intraventricular o cardiopatía isquémica 	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN		<ul style="list-style-type: none"> • Hipertensión arterial (>160/110 mmHg) • Enfermedad arterial coronaria (obstrucción >50% del diámetro luminal de una rama principal) • Consumo excesivo de alcohol (>40 gr/día en mujeres y >80 gr/día en varones durante más de 5 años) • Taquiarritmias supraventriculares persistentes • Enfermedades sistémicas • Enfermedades del pericardio • Enfermedades cardíacas congénitas • Cor pulmonale 		MCD AFECTADO	<ul style="list-style-type: none"> •Presencia de los dos criterios diagnósticos mayores ó •Dilatación ventricular izquierda (>117%) + un criterio menor ó •Tres criterios menores 	MCD FAMILIAR	<ul style="list-style-type: none"> •Presencia de dos o más individuos afectados en la misma familia o Presencia en la familia de un paciente con MCD de un familiar de 1º grado con una muerte súbita de causa no aclarada con menos de 35 años
	CRITERIOS MAYORES	CRITERIOS MENORES											
	<ul style="list-style-type: none"> •Fracción de eyección del VI <45% y/o fracción de acortamiento <25%, diagnosticado por ecocardiograma, isótopos o ventriculografía •Diámetro telediastólico ventricular izquierdo >117% del valor previsto corregido por la edad y superficie corporal, que corresponde a 2 desviaciones standard del límite normal previsto + 5% (de acuerdo con fórmula de Henry; diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo previsto = $45,3 [superficie\ corporal]^{1/3} - 0,03[edad]$) 	<ul style="list-style-type: none"> •Arritmias supraventriculares (fibrilación auricular o arritmias sostenidas) o ventriculares frecuentes (>1000/24 horas) o repetitivas (tres o más latidos con >120 l/m) antes de los 40 años de edad • Dilatación ventricular izquierda (>112% del valor previsto) •Disfunción ventricular izquierda con fracción de eyección<50% o fracción de acortamiento <28% •Enfermedad del sistema de conducción no explicada: bloqueos AV de 2º ó 3º grado, BCRHH o disfunción del nodo sinusal •Muerte súbita inexplicada o accidente cerebrovascular antes de los 50 años •Anormalidades segmentarias de la contractilidad (<1 segmento o uno si no estaba presente previamente) en ausencia de defectos de la conducción intraventricular o cardiopatía isquémica 											
	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN												
	<ul style="list-style-type: none"> • Hipertensión arterial (>160/110 mmHg) • Enfermedad arterial coronaria (obstrucción >50% del diámetro luminal de una rama principal) • Consumo excesivo de alcohol (>40 gr/día en mujeres y >80 gr/día en varones durante más de 5 años) • Taquiarritmias supraventriculares persistentes • Enfermedades sistémicas • Enfermedades del pericardio • Enfermedades cardíacas congénitas • Cor pulmonale 												
MCD AFECTADO	<ul style="list-style-type: none"> •Presencia de los dos criterios diagnósticos mayores ó •Dilatación ventricular izquierda (>117%) + un criterio menor ó •Tres criterios menores 												
MCD FAMILIAR	<ul style="list-style-type: none"> •Presencia de dos o más individuos afectados en la misma familia o Presencia en la familia de un paciente con MCD de un familiar de 1º grado con una muerte súbita de causa no aclarada con menos de 35 años 												
CANALOPATÍAS	CASO ÍNDICE /FAMILIARES												
SQTL	<ol style="list-style-type: none"> SQTL se diagnostica: <ol style="list-style-type: none"> a. En presencia de una puntuación de riesgo de LQTS ≥3.5 (“Schwartz score”) en ausencia de una causa secundaria de prolongación del intervalo QT y / o b. En la presencia de una mutación patógena de manera inequívoca en uno de los genes del SQTL o c. En presencia de un intervalo QT corregido para el ritmo cardiaco usando La fórmula de Bazett (QTc) ≥500 ms en repetidos ECG de 12 derivaciones y en la ausencia de una causa secundaria de prolongación del intervalo QT. SQTL se puede diagnosticar en la presencia de un QTc entre 480 y 499 ms en repetidas medidas en ECG de 12 derivaciones en un paciente con 												

	síncope inexplicable en la ausencia de una causa secundaria de prolongación del intervalo QT y en ausencia de una mutación patógena.	
SB	<ol style="list-style-type: none"> El SB se diagnostica en pacientes que presentan (de manera espontánea o tras administración de fármacos antiarrítmicos de clase I), elevación del ST ≥ 2 mm con morfología tipo 1, en ≥ 1 derivaciones precordiales derechas V1,V2, con los electrodos posicionados en el 2º, 3º o 4º espacio intercostal (o por encima del 2º espacio intercostal). El SB se diagnostica en pacientes que presentan con elevación del ST con morfología 2 ó 3 en ≥ 1 derivaciones precordiales derechas V1, V2, con los electrodos posicionados en el 2º, 3º o 4º espacio intercostal (o por encima del 2º espacio intercostal) que, tras la administración de fármacos antiarrítmicos de clase I, se induce una morfología tipo 1 en el ECG. 	
SQTC	<ol style="list-style-type: none"> SQTC se diagnostica: <ol style="list-style-type: none"> En presencia de un QTc ≤ 330 ms. SQTC se puede diagnosticar en la presencia de un QTc < 360 ms y la presencia de uno o más de los siguientes factores: <ol style="list-style-type: none"> Mutación patogénica Historia familiar de SQTC Historia familiar de muerte súbita con ≤ 40 años Ser superviviente de un episodio de TV/FV en ausencia de enfermedad cardíaca. 	
TVPC	CASO ÍNDICE	FAMILIARES
	-Se diagnostica en pacientes < 40 años, cuando se presenta una TV de causa no explicada en relación con ejercicio o una TV bidireccional inducida por catecolaminas o extrasístoles ventriculares prematuros polimórficos o una TV, en presencia de un corazón estructuralmente normal con un ECG normal.	-Se diagnostica en familiares de un paciente con TVPC, que presenten un corazón normal con extras ventriculares frecuentes inducidos por ejercicio o TV polimórfica o bidireccional
	-Se puede diagnosticar en pacientes > 40 años, cuando se presenta una TV de causa no explicada en relación con ejercicio o una TV bidireccional inducida por catecolaminas o extrasístoles ventriculares prematuros polimórficos o una TV, en presencia de un corazón estructuralmente normal con un ECG normal y coronarias normales.	
	-Se diagnostica en pacientes con una mutación patogénica	

Anexo I. Criterios diagnósticos, de las principales cardiopatías familiares publicados en las guías y documentos de consenso [26;361] .*El cambio fraccional del área del VD (FAC) se calcula = Área al final de la diástole (cm²) – Área al final de la sístole (cm²) / Área al final de la diástole (cm²).

ANEXO II

ESTUDIO FAMILIAR DE MUERTE SÚBITA

El 12% de los fallecimientos se producen de forma inesperada y súbita, la mayoría de estas son de origen cardíaco, La muerte cardíaca súbita tiene una incidencia baja en nuestro país, En más de la mitad de los casos se produce por la interrupción súbita de la circulación de sangre al músculo del corazón (cese del aporte de glucosa y oxígeno necesarios para la contracción del músculo) que en ocasiones llevan al infarto y en otras desencadenan arritmias malignas que llevan a la muerte, A pesar de que esta es la causa más importante en los adultos con factores de riesgo como hipertensión, diabetes, tabaquismo, niveles elevados de colesterol, y obesidad, son otras las causas más frecuentes en los individuos jóvenes (especialmente los menores de 35 años).

Algunas enfermedades del músculo cardíaco y algunas enfermedades del sistema eléctrico del corazón pueden condicionar la aparición de arritmias malignas en los individuos jóvenes, La miocardiopatía hipertrófica es la primera causa de muerte súbita en los menores de 35 años, Hay otras enfermedades del músculo que aunque más infrecuentes también pueden causar parada cardíaca como son la miocardiopatía dilatada y la miocardiopatía arritmogénica de ventrículo derecho, Entre las enfermedades del sistema eléctrico más frecuentemente asociadas a muerte súbita se encuentran el síndrome de QT largo y el síndrome de Brugada, En ocasiones las anomalías congénitas de las arterias coronarias son también causa de parada cardíaca.

En ocasiones el fallecimiento en estas enfermedades aparece en ausencia de síntomas previos en una persona aparentemente sana, En un porcentaje que oscila entre un 20% y un 50% estas enfermedades afectan a varios individuos en la misma familia y pueden por tanto heredarse, El diagnóstico adecuado es preciso para realizar una correcta valoración del riesgo y comenzar un tratamiento preventivo eficaz.

Un familiar suyo ha sufrido un episodio de parada cardíaca posiblemente como consecuencia de una arritmia maligna relacionada con alguna de estas enfermedades, Le ofrecemos la posibilidad de realizar una revisión que consideramos importante no solo para usted, sino también para el resto de su familia, La revisión consistiría en la elaboración de una historia clínica (preguntas sobre sus síntomas y antecedentes clínicos), una exploración física (auscultación, etc.), un electrocardiograma, un ecocardiograma, una prueba de esfuerzo y un electrocardiograma de 24 horas de duración (Holter), Es posible que además le aconsejemos la realización de una prueba

de provocación con un fármaco para desenmascarar alteraciones ocultas en el electrocardiograma, Recogeremos una muestra de sangre para realización de estudios bioquímicos y genéticos sobre esta enfermedad, los datos recogidos serán almacenados en soporte informático y se conservará una muestra de sangre congelada para realizar un posterior análisis.

Para la realización de este estudio necesitaríamos su consentimiento, Agradeceríamos rellenara y firmara este documento, El médico firmante se responsabiliza de la confidencialidad de estos datos y asegura que no serán utilizados con otro objetivo diferente al que le hemos explicado,

Yo D, / Da, DNI: desearía formar parte del estudio de esta enfermedad, según las condiciones antes señaladas, y autorizo a los doctores Javier Lacunza Ruiz y Juan R Gimeno Blanes para la realización de los análisis y pruebas oportunas,

Fdo.

