

# Monocardio

PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA SOCIEDAD CASTELLANA DE CARDIOLOGÍA



## Genética y proteómica en las enfermedades cardiovasculares

Director invitado:  
José Tuñón

[www.castellanacardio.es](http://www.castellanacardio.es)

2ª ÉPOCA: Volumen VIII  
Número 1 • 2006

# Monocardio

PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA SOCIEDAD CASTELLANA DE CARDIOLOGÍA



**EDITOR JEFE**

Dr. Luis Jesús Jiménez Borreguero

**EDITORA ADJUNTA**

Dra. Araceli Boraita Pérez

**Dirección postal**

Sociedad Castellana de Cardiología  
Avda. de Menéndez Pelayo, 67  
28009 Madrid

[www.castellanacardio.es](http://www.castellanacardio.es)

2.<sup>a</sup> ÉPOCA • VOLUMEN VIII • Número 1 • 2006

# Monocardio

PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA SOCIEDAD CASTELLANA DE CARDIOLOGÍA



**Presidente**

Dr. Venancio Palazuelos Bertó

**Vicepresidente**

Dr. Javier Enjuto Olabera

**Secretario**

Dr. Ramiro Lamiel Alcaine

**Tesorero**

Dr. Alberto Chocano Higuera

**Editor Jefe**

Dr. Luis Jesús Jiménez Borreguero

**Editora Adjunta**

Dra. Araceli Boraíta Pérez

**Vocales**

Dr. Manuel Abeytua Jiménez  
Dr. Clodoaldo Albuquerque Sacristán  
Dra. Lucía Álvarez Maluenda  
Dr. Ramón Bover  
Dr. Federico de Lombera Romero  
Dr. Diego Lorente Carreño  
Dr. Pedro Rossi Sevillano  
Dr. Rafael Salguero Bodes  
Dr. Antonio Vázquez García

**Coordinación Editorial**

AULA MÉDICA EDICIONES (Grupo Aula Médica, S. L.) 2006  
Paseo del Pintor Rosales, 26. 28008 Madrid. Tel.: 915 420 955. Fax: 915 595 172  
[www.grupoaulamedica.com](http://www.grupoaulamedica.com) • [libreriasaulamedica.com](http://libreriasaulamedica.com)

D. L.: M - 13920/1984. Soporte válido: 18/05-R-CM • ISSN: 0214-4751

2.<sup>a</sup> ÉPOCA • VOLUMEN VIII • Número 1 • 2006

# Monocardio

PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA SOCIEDAD CASTELLANA DE CARDIOLOGÍA

## Genética y proteómica en las enfermedades cardiovasculares

José Tuñón

Departamento de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid.  
Servicio de Cardiología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

### UTILIDAD DE LOS ESTUDIOS GENÉTICOS EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS DISLIPEMIAS

R. Alonso, S. Castillo y P. Mata

**Introducción. A. Hipercolesterolemias monogénicas.** Hipercolesterolemias autosómicas dominantes. Hipercolesterolemias recesivas. **B. Hipercolesterolemia poligénica. C. Hiperlipemias mixtas. D. Hipertrigliceridemias. E. Alteraciones de las HDL.** Hiperalfalipoproteinemia. Hipoalfalipoproteinemia. **Conclusiones. Bibliografía** ..... 1

### GENÉTICA DE LAS ARRITMIAS

J. M. Rubio, J. A. Cabrera, F. Sanmillán y J. Farré

**Introducción. Displasia arritmogénica ventricular derecha.** Definición. Aspectos clínicos. Diagnóstico. Tratamiento. Otras miocardiopatías arritmogénicas. Etiología y genética de la DAVD. Patogénesis de la DAVD. Otras proteínas afectadas. Relevancia clínica del análisis genético en la DAVD. **Síndrome de QT largo.** Etiopatogenia. Correlación genotipo-fenotipo. **Síndrome de Brugada.** Etiopatogenia y genética del síndrome de Brugada. **Síndrome de QT corto.** Definición y aspectos clínicos. Genética del SQTC. Taquicardias ventriculares catecolaminérgicas. Genética de las TV catecolaminérgicas. **Bibliografía** ..... 11

### SÍNDROMES DE HIPERCOAGULABILIDAD GENÉTICAMENTE DETERMINADOS

N. Tarín Vicente, J. Á. Hernández Rivas, J. Cachá Acosta, A. Criado Millán, L. Torres Madera, J. Vargas López y Á. Lavín Cobo

**Introducción. Trombofilias. Trombofilia heredada relacionada con tromboembolia venosa.** Disminución heredada de los niveles de proteínas antitrombóticas (inhibidores naturales de la coagulación). Aumento heredado de la actividad de factores protrombóticos. Otros factores de riesgo heredables. **Trombofilia heredada relacionada con trombosis arterial. Implicaciones de práctica clínica.** Tratamiento del proceso trombótico agudo. Duración de la prevención secundaria en trombofilias heredadas. Prevención antitrombótica en situaciones de riesgo. **Conclusiones. Bibliografía** ..... 22

