

Artículo original

Rentabilidad del estudio genético mediante técnicas de *next-generation sequencing* masiva de pacientes con miocardiopatía arritmogénica de alto riesgo

Amalio Ruiz Salas*, José Peña Hernández, Carmen Medina Palomo, Alberto Barrera Cordero, Fernando Cabrera Bueno, José Manuel García Pinilla, Ana Guijarro, Luis Morcillo-Hidalgo, Manuel Jiménez Navarro, Juan José Gómez Doblás, Eduardo de Teresa y Javier Alzueta

Unidad de Gestión Clínica (UGC) del Corazón, CIBER Cardiovascular, Instituto de Biomedicina de Málaga (IBIMA), Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Universidad de Málaga, Málaga, España

Historia del artículo:

Recibido el 21 de agosto de 2017

Aceptado el 6 de noviembre de 2017

On-line el 4 de enero de 2018

Palabras clave:

Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho
Desfibrilador automático implantable
Muerte súbita
Next-generation sequencing

RESUMEN

Introducción y objetivos: La miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (MCAVD) es una cardiopatía hereditaria definida por la sustitución progresiva de miocardio ventricular derecho por tejido fibroadiposo. Es causa frecuente de la muerte súbita de jóvenes atletas. El objetivo del presente estudio es conocer la incidencia de variantes desmosómicas patogénicas o probablemente patogénicas en pacientes con MCAVD definitiva de alto riesgo.

Métodos: El estudio de cohortes retrospectivo observacional incluyó a 36 pacientes diagnosticados de MCAVD definitiva de alto riesgo en nuestro hospital entre enero de 1998 y enero de 2015. El análisis genético se realizó con *next-generation sequencing*.

Resultados: La mayoría eran varones (28 pacientes, 78%) con una media de edad al diagnóstico de 45 ± 18 años. Se detectó al menos 1 variante desmosómica patogénica o probablemente patogénica en 26 de los 35 casos índice (74%): 5 *nonsense*, 14 *frameshift*, 1 *splice* y 6 *missense*. En 15 pacientes (71%) se encontraron mutaciones nuevas. La presencia o la ausencia de mutaciones desmosómicas o la naturaleza de estas no se asociaron con características electrocardiográficas, clínicas, arrítmicas, anatómicas o pronósticas específicas.

Conclusiones: La incidencia de variantes desmosómicas patogénicas o probablemente patogénicas en MCAVD definitiva de alto riesgo fue muy alta, con mayoría de mutaciones que causan truncamiento. La presencia de mutaciones desmosómicas no se asoció con el pronóstico.

© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Usefulness of Genetic Study by Next-generation Sequencing in High-risk Arrhythmogenic Cardiomyopathy

ABSTRACT

Introduction and objectives: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is an inherited cardiomyopathy characterized by progressive fibrofatty replacement of predominantly right ventricular myocardium. This cardiomyopathy is a frequent cause of sudden cardiac death in young people and athletes. The aim of our study was to determine the incidence of pathological or likely pathological desmosomal mutations in patients with high-risk definite ARVC.

Methods: This was an observational, retrospective cohort study, which included 36 patients diagnosed with high-risk ARVC in our hospital between January 1998 and January 2015. Genetic analysis was performed using next-generation sequencing.

Results: Most patients were male (28 patients, 78%) with a mean age at diagnosis of 45 ± 18 years. A pathogenic or probably pathogenic desmosomal mutation was detected in 26 of the 35 index cases (74%): 5 *nonsense*, 14 *frameshift*, 1 *splice*, and 6 *missense*. Novel mutations were found in 15 patients (71%). The presence or absence of desmosomal mutations causing the disease and the type of mutation were not associated with specific electrocardiographic, clinical, arrhythmic, anatomic, or prognostic characteristics.

Conclusions: The incidence of pathological or likely pathological desmosomal mutations in ARVC is very high, with most mutations causing truncation. The presence of desmosomal mutations was not associated with prognosis.

Full English text available from: www.revespcardiol.org/en

© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Keywords:

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy
Implantable cardioverter-defibrillator
Sudden cardiac death
Next-generation sequencing

* Autor para correspondencia: Servicio de Cardiología, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Campus de Teatinos s/n, 29007 Málaga, España. Correo electrónico: amalio_ruiz@hotmail.com (A. Ruiz Salas).

Abreviaturas

DAI: desfibrilador automático implantable
MCAVD: miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho

INTRODUCCIÓN

La miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (MCAVD) es una cardiopatía definida por la sustitución progresiva de miocardio ventricular derecho por tejido fibroadiposo, que puede dar lugar a arritmias, muerte súbita e insuficiencia cardiaca. En la progresión de la enfermedad, suele afectarse también el ventrículo izquierdo, lo que confiere peor pronóstico. Se hereda habitualmente de modo autosómico dominante por mutaciones en genes que codifican proteínas desmosómicas. Actualmente, en torno al 40–60% de los casos clínicamente diagnosticados muestran al menos 1 variación genética que causa la enfermedad^{1–8}.