Fecha:

Fdo. Dr., J, Lacunza

Dr., J, R, Gimeno

(Médico responsable del estudio)

Bibliografía

1. di Gioia CR, Autore C, Romeo DM, Ciallella C, Aromatario MR, Lopez A et al. Sudden cardiac death in younger adults: autopsy diagnosis as a tool for preventive medicine. *Hum Pathol* 2006; 37(7):794-801.
2. Fabre A, Sheppard MN. Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart* 2006; 92(3):316-320.
3. Firoozi S, Sharma S, Hamid MS, McKenna WJ. Sudden death in young athletes: HCM or ARVC? *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16(1):11-17.
4. Maron BJ, Roberts WC, Epstein SE. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: a profile of 78 patients. *Circulation* 1982; 65(7):1388-1394.
5. Marrugat J, Elosua R, Gil M. [Epidemiology of sudden cardiac death in Spain]. *Rev Esp Cardiol* 1999; 52(9):717-725.
6. Sen-Chowdhry S, McKenna WJ. Sudden cardiac death in the young: a strategy for prevention by targeted evaluation. *Cardiology* 2006; 105(4):196-206.
7. Suarez-Mier MP, Aguilera B. [Causes of sudden death during sports activities in Spain]. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55(4):347-358.
8. Behr ER, Casey A, Sheppard M, Wright M, Bowker TJ, Davies MJ et al. Sudden arrhythmic death syndrome: a national survey of sudden unexplained cardiac death. *Heart* 2007; 93(5):601-605.
9. Behr ER, Casey A, Sheppard M, Wright M, Bowker TJ, Davies MJ et al. Sudden arrhythmic death syndrome: a national survey of sudden unexplained cardiac death. *Heart* 2007; 93(5):601-605.
10. Priori SG, Napolitano C, Schwartz PJ, Grillo M, Bloise R, Ronchetti E et al. Association of long QT syndrome loci and cardiac events among patients treated with beta-blockers. *JAMA* 2004; 292(11):1341-1344.
11. Tan HL, Hofman N, van Langen IM, van der Wal AC, Wilde AA. Sudden unexplained death: heritability and diagnostic yield of cardiological and genetic examination in surviving relatives. *Circulation* 2005; 112(2):207-213.
12. Tester DJ, Ackerman MJ. Postmortem long QT syndrome genetic testing for sudden unexplained death in the young. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(2):240-246.
13. Elliott PM, Poloniecki J, Dickie S, Sharma S, Monserrat L, Varnava A et al. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: identification of high risk patients. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(7):2212-2218.
14. Gehi AK, Duong TD, Metz LD, Gomes JA, Mehta D. Risk stratification of individuals with the Brugada electrocardiogram: a meta-analysis. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006; 17(6):577-583.
15. Liberthson RR. Sudden death from cardiac causes in children and young adults. *N Engl J Med* 1996; 334(16):1039-1044.

16. Nava A, Bauce B, Basso C, Muriago M, Rampazzo A, Villanova C et al. Clinical profile and long-term follow-up of 37 families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(7):2226-2233.
17. Priori SG, Napolitano C, Vicentini A. Inherited arrhythmia syndromes: applying the molecular biology and genetic to the clinical management. *J Interv Card Electrophysiol* 2003; 9(2):93-101.
18. Corrado D, Leoni L, Link MS, Della BP, Gaita F, Curnis A et al. Implantable cardioverter-defibrillator therapy for prevention of sudden death in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Circulation* 2003; 108(25):3084-3091.
19. Grimm W, Christ M, Bach J, Muller HH, Maisch B. Noninvasive arrhythmia risk stratification in idiopathic dilated cardiomyopathy: results of the Marburg Cardiomyopathy Study. *Circulation* 2003; 108(23):2883-2891.
20. Ikeda T, Takami M, Sugi K, Mizusawa Y, Sakurada H, Yoshino H. Noninvasive risk stratification of subjects with a Brugada-type electrocardiogram and no history of cardiac arrest. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2005; 10(4):396-403.
21. Sabater M. Cost-effectiveness of genetic studies in inherited heart diseases. Garcia E, Tovar I, Ruiz F, Gimeno JR, Valdés M, editors. *Cardiogenetics* 3:e5, 28-30. 2013.
Ref Type: Generic
22. Maron BJ, Shirani J, Poliac LC, Mathenge R, Roberts WC, Mueller FO. Sudden death in young competitive athletes. Clinical, demographic, and pathological profiles. *JAMA* 1996; 276(3):199-204.
23. Morentin-Campilloa B. Autopsia cardiaca en patología forense. Suárez-Mierb M A-TB, editor. *Revista Española de Medicina Legal* , 106-111. 2013.
Ref Type: Generic
24. Mogensen J, Kubo T, Duque M, Uribe W, Shaw A, Murphy R et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations. *J Clin Invest* 2003; 111(2):209-216.
25. Monserrat L, Elliott PM, Gimeno JR, Sharma S, Penas-Lado M, McKenna WJ. Non-sustained ventricular tachycardia in hypertrophic cardiomyopathy: an independent marker of sudden death risk in young patients. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(5):873-879.
26. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace* 2011; 13(8):1077-1109.
27. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. Genetics of restrictive cardiomyopathy. *Heart Fail Clin* 2010; 6(2):179-186.
28. Basso C, Burke M, Fornes P, Gallagher PJ, de Gouveia RH, Sheppard M et al. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death. *Virchows Arch* 2008; 452(1):11-18.
29. Sheppard MN. Approach to the cardiac autopsy. *J Clin Pathol* 2012; 65(6):484-495.

30. de la Grandmaison GL, Charlier P, Durigon M. Usefulness of systematic histological examination in routine forensic autopsy. *J Forensic Sci* 2010; 55(1):85-88.
31. Molina DK, Wood LE, Frost RE. Is routine histopathologic examination beneficial in all medicolegal autopsies? *Am J Forensic Med Pathol* 2007; 28(1):1-3.
32. Lombardi R. Genetics and sudden death. *Curr Opin Cardiol* 2013; 28(3):272-281.
33. Kimura A, Harada H, Park JE, Nishi H, Satoh M, Takahashi M et al. Mutations in the cardiac troponin I gene associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1997; 16(4):379-382.
34. Marian AJ, Roberts R. Recent advances in the molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1995; 92(5):1336-1347.
35. Spirito P, Autore C. Management of hypertrophic cardiomyopathy. *BMJ* 2006; 332(7552):1251-1255.
36. Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1997; 336(11):775-785.
37. Maron BJ, Bonow RO, Cannon RO, III, Leon MB, Epstein SE. Hypertrophic cardiomyopathy. Interrelations of clinical manifestations, pathophysiology, and therapy (1). *N Engl J Med* 1987; 316(13):780-789.
38. Wigle ED, Sasson Z, Henderson MA, Ruddy TD, Fulop J, Rakowski H et al. Hypertrophic cardiomyopathy. The importance of the site and the extent of hypertrophy. A review. *Prog Cardiovasc Dis* 1985; 28(1):1-83.
39. Maron BJ, Gross BW, Stark SI. Images in cardiovascular medicine. Extreme left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1995; 92(9):2748.
40. Malik MS, Watkins H. The molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol* 1997; 12(3):295-302.
41. Maron BJ, Olivotto I, Spirito P, Casey SA, Bellone P, Gohman TE et al. Epidemiology of hypertrophic cardiomyopathy-related death: revisited in a large non-referral-based patient population. *Circulation* 2000; 102(8):858-864.
42. Maron BJ. Risk stratification and prevention of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiol Rev* 2002; 10(3):173-181.
43. O'Mahony C, Jichi F, Pavlou M, Monserrat L, Anastasakis A, Rapezzi C et al. A novel clinical risk prediction model for sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy (HCM risk-SCD). *Eur Heart J* 2014; 35(30):2010-2020.
44. Varnava A, Baboonian C, Davison F, de CL, Elliott PM, Davies MJ et al. A new mutation of the cardiac troponin T gene causing familial hypertrophic cardiomyopathy without left ventricular hypertrophy. *Heart* 1999; 82(5):621-624.
45. Sharma S, Elliott PM, Whyte G, Mahon N, Virdee MS, Mist B et al. Utility of metabolic exercise testing in distinguishing hypertrophic cardiomyopathy from physiologic left ventricular hypertrophy in athletes. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(3):864-870.

46. Hagege AA, Dubourg O, Desnos M, Mirochnik R, Isnard G, Bonne G et al. Familial hypertrophic cardiomyopathy. Cardiac ultrasonic abnormalities in genetically affected subjects without echocardiographic evidence of left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J* 1998; 19(3):490-499.
47. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 1997; 350(9071):127-133.
48. Shapiro LM, Zezulka A. Hypertrophic cardiomyopathy: a common disease with a good prognosis. Five year experience of a district general hospital. *Br Heart J* 1983; 50(6):530-533.
49. Kuang SQ, Yu JD, Lu L, He LM, Gong LS, Chen SJ et al. Identification of a novel missense mutation in the cardiac beta-myosin heavy chain gene in a Chinese patient with sporadic hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28(9):1879-1883.
50. Hada Y, Sakamoto T, Amano K, Yamaguchi T, Takenaka K, Takahashi H et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a population of adult Japanese workers as detected by echocardiographic screening. *Am J Cardiol* 1987; 59(1):183-184.
51. Maron BJ, Peterson EE, Maron MS, Peterson JE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in an outpatient population referred for echocardiographic study. *Am J Cardiol* 1994; 73(8):577-580.
52. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation* 1995; 92(4):785-789.
53. Spirito P, Maron BJ, Bonow RO, Epstein SE. Occurrence and significance of progressive left ventricular wall thinning and relative cavity dilatation in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1987; 60(1):123-129.
54. Cecchi F, Olivotto I, Monteregeggi A, Santoro G, Dolara A, Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy in Tuscany: clinical course and outcome in an unselected regional population. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26(6):1529-1536.
55. McKenna WJ, England D, Doi YL, Deanfield JE, Oakley C, Goodwin JF. Arrhythmia in hypertrophic cardiomyopathy. I: Influence on prognosis. *Br Heart J* 1981; 46(2):168-172.
56. Spirito P, Chiarella F, Carratino L, Berisso MZ, Bellotti P, Vecchio C. Clinical course and prognosis of hypertrophic cardiomyopathy in an outpatient population. *N Engl J Med* 1989; 320(12):749-755.
57. Bonne G, Carrier L, Richard P, Hainque B, Schwartz K. Familial hypertrophic cardiomyopathy: from mutations to functional defects. *Circ Res* 1998; 83(6):580-593.
58. Marian AJ. Hypertrophic cardiomyopathy: from genetics to treatment. *Eur J Clin Invest* 2010; 40(4):360-369.
59. Niederlander N, Raynaud F, Astier C, Chaussepied P. Regulation of the actin-myosin interaction by titin. *Eur J Biochem* 2004; 271(22):4572-4581.
60. Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1997; 336(11):775-785.

