



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**

**Influencia Neurohormonal  
y Farmacológica en el Fenotipo  
del Síndrome de Brugada**

**D. Pablo Peñafiel Verdú**

**2017**





**INFLUENCIA NEUROHORMONAL Y FARMACOLÓGICA EN EL  
FENOTIPO DEL SÍNDROME DE BRUGADA**

**Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía**

Presentada por

**D. Pablo Peñafiel Verdú**

Dirigida por

**Prof. Arcadio García Alberola**

**Dr. Juan Ramón Gimeno Blanes**

**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**Escuela Internacional de Doctorado**

Murcia, 2017



*A mi familia*



# AGRADECIMIENTOS



A mi director de Tesis, el Prof. Arcadio García Alberola, por su constante paciencia (o su paciente constancia), por sus siempre acertados consejos, y por el tiempo dedicado. Por fin, jefe.

A mi co-director, el Dr. Juan Ramón Gimeno Blanes, por su capacidad de trabajo y su visión investigadora, no siempre comprendida por mí, pero sin duda reconocida y agradecida.

A la Unidad de Arritmias del Hospital Universitario Central de Asturias, por su valiosa contribución a este trabajo.

A mis compañeros de la Unidad de Arritmias: Juan, Juanjo, Mariela y Carmen, por su apoyo y ayuda.

A todo el equipo de la Unidad de Cardiopatías Familiares, por su trabajo siempre ejemplar y no siempre remunerado o reconocido, y de forma especial a Javi Lacunza, David López (mi doble) y Esperanza García-Molina.

A mis compañeros y amigos, Fran, Sergio, César y Dani. Gracias por las buenas ideas.

A todos los que me habéis echado una mano con esto en algún momento, especialmente Mariajo y Marina.

A José Ángel Hernández, por echarme una mano con el remate final.

A mis amigos, José Alberto (¡gracias por la formulita!), Manolo, y Jesús, por reírse constantemente de mi tesis que no llegaba. Llegó, malditos.

A mis padres y a mi hermana, por su dedicación y ejemplo constante. Y por los ratos de canguro, impagables.

A mi mujer, Laura, y a mis hijos, Marina y Javi, por muchas cosas, pero sobre todo por el tiempo robado. Gracias por la paciencia.



# ABREVIATURAS



AFBA: Señales de alta frecuencia y baja duración

DAI: Desfibrilador automático implantable

ECG: Electrocardiograma

FC: Frecuencia cardíaca

FV: Fibrilación ventricular

LC: Longitud de ciclo

MAVD: Miocardiopatía arritmogénica de ventrículo derecho

MS: Muerte súbita

QRSf: Intervalo QRS filtrado

QTa: Intervalo QT medido hasta el ápex de la onda T

QTe: Intervalo QT medido hasta el final (end) de la onda T

RMS: Media cuadrática de la amplitud (por *Root Mean Square*)

SB: Síndrome de Brugada

SQTC: Síndrome de QT corto

SQTL: Síndrome de QT largo

TH: Testosterona

TSVD: Tracto de salida del ventrículo derecho

TVP: Taquicardia ventricular polimórfica



# ÍNDICE



<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1. El síndrome de Brugada	3
1.1. <i>Historia y definición</i>	3
1.2. <i>Etiología y fisiopatología</i>	7
1.3. <i>Otras canalopatías</i>	17
1.4. <i>Estratificación de riesgo</i>	19
2. Intervalo QT en el síndrome de Brugada	21
3. Influencia del sexo en el fenotipo y el pronóstico	26
4. Genética en el síndrome de Brugada	28
5. ECG con promediación de señal	29
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>33</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>37</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>41</b>
1. Población de estudio	43
2. Electrocardiograma	44
3. Test de provocación farmacológica	45
4. Desarrollo de software	47
5. Holter	51
6. Determinación de testosterona	54
7. Análisis genético	55
8. Análisis estadístico	57

<b>RESULTADOS</b>	<b>59</b>
1. Características basales	61
2. Análisis de la señal promediada	62
3. Intervalo QT	68
4. Testosterona y fenotipo	71
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>75</b>
1. Análisis de la señal promediada	77
2. Intervalo QT	83
3. Testosterona y fenotipo	90
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>93</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>97</b>

# INTRODUCCIÓN



## EL SÍNDROME DE BRUGADA

### 1.1. Historia y Definición

El síndrome de Brugada (SB) fue descrito como una entidad clínica concreta por primera vez en 1992 por los hermanos Pedro y Josep Brugada y sus colaboradores, a raíz de ocho casos con características clínicas y electrocardiográficas similares<sup>1</sup>; desde entonces el conocimiento sobre la etiología y la fisiopatología de esta entidad ha crecido a gran velocidad.

Este síndrome se caracteriza por la elevación del segmento ST en las derivaciones precordiales derechas (V1 y V2) del electrocardiograma (ECG), y se asocia a la aparición de muerte súbita (MS) en pacientes sin cardiopatía estructural. Dicho patrón electrocardiográfico no es constante en todos los pacientes y puede ocurrir que sólo se ponga de manifiesto en determinadas situaciones, como la fiebre<sup>2</sup>, el ictus<sup>3</sup> o la utilización de determinados fármacos<sup>4,5</sup>, especialmente de la familia de los antiarrítmicos, que son capaces de provocar la aparición del patrón diagnóstico en el electrocardiograma. Para la definición de los patrones electrocardiográficos se utilizan los criterios diagnósticos propuestos por el comité de expertos reunido en 2012<sup>6</sup>, que a diferencia de los previos consensos consideran sólo dos patrones (Figura 1) :

- Patrón tipo 1 (“coved type”): Único patrón considerado diagnóstico. Se caracteriza por una elevación del punto J y el segmento ST de al menos 0.2 mV (2 mm en calibración estándar), con morfología cóncava y onda T negativa y simétrica. Aunque existen discrepancias a este respecto, el ascenso del ST debería mantenerse desde el punto J hasta 80 ms después.

-Patrón tipo 2 (“saddle-back” o “en silla de montar”): Sugestivo de SB. Presenta elevación del ST de al menos 0.05 mV (0.5 mm) con morfología convexa y onda T generalmente positiva o bifásica.

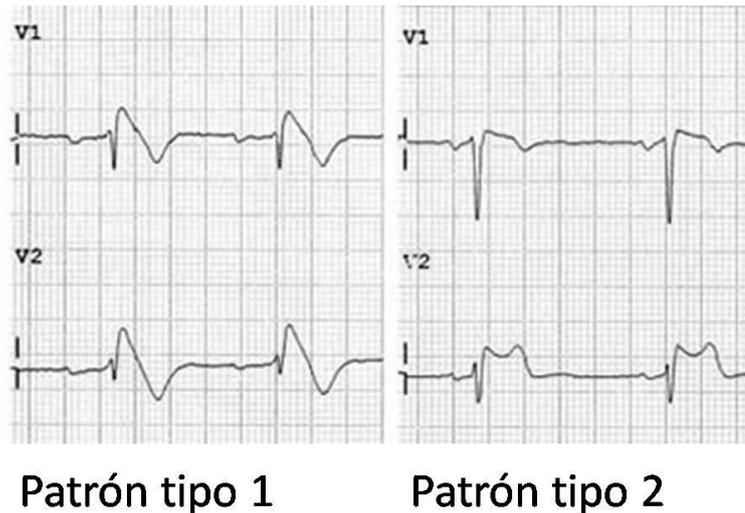


Figura 1: Patrones electrocardiográficos del síndrome de Brugada.

El reciente consenso para el diagnóstico y tratamiento de las canalopatías<sup>7</sup> establece el diagnóstico de SB en presencia de patrón tipo 1 en una o las dos derivaciones precordiales derechas (V1 y V2), colocadas en el segundo, tercero o cuarto espacio intercostal, independientemente de la presencia de síntomas o de historia familiar de SB o de MS. Esta alteración puede estar presente espontáneamente, o bien tras la administración de fármacos antiarrítmicos de clase I (especialmente usados son flecainida y ajmalina). Otras maniobras propuestas para el diagnóstico consisten en provocar un estímulo vagal endógeno, como el estado postprandial<sup>8</sup> o la fase inmediatamente postesfuerzo<sup>9,10</sup>. El anterior consenso sí estipulaba la presencia de síntomas o de historia familiar de muerte súbita o de SB como criterio diagnóstico necesario, y su eliminación no ha estado

exenta de polémica. El papel del patrón tipo 2 en el diagnóstico del SB es simplemente orientativo, y no es necesaria su presencia basal para la aparición de patrón tipo 1 en otro momento (ya sea espontáneo o provocado). El diagnóstico diferencial del SB debe hacerse con las patologías recogidas en la tabla 1.

#### **Diagnóstico diferencial**

Bloqueo atípico de la rama derecha del haz de His  
Hipertrofia ventricular  
Patrón de repolarización precoz  
Pericarditis/miocarditis aguda  
Miocardiopatía arritmogénica del VD  
Isquemia aguda miocárdica  
Tromboembolismo pulmonar agudo  
Angina vasoespástica o de Prinzmetal  
Tumor miocárdico o mediastínico  
Pectus excavatum  
Aneurisma disecante aórtico  
Hipotermia  
Patología neuromuscular (Friedreich, Duchenne,...)

**Tabla 1.** Patologías con las que se debe realizar diagnóstico diferencial del SB

Es necesario recalcar que inicialmente el ECG característico se describió como “bloqueo de rama derecha con elevación del ST”, pero en los consensos recientes se ha eliminado la referencia al bloqueo de rama derecha, ya que no se ha podido comprobar que exista un retraso real de la conducción eléctrica a través de esta rama del haz de His, y se postula que probablemente el patrón se deba a la repolarización precoz del epicardio del ventrículo derecho, motivo por el que el patrón sólo se pone de manifiesto en precordiales derechas y no el resto de derivaciones (cosa que sí debería ocurrir en caso de bloqueo de rama).

El SB causa entre un 4% y un 12% de todos los casos de MS, y hasta un 20% en aquellos que aparecen en pacientes con corazón estructuralmente normal<sup>11</sup>. Los

pacientes con MS suelen permanecer asintomáticos, aunque una proporción variable entre estudios puede presentar síncope o MS como primera manifestación clínica<sup>12-16</sup>. En estos pacientes la aparición de MS es más frecuente durante el sueño o el reposo. Se ha calculado una prevalencia en torno a 500 por millón de habitantes, aunque debido a que el patrón electrocardiográfico diagnóstico no es constante en todos los pacientes, esta prevalencia puede estar infraestimada. Existe además una gran variabilidad geográfica, de forma que el SB es mucho más frecuente en el sudeste asiático que en Europa o Norteamérica<sup>17</sup>; de hecho, en estas regiones hay descritas entidades clínicas desde principios del siglo XX, cuyos síntomas cardinales coinciden con los del SB, y que han recibido nombres descriptivos como *Lai Tai* (en tailandés, “muerte durante el sueño”), *Bangungut* (en filipino, “lamentarse en sueño”) y *Pokkuri* (en japonés, “cese brusco e inesperado”)<sup>18-20</sup>; estas patologías, que se agrupaban bajo el término genérico “muerte súbita nocturna inexplicada”, han resultado ser idénticas al SB en cuanto a su etiopatogenia<sup>20,21</sup>. En cuanto a las diferencias por género, el SB es de 8 a 10 veces más frecuente en varones, hasta el punto en que en determinadas zonas rurales del sudeste asiático aún es tradición que los varones duerman con ropa de mujer “para ahuyentar a los espíritus malignos” que tienen preferencia por los varones. Se desconoce si esto se debe a la influencia de la testosterona sobre la actividad de los canales iónicos o a otras causas<sup>11</sup>, como se discutirá más adelante.

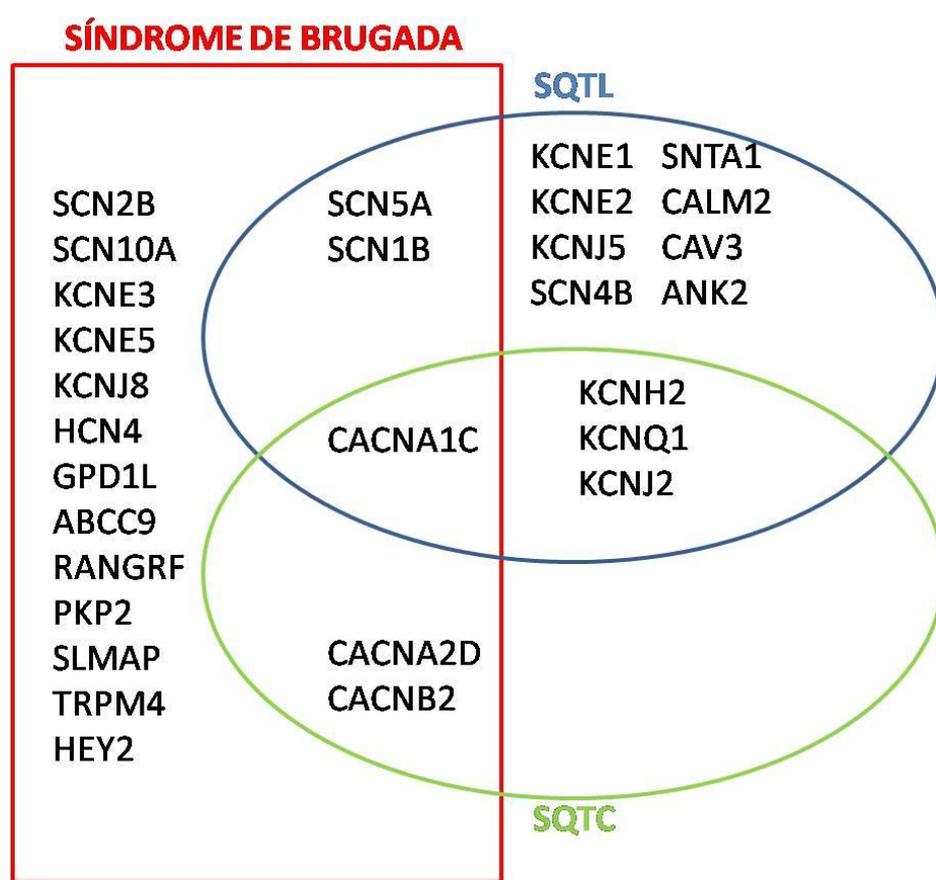
### 1.2. Etiología y fisiopatología

#### 1.2.1. Definición y tipos de canalopatías

El SB se encuadra, junto a los síndromes de QT largo y corto y a la taquicardia ventricular catecolaminérgica, en un grupo de patologías actualmente denominadas

“canalopatías”, debido a que su etiología común es la alteración de genes que codifican proteínas que forman parte o que regulan el funcionamiento de canales iónicos celulares. Estas patologías afectan fundamentalmente a los tejidos muscular y nervioso, y presentan una serie de características comunes<sup>22</sup>:

- Especificidad de tejido: La mayoría de las canalopatías son específicas para un tejido debido a que el mismo tipo de canal está codificado por genes distintos para cada tejido. *Ejemplo: El canal de sodio miocárdico, cuya mutación puede producir SB, está codificado por SCN5A y SCN1B, mientras que el cerebral está codificado por SCN1A y SCN8A, cuyas mutaciones producen encefalopatías.*
- Interdependencia entre canales y heterogeneidad genética: La correcta excitación de una membrana depende de la función de distintos canales; por lo tanto, mutaciones en distintos canales pueden producir fenotipos similares. *Ejemplo: obsérvese el amplio abanico de genes cuya mutación puede producir SB en la figura 2.*
- Heterogeneidad fenotípica: Mutaciones en el mismo gen pueden producir distintos fenotipos en función de la localización dentro de la proteína y del efecto funcional de la mutación. *Ejemplo: 2 mutaciones distintas de un mismo gen que produzcan efectos opuestos en el canal podrán producir bien SB o síndrome de QT largo, como se aprecia en la figura 2.*



**Figura 2:** Genes implicados en el síndrome de Brugada y en los síndromes de QT largo y corto, y su asociación.

Los canales iónicos son los responsables de la generación del potencial de acción transmembrana responsable de la activación secuencial del tejido muscular o nervioso, interactuando con las concentraciones intra- y extracelulares de los distintos iones implicados en este proceso (fundamentalmente sodio, calcio y potasio). La disfunción de estos canales provoca una alteración en la generación del potencial de acción normal, y esto habitualmente se refleja en el electrocardiograma de superficie.

### 1.2.2. Potencial de acción miocárdico

La formación del potencial de acción transmembrana normal se basa en la perfecta interacción de múltiples canales iónicos y de sus estructuras adyacentes. Ante mínimas variaciones en el entorno, esta interacción se adapta para mantener el equilibrio eléctrico y evitar la arritmogénesis. La alteración de uno solo de los actores implicados puede ser suficiente para romper el delicado equilibrio existente, con graves consecuencias. El potencial de acción miocárdico (esto excluye a los miocitos del tejido específico de conducción, con función de marcapasos, que poseen una electrofisiología especial y diferente a los miocitos normales) tiene 5 fases, y en cada una de ellas se activan e inactivan distintos tipos de canales, lo que genera corrientes de entrada y de salida de iones, que en función de su equilibrio producirán despolarización o repolarización celular.

-Fase 0: Se produce por la apertura de canales rápidos de sodio en respuesta a una despolarización transmembrana que alcance un determinado umbral; en el miocito humano este umbral está en torno a -55 mV. La despolarización suele estar producida por la activación previa de células contiguas (conducción eléctrica miocárdica), aunque en ocasiones se puede alcanzar el umbral por despolarización espontánea durante la fase 4, ya sea fisiológica (como en el caso de las células marcapasos del nodo sinusal) o patológica (por ejemplo, en miocitos isquémicos). La apertura de estos canales produce una entrada rápida de iones sodio (con carga eléctrica positiva) al interior de la célula (corriente  $I_{Na}$ ), llevando la diferencia de potencial hasta los +30 mV. Esta fase se corresponde con el complejo QRS del electrocardiograma.

-Fase 1: Tras el cierre de los canales de sodio se activa un primer grupo de canales de potasio, que permiten la salida de este ion al espacio extracelular con lo que se produce una repolarización parcial transitoria (corriente  $I_{to}$ ). Esta corriente está especialmente presente en el epicardio ventricular.

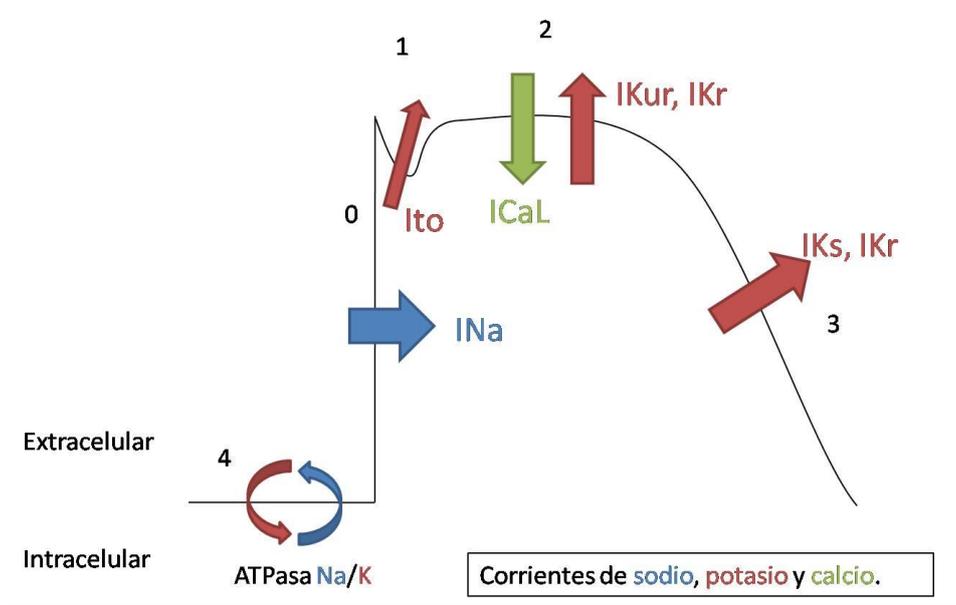
-Fase 2: En esta fase se mantienen en equilibrio corrientes de entrada de sodio (a través de canales de apertura lenta) y calcio (mediante canales tipo L, corriente  $I_{CaL}$ ) con corrientes de salida de potasio (a través de distintos tipos de canal: ultrarrápidos, rápidos y lentos; respectivamente corrientes  $I_{Kur}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$ ); debido a este equilibrio, el potencial transmembrana se mantiene estable entre +10 y +20 mV, por lo que esta fase recibe el nombre de fase de meseta o *plateau*. Corresponde al segmento ST del electrocardiograma. La entrada de calcio, además de para el potencial de acción, es fundamental para el acoplamiento entre la activación eléctrica y la contracción de la fibra miocárdica; la sístole mecánica tiene lugar durante esta fase.