Aún no se dispone de ensayos aleatorizados prospectivos sobre el uso del desfibrilador automático implantable (DAI) en pacientes con MCAVD, y los predictores independientes de eventos arrítmicos provienen de estudios retrospectivos^{9–11}. Se ha desarrollado un documento de consenso para el tratamiento de esta enfermedad, que divide a los pacientes en 3 categorías de riesgo: alta, intermedia y baja¹². La categoría de alto riesgo incluye a los pacientes que han sufrido una parada cardiaca debida a taquicardia ventricular sostenida o fibrilación ventricular y pacientes con disfunción grave del ventrículo derecho (área fraccional $\leq 17\%$ o fracción de eyección $\leq 35\%$) o disfunción grave del ventrículo izquierdo (fracción de eyección del ventrículo izquierdo $\leq 35\%$), incluso en ausencia de arritmias ventriculares potencialmente mortales. Se recomienda el implante de DAI para los pacientes MCAVD de alto riesgo (clase I)¹².

El objetivo del presente estudio es analizar la incidencia de variantes desmosómicas patológicas o probablemente patológicas en 36 pacientes con MCAVD definitiva de alto riesgo.

MÉTODOS

Diseño del estudio y población

Estudio observacional de cohortes retrospectivo en el que se incluyó a los 36 pacientes con MCAVD definitiva de alto riesgo portadores de DAI con seguimiento en nuestro hospital entre enero de 2000 y enero de 2016.

El diagnóstico de MCAVD definitiva se estableció según los criterios de la *Task Force* modificados en 2010⁴, si se cumplían al menos 2 criterios mayores o 1 criterio mayor y 2 menores o 4 criterios menores de categorías diagnósticas diferentes.

El criterio de alto riesgo se estableció según el documento de consenso de las sociedades internacionales de cardiología¹², es decir, pacientes en prevención secundaria por taquiarritmias ventriculares o parada cardiaca previa o en prevención primaria por disfunción sistólica ventricular grave derecha y/o izquierda.

Se recogieron las características demográficas, clínicas, anatómicas, electrocardiográficas y arrítmicas, así como el número y el tipo de criterios diagnósticos que se cumplían en el momento del diagnóstico. Las características demográficas se registraron en el diagnóstico de la enfermedad. Las anatómicas, mediante ecocardiografía-Doppler o por resonancia magnética cardiaca.

El primer evento arrítmico mayor se definió como la primera taquicardia ventricular sostenida, muerte súbita recuperada o

terapia apropiada en un paciente que no había sufrido antes evento alguno (aquellos con DAI en prevención primaria).

El estudio cumple la normativa ética de la Declaración de Helsinki de 1975.

Genética

El análisis genético se llevó a cabo en los casos índice mediante técnicas de secuenciación masiva *next-generation sequencing* entre diciembre de 2013 y junio de 2016 e incluyó todos los genes relacionados con la enfermedad y también con otras miocardiopatías. Los genes estudiados fueron los siguientes: *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *FLNC*, *JUP*, *PKP2*, *PLN*, *TMEM43*, *CTNNA3*, *DES*, *LMNA*, *RYR2*, *TGFB3*, *TTN*, *CASQ2*, *CTNNA1*, *LDB3*, *PERP*, *PKP4*, *PPP1R13L* y *SCN5A*. Al único familiar del estudio se le realizó secuenciación en ambas direcciones del fragmento del gen (*PKP2* en este caso) de la variante genética previamente identificada.

Los exones y límites intrónicos se capturaron utilizando una biblioteca de sondas (*SureSelect Target Enrichment Kit for Illumina*, Agilent Technologies). La secuenciación se realizó utilizando la plataforma Illumina HiSeq 1500 (Illumina; San Diego, California, Estados Unidos) con una longitud de lectura de 2×100 bases siguiendo los protocolos de Illumina. El análisis bioinformático se llevó a cabo a través de diferentes programas para la genotipificación. Se consideró la información relativa a la frecuencia en diferentes poblaciones (*1000 Genomes Project*, *Exome Variant Server*, *Exome Aggregation Consortium*). Para el filtrado de variantes, se utilizó una estrategia interna de filtrado y priorización de variantes diseñada por *Health in Code*, y el análisis se centró en los principales genes incluidos en el panel de cardiomiopatías arritmogénicas. Un equipo de cardiólogos y genetistas evaluó y clasificó las variantes mediante el esquema de clasificación de variantes *Health in Code* adaptado del *American College of Medical Genetics*.

Las variantes consideradas clínicamente relevantes según el fenotipo del paciente se confirmaron mediante secuenciación de Sanger.

Seguimiento

Los eventos apropiados se definieron como la intervención del DAI mediante terapia antiataquicárdica o por choques en respuesta a arritmia ventricular sostenida. Los eventos inapropiados se definieron como la intervención del DAI con terapia antiataquicárdica o choque por taquicardia supraventricular (fibrilación auricular, taquicardia auricular o sinusal) o por disfunción del dispositivo (sobresensado o ruido).

Durante el seguimiento se recogieron los eventos arrítmicos ventriculares apropiados (número, tiempo desde el implante, longitud de ciclo, eficacia de la terapia antiataquicárdica y choques) e inapropiados (número, tiempo desde el implante y causas), la aparición de fibrilación auricular o insuficiencia cardiaca, la necesidad de ablación de sustrato, el daño en el ventrículo izquierdo y los fallecimientos o los trasplantes ocurridos.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa SPSS (versión 18.0). Las variables continuas se expresan como media \pm desviación típica; las variables categóricas, como valor absoluto y porcentaje. Para la comparación de variables continuas, se utilizó el test de la *t* de Student (en caso de distribución normal) o la de la *U* de Mann-Whitney (para las de distribución no normal). Las variables categóricas se compararon mediante tablas de contingencia y la

prueba de la χ^2 o el test exacto de Fisher. El estudio del tiempo libre de eventos arrítmicos apropiados se llevó a cabo mediante el método de Kaplan-Meier.