61. Flashman E, Redwood C, Moolman-Smook J, Watkins H. Cardiac myosin binding protein C: its role in physiology and disease. *Circ Res* 2004; 94(10):1279-1289.
62. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93(5):841-842.
63. Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1997; 336(11):775-785.
64. Maron BJ, Moller JH, Seidman CE, Vincent GM, Dietz HC, Moss AJ et al. Impact of laboratory molecular diagnosis on contemporary diagnostic criteria for genetically transmitted cardiovascular diseases: hypertrophic cardiomyopathy, long-QT syndrome, and Marfan syndrome. A statement for healthcare professionals from the Councils on Clinical Cardiology, Cardiovascular Disease in the Young, and Basic Science, American Heart Association. *Circulation* 1998; 98(14):1460-1471.
65. Charron P, Dubourg O, Desnos M, Isnard R, Hagege A, Millaire A et al. Diagnostic value of electrocardiography and echocardiography for familial hypertrophic cardiomyopathy in a genotyped adult population. *Circulation* 1997; 96(1):214-219.
66. McKenna WJ, Stewart JT, Nihoyannopoulos P, McGinty F, Davies MJ. Hypertrophic cardiomyopathy without hypertrophy: two families with myocardial disarray in the absence of increased myocardial mass. *Br Heart J* 1990; 63(5):287-290.
67. Gimeno JR, Lacunza J, Garcia-Alberola A, Cerdan MC, Oliva MJ, Garcia-Molina E et al. Penetrance and risk profile in inherited cardiac diseases studied in a dedicated screening clinic. *Am J Cardiol* 2009; 104(3):406-410.
68. McKenna WJ, Spirito P, Desnos M, Dubourg O, Komajda M. Experience from clinical genetics in hypertrophic cardiomyopathy: proposal for new diagnostic criteria in adult members of affected families. *Heart* 1997; 77(2):130-132.
69. McKenna WJ, Elliott PM. Hypertrophic cardiomyopathy. *Evid Based Cardiovasc Med* 1998; 2(4):89-91.
70. McKenna WJ, Franklin RC, Nihoyannopoulos P, Robinson KC, Deanfield JE. Arrhythmia and prognosis in infants, children and adolescents with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11(1):147-153.
71. Jacoby D, McKenna WJ. Genetics of inherited cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2012; 33(3):296-304.
72. Cambronero F, Marin F, Roldan V, Hernandez-Romero D, Valdes M, Lip GY. Biomarkers of pathophysiology in hypertrophic cardiomyopathy: implications for clinical management and prognosis. *Eur Heart J* 2009; 30(2):139-151.
73. Bonne G, Carrier L, Richard P, Hainque B, Schwartz K. Familial hypertrophic cardiomyopathy: from mutations to functional defects. *Circ Res* 1998; 83(6):580-593.
74. Blanchard E, Seidman C, Seidman JG, LeWinter M, Maughan D. Altered crossbridge kinetics in the alphaMHC403/+ mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 1999; 84(4):475-483.

Bibliografía

75. Yang Q, Sanbe A, Osinska H, Hewett TE, Klevitsky R, Robbins J. A mouse model of myosin binding protein C human familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1998; 102(7):1292-1300.
76. Yang Q, Sanbe A, Osinska H, Hewett TE, Klevitsky R, Robbins J. In vivo modeling of myosin binding protein C familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 1999; 85(9):841-847.
77. Tardiff JC, Factor SM, Tompkins BD, Hewett TE, Palmer BM, Moore RL et al. A truncated cardiac troponin T molecule in transgenic mice suggests multiple cellular mechanisms for familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1998; 101(12):2800-2811.
78. Spindler M, Saupe KW, Christe ME, Sweeney HL, Seidman CE, Seidman JG et al. Diastolic dysfunction and altered energetics in the alphaMHC403/+ mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1998; 101(8):1775-1783.
79. Marian AJ. Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 2000; 355(9197):58-60.
80. Crilley JG, Boehm EA, Blair E, Rajagopalan B, Blamire AM, Styles P et al. Hypertrophic cardiomyopathy due to sarcomeric gene mutations is characterized by impaired energy metabolism irrespective of the degree of hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(10):1776-1782.
81. Ashrafian H, Redwood C, Blair E, Watkins H. Hypertrophic cardiomyopathy: a paradigm for myocardial energy depletion. *Trends Genet* 2003; 19(5):263-268.
82. Elliott K, Watkins H, Redwood CS. Altered regulatory properties of human cardiac troponin I mutants that cause hypertrophic cardiomyopathy. *J Biol Chem* 2000; 275(29):22069-22074.
83. Lin D, Bobkova A, Homsher E, Tobacman LS. Altered cardiac troponin T in vitro function in the presence of a mutation implicated in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1996; 97(12):2842-2848.
84. Ho CY, Sweitzer NK, McDonough B, Maron BJ, Casey SA, Seidman JG et al. Assessment of diastolic function with Doppler tissue imaging to predict genotype in preclinical hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002; 105(25):2992-2997.
85. Frey N, McKinsey TA, Olson EN. Decoding calcium signals involved in cardiac growth and function. *Nat Med* 2000; 6(11):1221-1227.
86. Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annu Rev Physiol* 2003; 65:45-79.
87. Frey N, Katus HA, Olson EN, Hill JA. Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? *Circulation* 2004; 109(13):1580-1589.
88. DeAnda A, Jr., Komeda M, Moon MR, Green GR, Bolger AF, Nikolic SD et al. Estimation of regional left ventricular wall stresses in intact canine hearts. *Am J Physiol* 1998; 275(5 Pt 2):H1879-H1885.
89. Wallace DC, Brown MD, Lott MT. Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene* 1999; 238(1):211-230.

90. Ashrafian H, McKenna WJ, Watkins H. Disease pathways and novel therapeutic targets in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2011; 109(1):86-96.
91. Knoll R, Hoshijima M, Hoffman HM, Person V, Lorenzen-Schmidt I, Bang ML et al. The cardiac mechanical stretch sensor machinery involves a Z disc complex that is defective in a subset of human dilated cardiomyopathy. *Cell* 2002; 111(7):943-955.
92. Osio A, Tan L, Chen SN, Lombardi R, Nagueh SF, Shete S et al. Myozenin 2 is a novel gene for human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2007; 100(6):766-768.
93. Teekakirikul P, Padera RF, Seidman JG, Seidman CE. Hypertrophic cardiomyopathy: translating cellular cross talk into therapeutics. *J Cell Biol* 2012; 199(3):417-421.
94. Watkins H, Ashrafian H, Redwood C. Inherited cardiomyopathies. *N Engl J Med* 2011; 364(17):1643-1656.
95. Keren A, Syrris P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: the genetic determinants of clinical disease expression. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008; 5(3):158-168.
96. Chen SN, Czernuszewicz G, Tan Y, Lombardi R, Jin J, Willerson JT et al. Human molecular genetic and functional studies identify TRIM63, encoding Muscle RING Finger Protein 1, as a novel gene for human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2012; 111(7):907-919.
97. Pinto JR, Parvatiyar MS, Jones MA, Liang J, Ackerman MJ, Potter JD. A functional and structural study of troponin C mutations related to hypertrophic cardiomyopathy. *J Biol Chem* 2009; 284(28):19090-19100.
98. Morimoto S. Sarcomeric proteins and inherited cardiomyopathies. *Cardiovasc Res* 2008; 77(4):659-666.
99. Lopes LR, Elliott PM. A straightforward guide to the sarcomeric basis of cardiomyopathies. *Heart* 2014; 100(24):1916-1923.
100. 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):619-628.
101. Valdes-Mas R, Gutierrez-Fernandez A, Gomez J, Coto E, Astudillo A, Puente DA et al. Mutations in filamin C cause a new form of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Commun* 2014; 5:5326.
102. Girolami F, Ho CY, Semsarian C, Baldi M, Will ML, Baldini K et al. Clinical features and outcome of hypertrophic cardiomyopathy associated with triple sarcomere protein gene mutations. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55(14):1444-1453.
103. Ingles J, Doolan A, Chiu C, Seidman J, Seidman C, Semsarian C. Compound and double mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy: implications for genetic testing and counselling. *J Med Genet* 2005; 42(10):e59.
104. Charron P, Arad M, Arbustini E, Basso C, Bilinska Z, Elliott P et al. Genetic counselling and testing in cardiomyopathies: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2010; 31(22):2715-2726.

105. Awad MM, Calkins H, Judge DP. Mechanisms of disease: molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008; 5(5):258-267.
106. Basso C, Thiene G, Corrado D, Angelini A, Nava A, Valente M. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Dysplasia, dystrophy, or myocarditis? *Circulation* 1996; 94(5):983-991.
107. Thiene G, Rigato I, Pilichou K, Corrado D, Basso C. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. What is needed for a cure? *Herz* 2012; 37(6):657-662.
108. Coonar AS, Protonotarios N, Tsatsopoulou A, Needham EW, Houlston RS, Cliff S et al. Gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with diffuse nonepidermolytic palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease) maps to 17q21. *Circulation* 1998; 97(20):2049-2058.
109. McKoy G, Protonotarios N, Crosby A, Tsatsopoulou A, Anastasakis A, Coonar A et al. Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease). *Lancet* 2000; 355(9221):2119-2124.
110. Syrris P, Ward D, Asimaki A, Evans A, Sen-Chowdhry S, Hughes SE et al. Desmoglein-2 mutations in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a genotype-phenotype characterization of familial disease. *Eur Heart J* 2007; 28(5):581-588.
111. McKenna WJ, Mogensen J, Elliott PM. Role of genotyping in risk factor assessment for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(12):2049-2051.
112. Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL et al. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science* 2000; 289(5481):950-953.
113. Lombardi R, Marian AJ. Molecular genetics and pathogenesis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a disease of cardiac stem cells. *Pediatr Cardiol* 2011; 32(3):360-365.
114. Asimaki A, Tandri H, Huang H, Halushka MK, Gautam S, Basso C et al. A new diagnostic test for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2009; 360(11):1075-1084.
115. Gerull B, Heuser A, Wichter T, Paul M, Basson CT, McDermott DA et al. Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Nat Genet* 2004; 36(11):1162-1164.
116. Pilichou K, Nava A, Basso C, Beffagna G, Bauce B, Lorenzon A et al. Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation* 2006; 113(9):1171-1179.
117. Rampazzo A, Nava A, Malacrida S, Beffagna G, Bauce B, Rossi V et al. Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 2002; 71(5):1200-1206.