-Fase 3: Tras el cierre de los canales de sodio y calcio, permanecen abiertos los de potasio, permitiendo su salida de la célula con la consiguiente repolarización hasta alcanzar el potencial de reposo celular (en torno a -85 mV). Esta fase está representada en el ECG por la onda T. Debido a las características de los canales de potasio y al equilibrio electroquímico, esta “vuelta a la normalidad” acontece a una velocidad netamente inferior a la despolarización de la fase 0, por lo que la onda T electrocardiográfica presenta componentes de menor frecuencia que el complejo QRS.

-Fase 4: Fase de reposo. El gradiente electroquímico se mantiene gracias al funcionamiento de las ATPasas Na/K, que a costa de cierto consumo energético son

capaces de introducir en la célula dos iones potasio y extraer de la misma tres iones sodio, manteniendo la electronegatividad intracelular.

El balance de corrientes de cada fase está resumido en la figura 3.



**Figura 3:** Esquema del potencial de acción miocárdico y las corrientes principales que intervienen en la formación del mismo.

La activación tardía de regiones discretas de miocardio, ya sea por alteración estructural (como los canales eléctricos en el interior de las cicatrices de infarto) o eléctrica, puede no tener traducción en el ECG de 12 derivaciones, o bien ser muy sutil para su identificación reproducible. La promediación de señales ECG puede poner de manifiesto esta activación tardía, al amplificar las señales de baja amplitud propias de la misma al tiempo que se cancela el ruido. Sin embargo, los métodos de promediación estándar utilizar derivaciones ortogonales que abarcan todo el corazón, por lo que señales específicas de una localización concreta pueden verse diluidas.

### 1.2.3. Fisiopatología del síndrome de Brugada

El SB se describió como una patología heredada con patrón autosómico dominante con penetrancia incompleta (en torno al 50%). La primera mutación descrita como causante del SB se encontró en el gen SCN5A<sup>12</sup>, que codifica la subunidad  $\alpha$  del canal de sodio dependiente de voltaje presente en el músculo cardíaco; actualmente supone la alteración genética que con más frecuencia se detecta en pacientes con SB (más del 75% de los casos con genotipado positivo), habiéndose descrito más de 100 mutaciones distintas en este gen. Sin embargo, probablemente influya un sesgo temporal, ya que sólo en el 15-30% de los casos de SB es posible encontrar mutaciones en SCN5A<sup>23,24</sup>. Las mutaciones en este gen capaces de generar un fenotipo de SB producen una pérdida de función del canal; por el contrario, mutaciones del mismo gen que afectan al sitio de inactivación del canal y por tanto aumentan su función se han relacionado con la expresión fenotípica de un tipo de síndrome de QT largo.

Posteriormente se han caracterizado mutaciones en otros genes que codifican canales iónicos de sodio, calcio y potasio, que también presentan fenotipo de SB con características distintivas, por lo que se ha denominado SB tipo 1 al causado por la mutación en el SCN5A, y se han descrito hasta 20 fenotipos más (ver tabla 2). Estas variantes podrían ser responsables de la heterogeneidad fenotípica del SB, que se ha asociado con presencia concomitante de intervalo QT largo o corto, alteraciones de la conducción eléctrica cardíaca, fibrilación auricular e incluso miocardiopatía dilatada. No todas las mutaciones se han descrito en genes que codifican canales iónicos, sino

también en proteínas que intervienen en el transporte intracelular de estos canales o proteínas que ejercen un efecto modulador sobre los mismos; aun así, el efecto final se reduce a la alteración de una de las tres corrientes implicadas en la génesis del SB: corriente rápida de sodio ( $I_{Na}$ ), corriente lenta de calcio ( $I_{CaL}$ ) y corriente transitoria de potasio ( $I_{to}$ ). Aunque cualquiera de estas tres alteraciones puede ser la génesis del SB, la presencia de una melladura (*notch*) en la fase 1 del potencial de acción, mediada por  $I_{to}$ , parece ser un prerrequisito.

Variante	Gen	Proteína	Corriente afectada
SB1	SCN5A	NaV1.5	$I_{Na} \downarrow$
SB2	GPD1L	G3PD1L	$I_{Na} \downarrow$
SB3	CACNA1C	CaV1.2	$I_{CaL} \downarrow$
SB4	CACNB2	CaV $\beta$ 2	$I_{CaL} \downarrow$
SB5	SCN1B	NaV $\beta$ 1	$I_{Na} \downarrow$
SB6	KCNE3	MiRP2	$I_{to} \uparrow$
SB7	SCN3B	NaV $\beta$ 3	$I_{Na} \downarrow$
SB8	KCNH2	Kv11.1	$I_{Kr} \uparrow$
SB9	KCNJ8	Kir6.1	$I_{Katp} \uparrow$
SB10	CACNA2D1	CaV $\alpha$ 2 $\delta$ 1	$I_{CaL} \downarrow$
SB11	RANGRF	MOG1	$I_{Na} \downarrow$
SB12	KCNE5	MiRP4	$I_{to}, I_{Ks} \uparrow$
SB13	KCND3	Kv4.3	$I_{to} \uparrow$
SB14	HCN4	HCN4	$I_f$
SB15	SLMAP	SLMAP	$I_{Na} \downarrow$
SB16	TRMP4	TRMP4	-
SB17	SCN2B	NaV $\beta$ 2	$I_{Na} \downarrow$
SB18	HEY2	F. transc.	$I_{Na} \downarrow$
SB19	SCN10A	NaV1.8	$I_{Na} \downarrow$
SB20	ABCC9	SUR2A	$I_{Katp} \uparrow$
SB21	PKP2	PKP2	$I_{Na} \downarrow$

**Tabla 2.** Tipos de SB, sus genes asociados indicando su proteína correspondiente, y la corriente iónica a la que afectan ( $\downarrow$  por disminución,  $\uparrow$  por aumento).

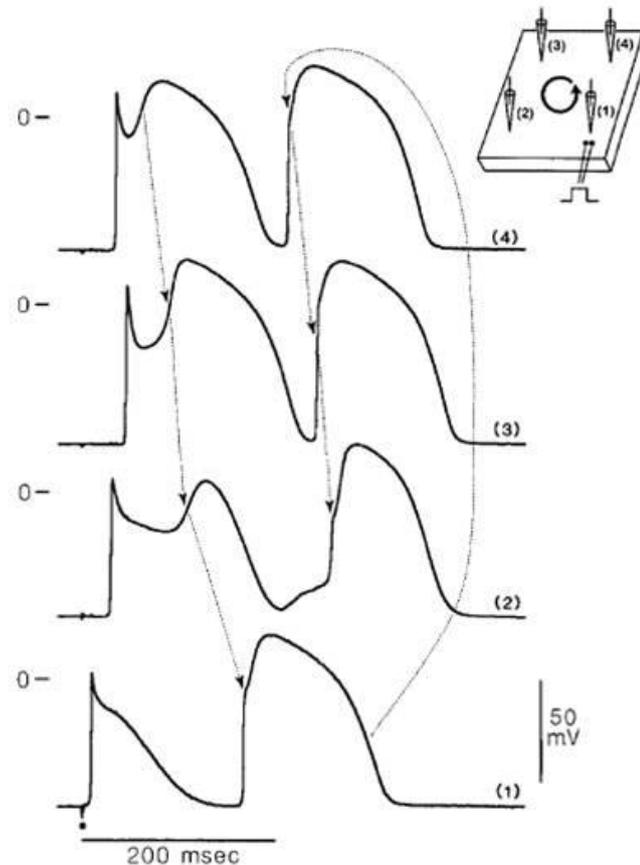
La aparición de MS en pacientes con SB se debe a la predisposición a las arritmias ventriculares malignas, en concreto taquicardia ventricular polimórfica (TVP) y fibrilación ventricular (FV) que presentan estos pacientes; estas arritmias

generalmente aparecen sobre el ritmo basal normal del paciente, sin ser precedidas por taquicardia ventricular monomorfa, y sin precipitantes como la sucesión de intervalos corto-largo-corto característica de otras canalopatías. Fisiopatológicamente, se discute si la génesis de estas arritmias se debe a una alteración en la despolarización o en la repolarización miocárdica.

### 1.2.4. Alteración en la repolarización vs. despolarización

La teoría de la **alteración en la repolarización** deriva de estudios experimentales en los que se evidenció que la pérdida de la curva en cúpula de las fases 1 y 2 de la despolarización en presencia de bloqueantes de canales de sodio y de acetilcolina era mucho más evidente en el epicardio que en el endocardio, lo que generaba un gradiente transmural que era aún más marcado en la región del tracto de salida del ventrículo derecho (TSVD), zona que presenta una potente corriente  $I_{to}$  en comparación con el resto del miocardio<sup>25</sup>. Esta situación es capaz de generar FV por un mecanismo de reentrada en fase 2<sup>26</sup>, mecanismo que fue inicialmente descrito en condiciones experimentales de isquemia miocárdica aguda<sup>27</sup>, y que se basa en el concepto de “reexcitación dependiente de repolarización prolongada”. La isquemia aguda causa una heterogeneidad espacial en la repolarización miocárdica, fundamentalmente debida a la pérdida de la cúpula del potencial de acción a nivel epicárdico, donde la corriente  $I_{to}$  es más marcada. Esta dispersión de la repolarización es capaz de generar ondas de reexcitación en sentido contrario al que se produjo la despolarización (figura 4), produciendo extrasístoles con un intervalo de acoplamiento corto, capaces en algunos casos de generar una taquiarritmia sostenida por reentrada funcional (clínicamente, taquicardia polimórfica o fibrilación). El inhibidor de la

corriente  $I_{to}$  4-aminopiridina es capaz de revertir los cambios dependientes de isquemia, lo que corrobora la participación de la  $I_{to}$  en este escenario.



**Figura 4:** Esquema de reentrada en fase 2: En los puntos 3 y 4 se produce una despolarización normal; la cúpula de la fase 2 se propaga a regiones en las que la misma está ausente (1 y 2). Esta propagación puede iniciar una reentrada funcional con longitud de ciclo muy corta. Reproducido con autorización de Ref. Bibl. 27.

Por el contrario, la teoría de la **alteración en la despolarización** propugna la presencia de alteraciones ultraestructurales en el epicardio del TSVD como sustrato necesario para el mantenimiento de las arritmias malignas<sup>28,29</sup>, y la mutación de los canales iónicos u otros factores capaces de disminuir la velocidad de conducción (como los fármacos antiarrítmicos) actuarían como disparador de las mismas<sup>30,31</sup>. Inicialmente se propuso que el SB podría ser una forma frustrada de miocardiopatía

arritmogénica de ventrículo derecho, pero la descripción de mutaciones en las proteínas de unión intercelular como causa de esta entidad han descartado la asociación directa entre ambas patologías. Un estudio ha demostrado la desaparición del patrón tipo 1 y de la ocurrencia de FV a 2 años en 8 de 9 pacientes con SB y episodios arrítmicos frecuentes tras la ablación epicárdica del TSVD<sup>32</sup>, hecho que soporta la alteración en la despolarización como base fundamental para el desarrollo de arritmias malignas en el SB; además, este mismo estudio demostró la existencia de potenciales fragmentados, tardíos (tras la finalización del QRS), de baja amplitud y larga duración (<1 mV y >120 ms) en el epicardio del TSVD. Sin embargo, este efecto también podría deberse a la abolición de las regiones con mayor predominio de la corriente  $I_{to}$ , y por tanto, que mayor dispersión en la repolarización presentan. Un estudio histológico<sup>33</sup>, realizado en corazones de pacientes fallecidos por SB, mostró un aumento del colágeno en el TSVD de pacientes con SB comparado con una cohorte control, así como una disminución en la expresión de la proteína conexina-43, implicada en la unión intercelular, a este nivel, lo que justificaría la aparición de potenciales eléctricos anómalos (lentos y tardíos).

### 1.2.5. Efecto de la flecainida sobre los pacientes con SB

La flecainida es un fármaco antiarrítmico, encuadrado en la clase Ic de la clasificación de Vaughan-Williams; todos los fármacos de clase I son bloqueantes de los canales de sodio; la existencia de tres subclases se debe al diferente efecto sobre la velocidad de conducción y la duración del potencial de acción que tienen estos fármacos. Concretamente, los fármacos Ic se caracterizan por una disminución de la pendiente de la fase 0 del potencial de acción, lo que se traduce en una disminución de

la velocidad de conducción intercelular, sin que se aprecien importantes efectos sobre la duración del potencial de acción. La traducción electrocardiográfica de este fenómeno es la generalmente discreta prolongación de la duración del QRS que producen estos fármacos, sin afectar a la duración del QT.

En virtud de los mecanismos fisiopatológicos expuestos para el SB, el efecto de la flecainida en estos pacientes podría deberse a 2 mecanismos: efecto directo sobre la repolarización, al aumentar la asimetría eléctrica entre epicardio y endocardio ya presente en estos pacientes debido a un mayor grado de disfunción de los canales de sodio; o bien, aumento del retraso de la conducción en zonas con afectación ultraestructural en el TSVD, según propugna la teoría de la alteración de la despolarización. Aunque se conoce el papel de la flecainida para desenmascarar patrones de SB ocultos, no está claro en qué grado interviene cada uno de los dos mecanismos, y es posible que se deba a una combinación de ambos. El efecto de estas alteraciones sobre el ECG se observa principalmente en las precordiales derechas (V1-V3).

### 1.3. Otras canalopatías

El síndrome de QT largo (SQTL) se describió inicialmente en 1957 en una familia noruega cuyos hijos presentaban sordera congénita, prolongación marcada del intervalo QT, síncope de repetición y muerte súbita en tres de los cuatro pacientes. En cambio, sus padres no mostraban ninguna de estas características, reflejo de la herencia autosómica recesiva de esta enfermedad, denominada “síndrome de Jervell y Lange-Nielsen” en honor a los médicos que la describieron<sup>34</sup>. Esta entidad es extremadamente rara.

Posteriormente y de forma independiente, Romano y Ward describieron un síndrome caracterizado por prolongación del intervalo QT y síncope de repetición, con aparición de muerte súbita infantil en algunos casos, y con un comportamiento que sugería una herencia autosómica dominante<sup>35,36</sup>. Esta entidad se ha conocido clásicamente como “síndrome de Romano-Ward”, aunque esta denominación está en desuso dada la gran variedad de fenotipos que se conocen en la actualidad.

En los pacientes con SQT, el ECG presenta prolongación del intervalo QT, que puede deberse a una duración aumentada de la onda T, o bien a la aparición tardía de la misma; estas diferencias han permitido la diferenciación de 3 fenotipos de SQT, con características clínicas diferenciales.

La arritmia característica del síndrome de QT largo es la taquicardia ventricular polimórfica con torsión de puntas (*torsades de pointes* en francés), descrita inicialmente por Dessertenne<sup>37</sup> en 1966 en una paciente anciana con bloqueo AV completo. Esta arritmia, que suele degenerar en fibrilación ventricular en segundos o minutos, o bien autolimitarse espontáneamente, se caracteriza por la variación progresiva de la amplitud de los complejos ventriculares, dando la impresión de que el complejo QRS va girando alrededor del eje del ECG.

El síndrome de QT corto (SQTc) es una entidad de relativamente reciente descripción<sup>38</sup>, a raíz de una familia que presentaba intervalos QTc entre 260 y 280 ms, fibrilación auricular paroxística y un caso de muerte súbita. Actualmente se conoce la implicación de los canales de calcio y de potasio en la génesis de esta patología, y como se puede apreciar en la figura 2, comparte genes con el SB. Según los estudios experimentales, es probable que la fisiopatología de las arritmias en el SQTc se deba a

una suma del acortamiento de la repolarización y de la dispersión transmural de la misma, que actuarían respectivamente como disparador y sustrato de la fibrilación ventricular<sup>39</sup>.

### 1.4. Estratificación de riesgo y tratamiento preventivo

Hoy por hoy no existe tratamiento etiológico para el SB, aunque la terapia génica probablemente juegue un importante papel en el futuro. Actualmente el tratamiento fundamental consiste en estratificar el riesgo de MS, para de esta forma poder evitar la misma mediante el implante de un desfibrilador automático (DAI). Se sabe que la edad media de los pacientes con episodios de FV es de  $41 \pm 15$  años, y que el sexo masculino multiplica el riesgo de MS por 5.5<sup>11</sup>. El estudio de las mutaciones causales no aporta información pronóstica<sup>40</sup>.

Existe consenso unánime en que los pacientes supervivientes de una MS deben recibir un DAI<sup>7,41</sup>. Para el resto de pacientes con SB existen una serie de factores de riesgo, siendo los dos principales la aparición de síncope de causa no explicada y la presencia de patrón electrocardiográfico tipo I espontáneo<sup>42</sup>. La coexistencia de ambos factores de riesgo está considerada como una indicación de clase IIa (evidencia limitada, globalmente a favor) para el implante de DAI<sup>13</sup>, mientras que en otros casos la evidencia es escasa y las indicaciones son relativas y controvertidas, especialmente el valor predictivo positivo de la inducción de fibrilación ventricular con estimulación eléctrica programada<sup>15</sup>, que ha sido y continúa siendo objeto de enconadas discusiones entre expertos. Los antecedentes familiares de muerte súbita no parecen tener valor a la hora de predecir eventos arrítmicos<sup>43</sup>. Estudios de pequeño tamaño

muestral han sugerido que la detección de potenciales tardíos mediante ECG con promediado de señal podría tener valor pronóstico<sup>44</sup>.

La tasa anual de eventos arrítmicos en pacientes previamente asintomáticos es baja (alrededor de un 0.5% pero con variabilidad entre series)<sup>45,46</sup>, y la tasa anual de complicaciones derivadas del DAI es elevada (hasta 8.9%)<sup>47</sup>, por lo que en estos pacientes la indicación debe estar bien meditada. Debido a eso, en los últimos años, una parte considerable de la investigación clínica en SB se ha dedicado a la búsqueda de marcadores pronósticos que permitan aumentar la especificidad de la indicación de DAI en pacientes con síncope y/o patrón tipo 1 espontáneo, con escaso éxito.

La utilización de isoproterenol intravenoso en las crisis arrítmicas agudas en pacientes con SB ha demostrado su utilidad<sup>48,49</sup>, y su efectividad se fundamenta en que este fármaco produce un aumento de la  $I_{CaL}$ <sup>50</sup>. Otros fármacos por vía oral han demostrado disminuir a largo plazo la incidencia de FV en estos pacientes<sup>48,51-53</sup> por distintos mecanismos. El más estudiado de estos fármacos, quinidina, es un fármaco antiarrítmico de clase Ia que además posee un efecto inhibitor sobre la corriente  $I_{to}$ , capaz incluso de normalizar el patrón de Brugada en algunos pacientes<sup>54</sup>. Actualmente están en marcha estudios para estudiar la efectividad de quinidina vía oral en pacientes con SB. La ablación por radiofrecuencia del potencial sustrato arrítmico en el ventrículo derecho ha mostrado en pequeñas series la desaparición del patrón de Brugada y la modificación de la inducibilidad de arritmias malignas<sup>32,55</sup>, aunque actualmente es un tratamiento en fase experimental a falta de estudios mayores.

## 2. INTERVALO QT EN EL SÍNDROME DE BRUGADA

La variación del intervalo QT del electrocardiograma (medido desde el inicio del QRS hasta la intersección de la tangente a la rama descendente de la onda T con la línea de base eléctrica) con los cambios en la frecuencia cardíaca se conoce desde principios del siglo XX, merced a los estudios realizados por Bazett, quien desarrolló la fórmula que porta su nombre para la corrección del intervalo QT. Estudios posteriores han mostrado la relación entre QT y FC en pacientes sanos, y han comprobado que las variaciones del QT no dependen exclusivamente de la frecuencia cardíaca en sí, sino también de factores neurohormonales que modulan ambos; concretamente, el acortamiento del QT con la aceleración de la frecuencia cardíaca obedece más a la disminución del tono vagal que al aumento de las catecolaminas<sup>56</sup>. Los factores intrínsecos y extrínsecos que pueden modular la duración y el contorno de la repolarización ventricular se recogen en la tabla 3.

### Factores intrínsecos

Contorno y duración de los potenciales de acción  
Número de células que participan en la repolarización  
Grado de transmisión electrotónica y conductancia intercelular  
Asincronía primaria de la repolarización  
Asincronía secundaria a asincronía en la despolarización

### Factores extrínsecos

Neurotransmisores  
Electrolitos  
Temperatura

**Tabla 3.** Factores intrínsecos y extrínsecos que determinan y modulan la morfología y duración de la repolarización ventricular.

Varios estudios epidemiológicos han demostrado la mayor ocurrencia de MS en pacientes con SB durante las horas de reposo nocturno<sup>57</sup>; el influjo del tono vagal

podría jugar un papel principal en esta variabilidad<sup>4,10,58,59</sup>, al contrario que en otros sustratos proarritmogénos en los que el tono simpático facilita la aparición de arritmias malignas<sup>60</sup>, aunque se desconoce cuál es la fisiopatología exacta en el caso del SB. Un estudio descartó la alteración de la variabilidad de la frecuencia cardiaca como factor etiológico<sup>61</sup>. Otro pequeño estudio observacional de casos y controles a los que se realizó tomografía de emisión de positrones mostró un aumento en la recaptación de noradrenalina a nivel presináptico miocárdico, lo que podría producir una pérdida parcial del efecto del sistema nervioso simpático sobre el corazón. A nivel experimental se ha demostrado que la acetilcolina inhibe las corrientes de calcio, mientras que los betamiméticos las aumentan<sup>62</sup>, y en modelos experimentales de SB la infusión con acetilcolina es capaz de provocar la pérdida de la cúpula del potencial de acción con aparición de ECG típico de este síndrome<sup>26</sup>.