Se consideró significación estadística con valores de $p < 0,05$ en sentido bilateral.

RESULTADOS

Características basales de la muestra

La mayoría eran varones (28 pacientes; 78%), con una edad media al diagnóstico de 45 ± 18 años. Todos tenían MCAVD definitiva según los criterios de *Task Force* modificados en 2010⁴, independientemente del resultado genético.

Los criterios diagnósticos y las características clínicas principales se desglosan en la [tabla 1](#), teniendo en cuenta que a ningún paciente se le realizó biopsia endomiocárdica para establecer el diagnóstico, aunque el de un paciente se confirmó *a posteriori* porque se le realizó trasplante cardiaco.

Respecto a la presentación de la enfermedad, en la mayoría se diagnosticó a partir de eventos arrítmicos: 2 pacientes tuvieron muerte súbita recuperada y 28, taquicardia ventricular sostenida con morfología de bloqueo de rama izquierda (20 de eje superior y 8 de eje inferior); se diagnosticó a 4 de ellos a partir de estudio por extrasístolia ventricular, a 1 durante el estudio con insuficiencia cardiaca y a otro durante el cribado familiar (único familiar del estudio, madre de caso índice mujer). A los primeros 30 pacientes, se les implantó DAI en prevención secundaria y a los 6 restantes, en prevención primaria por tener daño ventricular grave (2 biventricular y 4 ventricular derecha).

La media de fracción de eyección del ventrículo izquierdo fue del $58 \pm 10\%$; 6 pacientes (17%) tenían daño del ventrículo izquierdo y 2 (6%) presentaron disfunción ventricular grave (fracción de eyección del ventrículo izquierdo $< 35\%$). La media de FE del ventrículo derecho fue del $40 \pm 18\%$ medida por resonancia cardiaca, y 18 pacientes (50%) tenían disfunción grave del ventrículo derecho (fracción de eyección del ventrículo derecho $< 35\%$) medida por ecocardiografía o resonancia.

Se halló realce tardío con gadolinio en 10 de los 18 pacientes a los que se hizo resonancia cardiaca: en 7 pacientes en ventrículo derecho; en 2, biventricular y en 1, exclusivamente en el ventrículo izquierdo.

Genética

Mediante *next-generation sequencing* se detectó al menos 1 variante desmosómica patogénica o probablemente patogénica en 27 pacientes (75%): 26 casos índice y 1 familiar. De ellas, las de la plakofilina 2 (*PKP2*) fueron las más frecuentes, con 19 variantes, seguidas de las 5 en la desmogleína 2 (*DSG2*) y las 3 de la desmoplakina (*DSP*).

Respecto a la naturaleza, había 5 *nonsense*, 15 *frameshift*, 1 *splice* y 6 *missense*. En 15 pacientes (71%) se obtuvieron 10 mutaciones nuevas, no descritas previamente. Una de ellas (NP_004563.2:p.Glu259Glyfs*77) se detectó en 5 casos índice de 5 familias diferentes en la misma provincia; en otra (NP_004563.2:p.Gly328Glyfs*24) hubo cosegregación y además un familiar cumplía criterios de alto riesgo (disfunción ventricular derecha), por lo que se lo incluyó en el estudio (único familiar). Respecto a las 8 variantes restantes, se estudió a 49 familiares, y se detectó a 21 portadores y cosegregación en 5 de las variantes, pero ningún familiar cumplía los criterios de MCAVD de alto riesgo.

En la [figura 1](#) se puede ver su distribución en función del gen afectado y su naturaleza. Sus características se desglosan en la [tabla 2](#).

Además, se encontraron variantes desmosómicas clasificadas como probablemente no patológicas en 3 pacientes: 2 afectados de proteína plakoglobina (*JUP*) (NP_068831.1:p.Lys261Trpfs*39 y NP_068831.1:p.Glu146Lys) y otro en la desmocolina 2 (*DSC2*) (*abnormal splicing intron 9*).

En 4 pacientes se detectaron, además de las mutaciones desmosómicas, otras variantes en genes no desmosómicos. En concreto, 3 en el gen que codifica la titina (*TTN*) y 1 en el gen del receptor de la rianodina (*RYR2*), lo que no se asoció con ninguna característica clínica o pronóstica determinada. No se detectaron variantes aisladas en genes no desmosómicos relacionados con la enfermedad.

La mutación del gen *PKP2* se asoció con un daño exclusivamente en el ventrículo derecho (el 100% de daño el ventrículo derecho frente a un 0% en el izquierdo o biventricular; $p < 0,05$). Respecto a los 6 pacientes con daño del ventrículo izquierdo, 2 tenían mutación de la *DSP* (el 67 frente al 33%; $p = 0,07$), 1 mutación de la *DSG2* y en los últimos 3 el test genético resultó negativo.

La presencia de variantes patogénicas, el tipo de gen afectado o la naturaleza de aquellas no se asociaron con un primer evento arrítmico más precoz ([figura 2](#)), una presentación clínica diferente o determinadas características electrocardiográficas y anatómicas.