118. Syrris P, Ward D, Evans A, Asimaki A, Gandjbakhch E, Sen-Chowdhry S et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in the desmosomal gene desmocollin-2. *Am J Hum Genet* 2006; 79(5):978-984.
119. van Tintelen JP, Entius MM, Bhuiyan ZA, Jongbloed R, Wiesfeld AC, Wilde AA et al. Plakophilin-2 mutations are the major determinant of familial arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circulation* 2006; 113(13):1650-1658.
120. Beffagna G, Occhi G, Nava A, Vitiello L, Ditadi A, Basso C et al. Regulatory mutations in transforming growth factor-beta3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1. *Cardiovasc Res* 2005; 65(2):366-373.
121. Merner ND, Hodgkinson KA, Haywood AF, Connors S, French VM, Drenckhahn JD et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 5 is a fully penetrant, lethal arrhythmic disorder caused by a missense mutation in the TMEM43 gene. *Am J Hum Genet* 2008; 82(4):809-821.
122. Tiso N, Stephan DA, Nava A, Bagattin A, Devaney JM, Stanchi F et al. Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). *Hum Mol Genet* 2001; 10(3):189-194.
123. Groeneweg JA, van der Zwaag PA, Jongbloed JD, Cox MG, Vreker A, de Boer RA et al. Left-dominant arrhythmogenic cardiomyopathy in a large family: associated desmosomal or nondesmosomal genotype? *Heart Rhythm* 2013; 10(4):548-559.
124. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. Role of genetic analysis in the management of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(19):1813-1821.
125. Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, Basso C, Bauce B, Bluemke DA et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the Task Force Criteria. *Eur Heart J* 2010; 31(7):806-814.
126. Hamid MS, Norman M, Quraishi A, Firoozi S, Thaman R, Gimeno JR et al. Prospective evaluation of relatives for familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia reveals a need to broaden diagnostic criteria. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(8):1445-1450.
127. Dalal D, Molin LH, Piccini J, Tichnell C, James C, Bomma C et al. Clinical features of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in plakophilin-2. *Circulation* 2006; 113(13):1641-1649.
128. Hershberger RE, Siegfried JD. Update 2011: clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57(16):1641-1649.
129. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006; 113(14):1807-1816.
130. Mestroni L, Taylor MR. Genetics and genetic testing of dilated cardiomyopathy: a new perspective. *Discov Med* 2013; 15(80):43-49.

131. 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.
132. Haas J. Atlas of the Genetics of Human Dilated Cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2014. Ref Type: Generic
133. Bowles NE, Bowles KR, Towbin JA. The "final common pathway" hypothesis and inherited cardiovascular disease. The role of cytoskeletal proteins in dilated cardiomyopathy. *Herz* 2000; 25(3):168-175.
134. Debold EP, Schmitt JP, Patlak JB, Beck SE, Moore JR, Seidman JG et al. Hypertrophic and dilated cardiomyopathy mutations differentially affect the molecular force generation of mouse alpha-cardiac myosin in the laser trap assay. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293(1):H284-H291.
135. Lombardi R, Bell A, Senthil V, Sidhu J, Nosedá M, Roberts R et al. Differential interactions of thin filament proteins in two cardiac troponin T mouse models of hypertrophic and dilated cardiomyopathies. *Cardiovasc Res* 2008; 79(1):109-117.
136. Fukuda N, Terui T, Ishiwata S, Kurihara S. Titin-based regulations of diastolic and systolic functions of mammalian cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol* 2010; 48(5):876-881.
137. Haghghi K, Kolokathis F, Gramolini AO, Waggoner JR, Pater L, Lynch RA et al. A mutation in the human phospholamban gene, deleting arginine 14, results in lethal, hereditary cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(5):1388-1393.
138. Ingwall JS. Energy metabolism in heart failure and remodelling. *Cardiovasc Res* 2009; 81(3):412-419.
139. Lammerding J, Schulze PC, Takahashi T, Kozlov S, Sullivan T, Kamm RD et al. Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction. *J Clin Invest* 2004; 113(3):370-378.
140. Simon DN, Wilson KL. The nucleoskeleton as a genome-associated dynamic 'network of networks'. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(11):695-708.
141. Oliva-Sandoval MJ, Ruiz-Espejo F, Monserrat L, Hermida-Prieto M, Sabater M, Garcia-Molina E et al. Insights into genotype-phenotype correlation in hypertrophic cardiomyopathy. Findings from 18 Spanish families with a single mutation in MYBPC3. *Heart* 2010; 96(24):1980-1984.
142. van Spaendonck-Zwarts KY, van Tintelen JP, van Veldhuisen DJ, van der Werf R, Jongbloed JD, Paulus WJ et al. Peripartum cardiomyopathy as a part of familial dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2010; 121(20):2169-2175.
143. Hershberger RE, Lindenfeld J, Mestroni L, Seidman CE, Taylor MR, Towbin JA. Genetic evaluation of cardiomyopathy--a Heart Failure Society of America practice guideline. *J Card Fail* 2009; 15(2):83-97.
144. van Spaendonck-Zwarts KY, van HL, Jongbloed JD, de Walle HE, Capetanaki Y, van der Kooi AJ et al. Desmin-related myopathy. *Clin Genet* 2011; 80(4):354-366.
145. Gargus JJ. Unraveling monogenic channelopathies and their implications for complex polygenic disease. *Am J Hum Genet* 2003; 72(4):785-803.

146. Amirali, Massumi. Inherited Arrhythmic Disorders: Long QT and Brugada Syndromes. *Tex Heart Inst J*.2007; 34(1): 67-75. 34(1), 67-75. 2007.
Ref Type: Generic
147. Rudy Y, Silva JR. Computational biology in the study of cardiac ion channels and cell electrophysiology. *Q Rev Biophys* 2006; 39(1):57-116.
148. HODGKIN AL, HUXLEY AF. Propagation of electrical signals along giant nerve fibers. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1952; 140(899):177-183.
149. Grant AO. Molecular biology of sodium channels and their role in cardiac arrhythmias. *Am J Med* 2001; 110(4):296-305.
150. Nerbonne JM, Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol Rev* 2005; 85(4):1205-1253.
151. Priori SG, Cantu F, Schwartz PJ. The long QT syndrome: new diagnostic and therapeutic approach in the era of molecular biology. *Schweiz Med Wochenschr* 1996; 126(41):1727-1731.
152. MacCormick JM, McAlister H, Crawford J, French JK, Crozier I, Shelling AN et al. Misdiagnosis of long QT syndrome as epilepsy at first presentation. *Ann Emerg Med* 2009; 54(1):26-32.
153. Viskin S, Rosovski U, Sands AJ, Chen E, Kistler PM, Kalman JM et al. Inaccurate electrocardiographic interpretation of long QT: the majority of physicians cannot recognize a long QT when they see one. *Heart Rhythm* 2005; 2(6):569-574.
154. Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, Pedrazzini M, Besana A, Bosi G et al. Prevalence of the congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2009; 120(18):1761-1767.
155. Schwartz PJ, Crotti L, Insolia R. Long-QT syndrome: from genetics to management. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2012; 5(4):868-877.
156. Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, Bloise R, Ronchetti E, Grillo M et al. Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348(19):1866-1874.
157. Goldenberg I, Moss AJ. Long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(24):2291-2300.
158. Schwartz PJ, Priori SG, Spazzolini C, Moss AJ, Vincent GM, Napolitano C et al. Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation* 2001; 103(1):89-95.
159. Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, Buxton AE, Chaitman B, Fromer M et al. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (writing committee to develop Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Circulation* 2006; 114(10):e385-e484.

160. Brugada P, Brugada J. Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20(6):1391-1396.
161. Wilde AA, Antzelevitch C, Borggrefe M, Brugada J, Brugada R, Brugada P et al. Proposed diagnostic criteria for the Brugada syndrome. *Eur Heart J* 2002; 23(21):1648-1654.
162. Antzelevitch C, Brugada P, Borggrefe M, Brugada J, Brugada R, Corrado D et al. Brugada syndrome: report of the second consensus conference. *Heart Rhythm* 2005; 2(4):429-440.
163. Fowler SJ, Priori SG. Clinical spectrum of patients with a Brugada ECG. *Curr Opin Cardiol* 2009; 24(1):74-81.
164. Thomas K, Grant AO. Ethnicity and arrhythmia susceptibility. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2008; 19(4):427-429.
165. Di Diego JM, Cordeiro JM, Goodrow RJ, Fish JM, Zygmunt AC, Perez GJ et al. Ionic and cellular basis for the predominance of the Brugada syndrome phenotype in males. *Circulation* 2002; 106(15):2004-2011.
166. Wilde AA, Antzelevitch C, Borggrefe M, Brugada J, Brugada R, Brugada P et al. Proposed diagnostic criteria for the Brugada syndrome: consensus report. *Circulation* 2002; 106(19):2514-2519.
167. Kusano KF, Taniyama M, Nakamura K, Miura D, Banba K, Nagase S et al. Atrial fibrillation in patients with Brugada syndrome relationships of gene mutation, electrophysiology, and clinical backgrounds. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(12):1169-1175.
168. Smits JP, Eckardt L, Probst V, Bezzina CR, Schott JJ, Remme CA et al. Genotype-phenotype relationship in Brugada syndrome: electrocardiographic features differentiate SCN5A-related patients from non-SCN5A-related patients. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(2):350-356.
169. Priori SG, Napolitano C, Gasparini M, Pappone C, Della BP, Giordano U et al. Natural history of Brugada syndrome: insights for risk stratification and management. *Circulation* 2002; 105(11):1342-1347.
170. Giustetto C, Schimpf R, Mazzanti A, Scrocco C, Maury P, Anttonen O et al. Long-term follow-up of patients with short QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58(6):587-595.
171. Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, Brugada R, Brugada J, Brugada P et al. Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* 1998; 392(6673):293-296.
172. Hu D, Barajas-Martinez H, Burashnikov E, Springer M, Wu Y, Varro A et al. A mutation in the beta 3 subunit of the cardiac sodium channel associated with Brugada ECG phenotype. *Circ Cardiovasc Genet* 2009; 2(3):270-278.
173. London B, Michalec M, Mehdi H, Zhu X, Kerchner L, Sanyal S et al. Mutation in glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 like gene (GPD1-L) decreases cardiac Na⁺ current and causes inherited arrhythmias. *Circulation* 2007; 116(20):2260-2268.