En las series clásicas descriptivas del SB no se han reportado valores anormales del QT en pacientes con esta patología. Sólo algunos estudios han descrito una prolongación del intervalo QT medido en precordiales derechas en pacientes con SB tras la infusión de flecainida<sup>63</sup>. Por otro lado, estudios en los que se ha medido el intervalo QT mediante holter de 24 horas en población normal<sup>64,65</sup> no han demostrado que este sistema de medida afecte al resultado de la misma.

En pacientes con síndrome de repolarización precoz, patología que presenta ciertas similitudes con el SB, incluyendo una mayor incidencia de eventos arrítmicos durante el reposo nocturno, se ha observado en un estudio observacional que en los sujetos que habían sufrido un episodio de MS recuperada existía una incorrecta adaptación del intervalo QT a la frecuencia cardíaca durante la noche, hecho que

podría favorecer la aparición de reentrada en fase 2<sup>66</sup>. Este estudio con 172 sujetos incluyó 11 pacientes con SB que fueron analizados de forma separada. Aparentemente esta alteración también está presente en una serie de pacientes con fibrilación ventricular idiopática<sup>67</sup>. El estudio específico de la adaptación del QT a la frecuencia cardíaca durante el reposo en pacientes con SB serviría para determinar si este mecanismo está presente también en estos pacientes.

Por el contrario, en pacientes con SQTLC ha sido observada la alteración opuesta: en estos pacientes existe una sobreadaptación a los cambios de FC<sup>68</sup>, con consecuencias también opuestas: en estos pacientes aparecen intervalos QT muy prolongados a frecuencias bajas. El mismo estudio observó la mitigación de esta sobreadaptación del QT con el tratamiento betabloqueante.

Por su parte, el síndrome de QT corto (SQTC), además de compartir con el SB mutaciones en los canales de calcio como etiología<sup>69</sup> y de existir casos de solapamiento entre ambos síndromes<sup>70</sup>, también presenta una mayor incidencia de muerte súbita en varones, y se ha demostrado mediante estudios clínicos la deficiente adaptación del intervalo QT a la frecuencia cardíaca, permaneciendo corto incluso a frecuencias lentas<sup>71</sup>, y siendo tan característico de esta patología que incluso se ha propuesto como criterio diagnóstico para diferenciar el verdadero STQC de pacientes sanos con el QT en el rango bajo de la normalidad. Otra similitud del SQTC con el SB es la aparente respuesta clínica que presentan ambas patologías a la quinidina oral (fármaco antiarrítmico de clase Ia, capaz de prolongar el intervalo QT) en caso de arritmias malignas recurrentes, aunque en el caso del SB se ha postulado que este efecto se debe a la inhibición selectiva de la corriente  $I_{to}$  por parte de la quinidina. Una tercera

característica que hermana ambas patologías es la alta incidencia de fibrilación auricular, lo que podría deberse al acortamiento del período refractario de los miocitos, preciso para el mantenimiento de los rotores de dicha arritmia. Pese a que se han identificado varias mutaciones responsables del SQTC (fundamentalmente en canales de calcio y potasio), el potencial arritmogénico de esta entidad sigue sin ser aclarado; se han establecido distintas hipótesis, meramente especulativas, algunas de las cuales han sido rechazadas:

- a) Aumento de la dispersión de la repolarización: Esta hipótesis está prácticamente descartada de inicio, ya que la onda T no pierde amplitud (más bien lo contrario), y el intervalo Tp-e (tiempo entre el ápex de la onda T y el final de la misma) no está prolongado, lo que sugiere un acortamiento homogéneo de la duración del potencial de acción.
- b) Cambio en la cinética o en la densidad de la  $I_{to}$ , que acortaría la duración del potencial de acción por la pérdida de la cúpula del mismo.
- c) Aumento en la cinética o intensidad de las corrientes repolarizantes de potasio.
- d) Pérdida de actividad de las corrientes tardías de Na y Ca.

En todos los casos, el acortamiento de la duración del potencial de acción iría acompañado de una disminución en la duración del periodo refractario absoluto miocárdico, lo que permitiría el establecimiento de arritmias reentrantes en circuitos más cortos de lo normal gracias al acortamiento de la longitud de onda de la taquicardia. Este tipo de arritmias suelen traducirse a nivel clínico en conducción fibrilatoria, ya sea auricular o ventricular.

Por otro lado, es conocida una llamativa similitud entre el SB y el síndrome de QT largo (SQTL), consistente en la existencia de una dispersión de la repolarización aumentada en ambas patologías; en el SB esto se debe a la heterogeneidad en la repolarización entre células endo- y epicárdicas, mientras que en el SQTL la variación estaría originada en la repolarización de los miocitos tipo M, mesocárdicos<sup>72</sup>. Sin embargo, y a pesar de esta similitud, la aparición de arritmias en ambas patologías ocurre en escenarios opuestos para una y para otra: es típica la ocurrencia de MS durante el esfuerzo o asociada a descarga adrenérgica en el SQTL, mientras que, como ya se ha discutido, en el SB ocurre lo contrario.

Los estudios descriptivos en pacientes con SB (excepción hecha de los casos de *overlapping* o solapamiento de patologías<sup>70,73,74</sup>) no han demostrado que el intervalo QT en estos pacientes sea anormal, salvo pequeños estudios que han observado intervalos QT por encima del límite normal, especialmente al realizar la medición en las derivaciones precordiales derechas<sup>63</sup>.

Un reciente estudio retrospectivo<sup>75</sup> ha sugerido que el intervalo Tp-e medido en derivaciones precordiales en presencia de patrón tipo 1 (espontáneo o inducido por fármacos) podría ser un poderoso marcador pronóstico en pacientes con SB, siendo un intervalo Tp-e mayor de 100 ms predictor de eventos arrítmicos con un odds ratio de 9.61 (3.13-29.41). La explicación fisiopatológica se basa en que el intervalo Tp-e es un marcador de dispersión transmural de la repolarización, lo que de acuerdo con la teoría de la alteración en la repolarización anteriormente expuesta sería la base para la génesis de las arritmias malignas en estos pacientes. Esta prolongación del intervalo Tp-e está presente no sólo en V1 y V2, sino hasta V4, lo que podría sugerir que este

marcador es más sensible para detectar la dispersión en la repolarización que el patrón tipo 1 por sí solo.

### 3. INFLUENCIA DEL SEXO EN EL FENOTIPO Y EL PRONÓSTICO

El fenotipo característico del SB es de 8 a 10 veces más frecuente en varones que en mujeres, y la probabilidad de presentar un evento fatal es 5.5 más frecuente en este sexo<sup>11</sup>. La causa de esta asociación en una patología heredada de forma autosómica, no ligada al sexo, sigue siendo causa de debate hoy día.

Al igual que existe un desequilibrio a favor del ventrículo derecho en cuanto a la potencia de la corriente  $I_{to}$ , se postuló que esta misma corriente podría ser más potente en varones que en mujeres. El equipo de Di Diego<sup>76</sup>, usando preparaciones de miocardio canino perfundidas con terfenadina o con pinacidil, modelos que simulan el SB, demostró que además de una predominancia de la  $I_{to}$  en ventrículo derecho sobre el izquierdo, esta corriente era más potente en animales macho que en hembras, hasta el punto en que fue imposible inducir el fenotipo de SB con terfenadina o pinacidil en las preparaciones de miocardio de hembra, mientras que con la misma concentración todas las preparaciones de macho presentaron el patrón típico.

Sin embargo, la causa de esta diferencia continúa sin explicación, y se han postulado causas hormonales, como un posible efecto protector de los estrógenos, o por el contrario una predisposición por parte de la testosterona (TH). A favor de este último extremo se publicó un artículo a propósito de 2 casos en los que tras la realización de una orquiectomía bilateral a causa de cáncer de próstata (y la consiguiente ausencia casi completa de testosterona sérica), el patrón espontáneo tipo 1 de ambos pacientes desapareció de forma permanente<sup>77</sup>.

El equipo de Shimizu<sup>78</sup> realizó un trabajo en el que se observó un mayor nivel de testosterona en una cohorte de pacientes varones con SB que en un grupo control, también formado exclusivamente por varones; esta elevación de TH fue independiente de mostrar o no mutación en el gen *SCN5A*. Los niveles de TH y la presencia de SB también se correlacionaron de forma inversa con el índice de masa corporal y el porcentaje de grasa corporal. Este estudio utilizó los niveles plasmáticos de TH, no se estandarizaron por edad. Además, no se estudió la posible aparición de niveles elevados de TH en mujeres afectas de SB. Cabe recordar que las mujeres presentan niveles de testosterona que, si bien son netamente inferiores a los de los varones, no son insignificantes, debido a la producción androgénica por parte de suprarrenales y ovarios; estos niveles varían de forma importante con la edad.

Respecto al papel de la TH en otras canalopatías, se ha observado que esta hormona puede jugar un papel protector ante la prolongación del QT inducida por fármacos<sup>79</sup>, lo que explicaría el mayor riesgo arrítmico que presentan las mujeres en caso de QT largo adquirido; de forma experimental se ha demostrado la regulación a nivel no transcripcional que ejerce la TH sobre distintas corrientes iónicas cardíacas<sup>80</sup>, como la  $I_{Ks}$  y la  $I_{CaL}$ . Este tipo de regulación no ha sido demostrada para corrientes de sodio, aunque se podría esperar un comportamiento inverso en el SB respecto al SQT<sub>L</sub>, dada la naturaleza opuesta en su fisiopatología; esto es, la TH podría tener un efecto deletéreo en el SB.

#### 4. GENÉTICA EN EL SÍNDROME DE BRUGADA

Como se ha expuesto anteriormente, el SB presenta un patrón de herencia autosómico dominante, aunque en una proporción importante de pacientes puede aparecer de forma aislada. El primer gen, y el más frecuentemente relacionado con esta patología fue *SCN5A*<sup>12</sup>, que codifica la unidad  $\alpha$  del canal de sodio, y mutaciones en este gen pueden encontrarse en aproximadamente un 18-30% de los probandos<sup>81</sup>, lo que indica la heterogeneidad genética de esta patología. Hasta la fecha se han descrito más de 100 mutaciones distintas en este gen, cuyo efecto común es la reducción en la corriente de sodio  $I_{Na}$ .

Posteriormente se han descrito mutaciones en genes de distintos canales iónicos, como los de calcio (genes *CACNA1c* y *CACNB2b*) y potasio (*KCNE3* y *KCNE5*, asociados a la corriente  $I_{to}$ ), así como en otras subunidades del canal de sodio (*SCN2B*, *SCN10A*). También en genes que no codifican canales iónicos pero que pueden afectar el equilibrio entre corrientes de forma indirecta, como el caso del gen *GPD1-L*, cuya proteína está implicada en el tráfico hacia la membrana de la proteína del canal de sodio, por lo que una malfunción de dicha proteína produciría una expresión insuficiente del este canal. En algunos casos de SB se han encontrado mutaciones en los genes que codifican proteínas de la unión intercelular, asociadas a la displasia arritmogénica de ventrículo derecho; en estos casos no está claro si se trata de una fenocopia del SB, o bien son síndromes de solapamiento de ambas patologías.

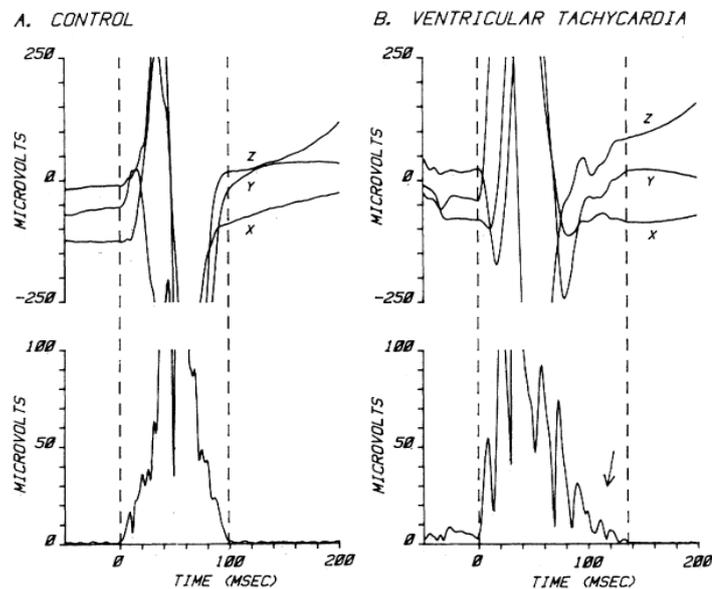
Respecto al valor pronóstico de la genética, y a diferencia de otras cardiopatías familiares, la presencia de una u otra mutación no tienen valor pronóstico, por lo que no se suelen tener en cuenta para la toma de decisiones clínicas. La utilidad principal

del genotipado estriba en la identificación de familiares que puedan ser portadores silentes de la patología.

## 5. ELECTROCARDIOGRAMA CON PROMEDIACIÓN DE SEÑAL

La técnica de procesado de la señal eléctrica del electrocardiograma para la detección de potenciales de baja amplitud (del rango de microvoltios) y alta frecuencia tuvo su auge durante los años 80 del siglo XX, a raíz de la observación frecuente (60-90%) de este tipo de señal tras el fin del complejo QRS (Figura 5) en pacientes predispuestos a sufrir arritmias ventriculares secundarias a infarto de miocardio<sup>82,83</sup>, pero de rara aparición (< 7%) en pacientes sanos o con arritmias ventriculares no relacionadas con infarto previo<sup>84</sup>. Posteriormente se demostró que la detección de estas señales en la superficie corporal se correlacionaba con potenciales tardíos y fragmentados registrados a nivel intracardíaco<sup>85,86</sup>. A estas señales alteradas se les denominó *potenciales tardíos*, y al conjunto de técnicas desarrolladas para su identificación, *electrocardiografía de alta resolución*. En realidad esta denominación no hace referencia exclusiva a una mayor capacidad de los sistemas de medición, sino también a las técnicas de postprocesado de la señal, que mediante la promediación de decenas de latidos es capaz de minimizar el ruido eléctrico de fondo a la vez que potencia la señal de baja amplitud. La proliferación de técnicas y la dificultad de comparar resultados entre distintos métodos hizo necesaria la publicación de un documento de consenso<sup>87</sup> en el que se recogían unos estándares mínimos y las características recomendadas para el filtrado de la señal y su análisis en dominio temporal y de frecuencia. La técnica clásica utilizó 3 derivaciones ortogonales a fin de no perder componentes de la señal debido a su orientación espacial; de acuerdo con los estudios pivotaes de la técnica, se recomienda registrar, además de la duración del

QRS filtrado (QRSf), la duración de la señal por debajo de  $40 \mu\text{V}$  y el voltaje medio de los 40 ms terminales del QRS.



**Figura 5:** QRS promediados por derivación (arriba) y globalmente (RMS, abajo) de un individuo del grupo control (izquierda) y con episodios previos de taquicardia ventricular (derecha). En este último se aprecia una mayor duración del QRSf a expensas de actividad eléctrica de alta frecuencia y baja amplitud (señalada por la flecha). Reproducido con autorización de Ref. Bibl. 82.

Estudios más recientes han demostrado la presencia de potenciales tardíos en patologías distintas a la cardiopatía isquémica, como el caso de la miocardiopatía hipertrófica<sup>88</sup> y más importante de la miocardiopatía arritmogénica de ventrículo derecho<sup>89</sup> (MAVD); de hecho, en esta patología un resultado positivo para potenciales tardíos es actualmente un criterio diagnóstico. Esto se debe a la conducción lenta y tardía que se genera en las regiones de infiltración por tejido adiposo en el ventrículo derecho, que puede llegar a ser de tal entidad como para ser detectada en un ECG convencional, en forma de onda de baja amplitud (onda épsilon) al final del QRS en las derivaciones situadas encima del TSVD (V1-2).

Estudios basados en un modelo experimental de SB en miocardio canino perfundido mostraron potenciales retrasados en el TSVD, y registros bipolares hallaron fragmentación y retraso de la actividad eléctrica a nivel del epicardio pero no del endocardio del TSVD; posteriormente, la perfusión con quinidina normalizó la activación epicárdica<sup>90</sup>.

Un estudio de pequeño tamaño muestral comparó pacientes con SB y pacientes con MAVD; a todos se les realizó registro Holter de 24 h con capacidad de promediado de señal, que mostró potenciales tardíos en ambas patologías, pero mientras que en los pacientes con MAVD estos potenciales eran de aparición constante (lo que traduce una alteración estructural de lenta evolución), en aquéllos con SB se apreciaron cambios dinámicos a lo largo del día en función de la frecuencia cardíaca y el tono autonómico<sup>91</sup>.

Respecto al efecto de los fármacos antiarrítmicos de clase I sobre los potenciales tardíos, varios estudios en pacientes con patologías distintas al SB han evaluado su efecto sobre los potenciales tardíos detectados por el ECG con promediado de señal, con resultados dispares, aunque en la mayor parte el efecto de estos fármacos se tradujo en un aumento en las señales tardías de alta frecuencia<sup>92,93</sup>. Sin embargo, otro estudio en un modelo experimental de miocardio canino apreció una desaparición casi completa de los componentes de alta frecuencia tras la administración de estos fármacos, y este efecto se atribuyó a la disminución en la velocidad de conducción producida por los mismos<sup>94</sup>. Los estudios de promediado de señal en el SB han utilizado las técnicas clásicas, o bien han utilizado registros de Holter, con derivaciones similares; sin embargo, las alteraciones eléctricas propias del SB aparecen en el TSVD

de forma predominante, por lo que el promediado de la señal en derivaciones precordiales derechas podría ofrecer un mayor rendimiento diagnóstico.

# HIPÓTESIS



-El análisis de la señal mediante promediado del ECG de las derivaciones precordiales en pacientes sometidos a test de provocación farmacológica con flecainida puede mostrar potenciales tardíos y otras alteraciones, antes y/o después de la administración de fármacos de clase I, que pueden ayudar a aclarar el mecanismo electrofisiológico del efecto de la flecainida.

-Los pacientes con SB pueden presentar una deficiente adaptación del intervalo QT a la frecuencia cardíaca, lo que puede hacer que aparezcan intervalos QT anormalmente cortos durante frecuencias lentas.

-Los niveles de testosterona pueden afectar a la expresión fenotípica de los pacientes con SB, tanto varones como mujeres, y este efecto puede explicar la diferente penetrancia de la enfermedad entre ambos sexos.



# OBJETIVOS



- Desarrollar el software para el análisis de promediado de señal en registros de polígrafo, utilizados para la realización de test de provocación con flecainida.
- Evaluar el efecto de la flecainida sobre las amplitudes y la concavidad del segmento ST en las derivaciones precordiales derechas (V1-V3) en pacientes sometidos al test de provocación por sospecha de SB.
- Evaluar el efecto de la flecainida sobre el tiempo de conducción y la posible aparición de potenciales tardíos en estos pacientes. Analizar si ambos efectos son paralelos o se producen de forma disociada.
- Estudiar mediante registro electrocardiográfico de 24h (Holter) el comportamiento del intervalo QT en los pacientes con SB, especialmente su adaptación a la frecuencia cardíaca, y compararlo con una muestra control.
- Investigar la relación entre los niveles plasmáticos de testosterona y la expresión fenotípica de pacientes con SB. Realizar un subanálisis en pacientes genotipados para estudiar el efecto de la testosterona sobre la penetrancia.



# MATERIAL Y MÉTODOS



## 1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

La muestra total se obtuvo mediante la inclusión de los pacientes diagnosticados de síndrome de Brugada en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia, ya fuera por presentar patrón tipo 1 espontáneo o tras test de flecainida con resultado positivo, así como a los pacientes ya diagnosticados en otro centro que fueron remitidos a la Unidad de Cardiopatías Familiares de nuestro hospital para su estudio familiar y evaluación de riesgo, en el periodo comprendido entre los años 2002 y 2015. Además se incluyeron los pacientes que fueron sometidos a test de provocación farmacológica con flecainida, ya fuera por cribado familiar, o por alteraciones electrocardiográficas y/o clínicas, y cuyo resultado fue negativo.

Los criterios diagnósticos utilizados tanto para el análisis de los ECG basales como para los tests de provocación farmacológica fueron los vigentes en cada momento<sup>7,95</sup>, si bien de cara al análisis se decidió omitir la denominación “Patrón de Brugada”, eliminada tras el último documento de consenso, y utilizar en su lugar “Síndrome de Brugada asintomático”. Se decidió no reinterpretar los tests previos a 2013 con los nuevos criterios, más sensibles, ya que los pacientes fueron manejados clínicamente en función de su diagnóstico clínico.