Seguimiento

Durante una mediana de seguimiento de 5 [1-20] años, 23 pacientes (64%) tuvieron al menos 1 evento arrítmico apropiado por el DAI. La mediana del tiempo hasta la aparición del primer evento fue 7 [1-29] meses. Se registraron y trataron en total 321 arritmias ventriculares de una longitud de ciclo media de $283,05 \pm 35,68$ ms; 7 ingresaron por tormenta arrítmica y 5 precisaron ablación de sustrato por arritmias ventriculares de repetición (3 endocárdicas y 2 epicárdicas).

Todos los pacientes estaban tomando bloqueadores beta, de los que el más frecuente fue el sotalol (21 pacientes [58%]) y 11 (31%) tomaron amiodarona en algún momento.

La presencia o ausencia de variantes desmosómicas causales o su naturaleza no se asociaron con características pronósticas determinadas según la frecuencia de aparición de arritmias ventriculares o su mayor precocidad.

De los 23 pacientes que sufrieron eventos arrítmicos apropiados en el seguimiento, 22 (96%) eran portadores de DAI en prevención secundaria, frente a 1 en prevención primaria ($p = 0,02$). La supervivencia libre de eventos en función de la indicación del DAI se muestra en la [figura 3](#).

Tuvieron eventos inapropiados durante el seguimiento 4 pacientes: 3 por fibrilación auricular paroxística y 1 por taquicardia sinusal; 3 pacientes tuvieron complicaciones relacionadas con el dispositivo: 2 infecciones y 1 rotura de electrodo.

Durante el seguimiento, 7 pacientes presentaron fibrilación auricular y 3 acudieron a urgencias por insuficiencia cardiaca. Hubo 1 trasplante cardiaco (por insuficiencia cardiaca refractaria), pero no hubo fallecidos.

DISCUSIÓN

El presente trabajo describe de manera detallada la alta incidencia de variantes desmosómicas patogénicas o probablemente patogénicas asociadas con la MCAVD de alto riesgo detectadas por medio de *next-generation sequencing*; además, el alto porcentaje de ellas que son mutaciones causantes de

Tabla 1

Criterios de la Task Force modificados de 2010 y características principales en los 36 pacientes de la muestra

Paciente	Edad (años)	Sexo	Criterios mayores/menores	Criterio estructural (imagen)	Criterio repolarización	Criterio despolarización	Criterio arritmias	Criterio antecedentes familiares	Presentación	Prevención	Evento arritmico en el seguimiento
1	70	M	2/2	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 96; FEVD > 55%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje inferior	PKP2	TVMS	Secundaria	No
2	28	V	3/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 35; CAF \leq 17%	No	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
3	35	V	3/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 34; CAF \leq 17%	No	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
4	45	V	5/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 38; CAF \leq 17%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
5	17	M	4/0	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 30%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
6	50	M	3/1	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 35%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	EV > 500 en Holter 24 h	PKP2 (familiar)	Estudio familiar	Primaria	No
7	35	V	4/0	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 20%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
8	60	V	3/1	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 30; CAF > 40%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	No
9	68	V	4/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 41; CAF \leq 17%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
10	70	V	3/1	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 39; CAF > 40%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
11	21	V	4/1	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 34%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
12	57	M	3/1	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 15%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	EV > 500 en Holter 24 h	PKP2	Palpitaciones	Primaria	No
13	80	M	4/1	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 39; CAF \leq 17%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	Onda epsilon	TV BRI + eje inferior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
14	30	V	5/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 40; CAF > 40%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
15	54	V	3/1	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 108; FEVD > 55%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
16	58	V	3/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 34; CAF > 40%	No	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	No	TVMS	Secundaria	Sí
17	30	M	3/0	No	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	Sí
18	32	V	3/0	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 117; FEVD > 55%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje superior	No	TVMS	Secundaria	Sí
19	42	V	4/1	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 120; FEVD > 55%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	Onda epsilon	TV BRI + eje inferior	DSP	TVMS	Secundaria	No
20	17	V	2/2	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 105; FEVD > 55%	Onda T invertida $\geq V_{1-3}$	No	TV BRI + eje inferior	DSP	TVMS	Secundaria	Sí
21	49	M	2/2	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 92; FEVD > 55%	Onda T invertida V_{1-2}	No	TV BRI + eje superior	DSP	TVMS	Secundaria	No

Tabla 1 (Continuación)Criterios de la *Task Force* modificados de 2010 y características principales en los 36 pacientes de la muestra