174. Watanabe H, Koopmann TT, Le SS, Yang T, Ingram CR, Schott JJ et al. Sodium channel beta1 subunit mutations associated with Brugada syndrome and cardiac conduction disease in humans. *J Clin Invest* 2008; 118(6):2260-2268.
175. Hu D, Barajas-Martinez H, Pfeiffer R, Dezi F, Pfeiffer J, Buch T et al. Mutations in SCN10A are responsible for a large fraction of cases of Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64(1):66-79.
176. Antzelevitch C, Pollevick GD, Cordeiro JM, Casis O, Sanguinetti MC, Aizawa Y et al. Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. *Circulation* 2007; 115(4):442-449.
177. Gussak I, Brugada P, Brugada J, Wright RS, Kopecky SL, Chaitman BR et al. Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome? *Cardiology* 2000; 94(2):99-102.
178. Giustetto C, Di MF, Wolpert C, Borggreffe M, Schimpf R, Sbragia P et al. Short QT syndrome: clinical findings and diagnostic-therapeutic implications. *Eur Heart J* 2006; 27(20):2440-2447.
179. Gaita F, Giustetto C, Bianchi F, Schimpf R, Haissaguerre M, Calo L et al. Short QT syndrome: pharmacological treatment. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(8):1494-1499.
180. Bellocq C, van Ginneken AC, Bezzina CR, Alders M, Escande D, Mannens MM et al. Mutation in the KCNQ1 gene leading to the short QT-interval syndrome. *Circulation* 2004; 109(20):2394-2397.
181. Brugada R, Hong K, Dumaine R, Cordeiro J, Gaita F, Borggreffe M et al. Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG. *Circulation* 2004; 109(1):30-35.
182. Priori SG, Pandit SV, Rivolta I, Berenfeld O, Ronchetti E, Dhamoon A et al. A novel form of short QT syndrome (SQT3) is caused by a mutation in the KCNJ2 gene. *Circ Res* 2005; 96(7):800-807.
183. Giustetto C, Schimpf R, Mazzanti A, Scrocco C, Maury P, Anttonen O et al. Long-term follow-up of patients with short QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58(6):587-595.
184. Cerrone M, Noujaim SF, Tolkacheva EG, Talkachou A, O'Connell R, Berenfeld O et al. Arrhythmogenic mechanisms in a mouse model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circ Res* 2007; 101(10):1039-1048.
185. Napolitano C, Priori SG. Diagnosis and treatment of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm* 2007; 4(5):675-678.
186. Postma AV, Denjoy I, Kamblock J, Alders M, Lupoglazoff JM, Vaksman G et al. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: RYR2 mutations, bradycardia, and follow up of the patients. *J Med Genet* 2005; 42(11):863-870.
187. Priori SG, Napolitano C, Memmi M, Colombi B, Drago F, Gasparini M et al. Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2002; 106(1):69-74.
188. Sy RW, Gollob MH, Klein GJ, Yee R, Skanes AC, Gula LJ et al. Arrhythmia characterization and long-term outcomes in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm* 2011; 8(6):864-871.

189. Watanabe H, Chopra N, Laver D, Hwang HS, Davies SS, Roach DE et al. Flecainide prevents catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in mice and humans. *Nat Med* 2009; 15(4):380-383.
190. Lahat H, Pras E, Eldar M. RYR2 and CASQ2 mutations in patients suffering from catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2003; 107(3):e29.
191. Bai R, Napolitano C, Bloise R, Monteforte N, Priori SG. Yield of genetic screening in inherited cardiac channelopathies: how to prioritize access to genetic testing. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2009; 2(1):6-15.
192. George CH, Jundi H, Thomas NL, Fry DL, Lai FA. Ryanodine receptors and ventricular arrhythmias: emerging trends in mutations, mechanisms and therapies. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42(1):34-50.
193. Medeiros-Domingo A, Iturralde-Torres P, Ackerman MJ. Clinical and Genetic Characteristics of Long QT Syndrome. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2007; 60(7):739-752.
194. Sansone V, Tawil R. Management and treatment of Andersen-Tawil syndrome (ATS). *Neurotherapeutics* 2007; 4(2):233-237.
195. Wanguemert F, Bosch CC, Perez C, Campuzano O, Beltran-Alvarez P, Scornik FS et al. Clinical and molecular characterization of a cardiac ryanodine receptor founder mutation causing catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm* 2015.
196. Gomes AV, Liang J, Potter JD. Mutations in human cardiac troponin I that are associated with restrictive cardiomyopathy affect basal ATPase activity and the calcium sensitivity of force development. *J Biol Chem* 2005; 280(35):30909-30915.
197. Sandhu R, Finkelhor RS, Gunawardena DR, Bahler RC. Prevalence and characteristics of left ventricular noncompaction in a community hospital cohort of patients with systolic dysfunction. *Echocardiography* 2008; 25(1):8-12.
198. Kohli SK, Pantazis AA, Shah JS, Adeyemi B, Jackson G, McKenna WJ et al. Diagnosis of left-ventricular non-compaction in patients with left-ventricular systolic dysfunction: time for a reappraisal of diagnostic criteria? *Eur Heart J* 2008; 29(1):89-95.
199. Vatta M, Mohapatra B, Jimenez S, Sanchez X, Faulkner G, Perles Z et al. Mutations in Cypher/ZASP in patients with dilated cardiomyopathy and left ventricular non-compaction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(11):2014-2027.
200. Hermida-Prieto M, Monserrat L, Castro-Beiras A, Laredo R, Soler R, Peteiro J et al. Familial dilated cardiomyopathy and isolated left ventricular noncompaction associated with lamin A/C gene mutations. *Am J Cardiol* 2004; 94(1):50-54.
201. Luxan G, Casanova JC, Martinez-Poveda B, Prados B, D'Amato G, MacGrogan D et al. Mutations in the NOTCH pathway regulator MIB1 cause left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Nat Med* 2013; 19(2):193-201.
202. Klaassen S, Probst S, Oechslin E, Gerull B, Krings G, Schuler P et al. Mutations in sarcomere protein genes in left ventricular noncompaction. *Circulation* 2008; 117(22):2893-2901.

203. Hoedemaekers YM, Caliskan K, Michels M, Frohn-Mulder I, van der Smagt JJ, Phefferkorn JE et al. The importance of genetic counseling, DNA diagnostics, and cardiologic family screening in left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 2010; 3(3):232-239.
204. Ammash NM, Seward JB, Bailey KR, Edwards WD, Tajik AJ. Clinical profile and outcome of idiopathic restrictive cardiomyopathy. *Circulation* 2000; 101(21):2490-2496.
205. Camm AJ, Breithardt G, Crijns H, Dorian P, Kowey P, Le Heuzey JY et al. Real-life observations of clinical outcomes with rhythm- and rate-control therapies for atrial fibrillation RECORDAF (Registry on Cardiac Rhythm Disorders Assessing the Control of Atrial Fibrillation). *J Am Coll Cardiol* 2011; 58(5):493-501.
206. Darbar D, Herron KJ, Ballew JD, Jahangir A, Gersh BJ, Shen WK et al. Familial atrial fibrillation is a genetically heterogeneous disorder. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(12):2185-2192.
207. Ellinor PT, Yoerger DM, Ruskin JN, MacRae CA. Familial aggregation in lone atrial fibrillation. *Hum Genet* 2005; 118(2):179-184.
208. Ackerman MJ, Tester DJ, Driscoll DJ. Molecular autopsy of sudden unexplained death in the young. *Am J Forensic Med Pathol* 2001; 22(2):105-111.
209. Tester DJ, Spoon DB, Valdivia HH, Makielski JC, Ackerman MJ. Targeted mutational analysis of the RyR2-encoded cardiac ryanodine receptor in sudden unexplained death: a molecular autopsy of 49 medical examiner/coroner's cases. *Mayo Clin Proc* 2004; 79(11):1380-1384.
210. Van Norstrand DW, Valdivia CR, Tester DJ, Ueda K, London B, Makielski JC et al. Molecular and functional characterization of novel glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 like gene (GPD1-L) mutations in sudden infant death syndrome. *Circulation* 2007; 116(20):2253-2259.
211. Behr E, Wood DA, Wright M, Syrris P, Sheppard MN, Casey A et al. Cardiologic assessment of first-degree relatives in sudden arrhythmic death syndrome. *Lancet* 2003; 362(9394):1457-1459.
212. Lorenzo Monserrat AMMO-GRB-VDG-GJR-B. The interpretation of genetic tests in inherited cardiovascular diseases. 2011.
Ref Type: Unpublished Work
213. Giudicessi JR, Ackerman MJ. Genetic testing in heritable cardiac arrhythmia syndromes: differentiating pathogenic mutations from background genetic noise. *Curr Opin Cardiol* 2013; 28(1):63-71.
214. Tester DJ, Ackerman MJ. Genetic testing for potentially lethal, highly treatable inherited cardiomyopathies/channelopathies in clinical practice. *Circulation* 2011; 123(9):1021-1037.
215. Plant LD, Bowers PN, Liu Q, Morgan T, Zhang T, State MW et al. A common cardiac sodium channel variant associated with sudden infant death in African Americans, SCN5A S1103Y. *J Clin Invest* 2006; 116(2):430-435.
216. Stranger BE, Stahl EA, Raj T. Progress and promise of genome-wide association studies for human complex trait genetics. *Genetics* 2011; 187(2):367-383.