A todos los pacientes se les recogió una serie de datos clínicos, incluyendo historia familiar de muerte súbita, y se les realizó ECG; además, siempre que fue posible se realizó ecocardiograma y extracción de sangre. En función de los hallazgos obtenidos, se solicitó registro ECG ambulatorio de 24 horas (Holter), prueba de provocación farmacológica con fármacos antiarrítmicos a aquellos

pacientes que no cumplían los criterios diagnósticos en su ECG basal, y estudio electrofisiológico con estimulación ventricular programada cuando se consideró indicado (fundamentalmente pacientes con patrón tipo 1 espontáneo y asintomáticos), si bien los criterios para realizar esta prueba han variado en los últimos años y sigue sin haber acuerdo unánime en su utilidad<sup>7</sup>.

La obtención de sujetos control para los subestudios en los que fue necesario está detallada en su correspondiente sección.

Para realizar el estudio de la señal en los pacientes sometidos a test de flecainida, y a fin de aumentar la potencia del estudio, se añadió a la muestra de nuestro centro una cohorte adicional de pacientes procedentes del Hospital Central de Asturias, a los que se realizó dicha prueba siguiendo un protocolo idéntico al de nuestro centro.

## 2. ELECTROCARDIOGRAMA

A todos los pacientes se les realizó al menos un ECG de 12 derivaciones estándar, y siempre que fue posible se realizó con electrocardiógrafo digital (MAC5K008B, General Electrics Healthcare), que permite su archivo en formato digital y permite su posterior análisis con programas informáticos específicos. La determinación del punto J para la medida del ascenso del segmento ST se realizó utilizando las derivaciones precordiales no afectadas (V4-V6).

Para la medición del intervalo QT y de su dispersión, se trazó manualmente la recta tangente a la rama descendente de la onda T y se estableció su intersección con la línea de base marcada por el segmento TP del ECG. A continuación se midió

el intervalo entre el inicio del complejo QRS y este punto de intersección en todas las derivaciones. Si bien este no es el método descrito en las publicaciones iniciales sobre la dispersión del QT<sup>96</sup>, en las que se utilizó el retorno del voltaje de la onda T a la línea de base como marcador del final de la repolarización, se prefirió esta forma más reciente de medición por haber mostrado menor variabilidad intra e interobservador. Se definió la dispersión del QT (QTd) como la diferencia entre el QT máximo y el mínimo medidos en el mismo ECG, pero en distintas derivaciones<sup>96</sup>.

El intervalo Tp-e se midió trazando la proyección vertical del ápex de la onda T sobre la línea de base, y midiendo el intervalo entre este punto y el final de la onda T, según se había medido previamente, en las derivaciones precordiales, según la metodología descrita en el trabajo de Maury et al<sup>75</sup>.

### 3. TEST DE PROVOCACIÓN FARMACOLÓGICA

A los pacientes que no cumplieron criterios diagnósticos en su ECG basal (ya fuera por sospecha clínica o por cribado familiar), se les ofreció la realización de un test de provocación farmacológica con fármacos antiarrítmicos de clase I para la confirmación del diagnóstico. Los tests se realizaron tras obtención de consentimiento informado por escrito.

Los estudios se realizaron en el laboratorio de electrofisiología del hospital. Se monitorizó al paciente con ECG de 12 derivaciones (con V1 y V2 en su colocación estándar en el 4º espacio intercostal, y en colocación alternativa en el 2º espacio intercostal durante 15 segundos antes e inmediatamente después de la infusión), mediante el polígrafo de electrofisiología LabSystem Pro EP Recording System y el amplificador de señal Clearsign (Boston Scientific). La frecuencia de muestreo fue

de 1 kHz; el filtrado de la señal se realizó con filtros de paso de banda de 0.1 kHz y 100 kHz, y un filtro “notch” de 50 KHz, si bien el amplificador utilizado presenta un sistema de filtrado dinámico no modificable, que filtra progresivamente las frecuencias altas. Para establecer los valores de normalidad en esta circunstancia, se obtuvo de forma retrospectiva un grupo de pacientes control a los que no se les había realizado test de flecainida (pacientes sin cardiopatía estructural, comprobado por ecocardiografía, que fueron sometidos a estudio electrofisiológico por taquicardias supraventriculares). Además, los pacientes sometidos a test de flecainida con resultado negativo y que posteriormente, tras estudio genético familiar, se descartó que portaran la alteración genética familiar, también fueron utilizados como control.

Durante el test, se realizaron tomas de tensión arterial y medidas de la duración del complejo QRS cada 5 minutos; siempre se dispuso de desfibrilador externo y de isoproterenol intravenoso.

El fármaco usado fue flecainida (infusión de 2 mg/Kg en 20 minutos). No se utilizó ajmalina al no estar contemplada la indicación para usos diagnósticos en su ficha técnica aprobada por la agencia española del medicamento (AEMPS). Se prefirió flecainida sobre procainamida debido a su mayor potencia. El test se suspendió precozmente en caso de positividad antes de alcanzar el fin de la infusión, o en caso de aparición de extrasistolia ventricular frecuente o de prolongación del complejo QRS por encima de un 130% respecto al basal.

Se exportaron en formato digital (archivo de texto, 16 bits) fragmentos de entre 3 y 5 minutos antes del comienzo de la infusión y justo al finalizar la misma, para su posterior análisis tras procesado por software específico (ver siguiente apartado).

#### 4. DESARROLLO DE SOFTWARE

Se desarrolló un software específico, utilizando el lenguaje de programación Python (versión 3.5, disponible en <https://www.python.org/>) para el análisis de los registros, que incluye los siguientes pasos:

- a) Representación del registro en un visor básico y comprobación visual del mismo. Eliminación de las zonas sin señal analizable en su caso.
- b) Filtrado paso alto (filtro de Butterworth bidireccional de orden 4 con una frecuencia de corte de 0.5 Hz) para eliminar las oscilaciones de la línea de base.
- c) Generación de una señal conjunta RMS englobando las 12 derivaciones para detección del pico del primer QRS por criterios de voltaje. Una vez detectado el mismo se determinaron las longitudes de ciclo (LC) en el trazado detectando los máximos de autocorrelación.
- d) Para cada derivación por separado se obtuvo un patrón de “QRS normal” tomando un fragmento desde 50 ms antes a 150 ms después del pico del QRS y comprobando un coeficiente de autocorrelación mayor de 0.95 con al menos otros dos fragmentos de la misma duración en los primeros 5 segundos del registro.

- e) Alrededor de cada máximo obtenido en el punto c) se evaluó un tramo de señal equivalente al 30% de la LC, deslizando sobre el mismo una ventana con la duración del patrón del QRS y buscando el punto de máxima correlación con el mismo. Este punto se utilizó para sincronizar la señal de cada latido con el patrón y descartar los QRS anormales, entendiendo por tales los que presentaron un índice de correlación con el patrón inferior a 0.95.
- f) Establecidos los puntos fiduciaros, se promedió un fragmento con una duración del 70% de la LC para todos los latidos disponibles en el registro y para cada derivación por separado (ECG promediado).
- g) El inicio y el final del QRS se detectaron de forma automática con un criterio de umbral de los valores absolutos de la primera y segunda derivadas de una señal compuesta por el método RMS de las derivaciones V4, V5 y V6. El valor obtenido se validó y se corrigió manualmente en su caso representando las tres derivaciones simultáneamente junto con los valores estimados en un visor interactivo.
- h) El valor del ruido se estimó de forma independiente en cada derivación. Para ello se filtró la señal con un filtro bidireccional paso alto (Butterworth de 4 polos con una frecuencia crítica de 40 Hz) y se definió el ruido como la media del valor absoluto de la señal en una ventana de 70 ms sobre el segmento ST.
- i) Sobre la señal filtrada se determinó el principio y el final del QRS filtrado como el punto medio de un fragmento de 10 ms en el que la media del

valor absoluto de la señal supera 10 y 3 veces respectivamente el valor del ruido (el mayor umbral del inicio se estableció para evitar la contaminación por altas frecuencias residuales de la onda P).

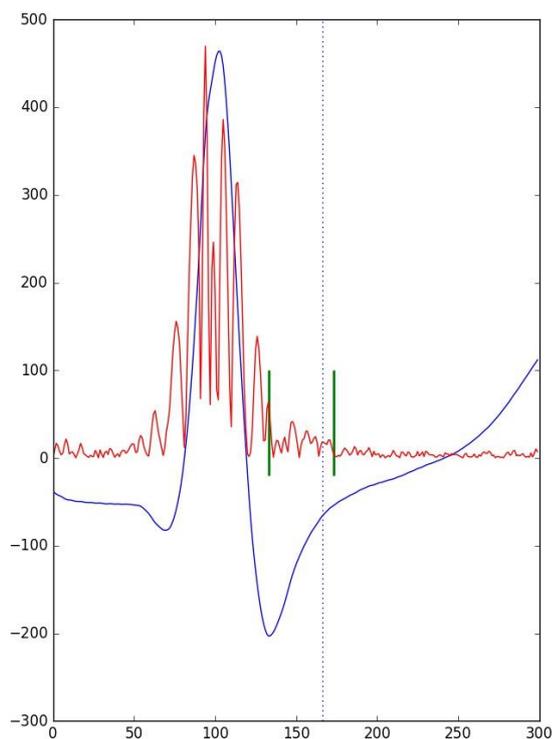
- j) Los valores RMS y duración de AFBA se definieron de forma similar a la estándar para calcular potenciales tardíos (ver abajo).
- k) Sólo se aceptaron para el análisis los registros (uno en el caso de los controles y ambos, anterior y posterior a la administración del fármaco para los probandos) que tuvieran al menos 20 latidos promediados y un nivel de ruido inferior a 0.6  $\mu\text{V}$  en todas las derivaciones precordiales.

La determinación del inicio y del final del QRS estándar se realizó de forma visual, con el registro electrocardiográfico representado a 100 mm/s, y utilizando las derivaciones precordiales izquierdas (V4-V6), afectadas en menor medida por las alteraciones que generan el patrón de SB.

Las variables temporales se expresaron en ms, y las de amplitud en microvoltios ( $\mu\text{V}$ ). En los pacientes a estudio, las variables se midieron antes y después de la administración de la flecainida. Las variables extraídas fueron:

- a) Variables ECG estándar: Longitud de ciclo y duración del QRS (tomando la derivación con la mayor duración).
- b) Amplitud de la señal en el punto J (determinado por el final del QRS en precordiales izquierdas), y también a 40 ms y a 80 ms del mismo.
- c) Ruido: Amplitud del ruido (medido en el segmento ST) para cada derivación.

- d) Duración del QRS filtrado (QRSf): Delimitado según lo expuesto en el apartado i) de la metodología del software.
- e) Concavidad del segmento ST: Se definió como la proporción del tiempo en la que el segmento ST presentaba criterios matemáticos de concavidad (valor de la función derivada segunda  $< 0$ ). El segmento ST se definió como los 80 ms inmediatamente posteriores a la finalización del QRS estándar.
- f) Media cuadrática (RMS) de la amplitud de la señal en los últimos 40 ms del QRSf (Figura 6), siguiendo los criterios clásicos de potenciales tardíos<sup>82</sup>. Se utilizó la media cuadrática para evitar el efecto de anulación de señales de signo opuesto que generaría la media aritmética.



**Figura 6:** Superposición del QRS filtrado (en rojo) al estándar (en azul). La línea punteada define el final del QRS estándar o punto J. Las dos líneas verdes marcan el final del QRSf (derecha) y 40 ms antes del mismo (izquierda), delimitando el intervalo donde se mide el RMS.

- g) Duración de la señal por debajo de 1  $\mu$ V (AFBA, por alta frecuencia y baja duración). Se decidió este criterio tras el análisis de los valores de amplitud del final del QRS filtrado, en el que debido al filtrado progresivo del amplificador, la pérdida de señal comparada con los estudios descriptivos de la técnica estuvo en torno a 40 veces.
- h) Además se calculó el incremento absoluto de estas variables tras la administración de flecainida.

Para la determinación de los valores de normalidad en estas variables (no disponibles de estudios previos debido a la metodología específica de nuestro estudio), se obtuvo una muestra de población control, compuesta por pacientes con ECG normal a los que se les realizó el test dentro del protocolo de cribado familiar, y que posteriormente fueron confirmados como negativos al no portar la mutación encontrada en su familia; y por pacientes sin cardiopatía estructural sometidos a un estudio electrofisiológico por presentar arritmias supraventriculares (para el registro de sus ECG se utilizó el mismo polígrafo que el usado para los tests de flecainida en la población de estudio).

## 5. HOLTER

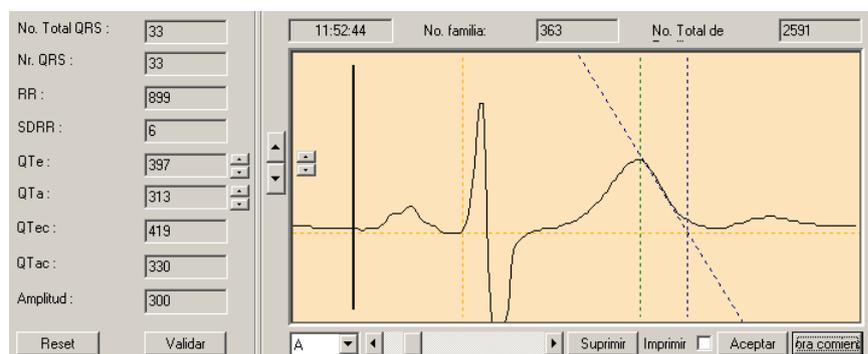
Para el registro electrocardiográfico de 24 horas se utilizaron grabadoras capaces de registrar 2 canales electrocardiográficos de forma simultánea y con una calidad de señal suficiente para un análisis fiable del intervalo QT (Spiderview, ELA medical). Los registros se iniciaron entre las 10 y las 12 horas de la mañana, y finalizaron a la misma hora del día siguiente. Para la muestra control, se recogieron

de forma retrospectiva los registros Holter de 16 pacientes en los que se descartó cardiopatía, apareados por edad y sexo a la muestra de estudio.

El análisis se realizó mediante el software específico SyneScope versión 3.10 (ELA Medical) que cuenta con un módulo dedicado al análisis del intervalo QT.

En un primer paso, el software realiza un análisis automático de los trazados obtenidos, agrupando los QRS en distintas familias (normales, ventriculares o artefactados). Este análisis es sometido posteriormente a una corrección manual familia a familia, y se descartan las familias que no presentan una calidad adecuada para su interpretación.

El subprograma de análisis del QT es capaz de medir los intervalos QTa (desde el inicio del QRS hasta el ápex de la onda T) y QTe (desde el inicio del QRS hasta el final de la onda T, determinada ésta por la intersección de la recta tangente a la rama descendente de la onda T con la línea de base eléctrica, ver figura (Figura 7). Asimismo, el intervalo QTc (QT corregido) es calculado de forma automática mediante la fórmula de Bazett ( $QTc = QTe / \sqrt{RR}$ ).



**Figura 7:** Medición automática del intervalo QT realizada por el software de lectura de Holter. Se muestran la línea de base y el inicio del QRS (líneas discontinuas amarillas, horizontal y vertical respectivamente), el ápex de la onda T (línea verde) y la tangente a la rama descendente de la onda T (línea azul oblicua). La intersección de esta última con la línea de base está marcada con una línea vertical azul.

De forma automática, los distintos latidos son agrupados en familias en función de la medida del QT<sub>e</sub> y del RR, y se revisan de forma manual para detectar anomalías en las medidas debidas a artefactos o a una incorrecta interpretación de las curvas del ECG, siendo su aparición poco frecuente (<1% de los latidos) en registros de buena calidad.

Posteriormente, el programa representa de forma gráfica (mediante nube de puntos) la adaptación del intervalo QT a la frecuencia cardiaca, representando en el eje de abscisas el intervalo RR y en el de ordenadas el intervalo QT, pudiendo elegir entre QT<sub>e</sub> y QT<sub>a</sub>, corregidos o sin corregir. Además, el programa calcula la recta de regresión lineal que representa la relación entre QT y RR, expresada como “QT = A·RR + B”, donde A es la pendiente de la recta de regresión, y B supondría el hipotético corte con el eje de ordenadas extrapolando la recta (figura 7).

Además, el programa permite la opción de acotar periodos dentro de las 24 horas de grabación, y calcular todos los parámetros arriba enunciados para cada uno de estos periodos. El programa se configuró para ofrecer los datos globales y además en 4 subperiodos horarios, a saber: P1 (de 0:00 a 3:00), P2 (de 3:00 a 6:00), P3 (de 6:00 a 9:00) y P4 (de 9:00 a 0:00).

A la hora de comparar los datos de adaptación del QT al RR con los publicados en la literatura, en algunos artículos esta adaptación se expresa en función de la frecuencia cardíaca en vez del intervalo RR, y dado que son inversos se precisa realizar un cálculo para poder comparar los datos entre unos y otros estudios. Para ello se utilizó la aproximación de Taylor simplificada (Figura 8), fórmula matemática que permite transformar una función F(x) en F(1/x), es decir, en función de su

inversa, siempre que se encuentre en la región cuasilineal de la curva hiperbólica que genera la función  $1/x$ .

QT en función de la frecuencia cardíaca (FC)

$$QT = A \cdot FC + B$$

Transformación a QT en función del intervalo RR

$$QT = B + (2A \cdot 60.000 / FC \text{ media}) - (A \cdot 60.000 / FC \text{ media}^2) \cdot RR$$

Por tanto, la pendiente de la curva inversa sería igual a:

$$- A \cdot 60.000 / FC \text{ media}^2$$

**Figura 8:** Formula de Taylor simplificada, utilizada para la conversión de pendientes del QT sobre la frecuencia cardíaca en valores de QT/RR.

## 6. DETERMINACIÓN DE TESTOSTERONA

Se realizó la medida de TH en muestras de suero de pacientes con diagnóstico de SB, y en familiares que fueron estudiados por cribado familiar y presentaron un test de provocación con flecainida negativo. Dentro de esta cohorte, se realizó un subanálisis en los pacientes genotipados, divididos en tres grupos: Afectados con mutación identificada, no afectados por criterios clínicos pero portadores de mutación, y no afectados *wildtype* para la mutación presente en su familia, que se consideraron pacientes control a efectos de los niveles de TH.

A todos los pacientes de este grupo se les realizó ECG digital y se realizó análisis de la señal electrocardiográfica mediante software específico basado en MatLab, que permitió anotar la duración de los intervalos y la amplitud del segmento ST a nivel del punto J y a 40 ms del mismo.

El suero se obtuvo a partir de sangre periférica recogida en tubo con anticoagulante EDTA; en todos los casos la extracción se realizó entre las 15:00 y las 18:00 horas, para evitar posibles alteraciones circadianas de los niveles. Se utilizó para la medida de los niveles de TH el kit *TH II ECLIA* (inmunoensayo de electroquimioluminiscencia) de Roche Diagnostics. Para estandarizar las medidas de TH, se determinaron 4 grupos de individuos, en función de la edad y el sexo, según recomendaciones de la casa comercial. Se obtuvo el valor estandarizado de TH dividiendo el valor obtenido de TH plasmática de cada individuo entre la media de los valores de TH de los pacientes control según grupo de edad y sexo, con lo que un valor de 1 correspondería con un nivel de TH medio. Los niveles de TH de referencia utilizados fueron: varones entre 20 y 50 años: 4.07 ng/mL, varones mayores de 50 años: 3.53 ng/mL; mujeres entre 20-50 años: 0.33 ng/mL y mujeres mayores de 50 años: 0.22 ng/mL.

### 7. ANÁLISIS GENÉTICO

En los pacientes en los que se obtuvo consentimiento se extrajo muestra sanguínea para el análisis genético de los pacientes. Para realizar la extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) se centrifugaron los tubos a 3500 rpm durante 5 minutos y se extrajo la capa de leucocitos (capa blanca) para conseguir mayor concentración y pureza del material genético obtenido. Se extrajo el ADN genómico mediante el sistema automático de Promega (Maxwell 16 Blood DNA Purification Kit) a partir de 400 µL de sangre periférica 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. Las muestras de ADN se llevaron a una concentración de 20 ng/ $\mu$ L y el resto se congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  incluyéndose en la ADN-teca de la Unidad de Cardiopatías Familiares.

Se midió la concentración y pureza del ADN mediante espectrofotometría utilizando el equipo Thermo Scientific, Nanodrop 1000. Las medidas para determinar la concentración se realizaron a una absorbancia (A) de 260 nm, a la que absorben los ácidos nucleicos; la relación entre la absorbancia a 260 y 280 nm se utilizó para determinar la calidad del ADN extraído, considerándose un ratio entre 1.5 y 1.8 como aceptable.

Se amplificaron cada uno de los 28 exones del gen SCN5A (NM\_198056.2, OMIM \*600163) mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los cebadores utilizados se obtuvieron de la publicación de referencia<sup>97</sup>. Se utilizó como secuencia de referencia la isoforma A, la más larga del gen SCN5A.