Paciente	Edad (años)	Sexo	Criterios mayores/ menores	Criterio estructural (imagen)	Criterio repolarización	Criterio despolarización	Criterio arritmias	Criterio antecedentes familiares	Presentación	Prevención	Evento arrítmico en el seguimiento
22	47	V	4/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 34; CAF > 40%	No	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	DSG2	TVMS	Secundaria	Sí
23	65	V	2/2	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 30; CAF > 40%	Onda T invertida V ₁₋₂	No	TV BRI + eje superior	DSG2	TVMS	Secundaria	No
24	56	M	2/2	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 39; CAF ≤ 17%	Onda T invertida V ₄₋₆	No	EV > 500 en Holter 24 h	DSG2	Palpitaciones	Primaria	No
25	37	V	4/1	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 42; CAF ≤ 17%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	Onda epsilon	TV BRI + eje inferior	DSG2	TVMS	Secundaria	Sí
26	51	V	3/2	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 20%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	Activación terminal del QRS ≥ 55 ms en V ₁	TV BRI + eje inferior	DSG2	TVMS	Secundaria	Sí
27	53	V	2/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 42; CAF ≤ 17%	No	No	TV BRI + eje superior	No	TVMS	Secundaria	Sí
28	27	V	3/0	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 14%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	No	TV BRI + eje superior	No	TVMS	Secundaria	Sí
29	36	V	4/0	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 39; CAF > 40%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	No	TVMS	Secundaria	Sí
30	51	V	2/1	No	Onda T invertida V ₁₋₂	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	No	FV	Secundaria	No
31	19	V	1/2	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 108; FEVD > 55%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	No	TV BRI + eje inferior	No	TVMS	Secundaria	No
32	68	V	1/2	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 38; CAF ≤ 17%	Onda T invertida V ₄₋₆	No	EV > 500 en Holter 24 h	No	Palpitaciones	Primaria	Sí
33	70	V	5/0	RMC: discinesia regional del VD; VTDVD = 126; FEVD > 55%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	Onda epsilon	TV BRI + eje superior	PKP2	TVMS	Secundaria	No
34	17	V	3/1	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 40%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	No	EV > 500 en Holter 24 h	PKP2	FV	Secundaria	Sí
35	28	V	3/1	RMC: discinesia regional del VD; FEVD = 28%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	No	EV > 500 en Holter 24 h	PKP2	Palpitaciones	Primaria	No
36	43	V	2/1	ETT: discinesia regional del VD; TSVD = 44; CAF ≤ 17%	Onda T invertida ≥ V ₁₋₃	Activación terminal del QRS ≥ 55 ms en V ₁	No	No	Disnea	Primaria	No

CAF: cambio de área fraccional; DSG2: desmogleína 2; DSP: desmoplaquina; ETT: ecocardiografía transtorácica; EV: extrasistolia ventricular; FEVD: fracción de eyección del ventrículo derecho; FV: fibrilación ventricular; M: mujeres; PKP2: plakofilina 2; RMC: resonancia magnética cardiaca; TSVD: tracto de salida del ventrículo derecho en proyección paraesternal de eje largo; TV BRI: taquicardia ventricular con morfología de bloqueo de rama izquierda; TVMS: taquicardia ventricular monomorfa sostenida; V: varón; VD: ventrículo derecho; VTDVD: volumen telediastólico del VD indexado por superficie corporal (ml/m²).

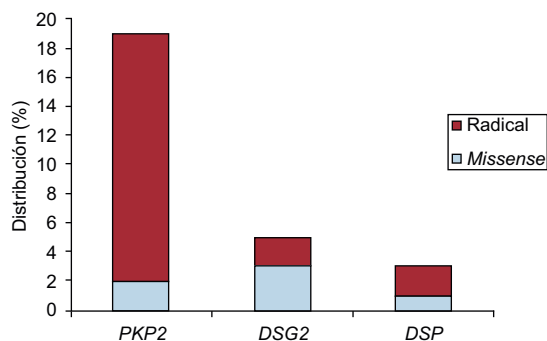


Figura 1. Distribución de las variantes genéticas encontradas según el tipo de gen afectado y su naturaleza. DSG2: desmogleína 2; DSP: desmoplaquina; PKP2: plakofilina 2.

truncamiento conlleva la traducción de unas proteínas más desestructuradas.

La incidencia de mutaciones desmosómicas descritas en las series varía entre un 30 y un 60%⁸, como por ejemplo en la serie de den Haan et al.¹³, donde se detectaron variantes desmosómicas en el 52% de 82 pacientes con MCAVD, y además la presencia de estas mutaciones se asoció con mayor probabilidad de taquicardia ventricular (el 73 frente al 44%) y una edad de presentación más joven (33 frente a 41 años) en comparación con aquellos con estudio genético negativo. En la serie danesa de Christensen et al.¹⁴, se detectó un menor número de mutaciones (el 33% de 65 pacientes, 10 de ellos con diagnóstico limítrofe). La incidencia en nuestra serie es mayor, probablemente por la buena selección de pacientes, ya que todos tenían MCAVD definitiva, gran parte de ellos con arritmias ventriculares y la mitad con daño grave de la contractilidad del ventrículo derecho. A favor de ello, en un artículo reciente de Medeiros-Domingo et al.¹⁵ se detectó un mayor porcentaje de mutaciones desmosómicas en pacientes con MCAVD definitiva (n = 7) frente a MCAVD *borderline* o posible (n = 7), que además tenían daño de otros genes más relacionados con la miocardiopatía dilatada y se especula que serían fenocopias o cuadros solapados entre MCAVD y miocardiopatía dilatada¹⁵. Estos datos concuerdan con los del presente estudio, ya que, habiendo utilizado paneles de genes de miocardiopatías, las mutaciones detectadas eran desmosómicas y solo 4 pacientes presentaron mutaciones no desmosómicas con dudosa patogenicidad: 3 de ellas en *TTN*, cuyas mutaciones *missense* suelen tener poca trascendencia en la aparición de enfermedades y, aunque se han asociado con la MCAVD, tienen más relación con la miocardiopatía dilatada. Además, su presencia no se asoció con cambios en el pronóstico o mayor daño del ventrículo izquierdo. Estos resultados pueden llevar a pensar que en ocasiones la MCAVD no definitiva con genética negativa podría no ser una verdadera MCAVD, sino fenocopias o cuadros solapados con miocardiopatía dilatada, pero serán necesarios más estudios para confirmarlo.