217. Doubaj Y, De Sandre-Giovannoli A, Vera EV, Navarro CL, Elalaoui SC, Tajir M et al. An inherited LMNA gene mutation in atypical Progeria syndrome. *Am J Med Genet A* 2012; 158A(11):2881-2887.
218. Ripoll VT, Monserrat IL, Hermida PM, Ortiz M, Rodriguez G, I, Govea CN et al. The R820W mutation in the MYBPC3 gene, associated with hypertrophic cardiomyopathy in cats, causes hypertrophic cardiomyopathy and left ventricular non-compaction in humans. *Int J Cardiol* 2010; 145(2):405-407.
219. Tavtigian SV, Greenblatt MS, Lesueur F, Byrnes GB. In silico analysis of missense substitutions using sequence-alignment based methods. *Hum Mutat* 2008; 29(11):1327-1336.
220. Goldgar DE, Easton DF, Deffenbaugh AM, Monteiro AN, Tavtigian SV, Couch FJ. Integrated evaluation of DNA sequence variants of unknown clinical significance: application to BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet* 2004; 75(4):535-544.
221. Tavtigian SV, Samollow PB, de SD, Thomas A. An analysis of unclassified missense substitutions in human BRCA1. *Fam Cancer* 2006; 5(1):77-88.
222. Chenevix-Trench G, Healey S, Lakhani S, Waring P, Cummings M, Brinkworth R et al. Genetic and histopathologic evaluation of BRCA1 and BRCA2 DNA sequence variants of unknown clinical significance. *Cancer Res* 2006; 66(4):2019-2027.
223. Lovelock PK, Healey S, Au W, Sum EY, Tesoriero A, Wong EM et al. Genetic, functional, and histopathological evaluation of two C-terminal BRCA1 missense variants. *J Med Genet* 2006; 43(1):74-83.
224. Spurdle AB, Couch FJ, Hogervorst FB, Radice P, Sinilnikova OM. Prediction and assessment of splicing alterations: implications for clinical testing. *Hum Mutat* 2008; 29(11):1304-1313.
225. Tchernitchko D, Goossens M, Wajcman H. In silico prediction of the deleterious effect of a mutation: proceed with caution in clinical genetics. *Clin Chem* 2004; 50(11):1974-1978.
226. Lopes LR, Rahman MS, Elliott PM. A systematic review and meta-analysis of genotype-phenotype associations in patients with hypertrophic cardiomyopathy caused by sarcomeric protein mutations. *Heart* 2013; 99(24):1800-1811.
227. Jordan DM, Kiezun A, Baxter SM, Agarwala V, Green RC, Murray MF et al. Development and validation of a computational method for assessment of missense variants in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 2011; 88(2):183-192.
228. Goldgar DE, Easton DF, Deffenbaugh AM, Monteiro AN, Tavtigian SV, Couch FJ. Integrated evaluation of DNA sequence variants of unknown clinical significance: application to BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet* 2004; 75(4):535-544.
229. Grantham R. Amino acid difference formula to help explain protein evolution. *Science* 1974; 185(4154):862-864.
230. Ng PC, Henikoff S. Predicting deleterious amino acid substitutions. *Genome Res* 2001; 11(5):863-874.
231. Ramesh AN, Kambhampati C, Monson JR, Drew PJ. Artificial intelligence in medicine. *Ann R Coll Surg Engl* 2004; 86(5):334-338.

232. Ferrer-Costa C, Gelpi JL, Zamakola L, Parraga I, de IC, X, Orozco M. PMUT: a web-based tool for the annotation of pathological mutations on proteins. *Bioinformatics* 2005; 21(14):3176-3178.
233. Schwarz JM, Rodelsperger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nat Methods* 2010; 7(8):575-576.
234. Zhang MQ. Statistical features of human exons and their flanking regions. *Hum Mol Genet* 1998; 7(5):919-932.
235. Yeo G, Burge CB. Maximum entropy modeling of short sequence motifs with applications to RNA splicing signals. *J Comput Biol* 2004; 11(2-3):377-394.
236. Reese MG, Eeckman FH, Kulp D, Haussler D. Improved splice site detection in Genie. *J Comput Biol* 1997; 4(3):311-323.
237. Millat G, Bouvagnet P, Chevalier P, Dauphin C, Jouk PS, Da CA et al. Prevalence and spectrum of mutations in a cohort of 192 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Med Genet* 2010; 53(5):261-267.
238. Nunez L, Gimeno-Blanes JR, Rodriguez-Garcia MI, Monserrat L, Zorio E, Coats C et al. Somatic MYH7, MYBPC3, TPM1, TNNT2 and TNNI3 mutations in sporadic hypertrophic cardiomyopathy. *Circ J* 2013; 77(9):2358-2365.
239. Watkins H, Rosenzweig A, Hwang DS, Levi T, McKenna W, Seidman CE et al. Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1992; 326(17):1108-1114.
240. Carrier L, Bonne G, Barend E, Yu B, Richard P, Niel F et al. Organization and sequence of human cardiac myosin binding protein C gene (MYBPC3) and identification of mutations predicted to produce truncated proteins in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 1997; 80(3):427-434.
241. van der Zwaag PA, Jongbloed JD, van den Berg MP, van der Smagt JJ, Jongbloed R, Bikker H et al. A genetic variants database for arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Hum Mutat* 2009; 30(9):1278-1283.
242. Andreassen C, Nielsen JB, Refsgaard L, Holst AG, Christensen AH, Andreassen L et al. New population-based exome data are questioning the pathogenicity of previously cardiomyopathy-associated genetic variants. *Eur J Hum Genet* 2013; 21(9):918-928.
243. Palm T, Graboski S, Hitchcock-DeGregori SE, Greenfield NJ. Disease-causing mutations in cardiac troponin T: identification of a critical tropomyosin-binding region. *Biophys J* 2001; 81(5):2827-2837.
244. Alders M, Jongbloed R, Deelen W, van den Wijngaard A, Doevendans P, Ten CF et al. The 2373insG mutation in the MYBPC3 gene is a founder mutation, which accounts for nearly one-fourth of the HCM cases in the Netherlands. *Eur Heart J* 2003; 24(20):1848-1853.
245. Golbus JR, Puckelwartz MJ, Fahrenbach JP, Dellefave-Castillo LM, Wolfgeher D, McNally EM. Population-based variation in cardiomyopathy genes. *Circ Cardiovasc Genet* 2012; 5(4):391-399.
246. Harris SP, Lyons RG, Bezold KL. In the thick of it: HCM-causing mutations in myosin binding proteins of the thick filament. *Circ Res* 2011; 108(6):751-764.

247. Christensen AH, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Haunso S, Svendsen JH. Missense variants in plakophilin-2 in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy patients--disease-causing or innocent bystanders? *Cardiology* 2010; 115(2):148-154.
248. den Haan AD, Tan BY, Zikusoka MN, Llado LI, Jain R, Daly A et al. Comprehensive desmosome mutation analysis in north americans with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 2009; 2(5):428-435.
249. Kapplinger JD, Tester DJ, Salisbury BA, Carr JL, Harris-Kerr C, Pollevick GD et al. Spectrum and prevalence of mutations from the first 2,500 consecutive unrelated patients referred for the FAMILION long QT syndrome genetic test. *Heart Rhythm* 2009; 6(9):1297-1303.
250. Chouabe C, Neyroud N, Richard P, Denjoy I, Hainque B, Romey G et al. Novel mutations in KvLQT1 that affect Iks activation through interactions with Isk. *Cardiovasc Res* 2000; 45(4):971-980.
251. Christensen AH, Benn M, Bundgaard H, Tybjaerg-Hansen A, Haunso S, Svendsen JH. Wide spectrum of desmosomal mutations in Danish patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Med Genet* 2010; 47(11):736-744.
252. Berg JS, Adams M, Nassar N, Bizon C, Lee K, Schmitt CP et al. An informatics approach to analyzing the incidentalome. *Genet Med* 2013; 15(1):36-44.
253. Wu J, Shimizu W, Ding WG, Ohno S, Toyoda F, Itoh H et al. KCNE2 modulation of Kv4.3 current and its potential role in fatal rhythm disorders. *Heart Rhythm* 2010; 7(2):199-205.
254. Abbott GW, Sesti F, Splawski I, Buck ME, Lehmann MH, Timothy KW et al. MiRP1 forms IKr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. *Cell* 1999; 97(2):175-187.
255. Garcia-Castro M, Reguero JR, Batalla A, Catalan F, Mayordomo J, Coto E. [Direct detection of malignant mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy]. *Rev Esp Cardiol* 2003; 56(10):1022-1025.
256. Ko YL, Chen JJ, Tang TK, Cheng JJ, Lin SY, Liou YC et al. Malignant familial hypertrophic cardiomyopathy in a family with a 453Arg-->Cys mutation in the beta-myosin heavy chain gene: coexistence of sudden death and end-stage heart failure. *Hum Genet* 1996; 97(5):585-590.
257. Woo A, Rakowski H, Liew JC, Zhao MS, Liew CC, Parker TG et al. Mutations of the beta myosin heavy chain gene in hypertrophic cardiomyopathy: critical functional sites determine prognosis. *Heart* 2003; 89(10):1179-1185.
258. La GA, Robberecht C, Kuiperi C, Nuyens D, Willems R, de RT et al. Lower than expected desmosomal gene mutation prevalence in endurance athletes with complex ventricular arrhythmias of right ventricular origin. *Heart* 2010; 96(16):1268-1274.
259. Elliott P, O'Mahony C, Syrris P, Evans A, Rivera SC, Sheppard MN et al. Prevalence of desmosomal protein gene mutations in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 2010; 3(4):314-322.
260. Barahona-Dussault C, Benito B, Campuzano O, Iglesias A, Leung TL, Robb L et al. Role of genetic testing in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Clin Genet* 2010; 77(1):37-48.