Los kits enzimáticos utilizados para las amplificaciones fueron Amplitaq Gold (Applied Biosystems) y Promega Go Taq Hot Start polymerase. Las reacciones de amplificación se realizaron en un volumen final de 25  $\mu$ L, 5  $\mu$ mol de cada dNTP (desoxinucleótido trifosfato: ATP, GTP, CTP, TTP), 50  $\mu$ mol  $\text{Cl}_2\text{Mg}$ , 10  $\mu$ mol de cada cebador (sentido y antisentido), 0.125  $\mu$ L de Taq polimerasa (*Thermophilus aquaticus*), y 50ng de ADN. Primeramente se realizó una fase de reactivación de la polimerasa a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 2 minutos, seguido de un programa de 35-40 ciclos que incluye tres temperaturas:  $94^{\circ}\text{C}$  (desnaturalización de hebra molde),  $60^{\circ}\text{C}$ - $65^{\circ}\text{C}$  (anillamiento),  $72^{\circ}\text{C}$  (extensión); por último una fase de extensión final  $72^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos, y  $4^{\circ}\text{C}$  en adelante.

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) de Bio-Rad (161-0770), utilizando para el revelado GelRed (Biotium), una solución de tinción fluorescente de ácido nucleico que sustituye al bromuro de etidio, muy tóxico, utilizado habitualmente en los laboratorios de biología molecular para la tinción del ADN de doble cadena. Se cargaron aproximadamente 3 µL de producto amplificado junto con 1 µL de tampón de carga. El tamaño de las muestras se comparó con un marcador de tamaño de peso molecular (pGEM DNA Markers de Promega). Se utilizó para el revelado el transiluminador Alpha Innotech y la cámara PowerShot A640 AiAF, ambos de Canon.

Se utilizó la secuenciación automática como técnica para detectar alteraciones en la secuencia del canal de sodio cardíaco. Se empleó el Kit BigDye terminator (BDt) v1.1 de Applied Biosystems. Las secuencias fueron analizadas por electroforesis capilar en los equipos ABI310 y ABI3130 (Applied Biosystems).

### 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables demográficas, electrocardiográficas y de otras pruebas complementarias fueron recogidas en una base de datos dedicada basada en Microsoft Access. Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS para Windows. Se comprobó el ajuste a la distribución normal de las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. En las variables con distribución normal se utilizaron como medidas de tendencia central y dispersión la media aritmética y la desviación estándar respectivamente; en las variables no

ajustadas a la normal se optó por el uso de mediana y rango intercuartílico. La comparación de medias entre 2 grupos se realizó mediante las pruebas “t” de Student (corregida para desigualdad de varianzas mediante la prueba de Levene) y “U” de Mann-Whitney en función de dicha adecuación a la normalidad. Para el cambio de una variable tras la administración de flecainida se utilizó la prueba “t” de Student para medidas apareadas, o en caso de variables no paramétricas, la prueba de rangos “Z” de Wilcoxon. Para comparaciones de más de 2 grupos se utilizó la prueba ANOVA de un factor o la prueba “H” de Kruskal-Wallis para variables no paramétricas. Las variables cualitativas se compararon entre sí mediante el test de Chi cuadrado, con sus correspondientes correcciones. Se valoró la asociación de las variables cuantitativas mediante las correlaciones de Pearson y de Spearman.

Para expresar tendencia central y dispersión, se utilizó el formato *media ± desviación estándar* en el caso de variables normales, y *mediana [amplitud intercuartílica]* para variables no normales.

Se estableció un nivel para la significación estadística de 0.05.

# RESULTADOS



## 1. CARACTERÍSTICAS BASALES

Se incluyó a 199 pacientes en la muestra global. De ellos, 141 (70.8 %) eran varones. La edad media en el momento de su valoración inicial fue de  $39.2 \pm 17.2$  años.

Motivo de estudio	Pacientes (n)	%
Screening familiar	79	53.7
Síntomas	25	17.0
Casual – ECG anormal	43	29.2

**Tabla 4.** Motivos por los que se realizó el test de flecainida.

Gen mutado	Frecuencia (n)	%	Patología asociada
<i>SCN5A</i>	36	23.5	SB/SQTL
G1743R	9	5.9	
N1443S	4	2.6	
E901K	3	1.9	
G292S	3	1.9	
Otras	17	11.1	
<i>ANK2</i>	5	3.2	SB/SQTL
<i>CACNA1C</i>	4	2.6	SB/SQTL/SQTC
<i>DSP</i>	2	1.3	SB/MAVD
<i>TGFB3</i>	2	1.3	MAVD
<i>TTN</i>	2	1.3	M. hipertrófica
<i>RyR2</i>	1	0.6	MAVD/TVPC
<i>ACTN2</i>	1	0.6	M. hipertrófica
<i>CACNA1D</i>	1	0.6	SB
<i>CACNA2B</i>	1	0.6	SB
<i>CACNB2</i>	1	0.6	SB/SQTC
<i>JUP</i>	1	0.6	MAVD
<i>NOS1AP</i>	1	0.6	SQTL

**Tabla 5.** Mutaciones encontradas en los pacientes de la muestra, indicando número de pacientes afectados y su porcentaje respecto al total de pacientes genotipados, y la patología con la que se relaciona a la mutación (TVPC: Taquicardia ventricular catecolaminérgica).

52 pacientes (26.1%) presentaron inicialmente un ECG diagnóstico (patrón tipo 1), mientras que a 147 (73.9%) se les solicitó la realización de un test de provocación farmacológica; de ellos, 59 (29.6%) presentaron un resultado positivo, mientras que 88 (44.2%) fueron catalogados como normales. Los motivos por los que se realizó el test de flecainida están resumidos en la tabla 4.

Respecto a los estudios genéticos, de los 153 pacientes estudiados (111 afectados, más 42 familiares de aquellos afectados en los que se identificó una mutación), se halló una mutación considerada responsable en 58 de ellos (37.9%). De estas mutaciones, SCN5A fue el gen más frecuente, presente en 36 pacientes (23.5%). Las mutaciones de este gen, así como el resto de genes afectados, están especificados en la tabla 5.

#### 1. ANÁLISIS DE LA SEÑAL PROMEDIADA

Se analizó la señal de 164 pruebas de provocación con flecainida (41 con resultado positivo y 123 negativo), y se utilizaron los registros electrocardiográficos de 41 pacientes control para establecer los niveles basales de ruido en la señal y los parámetros de negatividad de potenciales tardíos. Las características basales de los grupos se detallan en la tabla 6.

Variable	Control (n = 41)	Test negativo (n = 123)	Test positivo (n = 41)	Sig. (p)
Sexo femenino	17 (41.4%)	51 (41.5%)	11 (26.8%)	0.01
Edad (años)	48.4 ± 16.6	39.5 ± 15.3	48.8 ± 14.6	0.007
LC (ms)	871 ± 155	911 ± 170	879 ± 101	0.28
QRS (ms)	97.7 ± 9.1	105.9 ± 10.8	110.2 ± 9.8	<0.001

**Tabla 6.** Características clínicas y electrocardiográficas basales de los pacientes a los que se realizó estudio de potenciales tardíos, según grupo.

Tras el análisis de la señal por el software específico, no se detectaron diferencias en cuanto al nivel de ruido o la potencia de la señal entre registros provenientes de nuestro centro y del Hospital Central de Asturias. Se comprobó la adecuación a la distribución normal de las variables obtenidas, resultando todas normales excepto las variables de ruido y las indicativas de potenciales tardíos (RMS y AFBA). Se apreció un nivel de ruido ligeramente menor en los pacientes control que los probandos (Tabla 7).

<b>Derivación</b>	<b>Controles (n = 41)</b>	<b>Probandos (n = 164)</b>	<b>Sig. (p)</b>
<b>V1</b>	0.13 [0.09]	0.15 [0.12]	0.07
<b>V2</b>	0.12 [0.07]	0.15 [0.09]	0.02
<b>V3</b>	0.12 [0.09]	0.14 [0.10]	0.01
<b>V4</b>	0.12 [0.07]	0.14 [0.10]	0.07
<b>V5</b>	0.12 [0.07]	0.13 [0.11]	0.14
<b>V6</b>	0.13 [0.06]	0.14 [0.12]	0.03

**Tabla 7.** Diferencias en los niveles basales de ruido (expresado en  $\mu\text{V}$ ) entre pacientes controles y probandos.

### 1.1. Obtención de valores normales de la muestra control.

Se analizó la muestra control y se definieron los límites del intervalo de confianza del 95% para la posterior interpretación de la muestra a estudio. Los valores están reflejados en la tabla 8. Posteriormente se comprobó que los valores medios obtenidos basalmente en los pacientes del estudio estaban dentro de los valores de normalidad de la muestra control

Variable	Der.	P 5	P 95
QRSf (ms)	V1	91.1	<b>165.7</b>
	V2	96.3	<b>161.9</b>
	V3	97.2	<b>154.9</b>
RMS ( $\mu$ V)	V1	<b>0.27</b>	2.44
	V2	<b>0.34</b>	3.67
	V3	<b>0.35</b>	3.76
Dur. AFBA (ms)	V1	1.0	<b>39.2</b>
	V2	1.1	<b>36.3</b>
	V3	1.0	<b>29.9</b>

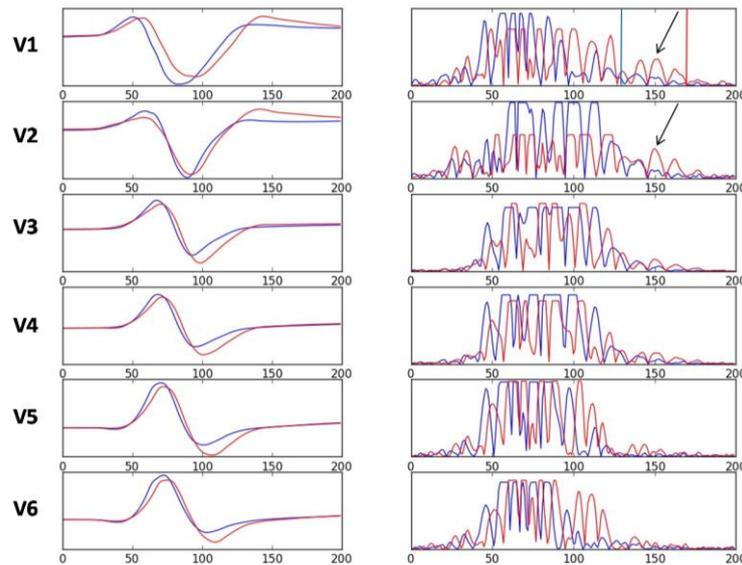
**Tabla 8.** Límites del intervalo de confianza al 95% para los valores del análisis de la señal de la muestra control. Los valores en negrita representarían el límite anormal.

### 1.2. Efecto de la flecainida sobre el global de probandos

La flecainida produjo un aumento en la duración del QRS estándar y del QRSf (tabla 9 y figura 9), además de en la amplitud de la señal del segmento ST (tabla 10). Los parámetros de potenciales tardíos mostraron una disminución del voltaje terminal medio (RMS) y un aumento de la duración de los potenciales de baja amplitud, significativos en 5 de las 6 derivaciones precordiales, tras la administración de flecainida (tabla 11). Los efectos relacionados con la alteración en la repolarización (aumento en la amplitud del segmento ST) no mostraron correlación alguna con los asociados a alteración en la despolarización (aumento del QRSf y de los criterios de potenciales tardíos) en el global de los pacientes sometidos a test de flecainida, ni en aquellos cuyo resultado fue positivo.

Derivación	Pre-test	Post-test	Sig. (p)
<b>QRS est.</b>	107.0 $\pm$ 10.0	115.8 $\pm$ 11.8	<0.001
<b>V1</b>	130.4 $\pm$ 22.9	136.5 $\pm$ 25.1	0.002
<b>V2</b>	136.7 $\pm$ 21.2	147.1 $\pm$ 24.1	<0.001
<b>V3</b>	134.1 $\pm$ 20.4	142.2 $\pm$ 21.9	<0.001
<b>V4</b>	132.1 $\pm$ 21.9	137.0 $\pm$ 21.6	0.003
<b>V5</b>	125.8 $\pm$ 23.5	132.2 $\pm$ 24.8	0.002
<b>V6</b>	120.2 $\pm$ 25.8	129.1 $\pm$ 27.6	<0.001

**Tabla 9.** Diferencias en la duración del QRS (tanto estándar como filtrado) pre-test y post-test para el global de los probandos (n=164).



**Figura 9:** Diferencias en la señal antes (azul) y después (rojo) del test de provocación en el QRS (izquierda) y QRSf (derecha), en un test positivo. Se puede apreciar el aumento de la duración del QRS (marcado por líneas verticales en V1) y del componente AFBA, especialmente visible en las precordiales derechas (flechas).

Der.	Punto	Pre-test	Post-test	Sig. (p)
<b>V1</b>	0 ms	74.8 ± 59.3	87.3 ± 76.5	<0.001
	40 ms	51.1 ± 47.8	58.6 ± 59.6	<0.001
	80 ms	32.1 ± 48.6	34.1 ± 61.9	0.341
<b>V2</b>	0 ms	160.2 ± 116.5	208.9 ± 139.0	<0.001
	40 ms	152.1 ± 90.9	195.5 ± 110.5	<0.001
	80 ms	169.9 ± 107.2	208.9 ± 127.1	<0.001
<b>V3</b>	0 ms	103.3 ± 126.9	146.68 ± 157.5	<0.001
	40 ms	154.9 ± 111.2	202.3 ± 134.2	<0.001
	80 ms	210.5 ± 132.3	266.3 ± 165.0	<0.001

**Tabla 10.** Diferencias en la amplitud de la señal del segmento ST (expresada en  $\mu\text{V}$ ) pre-test y post-test para el global de los probandos (n=164).

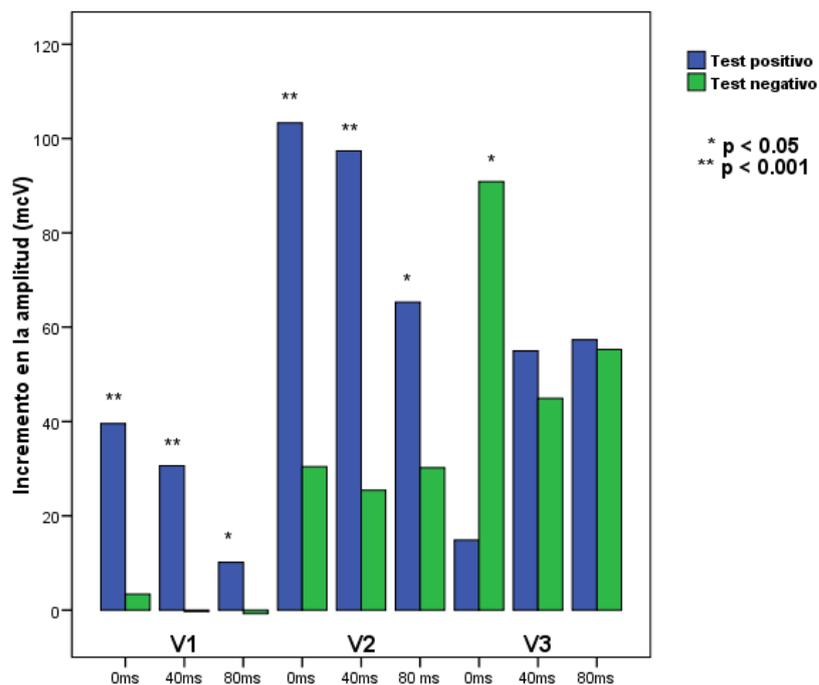
Derivación	RMS ( $\mu\text{V}$ )			Duración AFBA (ms)		
	Pre-test	Post-test	Sig. (p)	Pre-test	Post-test	Sig. (p)
<b>V1</b>	0.94 [1.11]	0.84 [0.83]	0.02	12 [16]	12 [20]	0.13
<b>V2</b>	1.03 [0.91]	0.85 [0.94]	0.02	12 [14]	13 [16]	0.03
<b>V3</b>	1.03 [1.06]	0.96 [0.95]	0.12	11 [13]	13 [14]	0.03
<b>V4</b>	1.19 [1.25]	0.94 [0.95]	0.004	11 [13]	13 [15]	0.04
<b>V5</b>	1.15 [1.27]	0.94 [0.92]	0.002	10 [14]	13 [15]	0.002
<b>V6</b>	1.07 [1.06]	0.87 [0.87]	0.002	11 [14]	13 [21]	0.007

**Tabla 11.** Diferencias en los criterios de potenciales tardíos pre-test y post-test para el global de los probandos (n=164).

1.3. Diferencias entre pacientes con respuesta positiva y negativa

El incremento en el QRS filtrado fue comparable entre pacientes con test positivo y negativo (tabla 12). Sin embargo, el incremento de la amplitud de la señal del segmento ST fue mayor en los pacientes con test positivo en lo que refiere a las derivaciones V1 y V2; respecto a V3, no hubo diferencias o incluso hubo una relación opuesta (Figura 10). La concavidad aumentó más en las derivaciones V1 y V2 de los pacientes con test positivo (tabla 13).

Pese a que de forma global sí hubo un aumento en los indicadores de potenciales tardíos, no hubo diferencias entre ambos grupos en estas variables (tabla 14).



**Figura 10:** Diferencia entre grupos de los incrementos de amplitud del segmento ST por derivaciones y puntos de medición.

Derivación	Test negativo (n = 123)	Test positivo (n = 41)	Sig. (p)
V1	4.5 ± 25.3	10.9 ± 23.3	0.15
V2	8.5 ± 20.2	15.9 ± 22.4	0.05
V3	7.1 ± 21.0	11.1 ± 33.9	0.48
V4	4.1 ± 22.2	7.5 ± 16.1	0.36
V5	10.9 ± 23.3	5.2 ± 21.3	0.74
V6	7.9 ± 28.7	11.9 ± 26.0	0.43

**Tabla 12.** Diferencias en el incremento de la duración del QRSf (en ms) tras la administración de flecainida entre pacientes con test positivo y negativo.

Derivación	Test negativo (n = 123)	Test positivo (n = 41)	Sig. (p)
V1	0.00 ± 0.14	0.08 ± 0.21	0.03
V2	-0.01 ± 0.13	0.09 ± 0.20	0.001
V3	-0.01 ± 0.10	0.02 ± 0.13	0.108

**Tabla 13.** Diferencias en el incremento de la concavidad del segmento ST en precordiales derechas tras la administración de flecainida entre pacientes con test positivo y negativo.

Derivación	Δ RMS (μV)			Δ Duración AFBA (ms)		
	Test -	Test +	Sig. (p)	Test -	Test +	Sig. (p)
V1	-0.17 [0.85]	-0.11 [0.74]	0.74	0 [12]	1 [17]	0.92
V2	-0.15 [0.84]	-0.07 [0.69]	0.34	1 [12]	0 [17]	0.19
V3	-0.06 [0.97]	-0.18 [1.11]	0.16	1 [12]	1 [8]	0.92
V4	-0.16 [1.01]	-0.16 [0.96]	0.48	1 [14]	1 [8]	0.17
V5	-0.21 [1.27]	-0.24 [0.98]	0.99	1 [11]	2 [12]	0.58
V6	-0.26 [1.17]	-0.21 [1.06]	0.70	1 [12]	0 [8]	0.22

**Tabla 14.** Diferencias en el incremento de los criterios de potenciales tardíos tras la administración de flecainida entre pacientes con test positivo y negativo.

## 2. INTERVALO QT Y SU ADAPTACIÓN A LA FRECUENCIA CARDIACA

Se realizó ECG digital y Holter de 24 horas a 27 pacientes con SB (13 con patrón tipo 1 espontáneo y 14 inducido por fármacos), y a 16 pacientes control, con distribución de edad y sexo similar a los pacientes caso. De los 27 pacientes con SB, 14 (51.9%) presentaban el patrón tipo 1 de forma espontánea, mientras que los 13 restantes (48.1%) fueron diagnosticados tras test de provocación positivo. En 9 de ellos (33.0%) se realizó estudio electrofisiológico para la inducción de fibrilación ventricular como marcador de riesgo arrítmico, resultando positivo sólo en un paciente (3.7%). 3 pacientes (11.1%) eran portadores de DAI en prevención primaria, sin eventos de fibrilación ventricular en el seguimiento.