Se encontraron variantes desmosómicas de nueva aparición (10) que se consideró probablemente patogénicas con base en datos de frecuencia poblacional y predictores bioinformáticos. Además, se detectó cosegregación en 6 de las 9 variantes nuevas restantes, aunque solo se incluyó en el estudio a 1 familiar (NP_004563.2: p.Gly328Glufs*24) porque cumplía los criterios de alto riesgo. El hecho de que 5 casos índice de familias diferentes presentaran la misma mutación de *PKP2* (NP_004563.2: p.Glu259Glyfs*77) en la misma zona geográfica indica la existencia de un efecto fundador, lo cual puede ser una de las causas de la alta tasa de resultados genéticos positivos en esta serie. Actualmente se está realizando el estudio genético en esas 5 familias en búsqueda del probable origen común⁶. Por el contrario, 3 variantes

detectadas se clasificaron como no asociadas con la enfermedad, por lo que profesionales expertos en genética cardiovascular deben analizar rigurosamente los resultados de *next-generation sequencing* para asignar su importancia y orientar el diagnóstico y el tratamiento¹⁶.

En el presente estudio las mutaciones en *PKP2* se asociaron con daño exclusivamente del ventrículo derecho; por el contrario, al igual que en otros estudios, las mutaciones en *DSP*¹⁷ se asociaron con daño del ventrículo izquierdo (sin diferencias estadísticamente significativas).

Por otro lado, no se encontraron diferencias respecto a la presencia o ausencia de variantes patogénicas o su naturaleza en relación con un mayor número de eventos arrítmicos o su aparición más precoz. Hay que tener en cuenta que es un grupo de pacientes muy seleccionados y que la mayoría (86%) sufrió algún episodio arrítmico a lo largo de su vida, por lo que encontrar diferencias en el pronóstico parece complicado. Bhonsale et al.¹⁷ publicaron la mayor serie de pacientes con MCAVD portadores de mutaciones, y las variantes radicales no tuvieron un peor perfil arrítmico o más mortalidad o trasplantes, aunque el perfil de estos pacientes era diferente del de los nuestros, solo el 60% eran MCAVD definitivas, el 38% presentó arritmias ventriculares y el 44% eran portadores de DAI.

La importancia de la genética en esta población viene dada por la confirmación del diagnóstico (criterio diagnóstico de la *Task Force*⁴) y en el estudio familiar, con una posible detección precoz de la enfermedad, la recomendación de evitar deportes de competición, evitar pruebas diagnósticas de repetición y el estrés del seguimiento a largo plazo de pacientes con genética negativa.

El uso del DAI en este grupo de alto riesgo se justifica claramente (indicación de clase I en la guía de práctica clínica¹²); la mayoría de los pacientes (64%) presentaron eventos arrítmicos apropiados, pero a pesar de ello hay que destacar la ausencia de mortalidad cardiovascular y total en el seguimiento y que solo 1 paciente precisó trasplante (por insuficiencia cardíaca refractaria).

Es de interés que los portadores de DAI en prevención secundaria tuvieran una menor supervivencia libre de eventos arrítmicos que aquellos en prevención primaria. Solo 1 paciente de los 6 de prevención primaria sufrió una arritmia ventricular tratada, lo que pone de relieve la difícil selección de estos pacientes, y más aún si los factores de riesgo relacionados con un peor pronóstico arrítmico se basan en estudios retrospectivos, no aleatorizados y que en su mayoría incluyeron a pacientes que ya habían tenido un evento arrítmico mayor que motivó el implante del DAI¹².

Limitaciones

Se trata de un estudio retrospectivo y unicéntrico, con un pequeño número de pacientes con MCAVD de alto riesgo, que no comparó los datos con los de moderado o bajo riesgo. Además, no se incluyen estudios *post mortem* que también tendrían un alto riesgo arrítmico.

Dada la naturaleza retrospectiva del estudio, algún factor de confusión podría afectar los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

La incidencia de variantes desmosómicas patológicas o probablemente patológicas en la MCAVD definitiva de alto riesgo es muy alta y la mayoría de ellas, radicales. La presencia de dichas