261. Theopistou A, Anastasakis A, Miliou A, Rigopoulos A, Toutouzas P, Stefanadis C. Clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by an Arg278Cys missense mutation in the cardiac troponin T gene. *Am J Cardiol* 2004; 94(2):246-249.
262. Syrris P, Ward D, Asimaki A, Sen-Chowdhry S, Ebrahim HY, Evans A et al. Clinical expression of plakophilin-2 mutations in familial arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation* 2006; 113(3):356-364.
263. Quarta G, Muir A, Pantazis A, Syrris P, Gehmlich K, Garcia-Pavia P et al. Familial evaluation in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: impact of genetics and revised task force criteria. *Circulation* 2011; 123(23):2701-2709.
264. Garcia-Pavia P, Syrris P, Salas C, Evans A, Mirelis JG, Cobo-Marcos M et al. Desmosomal protein gene mutations in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy undergoing cardiac transplantation: a clinicopathological study. *Heart* 2011; 97(21):1744-1752.
265. Refsgaard L, Holst AG, Sadjadieh G, Haunso S, Nielsen JB, Olesen MS. High prevalence of genetic variants previously associated with LQT syndrome in new exome data. *Eur J Hum Genet* 2012; 20(8):905-908.
266. Tinel N, Diochot S, Borsotto M, Lazdunski M, Barhanin J. KCNE2 confers background current characteristics to the cardiac KCNQ1 potassium channel. *EMBO J* 2000; 19(23):6326-6330.
267. Priori SG, Aliot E, Blomstrom-Lundqvist C, Bossaert L, Breithardt G, Brugada P et al. Task Force on Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2001; 22(16):1374-1450.
268. Zipes DP, Wellens HJ. Sudden cardiac death. *Circulation* 1998; 98(21):2334-2351.
269. Semsarian C, Hamilton RM. Key role of the molecular autopsy in sudden unexpected death. *Heart Rhythm* 2012; 9(1):145-150.
270. Quarta G, Elliott PM. Diagnostic criteria for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2012; 65(7):599-605.
271. Basavarajaiah S, Wilson M, Whyte G, Shah A, McKenna W, Sharma S. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in highly trained athletes: relevance to pre-participation screening. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(10):1033-1039.
272. Massoure PL, Camus O, Chenilleau MC, Gil JM, Fourcade L. [Cardiac disease at risk in the young athlete]. *Presse Med* 2014; 43(7-8):840-847.
273. Moss AJ, Zareba W, Hall WJ, Schwartz PJ, Crampton RS, Benhorin J et al. Effectiveness and limitations of beta-blocker therapy in congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2000; 101(6):616-623.
274. Probst V, Denjoy I, Meregalli PG, Amirault JC, Sacher F, Mansourati J et al. Clinical aspects and prognosis of Brugada syndrome in children. *Circulation* 2007; 115(15):2042-2048.
275. Tabib A, Loire R, Chalabreysse L, Meyronnet D, Miras A, Malicier D et al. Circumstances of death and gross and microscopic observations in a series of 200 cases of sudden death associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and/or dysplasia. *Circulation* 2003; 108(24):3000-3005.

Bibliografía

276. Maron BJ, Gohman TE, Aeppli D. Prevalence of sudden cardiac death during competitive sports activities in Minnesota high school athletes. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32(7):1881-1884.
277. Corrado D, Basso C, Rizzoli G, Schiavon M, Thiene G. Does sports activity enhance the risk of sudden death in adolescents and young adults? *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(11):1959-1963.
278. Maron BJ, Doerer JJ, Haas TS, Tierney DM, Mueller FO. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. *Circulation* 2009; 119(8):1085-1092.
279. Maron BJ, Haas TS, Doerer JJ, Thompson PD, Hodges JS. Comparison of U.S. and Italian experiences with sudden cardiac deaths in young competitive athletes and implications for preparticipation screening strategies. *Am J Cardiol* 2009; 104(2):276-280.
280. Van Camp SP, Bloor CM, Mueller FO, Cantu RC, Olson HG. Nontraumatic sports death in high school and college athletes. *Med Sci Sports Exerc* 1995; 27(5):641-647.
281. Schmied C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes. *J Intern Med* 2014; 275(2):93-103.
282. Behr ER, Dalageorgou C, Christiansen M, Syrris P, Hughes S, Tome Esteban MT et al. Sudden arrhythmic death syndrome: familial evaluation identifies inheritable heart disease in the majority of families. *Eur Heart J* 2008; 29(13):1670-1680.
283. Kaufenstein S, Kiehne N, Peigneur S, Tytgat J, Bratzke H. Cardiac channelopathy causing sudden death as revealed by molecular autopsy. *Int J Legal Med* 2013; 127(1):145-151.
284. Campuzano O, Sanchez-Molero O, Allegue C, Coll M, Mademont-Soler I, Selga E et al. Post-mortem genetic analysis in juvenile cases of sudden cardiac death. *Forensic Sci Int* 2014; 245C:30-37.
285. Winkel BG, Holst AG, Theilade J, Kristensen IB, Thomsen JL, Hougen HP et al. Differences in investigations of sudden unexpected deaths in young people in a nationwide setting. *Int J Legal Med* 2012; 126(2):223-229.
286. Wang D, Shah KR, Um SY, Eng LS, Zhou B, Lin Y et al. Cardiac channelopathy testing in 274 ethnically diverse sudden unexplained deaths. *Forensic Sci Int* 2014; 237:90-99.
287. Skinner JR, Crawford J, Smith W, Aitken A, Heaven D, Evans CA et al. Prospective, population-based long QT molecular autopsy study of postmortem negative sudden death in 1 to 40 year olds. *Heart Rhythm* 2011; 8(3):412-419.
288. Tester DJ, Medeiros-Domingo A, Will ML, Haglund CM, Ackerman MJ. Cardiac channel molecular autopsy: insights from 173 consecutive cases of autopsy-negative sudden unexplained death referred for postmortem genetic testing. *Mayo Clin Proc* 2012; 87(6):524-539.
289. Marian AJ. Genetic determinants of cardiac hypertrophy. *Curr Opin Cardiol* 2008; 23(3):199-205.

290. Varnava AM, Elliott PM, Mahon N, Davies MJ, McKenna WJ. Relation between myocyte disarray and outcome in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2001; 88(3):275-279.
291. Arad M, Seidman JG, Seidman CE. Phenotypic diversity in hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 2002; 11(20):2499-2506.
292. Bachinski LL, Roberts R. Familial hypertrophic cardiomyopathy: diagnostic and therapeutic implications of recent genetic studies. *Mol Med Today* 1996; 2(9):387-393.
293. Marian AJ, Roberts R. The molecular genetic basis for hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33(4):655-670.
294. Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation* 2003; 107(17):2227-2232.
295. Lopes LR, Zekavati A, Syrris P, Hubank M, Giambartolomei C, Dalageorgou C et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet* 2013; 50(4):228-239.
296. Shen LX, Basilion JP, Stanton VP, Jr. Single-nucleotide polymorphisms can cause different structural folds of mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(14):7871-7876.
297. Laredo R, Monserrat L, Hermida-Prieto M, Fernandez X, Rodriguez I, Cazon L et al. [Beta-myosin heavy-chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy]. *Rev Esp Cardiol* 2006; 59(10):1008-1018.
298. Rayment I, Holden HM, Sellers JR, Fananapazir L, Epstein ND. Structural interpretation of the mutations in the beta-cardiac myosin that have been implicated in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(9):3864-3868.
299. Blair E, Redwood C, de Jesus OM, Moolman-Smook JC, Brink P, Corfield VA et al. Mutations of the light meromyosin domain of the beta-myosin heavy chain rod in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2002; 90(3):263-269.
300. Greber-Platzer S, Marx M, Fleischmann C, Suppan C, Dobner M, Wimmer M. Beta-myosin heavy chain gene mutations and hypertrophic cardiomyopathy in Austrian children. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33(1):141-148.
301. Nanni L, Pieroni M, Chimenti C, Simionati B, Zimbello R, Maseri A et al. Hypertrophic cardiomyopathy: two homozygous cases with "typical" hypertrophic cardiomyopathy and three new mutations in cases with progression to dilated cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309(2):391-398.
302. Watkins H, Seidman CE, MacRae C, Seidman JG, McKenna W. Progress in familial hypertrophic cardiomyopathy: molecular genetic analyses in the original family studied by Teare. *Br Heart J* 1992; 67(1):34-38.
303. Byers PH. Killing the messenger: new insights into nonsense-mediated mRNA decay. *J Clin Invest* 2002; 109(1):3-6.
304. Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S, Watkins H, Chudley AE, McKenna W et al. Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998; 338(18):1248-1257.

Bibliografia

305. Zeller R, Ivandic BT, Ehlermann P, Mucke O, Zugck C, Remppis A et al. Large-scale mutation screening in patients with dilated or hypertrophic cardiomyopathy: a pilot study using DGGE. *J Mol Med (Berl)* 2006; 84(8):682-691.
306. Gerull B, Gramlich M, Atherton J, McNabb M, Trombitas K, Sasse-Klaassen S et al. Mutations of TTN, encoding the giant muscle filament titin, cause familial dilated cardiomyopathy. *Nat Genet* 2002; 30(2):201-204.
307. Gerull B, Atherton J, Geupel A, Sasse-Klaassen S, Heuser A, Frenneaux M et al. Identification of a novel frameshift mutation in the giant muscle filament titin in a large Australian family with dilated cardiomyopathy. *J Mol Med (Berl)* 2006; 84(6):478-483.
308. Linke WA. Sense and stretchability: the role of titin and titin-associated proteins in myocardial stress-sensing and mechanical dysfunction. *Cardiovasc Res* 2008; 77(4):637-648.
309. Oliva-Sandoval MJ, Munoz-Esparza C, Garcia-Molina E, Sabater M, Gimeno JR, Valdes M. Hypertrophic cardiomyopathy or storage cardiomyopathy? Role of genetics to predict outcome. *Int J Cardiol* 2011; 151(3):380-381.
310. Van Driest SL, Ellsworth EG, Ommen SR, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Prevalence and spectrum of thin filament mutations in an outpatient referral population with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2003; 108(4):445-451.
311. Duanxiang Li. Novel Cardiac Troponin T Mutation as a Cause of Familial Dilated Cardiomyopathy . 2001.
Ref Type: Generic
312. Boda U, Vadapalli S, Calambur N, Nallari P. Novel mutations in beta-myosin heavy chain, actin and troponin-I genes associated with dilated cardiomyopathy in Indian population. *J Genet* 2009; 88(3):373-377.
313. Garcia-Pavia P, Segovia J, Molano J, Mora R, Kontny F, Erik BK et al. [High-risk hypertrophic cardiomyopathy associated with a novel mutation in cardiac Myosin-binding protein C]. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60(3):311-314.
314. Ehlermann P, Weichenhan D, Zehelein J, Steen H, Pribe R, Zeller R et al. Adverse events in families with hypertrophic or dilated cardiomyopathy and mutations in the MYBPC3 gene. *BMC Med Genet* 2008; 9:95.
315. Garcia-Pavia P, Segovia J, Molano J, Mora R, Kontny F, Erik BK et al. [High-risk hypertrophic cardiomyopathy associated with a novel mutation in cardiac Myosin-binding protein C]. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60(3):311-314.
316. Daliento L, Turrini P, Nava A, Rizzoli G, Angelini A, Buja G et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in young versus adult patients: similarities and differences. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25(3):655-664.
317. Nava A, Thiene G, Canciani B, Scognamiglio R, Daliento L, Buja G et al. Familial occurrence of right ventricular dysplasia: a study involving nine families. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12(5):1222-1228.
318. Bauce B, Frigo G, Marcus FI, Basso C, Rampazzo A, Maddalena F et al. Comparison of clinical features of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in men versus women. *Am J Cardiol* 2008; 102(9):1252-1257.