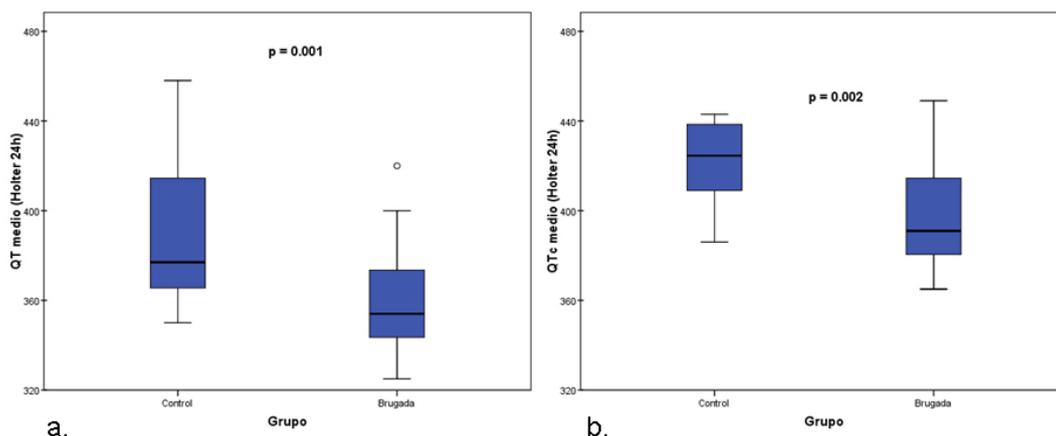
Respecto a las características clínicas basales no se apreciaron diferencias significativas entre los pacientes con SB y los controles (Tabla 15); sin embargo sí que se puso de manifiesto una importante diferencia en el intervalo QT medio medido en el registro Holter, tanto crudo como corregido, entre ambos grupos, siendo menor en los pacientes con SB (Tabla 15 y Figura 11). No se observó diferencia alguna en cuanto a la dispersión espacial de la repolarización entre grupos; los valores de ambos grupos se encontraban dentro de los valores de normalidad descritos<sup>98</sup>. Todos estos datos están recogidos en la tabla 15.

Se analizaron de forma visual las curvas de frecuencias cardíaca con el fin de identificar los periodos de reposo nocturno, caracterizados por una caída rápida y mantenida durante horas de la FC de al menos un 15% respecto a la media durante actividad. Tras evaluar los registros, se observó que mientras que P2 (de 3:00 a

6:00) mostraba uniformemente frecuencias cardíacas asociadas al reposo, tanto P1 (de 0:00 a 3:00) como P3 (6:00 a 9:00) presentaban periodos de actividad.

Variable	Brugada (n = 27)	Controles (n = 16)	Sig. (p)
Varones	20 (74%)	12 (75%)	0.95
Edad (años)	38.1 ± 10.2	41.9 ± 14.1	0.31
Frec. Cardíaca (lpm)	73.3 ± 7.2	74.0 ± 12.3	0.84
QT (ms)	359.8 ± 23.1	390.8 ± 31.7	0.001
QTc	398.6 ± 23.4	421.2 ± 20.0	0.002
Dispersión QT (ms)	23.5 ± 11.4	20.0 ± 13.5	0.43

**Tabla 15.** Características clínicas y ECG de los pacientes a los que se realizó Holter de 24 h



**Figura 11:** Media diaria de intervalos QT (a) y QTc (b) en pacientes con SB y controles

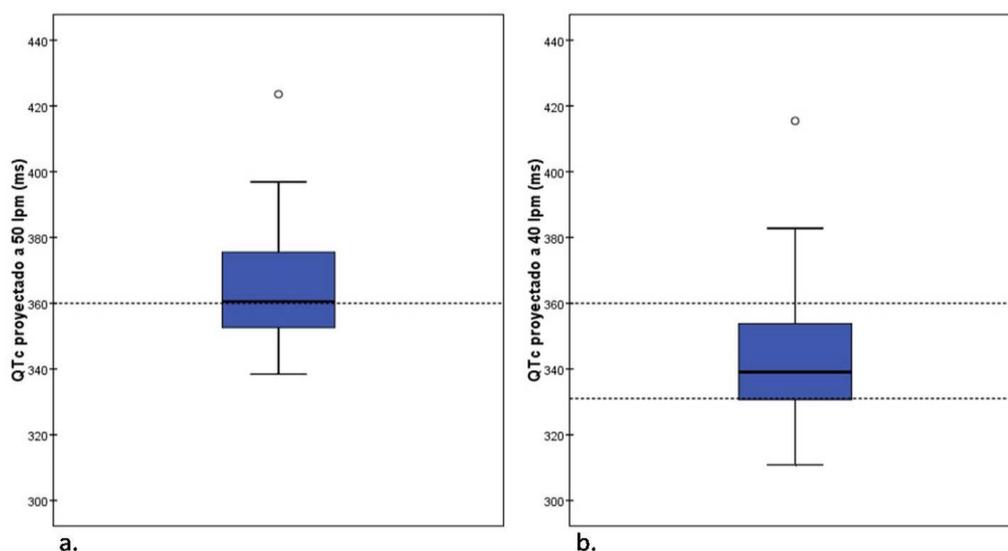
La pendiente de la recta de regresión entre QT y RR fue significativamente menor en los pacientes con SB que en los controles; analizando por periodos, estas diferencias persistían durante las horas diurnas (P4, de 9:00 a 0:00) y también en las horas centrales de la noche (P2, de 3:00 a 6:00), pero no en los otros periodos analizados. Estos resultados están detallados en la tabla 16. No hubo diferencias al

comparar estos parámetros entre pacientes con SB en función de su patrón electrocardiográfico (espontáneo vs. inducido por fármacos).

Variable	Brugada (n = 27)	Controles (n = 16)	Sig. (p)
$\Delta\text{QT}/\text{RR}$ 24h	$0.142 \pm 0.040$	$0.172 \pm 0.051$	0.04
$\Delta\text{QT}/\text{RR}$ P1	$0.117 \pm 0.047$	$0.111 \pm 0.035$	0.70
$\Delta\text{QT}/\text{RR}$ P2	$0.077 \pm 0.034$	$0.103 \pm 0.037$	0.03
$\Delta\text{QT}/\text{RR}$ P3	$0.125 \pm 0.048$	$0.130 \pm 0.048$	0.70
$\Delta\text{QT}/\text{RR}$ P4	$0.112 \pm 0.059$	$0.155 \pm 0.055$	0.02

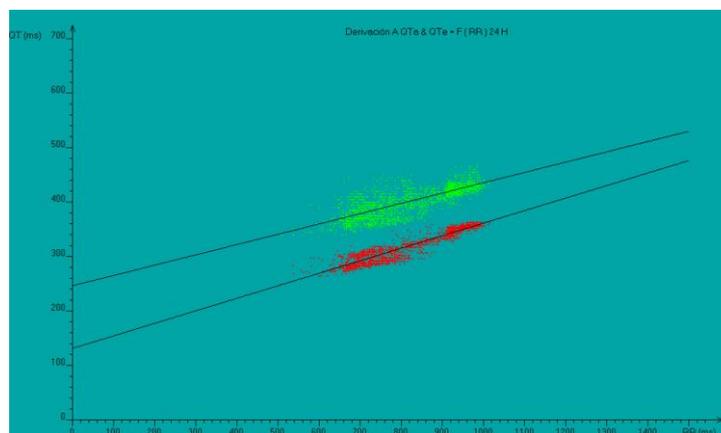
**Tabla 16.** Valores de la pendiente de la recta de regresión QT/RR en distintos periodos.

Utilizando la fórmula del cálculo del QT en función de la FC para el periodo nocturno central (P2), se extrapoló el QTc que presentarían los pacientes a 50 y 40 lpm, obteniendo que a 50 lpm el QTc medio sería de  $365 \pm 20$  ms, con un 48.1% de los pacientes con un QT menor de 360 ms; a 40 lpm el QT medio proyectado sería de  $346 \pm 23$  ms, con un 81.5% de los pacientes con un QT menor de 360 ms y un 29.6% por debajo de los 330 ms. (Figura 12).



**Figura 12:** Intervalo QT proyectado por la recta de regresión en pacientes con SB para frecuencias cardíacas de 50 lpm (a) y 40 lpm (b). En línea punteada se marcan las duraciones del QT de 360 ms (límite bajo de la normalidad) y 330 ms (límite descrito para el diagnóstico del SQTC).

Entre los pacientes con SB, se comparó la pendiente de la recta de regresión entre QT y RR con la que compara QTa y RR a lo largo de las 24 h, encontrando que ésta última es mayor ( $0.142 \pm 0.040$  vs.  $0.156 \pm 0.033$ ,  $p=0.003$ ), como se puede apreciar en el ejemplo de la figura (Figura 13). La diferencia media entre las pendientes ( $QT_e - QT_a$ ) fue de  $-0.014 \pm 0.022$  ms. Esto implica que para un mismo paciente, sendos ECG realizados a 50 lpm y a 100 lpm presentarían entre sí una diferencia media en el intervalo Tp-e de 8 ms, siendo mayor a frecuencias más rápidas (IC 95%: -18 a +35 ms).



**Figura 13:** Rectas de regresión calculadas y nube de puntos para los intervalos QT<sub>e</sub> (en verde) y QT<sub>a</sub> (en rojo) en un paciente con SB.

### 3. TESTOSTERONA Y FENOTIPO ELECTROCARDIOGRÁFICO

Se realizó medición de TH basal y medición de parámetros en ECG digital a 145 pacientes, cuya distribución por grupos electrocardiográficos y sexos está resumida en la tabla 17. Las medidas de TH no se ajustaron a la distribución normal, por lo que los subsiguientes análisis se llevaron a cabo mediante tests no paramétricos. En este grupo de pacientes hubo 2 que presentaron muerte súbita, y otros 5, que

eran portadores de DAI, recibieron al menos una descarga apropiada por arritmias malignas. Todos ellos eran varones.

Grupo	Varones	Mujeres	Total
ECG normal	20	32	52
Tipo 1 inducido	34	9	45
Tipo 1 espontáneo	42	6	48
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>47</b>	<b>145</b>

**Tabla 17.** Distribución por grupos de los pacientes a los que se realizó medición de TH.

Los niveles de TH fueron significativamente superiores en los pacientes afectados que en los no afectados al analizar toda la muestra (3.26 [1.90] vs. 0.31 [3.29],  $p < 0.001$ ), pero este efecto desapareció al separar el análisis por sexos. El valor estandarizado de TH no mostró ninguna diferencia entre estos grupos. Al comparar los niveles de TH de los pacientes con patrón espontáneo frente a los que precisaron provocación farmacológica para el diagnóstico, no se hallaron diferencias. Tampoco se observó correlación entre los niveles de TH crudos o estandarizados y los parámetros electrocardiográficos, tan solo una asociación débil entre la TH y la amplitud del ST en el punto J de V2 ( $\rho = 0.19$ ,  $p = 0.03$ ).

Asimismo, comparando los niveles de TH entre pacientes que presentaron eventos arrítmicos con los que no, los primeros presentaron un nivel de TH mayor (4.19 [0.31] vs. 3.01 [3.65],  $p = 0.04$ ), aunque de nuevo, al realizar el análisis sólo en varones las diferencias desaparecieron (en mujeres no hubo eventos).

En el subgrupo de pacientes genotipados se contaron 56 pacientes de 12 familias en las que se halló en el paciente índice una mutación para el gen SCN5A (14 pacientes afectados, con mutación confirmada; 14 portadores de la mutación

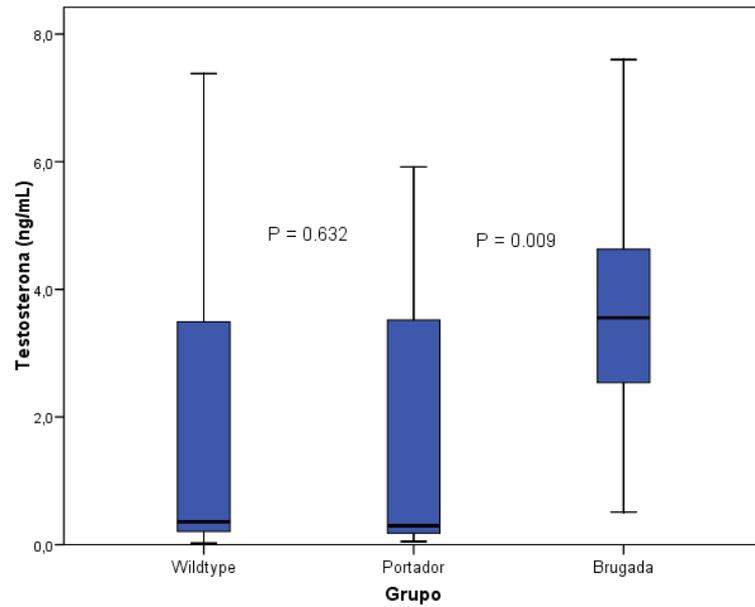
familiar en los que el fenotipo no fue diagnóstico; y 28 familiares sanos que no portaban la mutación familiar, considerados grupo control). La distribución por sexos se puede ver en la tabla 18. Dentro de los pacientes con genética positiva, hubo diferencias en la penetrancia (proporción de pacientes con genética alterada que presentan fenotipo patológico) entre ambos sexos, con una mayor penetrancia en varones (71% vs. 18%,  $p = 0.02$ ). No hubo diferencias en los niveles de TH en los pacientes con genética positiva respecto al grupo control.

Grupo	Varones (n)	Mujeres (n)	Total
Afectados	12	2	<b>14</b>
Portadores	5	9	<b>14</b>
No portadores	11	17	<b>28</b>
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	

**Tabla 18.** Distribución por grupo y sexo de pacientes en el subgrupo de pacientes genotipados de TH.

Grupo	Fenotipo -	Fenotipo +	Sig. (p)
Global	0.30 [3.43]	3.55 [2.27]	0.009
Varones	3.84 [1.64]	3.55 [2.06]	0.574
Mujeres	0.18 [0.17]	2.57 [4.12]	0.036

**Tabla 19.** Diferencias globales y por sexo en los niveles de TH (en ng/mL) entre pacientes con fenotipo positivo y negativo.



**Figura 14:** Niveles de TH de los tres grupos de pacientes genotipados.

Dentro de los pacientes con genética positiva, hubo diferencias significativas en los niveles de TH entre pacientes con fenotipo positivo y negativo (figura 14), pero no en la TH normalizada. Estudiando estas diferencias en función del sexo, en los varones no existe tal asimetría, pero sí en las mujeres (tabla 19).

# DISCUSIÓN



## 1. ANÁLISIS DE LA SEÑAL PROMEDIADA

En primer lugar cabe destacar la metodología utilizada para la obtención de la señal y su posterior procesado, distinta en varios aspectos a la empleada en los estudios clásicos que definieron el estudio de potenciales tardíos<sup>82,83</sup>. En primer lugar, no se realizó la media cuadrática de tres derivaciones ortogonales, sino que se utilizaron señales de derivaciones individuales, dada la metodología de los tests de flecainida; la pérdida de señal que podría producir esta diferente configuración podría ser mitigada por la cercanía que presentan las derivaciones utilizadas a la zona en la que se producen las alteraciones eléctricas en el SB. Otra diferencia importante fue el filtrado progresivo de la señal que introduce el amplificador de manera no modificable; comparando nuestros resultados con los descritos en la literatura, es razonable sospechar que nuestra señal ha sufrido una pérdida parcial de componentes de alta frecuencia, lo que se aprecia especialmente en la amplitud de la señal en los últimos ms del QRS filtrado, lo que provocó la modificación del umbral de 40 a 1  $\mu$ V, según se ha explicado en los métodos.

El efecto de la flecainida sobre los pacientes con patrón tipo 2 que convierten a tipo 1 se podría explicar por 3 mecanismos:

- a) El bloqueo de los canales de sodio producido por el fármaco aumenta el desequilibrio en la pérdida de la cúpula de la fase 2 en el epicardio del TSVD, y esto se traduce electrocardiográficamente en un ascenso del ST (que generalmente es isoelectrónico por la anulación mutua de la fase 2 epi- y endocárdica) y en la negatividad de la onda T (por la discrepancia en la duración total del potencial de acción entre ambas capas). En el análisis del

ECG promediado este efecto se observaría fundamentalmente en el aumento de la amplitud de la señal del ST y en el aumento de la concavidad del mismo.

- b) La disminución en la velocidad de conducción producida por la flecainida genera una despolarización más tardía, aunque sin fragmentación ni retraso, del TSVD. Esto conllevaría un aumento de la duración del QRS filtrado (y probablemente del QRS estándar), pero no necesariamente de los criterios de potenciales tardíos.
- c) La disminución en la velocidad de conducción que produce la flecainida genera un retraso adicional en regiones de conducción lenta y tardía en el TSVD que se manifiesta como una despolarización tardía que invade el segmento ST, y genera de forma secundaria una alteración en la repolarización. Esto debería ponerse de manifiesto en la detección de potenciales tardíos, previsiblemente con una disminución del RMS terminal y aumento de la duración de las señales AFBA.

En nuestra muestra se observó un aumento de la duración del QRS y del QRSf tanto en pacientes con resultado positivo como negativo, y además el aumento del QRS filtrado se observó en todas las derivaciones precordiales. Esto, junto con el hallazgo de que el QRSf se prolongó de forma similar en pacientes positivos y negativos puede deberse a dos motivos:

- a) El efecto observado se debe al efecto de la flecainida sobre la fase 0 del potencial de acción, cuyo resultado es una disminución de la velocidad de conducción del impulso eléctrico a través del miocardio. Esto explicaría

tanto la ausencia de diferencias entre grupos como la observación del incremento del QRSf en todas las derivaciones, dado que no se trataría de un efecto específico de pacientes con SB.

- b) La ausencia de diferencias se debe a la presencia en el grupo con resultado negativo de una proporción desconocida de pacientes con formas menos expresivas de SB, pero que sufren de forma paralela a los pacientes con resultado positivo el efecto de la flecainida sobre canales de sodio enfermos. Esta hipótesis, además de elucubrativa, no explicaría la ausencia de un mayor retraso en precordiales derechas, que exploran el TSVD, respecto las izquierdas.

La disminución del voltaje terminal (RMS) del QRS y el aumento de la duración de las señales AFBA en ambos grupos (sin llegar a cumplir criterios de positividad de potenciales tardíos clásicos), y tanto en precordiales derechas como izquierdas también sugiere que la flecainida reduce la velocidad de forma generalizada, aunque discreta, sin aparición de regiones con la conducción claramente retrasada. Tampoco se observaron diferencias entre los pacientes con resultado positivo y negativo, por lo que de nuevo se podrían plantear dos hipótesis paralelas a las del punto anterior. Estos hallazgos en principio apuntarían en contra de la teoría de la despolarización. Estudios realizados en pacientes con sustrato histológico, como el caso de los pacientes isquémicos, han mostrado en general un aumento llamativo de los potenciales tardíos bajo el efecto de la flecainida<sup>92</sup>, y este no parece ser el caso de los pacientes con SB.

En cambio, sí que se observó un mayor incremento en la concavidad del segmento ST y en la amplitud de la señal del mismo en las precordiales derechas (sólo V1 y V2) y no en el resto de las derivaciones en los pacientes con test positivo respecto a los negativos; en principio esto podría ser atribuido sin más a los propios criterios de positividad de la prueba, que incluyen un cambio a patrón tipo 1, con mayor concavidad, y un ascenso del segmento ST de al menos 0.2 mV sobre la línea de base. Sin embargo es interesante subrayar que el cambio de patrón electrocardiográfico generalmente se constata de forma visual, siguiendo los criterios diagnósticos en vigor, y poder definir un algoritmo puramente matemático podría ser de interés de cara a su implementación en los sistemas de registro habituales. Es evidente que el criterio es mejorable, ya que el área bajo la curva que ofrece la curva ROC es de 0.597 para V1 y de 0.675 para V2.

La ausencia de correlación entre el aumento de la amplitud del ST y el aumento de los criterios de activación tardía sugieren que estos dos efectos ocurrirían de forma independiente.

A pesar de nuestros hallazgos, existen varios trabajos científicos que han aportado datos suficientes de que, al menos en algunos pacientes de SB, existe un sustrato, ya sea funcional o histológico, que produce un retraso de la activación del TSVD. Estudios recientes han utilizado técnicas de mapeo no invasivo, utilizando chalecos con 200-300 electrodos aplicados al torso del paciente, cuya señal es integrada con una técnica de imagen cardíaca (generalmente tomografía computarizada), y de esta forma se puede inferir la secuencia de activación cardíaca. Uno de estos estudios comprobó que en pacientes con SB (patrón tipo 1 espontáneo) coexisten una marcada dispersión de la repolarización y conducción

lenta y discontinua el en TSVD<sup>99</sup>. Otro estudio en el que se realizó mapeo no invasivo endo- y epicárdico demostró conducción retrasada y fragmentada tanto en el endocardio como en el epicardio del TSVD, con un marcado gradiente eléctrico entre ambas capas al final de la despolarización<sup>100</sup>. A estos estudios hay que añadir los ensayos en los que la ablación del TSVD consiguió eliminar el patrón electrocardiográfico de Brugada<sup>32</sup>, y el estudio comparativo entre pacientes con SB y con MAVD usando una promediación de señales basada en el Holter de 24h, en el que se hallaron potenciales tardíos en ambas patologías, pero mientras que los de la MAVD eran fijos los del SB presentaban cambios a lo largo de las 24 horas, indicando un componente funcional. Los motivos por los que nuestro estudio no ha reproducido estos hallazgos pueden ser de distinta índole:

- a) La promediación de señales de las precordiales derechas estándar no es suficientemente sensible para detectar este tipo de potenciales, ya sea por la potenciación de señales que produce el uso de derivaciones ortogonales, o por una cercanía insuficiente al TSVD. Debido a la metodología empleada, no se puede realizar promediado de la señal en 2º o 3er espacio intercostal; es conocido que algunos pacientes con SB sólo presentan el patrón ECG alterado en estas derivaciones modificadas, y no en las estándar en el 4º espacio intercostal, probablemente debido a la orientación del TSVD<sup>101</sup>, por lo que es posible que la exploración de estas derivaciones en determinados pacientes pudiera aumentar la sensibilidad para la detección de potenciales tardíos.
- b) Nuestra muestra de pacientes incluye a individuos de menor riesgo que los estudios mencionados. Es probable que las alteraciones observadas por los

estudios mencionados guarden relación con un grado mayor de enfermedad, y por tanto estén presentes en pacientes con más riesgo arrítmico y/o más expresión clínica. Las muestras de los estudios descritos no representan la población general de SB, ya que están sesgadas por la metodología del ensayo (los estudios de ablación sólo incluyen a pacientes con antecedentes de FV; los dos ensayos que utilizan el mapeo no invasivo incluyen 25-40% de pacientes con este antecedente, y 50-100% de pacientes con patrón tipo 1 espontáneo). Sin embargo nuestra muestra de pacientes con test de flecainida positivo incluye exclusivamente, por motivos obvios, pacientes sin patrón espontáneo y, en la mayoría de los casos, asintomáticos y diagnosticados por estudio familiar, datos todos indicativos de bajo riesgo.