Tabla 2
Variantes desmosómicas de los pacientes del estudio

Gen	Pacientes (n)	Nomenclatura genómica	Nomenclatura cADN	Nomenclatura cADN	Mutación descrita	Tipo de variante	MAF 5000 Genomes	SIFT	Poliphen-2 (HumVar)	Mutation Taster	Clasificación
PKP2	1	NC_000012.11:g.32945647delT	NM_004572.3:c.2509delA	NP_004563.2:p.Ser837fs	Sí	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Patogénica
PKP2	3	NC_000012.11:g.33049518_33049521delTCTG	NM_004572.3:c.148_151delACAG	NP_004563.2:p.Thr50Serfs*61	Sí	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Patogénica
PKP2	1	NC_000012.11:g.32949237A>T	NM_004572.3:c.2300-5T>A		Novel	Abnormal splicing	0	N/A	N/A	N/A	Probablemente patogénica
PKP2	1	NC_000012.11:g.33003825G>T	NM_004572.3:c.1253C>A	NP_004563.2:p.Ala418Asp	Novel	Missense	0	Perjudicial (0)	Probablemente perjudicial (0,99)	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
PKP2	2	NC_000012.11:g.33030835delC	NM_004572.3:c.983delG	NP_004563.2:p.Gly328Glnfs*24	Novel	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
PKP2	1	NC_000012.11:g.32994008delC	NM_004572.3:c.1643delG	NP_004563.2:p.Gly548Valfs*15	Sí	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Patogénica
PKP2	5	NC_000012.11:g.33031040_33031041insC	NM_004572.3:c.775_776insG	NP_004563.2:p.Glu259Glyfs*77	Novel	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
PKP2	1	NC_000012.11:g.32949222_32949223delAG	NM_004572.3:c.2312_2313delTC	NP_004563.2:p.Leu771Profs*2	Novel	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
PKP2	1	NC_000012.11:g.33003841G>A	NM_004572.3:c.1237C>T	NP_004563.2:p.Arg413*	Sí	Nonsense	0,01	Tolerada (1)	N/A	Patogénica (1)	Patogénica
PKP2	1	NC_000012.11:g.33003825G>T	NM_004572.3:c.1253C>A	NP_004563.2:p.Ala418Asp	Novel	Missense	0	Perjudicial (0)	Probablemente perjudicial (0,99)	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
PKP2	2	NC_000012.11:g.32955433G>A	NM_004572.3:c.2203C>T	NP_004563.2:p.R735*	Sí	Nonsense	0	Tolerada (0,87)	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
DSG2	1	NC_000018.9:g.29104840A>G	NM_001943.3:c.1003A>G	NP_001934.2:p.Thr335Ala	Sí	Missense	0	Tolerada (0,08)	Probablemente perjudicial (0,94)	Polimorfismo (0,52)	Probablemente patogénica
DSG2	1	NC_000018.9:g.29099820C>T	NM_001943.3:c.136C>T	NP_001934.2:p.Arg46Trp	Sí	Missense	0	Perjudicial (0)	Probablemente perjudicial (0,99)	Polimorfismo (0,99)	Muy probablemente patogénica
DSG2	1	NC_000018.9:g.29102207A>T	NM_001943.3:c.685A>T	NP_001934.2:p.Arg229*	Novel	Nonsense	0	Tolerada (1)	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
DSG2	1	NC_000018.9:g.29115262G>A	NM_001943.3:c.1310G>A	NP_001934.2:p.Trp437*	Sí	Nonsense	0	Tolerada (1)	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
DSG2	1	NC_000018.9:g.29126255C>T	NM_001943.3:c.2906C>T	NP_001934.2:p.Ala969Val	Novel	Missense	0,01	Perjudicial (0,01)	Probablemente perjudicial (0,98)	Patogénica (0,96)	Probablemente patogénica
DSP	1	NC_000006.11:g.7584082C>T	NM_004415.2:c.6587C>T	NP_004406.2:p.Thr2196Ile	Novel	Missense	0	Perjudicial (0)	Posiblemente perjudicial (0,90)	Patogénica (0,96)	Probablemente patogénica
DSP	1	NC_000006.11:g.7585192_7585193insG	NM_004415.2:c.7697_7698insG	NP_004406.2:p.Val2567Cysfs*14	Novel	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica
DSP	1	NC_000006.11:g.7581741delT	NM_004415.2:c.5318delT	NP_004406.2:p.Leu1773Tyrfs*8	Sí	Frameshift	0	N/A	N/A	Patogénica (1)	Muy probablemente patogénica

DSG2: desmogleína 2; DSP: desmoplaquina; N/A: no aplicable PKP2: plakofilina 2.

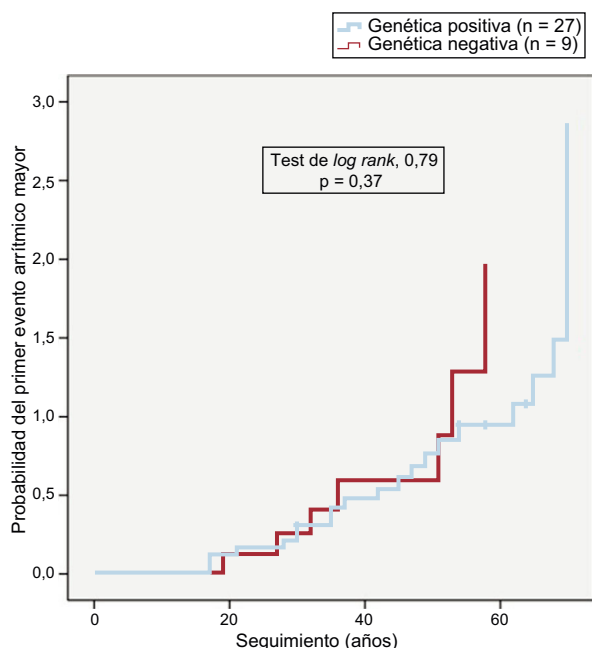


Figura 2. Curva de Kaplan-Meier que muestra la probabilidad del primer evento arritmico mayor desde el nacimiento en función de la presencia o ausencia de variantes patogénicas o probablemente patogénicas.