319. Wichter T, Schafers M, Rhodes CG, Borggreffe M, Lerch H, Lammertsma AA et al. Abnormalities of cardiac sympathetic innervation in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy : quantitative assessment of presynaptic norepinephrine reuptake and postsynaptic beta-adrenergic receptor density with positron emission tomography. *Circulation* 2000; 101(13):1552-1558.
320. Schuler PK, Haegeli LM, Saguner AM, Wolber T, Tanner FC, Jenni R et al. Predictors of appropriate ICD therapy in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: long term experience of a tertiary care center. *PLoS One* 2012; 7(9):e39584.
321. Oliva A, Brugada R, D'Aloja E, Boschi I, Partemi S, Brugada J et al. State of the art in forensic investigation of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol* 2011; 32(1):1-16.
322. Tan BY, Jain R, den Haan AD, Chen Y, Dalal D, Tandri H et al. Shared desmosome gene findings in early and late onset arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Cardiovasc Transl Res* 2010; 3(6):663-673.
323. Campuzano O, Alcalde M, Allegue C, Iglesias A, Garcia-Pavia P, Partemi S et al. Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Med Genet* 2013; 50(5):280-289.
324. Medeiros-Domingo A, Bhuiyan ZA, Tester DJ, Hofman N, Bikker H, van Tintelen JP et al. The RYR2-encoded ryanodine receptor/calcium release channel in patients diagnosed previously with either catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia or genotype negative, exercise-induced long QT syndrome: a comprehensive open reading frame mutational analysis. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54(22):2065-2074.
325. Kaartinen M, Helio T, Lehtonen A, Lahtinen AM, Karkkainen S, Keto P et al. Characterization of familial and sporadic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in Finland. *Ann Med* 2007; 39(4):312-318.
326. Akilzhanova A, Guelly C, Nuralinov O, Nurkina Z, Nazhat D, Smagulov S et al. RYR2 Sequencing Reveals Novel Missense Mutations in a Kazakh Idiopathic Ventricular Tachycardia Study Cohort. *PLoS One* 2014; 9(6):e101059.
327. Kannankeril PJ, Mitchell BM, Goonasekera SA, Chelu MG, Zhang W, Sood S et al. Mice with the R176Q cardiac ryanodine receptor mutation exhibit catecholamine-induced ventricular tachycardia and cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(32):12179-12184.
328. Suetomi T, Yano M, Uchinoumi H, Fukuda M, Hino A, Ono M et al. Mutation-linked defective interdomain interactions within ryanodine receptor cause aberrant Ca(2)(+)release leading to catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2011; 124(6):682-694.
329. Chouabe C, Neyroud N, Guicheney P, Lazdunski M, Romey G, Barhanin J. Properties of KvLQT1 K⁺ channel mutations in Romano-Ward and Jervell and Lange-Nielsen inherited cardiac arrhythmias. *EMBO J* 1997; 16(17):5472-5479.
330. Donger C, Denjoy I, Berthet M, Neyroud N, Cruaud C, Bannaceur M et al. KVLQT1 C-terminal missense mutation causes a forme fruste long-QT syndrome. *Circulation* 1997; 96(9):2778-2781.

Bibliografía

331. Zareba W. Genotype-specific ECG patterns in long QT syndrome. *J Electrocardiol* 2006; 39(4 Suppl):S101-S106.
332. Hedley PL, Jorgensen P, Schlamowitz S, Wangari R, Moolman-Smook J, Brink PA et al. The genetic basis of long QT and short QT syndromes: a mutation update. *Hum Mutat* 2009; 30(11):1486-1511.
333. Alcalai R, Metzger S, Rosenheck S, Meiner V, Chajek-Shaul T. A recessive mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia, skin disorder, and woolly hair. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(2):319-327.
334. Uzumcu A, Norgett EE, Dindar A, Uyguner O, Nisli K, Kayserili H et al. Loss of desmoplakin isoform I causes early onset cardiomyopathy and heart failure in a Naxos-like syndrome. *J Med Genet* 2006; 43(2):e5.
335. Bauce B, Basso C, Rampazzo A, Beffagna G, Daliento L, Frigo G et al. Clinical profile of four families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by dominant desmoplakin mutations. *Eur Heart J* 2005; 26(16):1666-1675.
336. Norman M, Simpson M, Mogensen J, Shaw A, Hughes S, Syrris P et al. Novel mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic left ventricular cardiomyopathy. *Circulation* 2005; 112(5):636-642.
337. Fei L, Slade AK, Grace AA, Malik M, Camm AJ, McKenna WJ. Ambulatory assessment of the QT interval in patients with hypertrophic cardiomyopathy: risk stratification and effect of low dose amiodarone. *Pacing Clin Electrophysiol* 1994; 17(11 Pt 2):2222-2227.
338. Johnson JN, Grifoni C, Bos JM, Saber-Ayad M, Ommen SR, Nistri S et al. Prevalence and clinical correlates of QT prolongation in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2011; 32(9):1114-1120.
339. Burashnikov E, Pfeiffer R, Barajas-Martinez H, Delpon E, Hu D, Desai M et al. Mutations in the cardiac L-type calcium channel associated with inherited J-wave syndromes and sudden cardiac death. *Heart Rhythm* 2010; 7(12):1872-1882.
340. Ferreira LV, Souza SA, Montenegro LR, Arnhold IJ, Pasqualini T, Heinrich JJ et al. [Phenotype variability in Noonan syndrome patients with and without PTPN11 mutation]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007; 51(3):450-456.
341. Perez-Riera AR, Abreu LC, Yanowitz F, Barros RB, Femenia F, McIntyre WF et al. "Benign" early repolarization versus malignant early abnormalities: clinical-electrocardiographic distinction and genetic basis. *Cardiol J* 2012; 19(4):337-346.
342. Behr ER, McKenna WJ. Genetic risk for acquired arrhythmia. *Trends Genet* 2003; 19(9):470-473.
343. Puranik R, Chow CK, Duflou JA, Kilborn MJ, McGuire MA. Sudden death in the young. *Heart Rhythm* 2005; 2(12):1277-1282.
344. Brion M, Quintela I, Sobrino B, Torres M, Allegue C, Carracedo A. New technologies in the genetic approach to sudden cardiac death in the young. *Forensic Sci Int* 2010; 203(1-3):15-24.

345. Huang T, Shao Q, MacDonald A, Xin L, Lorentz R, Bai D et al. Autosomal recessive GJA1 (Cx43) gene mutations cause oculodentodigital dysplasia by distinct mechanisms. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 13):2857-2866.
346. Jeyaraman MM, Srisakuldee W, Nickel BE, Kardami E. Connexin43 phosphorylation and cytoprotection in the heart. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1818(8):2009-2013.
347. Van Norstrand DW, Asimaki A, Rubinos C, Dolmatova E, Srinivas M, Tester DJ et al. Connexin43 mutation causes heterogeneous gap junction loss and sudden infant death. *Circulation* 2012; 125(3):474-481.
348. Lambiase PD. Tpeak-Tend interval and Tpeak-Tend/QT ratio as markers of ventricular tachycardia inducibility in subjects with Brugada ECG phenotype. *Europace* 2010; 12(2):158-159.
349. van der Werf C, Zwilander AH, Wilde AA. Therapeutic approach for patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: state of the art and future developments. *Europace* 2012; 14(2):175-183.
350. Katz G, Arad M, Eldar M. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia from bedside to bench and beyond. *Curr Probl Cardiol* 2009; 34(1):9-43.
351. Saito M, Tucker DK, Kohlhorst D, Niessen CM, Kowalczyk AP. Classical and desmosomal cadherins at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 11):2547-2552.
352. Posch MG, Posch MJ, Geier C, Erdmann B, Mueller W, Richter A et al. A missense variant in desmoglein-2 predisposes to dilated cardiomyopathy. *Mol Genet Metab* 2008; 95(1-2):74-80.
353. Heron SE, Hernandez M, Edwards C, Edkins E, Jansen FE, Scheffer IE et al. Neonatal seizures and long QT syndrome: a cardiocerebral channelopathy? *Epilepsia* 2010; 51(2):293-296.
354. Sesti F, Tai KK, Goldstein SA. MinK endows the I(Ks) potassium channel pore with sensitivity to internal tetraethylammonium. *Biophys J* 2000; 79(3):1369-1378.
355. Friedrich FW, Wilding BR, Reischmann S, Crocini C, Lang P, Charron P et al. Evidence for FHL1 as a novel disease gene for isolated hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 2012; 21(14):3237-3254.
356. Gueneau L, Bertrand AT, Jais JP, Salih MA, Stojkovic T, Wehnert M et al. Mutations of the FHL1 gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 2009; 85(3):338-353.
357. Hartmannova H, Kubanek M, Sramko M, Piherova L, Noskova L, Hodanova K et al. Isolated X-linked hypertrophic cardiomyopathy caused by a novel mutation of the four-and-a-half LIM domain 1 gene. *Circ Cardiovasc Genet* 2013; 6(6):543-551.
358. Semsarian C, Ingles J. Expanding the genetic spectrum of hypertrophic cardiomyopathy: X marks the spot. *Circ Cardiovasc Genet* 2013; 6(6):528-530.
359. Van der Roest WP, Pennings JM, Bakker M, van den Berg MP, van Tintelen JP. Family letters are an effective way to inform relatives about inherited cardiac disease. *Am J Med Genet A* 2009; 149A(3):357-363.

Bibliografía

360. van Spaendonck-Zwarts KY, van Rijsingen IA, van den Berg MP, Lekanne Deprez RH, Post JG, van Mil AM et al. Genetic analysis in 418 index patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: overview of 10 years' experience. *Eur J Heart Fail* 2013; 15(6):628-636.
361. Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P et al. [2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy]. *Kardiol Pol* 2014; 72(11):1054-1126.