- c) El filtrado introducido por el amplificador de señal, no modificable, puede ser responsable de la pérdida de parte de la señal, y no disponemos de los medios para cuantificar esta proporción. Sin embargo, esto no debería ser un factor determinante, sobre todo en lo que a comparación entre grupos se refiere, ya que nuestro método ha sido capaz de detectar actividad eléctrica retrasada, y cambios de la misma con la administración de flecainida.

En resumen, las diferencias observadas entre los pacientes con prueba positiva y negativa sugieren que el mecanismo de acción de la flecainida al desenmascarar el patrón tipo 1 consiste fundamentalmente en aumentar el desequilibrio existente en la fase 2 del potencial de acción en el TSVD.

Las limitaciones que posee nuestro estudio han sido comentadas en esta discusión, y fundamentalmente podrían resumirse en la probable pérdida de sensibilidad en la detección de potenciales tardíos debido al método empleado, y en la población de bajo riesgo utilizada para comparar con los pacientes con test de provocación negativo.

## 2. INTERVALO QT Y SU ADAPTACIÓN A LA FRECUENCIA CARDIACA

El hallazgo principal de este subestudio consiste en la demostración de la amortiguación de la respuesta del QT a la frecuencia cardíaca en los pacientes con SB (definida por la menor pendiente de adaptación), comparados con pacientes control; esta amortiguación es especialmente expresiva durante el periodo de reposo nocturno, de especial interés en el SB. Los valores de la pendiente QT/RR a lo largo de las 24 horas en la cohorte control son comparables a los publicados en la literatura previa<sup>56</sup>, tras aplicar la transformación de Taylor, y son claramente mayores que los presentes en los pacientes con SB de nuestro estudio. Esta diferencia se reproduce al analizar por separado los periodos diurno (P4) y las horas centrales de la noche (P2). La ausencia de diferencia en los otros períodos (P1 y P3) podría deberse a la heterogeneidad presente en los mismos en cuanto al ciclo sueño-vigilia, según se desprende de las observaciones al analizar la curva de frecuencia cardíaca a lo largo de las 24 h.

La consecuencia directamente derivada de este hecho sería la presencia de intervalos QT prolongados a frecuencias rápidas y anormalmente cortos a frecuencias lentas; teniendo en cuenta la agregación de muerte súbita durante los

períodos de reposo en los pacientes con SB, es esta última alteración la que centra nuestro interés. Como se puede observar en nuestros resultados, si se realiza una extrapolación de la recta de regresión QT/RR hacia frecuencias lentas, se podría predecir la aparición de intervalos QT corregidos extremadamente cortos en gran parte de los pacientes con SB durante frecuencias lentas, casi un tercio de los pacientes presentarían QTc menores de 330 ms (límite considerado diagnóstico de QT corto según el documento de consenso<sup>7</sup> para el diagnóstico de canalopatías) a una frecuencia de 40 lpm; este grado de bradicardia no es de excepcional aparición en registros nocturnos en la población general. Obviamente no se puede aseverar que esto ocurra realmente en dichos pacientes, dado que la distribución del QT según el RR no se adapta perfectamente al modelo lineal, pero es una posibilidad a tener en cuenta a la vista de nuestros datos. El interés de realizar esta extrapolación radica en que, a pesar de tratarse de un registro de 24 horas, en el que teóricamente están recogidas las frecuencias lentas vinculadas al reposo, es poco probable que una muestra de un día aleatorio recoja extremos de la frecuencia cardíaca que podrían aparecer en otras circunstancias.

Otro hallazgo principal del estudio es la presencia de intervalos QT medios (a lo largo de las 24 h) claramente menores en los pacientes con SB que en los controles, sin entrar en el rango patológico. La causa de que esta diferencia no se hubiera descrito previamente probablemente estriba en el modo de medición del intervalo QT: los estudios descriptivos del SB obtuvieron sus mediciones mediante ECG de 12 derivaciones, realizados presumiblemente fuera del reposo nocturno; a tenor de nuestros resultados, los intervalos QTc menores en estos pacientes ocurren precisamente durante dicho periodo, por lo que únicamente mediante un registro

electrocardiográfico que incluya el período nocturno se puede detectar esta alteración. Es poco probable que el método automático de medida del intervalo QT del holter pueda introducir un error sistemático en este aspecto. Esta observación es congruente con el hecho de que aunque el SB y el SQTl comparten genes responsables, las mutaciones que los afectan suelen ser de efecto opuesto en ambas patologías (por ejemplo, una mutación del SCN5A que produzca una disminución de la función del canal será capaz de producir SB, mientras que un aumento de la misma proporcionará un fenotipo de SQTl tipo 3). Respecto al principal estudio que señaló un intervalo QT prolongado en pacientes con SB<sup>63</sup>, cabe remarcar que las mediciones se realizaron en derivaciones precordiales derechas y tras la administración de flecainida (se comparó a pacientes con test de flecainida positivo respecto a los que no mostraron alteraciones en el ECG tras la administración del fármaco); pese a que éste fármaco no afecta a la duración del QT, la aparición de un patrón tipo 1, con onda T negativa, podría dificultar o artefactar la medición correcta del intervalo QT.

Según estudios previos, el acortamiento del intervalo QT al elevarse la frecuencia cardíaca no se debe a la actuación del sistema simpático a través de las catecolaminas, sino a la supresión del estímulo vagal; de ahí que el intervalo QT se acorte durante el ejercicio o durante la infusión de atropina, mientras que no hace lo propio al infundir fármacos simpaticomiméticos<sup>56</sup>. Se podría por tanto razonar que un alargamiento deficiente del QT a frecuencias lentas obedecería a una pérdida de la sensibilidad al estímulo vagal.

Un trabajo publicado en 2009 por Sangawa et al.<sup>102</sup> encontró diferencias en la pendiente de adaptación del QT a la FC entre pacientes con SB y controles, y además entre pacientes con SB en función de que hubieran presentado o no episodios de FV, siendo menor en los que habían presentado arritmias malignas. Sin embargo, este estudio cuenta con la limitación de haberse realizado exclusivamente en varones, aduciendo que esta patología es rara en mujeres; además, 10 de 37 pacientes (27%) habían presentado episodios de FV, lo que sugiere que la muestra no se obtuvo de forma aleatoria. Los resultados de este trabajo son muy similares a los obtenidos en nuestro trabajo, que sí incluye una proporción importante de mujeres (una cuarta parte en ambos grupos), lo que refuerza las conclusiones.

El potencial arritmogénico de un intervalo QTc anormalmente corto es conocido tras la descripción del síndrome de QT corto<sup>38</sup>, si bien sus mecanismos no están claros, y podrían estar ligados a el acortamiento del período refractario de los miocitos, o bien a un aumento en la dispersión de la repolarización, como se ha demostrado en estudios experimentales<sup>39</sup>. Determinadas especies de mamíferos, como el canguro, presentan un intervalo QT extremadamente corto, y curiosamente presentan una alta incidencia de MS<sup>98,103</sup> comparada con otras especies animales filogenéticamente cercanas pero con intervalo QT en rango “normal”.

Sin embargo, tras estudios observacionales en humanos, se ha preconizado que un intervalo QT corto por sí solo no tiene potencial arritmogénico, y está presente en un pequeño porcentaje de la población normal sin empeorar su pronóstico<sup>104,105</sup>. El síndrome de QT corto, en virtud de su fisiopatología, aúna el sustrato y el

disparador de las arritmias malignas, ya que además de abreviar la duración del potencial de acción, provoca una importante dispersión transmural de la repolarización<sup>106</sup>.

Según un pequeño estudio, los pacientes con SQTC, al igual que nuestra muestra de pacientes con SB, muestran una pérdida de la dependencia del QT respecto a la frecuencia cardíaca. Esta dependencia se recupera por completo con la toma de quinidina oral, que además es capaz de normalizar el intervalo QT en estos pacientes, al contrario que ibutilide y D-sotalol<sup>107</sup>. Llama la atención este paralelismo con el SB, cuya respuesta a quinidina se atribuye tanto a su capacidad vagolítica como a su efecto inhibitor de la corriente  $I_{to}$ , aunque esto no ha sido demostrado fehacientemente<sup>51</sup>. De hecho, la mayoría de los estudios experimentales en STQS se han llevado a cabo utilizando el fármaco pinacidil, que abre los canales de potasio dependientes de ATP ( $I_{K-ATP}$ ), acortando la repolarización; en estos modelos, quinidina se ha demostrado superior a sotalol y a flecainida por su efecto reductor de la dispersión de la repolarización<sup>108</sup>. Como se ha descrito previamente, pinacidil se ha utilizado de forma asidua en modelos experimentales de SB, dada su capacidad para inducir reentrada en fase 2 tanto en presencia como en ausencia de terfenadina; el efecto de quinidina tanto en el SB como en el SQTC podría deberse en parte a su capacidad para bloquear la  $I_{K-ATP}$ <sup>109</sup>.

El estudio realizado por Maury et al.<sup>75</sup> utilizó el intervalo Tp-e como marcador de dispersión transmural de la repolarización, y concluyó que los pacientes con SB y un intervalo Tp-e superior a los 100 ms presentaban un riesgo mayor de eventos arrítmicos. Estos resultados apoyarían la hipótesis de la alteración de la

repolarización como etiopatogenia de las arritmias del SB; no obstante hay que tener en cuenta que la asociación entre Tp-e y dispersión transmural de la repolarización, originada a partir de estudios in vitro, ha sido posteriormente cuestionada en estudios in vivo<sup>110</sup>. Nuestros resultados muestran la variación del intervalo Tp-e (calculado como QTe – QTa) con la frecuencia cardíaca en pacientes con SB, tanto con patrón ECG espontáneo como inducido por fármacos (al igual que el mencionado estudio), debido a la distinta pendiente de adaptación a la frecuencia cardíaca del QTa y el QTe, de forma que a frecuencias cardíacas más rápidas el intervalo Tp-e sería mayor. Esto, junto al hallazgo previo según el cual los pacientes con Tp-e más largo tienen un peor pronóstico, entraría en conflicto con los hallazgos epidemiológicos del SB, dado que a frecuencias lentas, durante las que suelen aparecer las arritmias malignas, el intervalo Tp-e presentaría su menor expresión. Una explicación a este hallazgo sería que, como otros estudios han sugerido, el intervalo Tp-e no es indicativo de la dispersión de la repolarización.

Nuestros resultados indican que la frecuencia cardíaca a la que se realiza el ECG influye en la medida del Tp-e, por lo que se debería corregir por frecuencia o estandarizar unos límites de frecuencia dentro de los cuales sería válida la medida del Tp-e. Teniendo en cuenta que el límite sugerido para considerar a un paciente como de alto riesgo es de 100 ms, y que el Tp-e medio en pacientes con SB está en torno a 70 ms, las variaciones observadas en nuestra cohorte, con un intervalo de confianza del 95% que abarca 52ms en función de la frecuencia cardíaca, tendrían una clara implicación en la interpretación de la prueba, por lo que deben ser tenidas en cuenta a la hora de la aplicación clínica de este marcador de riesgo.

Se utilizó para la normalización del QT de la fórmula de Bazett ( $QT_c = QT / \sqrt{RR}$ ), ya que es la implementada en el módulo de interpretación del QT del software de lectura del holter, que realiza una corrección del QT latido a latido y posteriormente promedia estos  $QT_c$ . Además, aparte de ser la de uso más extendido, su inexactitud a frecuencias extremas se concentra especialmente en el rango de frecuencias rápidas, de poca importancia en este estudio. Por otra parte, las fórmulas alternativas de Fridericia y Ashman rinden intervalos  $QT_c$  menores que la de Bazett a frecuencias bajas<sup>111,112</sup>, por lo que su utilización podría haber exagerado las diferencias encontradas.

Nuestros resultados no permiten establecer un mecanismo etiopatogénico en la aparición de arritmias malignas durante periodos de reposo en pacientes con SB, pero permiten plantear hipótesis a demostrar en estudios tanto clínicos como experimentales de mayor envergadura.

La limitación fundamental de este subestudio es el pequeño tamaño muestral, que no obstante ha permitido hallar diferencias significativas. Una muestra mayor permitiría incluir una proporción adecuada de pacientes con eventos clínicos, como la aparición de arritmias malignas, para corroborar la asociación de los hallazgos del Holter con el pronóstico hallada previamente<sup>102</sup>, y de esta forma proporcional una aplicación clínica a la realización de Holter en pacientes con SB. Otra limitación es la extrapolación de la recta de regresión para calcular intervalos QT teóricos a frecuencias lentas, dado que la relación entre QR y RR no es puramente lineal.

### 3. TESTOSTERONA Y FENOTIPO ELECTROCARDIOGRÁFICO

El problema principal que presenta la interpretación de los niveles de TH en un grupo de pacientes de ambos sexos es la evidente asimetría entre los mismos, pudiendo actuar el sexo como un confusor a la hora del análisis estadístico. Los estudios realizados en humanos sobre este tema han excluido a las mujeres del análisis para evitar estos problemas, además de por la baja penetrancia y la escasa incidencia de eventos clínicos que presentan las mujeres con esta patología. El hecho de esta gran asimetría en una patología que se hereda de forma autosómica dominante ha hecho sospechar la influencia de las hormonas sexuales en el fenotipo, ya sea por un efecto protector de los estrógenos o por el contrario por una implicación de los andrógenos en el fenotipo de la enfermedad. Las diferencias observadas en el estudio de Di Diego<sup>76</sup>, en muestras ex vivo de miocardio canino orientarían en cualquier caso a una regulación con efectos a largo plazo, ya sea a nivel transcripcional o no transcripcional, y no a un efecto agudo sobre la actividad de las corrientes iónicas. La publicación de dos casos en los que una orquiectomía bilateral conllevó la desaparición del patrón electrocardiográfico tipo 1 espontáneo<sup>77</sup> apuntó a un efecto deletéreo de la TH.

Para intentar superar el sesgo de la asimetría entre sexos de los niveles de TH, realizamos una estandarización de los valores de TH, representándolos como el cociente entre el valor de TH y la media poblacional para el grupo de sexo y edad suministrada por el laboratorio de referencia, según se recoge en la introducción. Sin embargo, ninguna comparación entre grupos de este valor normalizado rindió diferencia alguna, lo que apunta a que las diferencias fenotípicas no dependen de

una elevación relativa de la TH, sino de su valor absoluto. Nuestro hallazgo en la muestra global de un nivel de TH superior en los pacientes con SB respecto a los pacientes con test de flecainida negativo es directamente atribuible a la asimetría en cuanto al sexo presente entre ambos grupos, como refleja la tabla 18: en el grupo de SB tan solo un 16% eran mujeres, mientras que en el grupo control ascendían a un 61%. La gran variación de niveles de TH entre ambos grupos (más de 10 veces superior en varones) es suficiente para que la diferente composición de los grupos lleve a un resultado positivo, que sin embargo desaparece al realizar análisis por separado para cada sexo. Tampoco se observaron diferencias en niveles de TH entre lo que se considera una forma menos agresiva de la enfermedad como es el patrón tipo 1 inducido por fármacos respecto al espontáneo, y esto se tradujo también en una ausencia de correlación de la TH con los parámetros electrocardiográficos.

El trabajo de referencia en este aspecto, publicado por Shimizu et al. en 2007<sup>78</sup>, incluyó exclusivamente a varones; en él se comparó una cohorte de pacientes con SB con un grupo control, observando que los primeros presentaban unos niveles de TH superiores a los del grupo control. Sin embargo, esta asociación no aclara el mecanismo causal: ¿presentan los pacientes con SB unos niveles de TH mayores a consecuencia de esta patología? ¿O bien el hecho de presentar unos niveles mayores los hace más propensos a expresar el fenotipo de la enfermedad?

Nuestro diseño del subestudio de pacientes genotipados contribuye a aclarar esta asociación: en primer lugar, hallamos que los pacientes con mutación en el gen SCN5A presentan de forma global unos niveles de TH comparables a la población control, lo que va en contra de una influencia de dicha mutación sobre los niveles de

la hormona. En segundo lugar, el hecho de comparar entre sí a pacientes con fenotipo negativo y positivo, pero todos ellos con una mutación en el SCN5A, nos permitió estudiar la influencia de la TH sobre el fenotipo y por tanto sobre la penetrancia del SB. El resultado en el total del subgrupo fue positivo, pero una vez más está presente la posibilidad de la influencia del sexo como confusor, y de hecho el análisis separado en varones no mostró diferencias significativas. Sin embargo, y a pesar de lo reducido de la muestra, en el grupo de mujeres sí que hubo diferencias significativas que mostraron un mayor nivel de TH en las 2 pacientes con fenotipo positivo del total de 11 con genotipo positivo. De hecho, estas 2 pacientes son las únicas 2 del total de las mujeres de este subgrupo que mostraron niveles de TH por encima del percentil 95, una de ellas incluso por encima de la mediana de TH para varones. Este resultado, si bien no es concluyente debido al tamaño muestral, es muy sugestivo de que, al menos en las mujeres, los niveles de TH influyen en la penetrancia de la enfermedad.

Al igual que en el previo, la limitación fundamental de este subestudio radica en el tamaño muestral, que aunque globalmente no es pequeño, en el grupo de pacientes genotipados queda limitado, sobre todo en el grupo de mujeres, que cuenta sólo con dos pacientes afectadas, y una de ellas presenta un valor extremo de TH.

# CONCLUSIONES



-La flecainida produce un enlentecimiento de la conducción eléctrica miocárdica tanto en pacientes con síndrome de Brugada como en sanos. Este enlentecimiento no está confinado al tracto de salida del ventrículo derecho, sino que parece ocurrir globalmente en los ventrículos.

-La flecainida produce ascenso del segmento ST y aumento de la concavidad del mismo en pacientes con síndrome de Brugada, y lo hace de forma independiente al enlentecimiento de la conducción, lo que sugiere un efecto directo sobre la fase 2 del potencial de acción.

-Los pacientes con síndrome de Brugada presentan una deficiente adaptación del intervalo QT a la frecuencia cardíaca, lo que se traduce en intervalos QT medios menores que en la población sana.

-El intervalo Tp-e varía de forma importante con la frecuencia cardíaca en pacientes con síndrome de Brugada.

-Los pacientes con una mutación patogénica en el gen SCN5A presentan globalmente niveles de testosterona plasmática similares a la población normal. Sin embargo, los pacientes que expresan el fenotipo sí presentan niveles mayores de esta hormona que los portadores.

-La estandarización de valores de testosterona plasmática por edad y sexo no es útil para detectar diferencias en los mismos en pacientes con síndrome de Brugada.



# BIBLIOGRAFÍA



1. Brugada, J., Brugada, R. & Brugada, P. Right bundle-branch block and ST-segment elevation in leads V1 through V3: a marker for sudden death in patients without demonstrable structural heart disease. *Circulation* **97**, 457–460 (1998).
2. Saura, D. *et al.* Brugada-like electrocardiographic pattern induced by fever. *Pacing Clin. Electrophysiol. PACE* **25**, 856–859 (2002).
3. Lacunza, J. *et al.* Heat stroke, an unusual trigger of Brugada electrocardiogram. *Am. J. Emerg. Med.* **27**, 634.e1-3 (2009).
4. Miyazaki, T. *et al.* Autonomic and antiarrhythmic drug modulation of ST segment elevation in patients with Brugada syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **27**, 1061–1070 (1996).
5. Fujiki, A. *et al.* ST segment elevation in the right precordial leads induced with class IC antiarrhythmic drugs: insight into the mechanism of Brugada syndrome. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **10**, 214–218 (1999).
6. Bayés de Luna, A. *et al.* Current electrocardiographic criteria for diagnosis of Brugada pattern: a consensus report. *J. Electrocardiol.* **45**, 433–442 (2012).
7. Priori, S. G. *et al.* Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes. *Europace* **15**, 1389–1406 (2013).
8. Ikeda, T. *et al.* The full stomach test as a novel diagnostic technique for identifying patients at risk of Brugada syndrome. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **17**, 602–607 (2006).