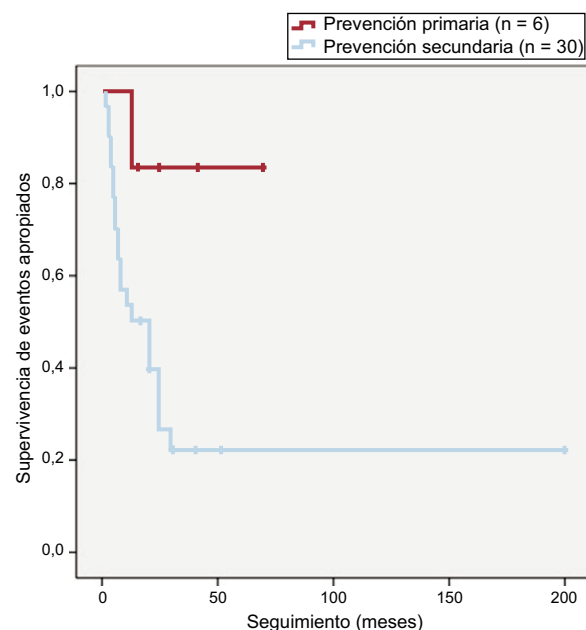


Figura 3. Curvas de Kaplan-Meier para la supervivencia libre de episodios apropiados desde el implante del desfibrilador en función de que la indicación fuera para prevención primaria o secundaria.

mutaciones o su naturaleza más desestructurada no se asociaron con características pronósticas determinadas.

Pese a tener el mismo grado de recomendación en las guías de consenso internacionales, los pacientes con MCAVD de alto riesgo en prevención primaria tienen una supervivencia libre de eventos arrítmicos significativamente mayor que aquellos en prevención secundaria.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al laboratorio de genética cardiovascular *Health in Code* su respaldo técnico para llevar a cabo este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

No se declara ninguno.

¿QUÉ SE SABE DEL TEMA?

- La MCAVD es una cardiopatía definida por la sustitución progresiva de miocardio del ventrículo derecho por tejido fibroadiposo y puede dar lugar a arritmias, muerte súbita e insuficiencia cardiaca. Actualmente, un 40–60% de los pacientes muestran al menos 1 mutación genética relacionada con la enfermedad.

¿QUÉ APORTA DE NUEVO?

- El presente estudio detecta mediante ultrasecuenciación una alta incidencia de mutaciones en genes desmosómicos asociadas con la MCAVD definitiva por criterios diagnósticos de la *Task Force* y de alto riesgo por el documento de consenso de las sociedades internacionales; la mayoría de ellas causan truncamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Marcus FI, Fontaine GH, Guiraudon G, et al. Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases. *Circulation*. 1982;65:384–398.
- Thiene G, Nava A, Corrado D, Rossi L, Penelli N. Right ventricular cardiomyopathy and sudden death in young people. *N Engl J Med*. 1988;318:129–133.
- Quarta G, Elliott PM. Diagnostic criteria for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65:599–605.
- Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the Task Force criteria. *Eur Heart J*. 2010;31:806–814.
- Rampazzo A, Nava A, Malacrida S, et al. Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Hum Genet*. 2002;71:1200–1206.
- Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace*. 2011;13:1077–1109.
- López-Moreno E, Jiménez-Jáimez J, Macías-Ruiz R, Sánchez-Millán PJ, Álvarez-López M, Tercedor-Sánchez L. Clinical Profile of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy With Left Ventricular Involvement. *Rev Esp Cardiol*. 2016;69:872–874.
- Alcalde M, Campuzano O, Sarquella-Brugada G, et al. Clinical interpretation of genetic variants in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Clin Res Cardiol*. 2015;104:288–303.
- Corrado D, Leoni L, Link MS, et al. Implantable cardioverter-defibrillator therapy for prevention of sudden death in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Circulation*. 2003;108:3084–3091.
- Link MS, Laidlaw D, Polonsky B, et al. Ventricular arrhythmias in the North American multidisciplinary study of ARVC: predictors, characteristics, and treatment. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64:119–125.
- Bhonsale A, James CA, Tichnell C, et al. Incidence and predictors of implantable cardioverter-defibrillator therapy in patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy undergoing implantable cardioverterdefibrillator implantation for primary prevention. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58:1485–1496.
- Corrado D, Wichter T, Link MS, et al. Treatment of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: an international task force consensus statement. *Eur Heart J*. 2015;36:3227–3237.
- Den Haan AD, Tan BY, Zikusoka MN, et al. Comprehensive desmosome mutation analysis in north americans with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2:428–435.

14. Christensen AH, Benn M, Bundgaard H, Tybjaerg-Hansen A, Haunso S, Svendsen JH. Wide spectrum of desmosomal mutations in Danish patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Med Genet.* 2010;47:736–744.
15. Medeiros-Domingo A, Saguner AM, Magyar I, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: implications of next-generation sequencing in appropriate diagnosis. *Europace.* 2017;19:1063–1069.
16. Mogensen J, Van Tintelen JP, Fokstuen S, et al. The current role of next-generation DNA sequencing in routine care of patients with hereditary cardiovascular conditions: a viewpoint paper of the European Society of Cardiology working group on myocardial and pericardial diseases and members of the European Society of Human Genetics. *Eur Heart J.* 2015;36:1367–1370.
17. Bhonsale A, Groeneweg JA, James CA, et al. Impact of genotype on clinical course in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated mutation carriers. *Eur Heart J.* 2015;36:847–855.