9. Amin, A. S., de Groot, E. A. A., Ruijter, J. M., Wilde, A. A. M. & Tan, H. L. Exercise-induced ECG changes in Brugada syndrome. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* **2**, 531–539 (2009).
10. Makimoto, H. *et al.* Augmented ST-segment elevation during recovery from exercise predicts cardiac events in patients with Brugada syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **56**, 1576–1584 (2010).
11. Antzelevitch, C. *et al.* Brugada syndrome: report of the second consensus conference: endorsed by the Heart Rhythm Society and the European Heart Rhythm Association. *Circulation* **111**, 659–670 (2005).
12. Chen, Q. *et al.* Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* **392**, 293–296 (1998).
13. Priori, S. G. *et al.* Natural history of Brugada syndrome: insights for risk stratification and management. *Circulation* **105**, 1342–1347 (2002).
14. Brugada, J. *et al.* Long-term follow-up of individuals with the electrocardiographic pattern of right bundle-branch block and ST-segment elevation in precordial leads V1 to V3. *Circulation* **105**, 73–78 (2002).
15. Brugada, J., Brugada, R. & Brugada, P. Determinants of sudden cardiac death in individuals with the electrocardiographic pattern of Brugada syndrome and no previous cardiac arrest. *Circulation* **108**, 3092–3096 (2003).
16. Eckardt, L. *et al.* Long-term prognosis of individuals with right precordial ST-segment-elevation Brugada syndrome. *Circulation* **111**, 257–263 (2005).
17. Rodríguez-Calvo, M. S., Brion, M., Allegue, C., Concheiro, L. & Carracedo, A. Molecular genetics of sudden cardiac death. *Forensic Sci. Int.* **182**, (2008).

18. Sugai, M. A pathological study on sudden and unexpected death, especially on the cardiac death autopsied by medical examiners in Tokyo. *Acta Pathol. Jpn.* **9(Suppl)**, 723–752 (1959).
19. Tan, H. L. *et al.* A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature* **409**, 1043–1047 (2001).
20. Vatta, M. *et al.* Genetic and biophysical basis of sudden unexplained nocturnal death syndrome (SUNDS), a disease allelic to Brugada syndrome. *Hum. Mol. Genet.* **11**, 337–345 (2002).
21. Antzelevitch, C. Brugada syndrome. *Pacing Clin. Electrophysiol. PACE* **29**, 1130–1159 (2006).
22. Celesia, G. G. Disorders of membrane channels or channelopathies. *Clin. Neurophysiol. Off. J. Int. Fed. Clin. Neurophysiol.* **112**, 2–18 (2001).
23. Ackerman, M. J. *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). *Eur. Eur. Pacing Arrhythm. Card. Electrophysiol. J. Work. Groups Card. Pacing Arrhythm. Card. Cell. Electrophysiol. Eur. Soc. Cardiol.* **13**, 1077–1109 (2011).
24. Antzelevitch, C. Genetic, Molecular and Cellular Mechanisms Underlying the J Wave Syndromes. *Circ. J. Off. J. Jpn. Circ. Soc.* **76**, 1054–1065 (2012).
25. Di Diego, J. M., Sun, Z. Q. & Antzelevitch, C. I(to) and action potential notch are smaller in left vs. right canine ventricular epicardium. *Am. J. Physiol.* **271**, H548–561 (1996).

26. Yan, G. X. & Antzelevitch, C. Cellular basis for the Brugada syndrome and other mechanisms of arrhythmogenesis associated with ST-segment elevation. *Circulation* **100**, 1660–1666 (1999).
27. Lukas, A. & Antzelevitch, C. Phase 2 reentry as a mechanism of initiation of circus movement reentry in canine epicardium exposed to simulated ischemia. *Cardiovasc. Res.* **32**, 593–603 (1996).
28. Frustaci, A. *et al.* Cardiac histological substrate in patients with clinical phenotype of Brugada syndrome. *Circulation* **112**, 3680–3687 (2005).
29. Coronel, R. *et al.* Right ventricular fibrosis and conduction delay in a patient with clinical signs of Brugada syndrome: a combined electrophysiological, genetic, histopathologic, and computational study. *Circulation* **112**, 2769–2777 (2005).
30. Meregalli, P. G., Wilde, A. A. M. & Tan, H. L. Pathophysiological mechanisms of Brugada syndrome: depolarization disorder, repolarization disorder, or more? *Cardiovasc. Res.* **67**, 367–378 (2005).
31. Boukens, B. J. D., Christoffels, V. M., Coronel, R. & Moorman, A. F. M. Developmental basis for electrophysiological heterogeneity in the ventricular and outflow tract myocardium as a substrate for life-threatening ventricular arrhythmias. *Circ. Res.* **104**, 19–31 (2009).
32. Nademanee, K. *et al.* Prevention of ventricular fibrillation episodes in Brugada syndrome by catheter ablation over the anterior right ventricular outflow tract epicardium. *Circulation* **123**, 1270–1279 (2011).
33. Nademanee, K. *et al.* Fibrosis, Connexin-43, and Conduction Abnormalities in the Brugada Syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **66**, 1976–1986 (2015).

34. Jervell, A. & Lange-Nielsen, F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death. *Am. Heart J.* **54**, 59–68 (1957).
35. Romano, C., Gemme, G. & Pongiglione, R. [RARE CARDIAC ARRHYTHMIAS OF THE PEDIATRIC AGE. II. SYNCOPAL ATTACKS DUE TO PAROXYSMAL VENTRICULAR FIBRILLATION. (PRESENTATION OF 1ST CASE IN ITALIAN PEDIATRIC LITERATURE)]. *Clin. Pediatr. (Bologna)* **45**, 656–683 (1963).
36. Ward, O. C. A NEW FAMILIAL CARDIAC SYNDROME IN CHILDREN. *J. Ir. Med. Assoc.* **54**, 103–106 (1964).
37. Dessertenne, F. [Ventricular tachycardia with 2 variable opposing foci]. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* **59**, 263–272 (1966).
38. Gussak, I. *et al.* Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome? *Cardiology* **94**, 99–102 (2000).
39. Extramiana, F. & Antzelevitch, C. Amplified transmural dispersion of repolarization as the basis for arrhythmogenesis in a canine ventricular-wedge model of short-QT syndrome. *Circulation* **110**, 3661–3666 (2004).
40. Gehi, A. K., Duong, T. D., Metz, L. D., Gomes, J. A. & Mehta, D. Risk stratification of individuals with the Brugada electrocardiogram: a meta-analysis. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **17**, 577–583 (2006).
41. Priori, S. G. *et al.* 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC).

- Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur. Heart J.* **36**, 2793–2867 (2015).
42. Zhang, L. *et al.* Spectrum of ST-T-wave patterns and repolarization parameters in congenital long-QT syndrome: ECG findings identify genotypes. *Circulation* **102**, 2849–2855 (2000).
  43. Sarkozy, A. *et al.* The value of a family history of sudden death in patients with diagnostic type I Brugada ECG pattern. *Eur. Heart J.* **32**, 2153–2160 (2011).
  44. Huang, Z. *et al.* Role of signal-averaged electrocardiograms in arrhythmic risk stratification of patients with Brugada syndrome: a prospective study. *Heart Rhythm Off. J. Heart Rhythm Soc.* **6**, 1156–1162 (2009).
  45. Kamakura, S. *et al.* Long-term prognosis of probands with Brugada-pattern ST-elevation in leads V1-V3. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* **2**, 495–503 (2009).
  46. Probst, V. *et al.* Long-term prognosis of patients diagnosed with Brugada syndrome: Results from the FINGER Brugada Syndrome Registry. *Circulation* **121**, 635–643 (2010).
  47. Sacher, F. *et al.* Outcome after implantation of a cardioverter-defibrillator in patients with Brugada syndrome: a multicenter study. *Circulation* **114**, 2317–2324 (2006).
  48. Ohgo, T. *et al.* Acute and chronic management in patients with Brugada syndrome associated with electrical storm of ventricular fibrillation. *Heart Rhythm Off. J. Heart Rhythm Soc.* **4**, 695–700 (2007).
  49. Maury, P., Couderc, P., Delay, M., Boveda, S. & Brugada, J. Electrical storm in Brugada syndrome successfully treated using isoprenaline. *Eur. Eur. Pacing*

- Arrhythm. Card. Electrophysiol. J. Work. Groups Card. Pacing Arrhythm. Card. Cell. Electrophysiol. Eur. Soc. Cardiol.* **6**, 130–133 (2004).
50. Maury, P., Hocini, M. & Haïssaguerre, M. Electrical storms in Brugada syndrome: review of pharmacologic and ablative therapeutic options. *Indian Pacing Electrophysiol. J.* **5**, 25–34 (2005).
51. Belhassen, B., Glick, A. & Viskin, S. Efficacy of quinidine in high-risk patients with Brugada syndrome. *Circulation* **110**, 1731–1737 (2004).
52. Hermida, J.-S. *et al.* Hydroquinidine therapy in Brugada syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **43**, 1853–1860 (2004).
53. Mizusawa, Y. & Wilde, A. A. M. Brugada Syndrome. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* **5**, 606–616 (2012).
54. Alings, M., Dekker, L., Sadée, A. & Wilde, A. Quinidine induced electrocardiographic normalization in two patients with Brugada syndrome. *Pacing Clin. Electrophysiol. PACE* **24**, 1420–1422 (2001).
55. Brugada, J. *et al.* Brugada Syndrome Phenotype Elimination by Epicardial Substrate Ablation. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* **8**, 1373–1381 (2015).
56. Magnano, A. R., Holleran, S., Ramakrishnan, R., Reiffel, J. A. & Bloomfield, D. M. Autonomic nervous system influences on QT interval in normal subjects. *J. Am. Coll. Cardiol.* **39**, 1820–1826 (2002).
57. Takigawa, M. *et al.* Seasonal and circadian distributions of ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome. *Heart Rhythm Off. J. Heart Rhythm Soc.* **5**, 1523–1527 (2008).
58. Kananuki, H. *et al.* Idiopathic ventricular fibrillation induced with vagal activity in patients without obvious heart disease. *Circulation* **95**, 2277–2285 (1997).

59. Agostini, D. *et al.* Iodine-123-metaiodobenzylguanidine SPECT of regional cardiac adrenergic denervation in Brugada syndrome. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **39**, 1129–1132 (1998).
60. Podrid, P. J., Fuchs, T. & Candinas, R. Role of the sympathetic nervous system in the genesis of ventricular arrhythmia. *Circulation* **82**, 1103-1113 (1990).
61. Kostopoulou, A. *et al.* Disorders of the autonomic nervous system in patients with Brugada syndrome: a pilot study. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **21**, 773–780 (2010).
62. Litovsky, S. H. & Antzelevitch, C. Differences in the electrophysiological response of canine ventricular subendocardium and subepicardium to acetylcholine and isoproterenol. A direct effect of acetylcholine in ventricular myocardium. *Circ. Res.* **67**, 615–627 (1990).
63. Pitzalis, M. V. *et al.* QT-interval prolongation in right precordial leads: an additional electrocardiographic hallmark of Brugada syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **42**, 1632–1637 (2003).
64. Rasmussen, V., Jensen, G. & Hansen, J. F. QT interval in 24-hour ambulatory ECG recordings from 60 healthy adult subjects. *J. Electrocardiol.* **24**, 91–95 (1991).
65. Romano, M. *et al.* Heart rate, PR, and QT intervals in normal children: a 24-hour Holter monitoring study. *Clin. Cardiol.* **11**, 839–842 (1988).
66. Talib, A. K. *et al.* Repolarization Characteristics in Early Repolarization and Brugada Syndromes: Insight into an Overlapping Mechanism of Lethal Arrhythmias: Repolarization Indices in ER and Brugada Syndromes. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* n/a-n/a (2014). doi:10.1111/jce.12566

67. Fujiki, A. *et al.* Repolarization abnormality in idiopathic ventricular fibrillation: assessment using 24-hour QT-RR and QaT-RR relationships. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **15**, 59–63 (2004).
68. Merri, M. *et al.* Relation between ventricular repolarization duration and cardiac cycle length during 24-hour Holter recordings. Findings in normal patients and patients with long QT syndrome. *Circulation* **85**, 1816–1821 (1992).
69. Antzelevitch, C. *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* **115**, 442–449 (2007).
70. Hong, K., Hu, J., Yu, J. & Brugada, R. Concomitant Brugada-like and short QT electrocardiogram linked to SCN5A mutation. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **20**, 1189–1192 (2012).
71. Gaita, F. *et al.* Short QT Syndrome: a familial cause of sudden death. *Circulation* **108**, 965–970 (2003).
72. Antzelevitch, C., Yan, G. X. & Shimizu, W. Transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenicity: the Brugada syndrome versus the long QT syndrome. *J. Electrocardiol.* **32 Suppl**, 158–165 (1999).
73. Clancy, C. E. & Rudy, Y. Na(+) channel mutation that causes both Brugada and long-QT syndrome phenotypes: a simulation study of mechanism. *Circulation* **105**, 1208–1213 (2002).
74. Martínez Sánchez, J. *et al.* [Concurrent long QT and Brugada syndrome in a single patient]. *Rev. Esp. Cardiol.* **54**, 645–648 (2001).

75. Maury, P. *et al.* Increased Tpeak-Tend interval is highly and independently related to arrhythmic events in Brugada syndrome. *Heart Rhythm Off. J. Heart Rhythm Soc.* (2015). doi:10.1016/j.hrthm.2015.07.029
76. Di Diego, J. M. *et al.* Ionic and cellular basis for the predominance of the Brugada syndrome phenotype in males. *Circulation* **106**, 2004–2011 (2002).
77. Matsuo, K., Akahoshi, M., Seto, S. & Yano, K. Disappearance of the Brugada-type electrocardiogram after surgical castration: a role for testosterone and an explanation for the male preponderance. *Pacing Clin. Electrophysiol. PACE* **26**, 1551–1553 (2003).
78. Shimizu, W. *et al.* Sex hormone and gender difference--role of testosterone on male predominance in Brugada syndrome. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **18**, 415–421 (2007).
79. Shuba, Y. M., Degtiar, V. E., Osipenko, V. N., Naidenov, V. G. & Woosley, R. L. Testosterone-mediated modulation of HERG blockade by proarrhythmic agents. *Biochem. Pharmacol.* **62**, 41–49 (2001).
80. Bai, C.-X., Kurokawa, J., Tamagawa, M., Nakaya, H. & Furukawa, T. Nontranscriptional regulation of cardiac repolarization currents by testosterone. *Circulation* **112**, 1701–1710 (2005).
81. Benito, B., Brugada, R., Brugada, J. & Brugada, P. Brugada syndrome. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **51**, 1–22 (2008).
82. Simson, M. B. Use of signals in the terminal QRS complex to identify patients with ventricular tachycardia after myocardial infarction. *Circulation* **64**, 235–242 (1981).

83. Breithardt, G., Becker, R., Seipel, L., Abendroth, R. R. & Ostermeyer, J. Non-invasive detection of late potentials in man--a new marker for ventricular tachycardia. *Eur. Heart J.* **2**, 1–11 (1981).
84. Coto, H., Maldonado, C., Palakurthy, P. & Flowers, N. C. Late potentials in normal subjects and in patients with ventricular tachycardia unrelated to myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* **55**, 384–390 (1985).
85. Simson, M. B. *et al.* Relation between late potentials on the body surface and directly recorded fragmented electrograms in patients with ventricular tachycardia. *Am. J. Cardiol.* **51**, 105–112 (1983).
86. de Bakker, J. M. *et al.* Ventricular tachycardia in the infarcted, Langendorff-perfused human heart: role of the arrangement of surviving cardiac fibers. *J. Am. Coll. Cardiol.* **15**, 1594–1607 (1990).
87. Breithardt, G. *et al.* Standards for analysis of ventricular late potentials using high-resolution or signal-averaged electrocardiography. A statement by a Task Force Committee of the European Society of Cardiology, the American Heart Association, and the American College of Cardiology. *Circulation* **83**, 1481–1488 (1991).
88. Isogai, K., Kasanuki, H., Ohnishi, S. & Hosoda, S. Detection and significance of late potentials using a new device in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Electrocardiol.* **26 Suppl**, 157 (1993).
89. Kamath, G. S. *et al.* Value of the signal-averaged electrocardiogram in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Heart Rhythm* **8**, 256–262 (2011).

90. Szél, T. & Antzelevitch, C. Abnormal repolarization as the basis for late potentials and fractionated electrograms recorded from epicardium in experimental models of Brugada syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **63**, 2037–2045 (2014).
91. Abe, A. *et al.* Comparison of late potentials for 24 hours between Brugada syndrome and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy using a novel signal-averaging system based on Holter ECG. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* **5**, 789–795 (2012).
92. Lombardi, F. *et al.* Effects of mexiletine, propafenone and flecainide on signal-averaged electrocardiogram. *Eur. Heart J.* **13**, 517–525 (1992).
93. Kulakowski, P., Gibson, S., Ward, J. & Camm, A. J. Flecainide-related alterations in the signal-averaged electrocardiogram: similarity between patients with or without ventricular tachycardia. *Eur. Heart J.* **13**, 808–813 (1992).
94. Watanabe, T., Yamaki, M., Tachibana, H., Kubota, I. & Tomoike, H. Decrease in the high frequency QRS components depending on the local conduction delay. *Jpn. Circ. J.* **62**, 844–848 (1998).
95. Wilde, A. a. M. *et al.* Proposed diagnostic criteria for the Brugada syndrome. *Eur. Heart J.* **23**, 1648–1654 (2002).
96. Higham, P. D. & Campbell, R. W. QT dispersion. *Br. Heart J.* **71**, 508–510 (1994).
97. Syrris, P., Murray, A., Carter, N. D., McKenna, W. M. & Jeffery, S. Mutation detection in long QT syndrome: a comprehensive set of primers and PCR conditions. *J. Med. Genet.* **38**, 705–710 (2001).
98. Campbell, R. W., Gardiner, P., Amos, P. A., Chadwick, D. & Jordan, R. S. Measurement of the QT interval. *Eur. Heart J.* **6 Suppl D**, 81–83 (1985).

99. Zhang, J. *et al.* Cardiac electrophysiological substrate underlying the ECG phenotype and electrogram abnormalities in Brugada syndrome patients. *Circulation* **131**, 1950–1959 (2015).
100. Rudic, B. *et al.* Simultaneous Non-Invasive Epicardial and Endocardial Mapping in Patients With Brugada Syndrome: New Insights Into Arrhythmia Mechanisms. *J. Am. Heart Assoc.* **5**, (2016).
101. Veltmann, C. *et al.* Insights into the location of type I ECG in patients with Brugada syndrome: correlation of ECG and cardiovascular magnetic resonance imaging. *Heart Rhythm* **9**, 414–421 (2012).
102. Sangawa, M. *et al.* Abnormal transmural repolarization process in patients with Brugada syndrome. *Heart Rhythm* **6**, 1163–1169 (2009).
103. Rezakhani, A., Webster, J. D. & Atwell, R. B. The electrocardiogram of the eastern grey kangaroo (*Macropus giganteus*). *Aust. Vet. J.* **63**, 310–312 (1986).
104. Anttonen, O. *et al.* Prevalence and prognostic significance of short QT interval in a middle-aged Finnish population. *Circulation* **116**, 714–720 (2007).
105. Gallagher, M. M. *et al.* Distribution and prognostic significance of QT intervals in the lowest half centile in 12,012 apparently healthy persons. *Am. J. Cardiol.* **98**, 933–935 (2006).
106. Patel, C., Yan, G.-X. & Antzelevitch, C. Short QT syndrome: from bench to bedside. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* **3**, 401–408 (2010).
107. Wolpert, C. *et al.* Further insights into the effect of quinidine in short QT syndrome caused by a mutation in HERG. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **16**, 54–58 (2005).

108. Milberg, P. *et al.* Reduction of dispersion of repolarization and prolongation of postrepolarization refractoriness explain the antiarrhythmic effects of quinidine in a model of short QT syndrome. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **18**, 658–664 (2007).
109. Undrovinas, A. I. *et al.* Quinidine blocks adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channels in heart. *Am. J. Physiol.* **259**, H1609-1612 (1990).
110. Opthof, T. *et al.* Dispersion of repolarization in canine ventricle and the electrocardiographic T wave: Tp-e interval does not reflect transmural dispersion. *Heart Rhythm* **4**, 341–348 (2007).
111. Fridericia, L. S. The duration of systole in an electrocardiogram in normal humans and in patients with heart disease. 1920. *Ann. Noninvasive Electrocardiol. Off. J. Int. Soc. Holter Noninvasive Electrocardiol. Inc* **8**, 343–351 (2003).
112. Ashman. The normal duration of the QT interval. *Am Heart J* **23**, 522–533 (1942).