### GENÉTICA DE LAS MIOCARDIOPATÍAS

M.ª T. Torné Esteban

**Conceptos en miocardiopatías. Conceptos en genética.** Patrones de herencia. Genética mitocondrial. Otros conceptos en genética. **Miocardiopatía hipertrófica.** Mutaciones en el filamento grueso. Mutaciones en el filamento ligero. Estudio genético para el clínico. **Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho.** Genética y patogenia. **Miocardiopatía dilatada. Conclusiones. Bibliografía** ..... 30

### PROTEÓMICA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

F. Vivanco, M.ª G. Barderas, V. M. Dardé, F. de la Cuesta, J. Egido y J. Tuñón

**Introducción. De la genómica a la proteómica. Las herramientas clásicas de la proteómica.** Electroforesis bidimensional. Cromatografía multidimensional. Espectrometría de masas. **Análisis proteómico en patología cardiovascular. Las nuevas tecnologías proteotómicas con aplicación clínica: obtención de perfiles proteicos diagnósticos.** La plataforma SELDI-TOF. Chips de proteínas. **Bibliografía** ..... 39

# Utilidad de los estudios genéticos en el diagnóstico de las dislipemias

R. Alonso<sup>1</sup>, S. Castillo<sup>2</sup> y P. Mata<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Lípidos. Departamento de Medicina Interna. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

<sup>2</sup>Laboratorio de Diagnóstico Genético. Lácer, S. A. Barcelona

## INTRODUCCIÓN

Las dislipemias son un conjunto de alteraciones del metabolismo de los lípidos, caracterizadas por un aumento o disminución de las lipoproteínas encargadas de transportar el colesterol y los triglicéridos. Pueden ser primarias (de causa genética), o bien secundarias a otra patología o trastorno metabólico como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, un consumo mayor de grasas

saturadas, etc. En la mayoría de los casos, la expresión fenotípica es el resultado de la interacción de factores genéticos y ambientales.

Desde un punto de vista clínico, la hipercolesterolemia, la hiperlipemia mixta y el colesterol HDL bajo (hipoalfalipoproteinemia), son las dislipemias más relevantes, ya que se asocian a un mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular. Por otra parte, las hipertrigliceridemias severas, especialmente las hiperquilomicronemias, se asocian a un mayor riesgo de pancreatitis aguda.

Las hiperlipemias primarias están presentes en casi un 10% de la población general, constituyendo por tanto un importante problema de salud pública. Las principales hiperlipemias genéticas y los genes implicados se describen en la tabla I.

En los últimos años, el avance en las técnicas de biología molecular ha permitido la caracterización molecular de muchas dislipemias, favoreciendo el desarrollo de herramientas para su diagnóstico rápido, y la aplicación de medidas terapéuticas más eficaces, previniendo así el desarrollo de importantes manifestaciones clínicas asociadas a estas enfermedades.

El objetivo de la presente revisión, es analizar la utilidad de los estudios genéticos en el diagnóstico de las dislipemias primarias, especialmente en aquellas relacionadas con el desarrollo de enfermedad cardiovascular.

**Tabla I Clasificación de las dislipemias genéticas y gen afecto**

	gen afecto
<b>Hipercolesterolemias puras</b>	
A. Hipercolesterolemias Monogénicas (afección de 1 gen)	
A.I. Hipercolesterolemias Autosómicas Dominantes	
Hipercolesterolemia Familiar	receptor LDL
Apo B defectuosa familiar	Apo B
Hipercolesterolemia asociada a NARC1	PCSK-9
A.II. Hipercolesterolemias Recesivas	
Hipercolesterolemia Autosómica Recesiva	ARH
Hipercolesterolemia Asociada a Sitosterolemia	ABCG5/8
B. Hipercolesterolemia Poligénica	Desconocido
<b>Hiperlipemias Mixtas</b>	
A. Hiperlipemia Familiar Combinada	Desconocido (Cr 1, 11, 16)
B. Disbetalipoproteinemia	Apo E
<b>Hipertrigliceridemias</b>	
Hipertrigliceridemia Familiar	Desconocido
Hiperquilomicronemia	LpL, C-II
<b>Hiperalfalipoproteinemias (HDL alto)</b>	
	Apo-AI, CETP, LH
<b>Hipoalfalipoproteinemias (HDL &lt; 35 mg/dL)</b>	
	ABCA1, ApoA-I, GBA

## A. HIPERCOLESTEROLEMIAS MONOGÉNICAS

### Hipercolesterolemias autosómicas dominantes

#### *Hipercolesterolemia Familiar*

La Hipercolesterolemia Familiar (HF, MIM 143890) es una de las enfermedades monogénicas más frecuente que se conoce. Representa cerca del 70% de todas las hipercolesterolemias autosómicas dominantes. Afecta por igual a varones y mujeres desde el nacimiento y tiene una elevada penetrancia. Se estima que 1 de cada 400 a 500 personas en la población general padece la variante

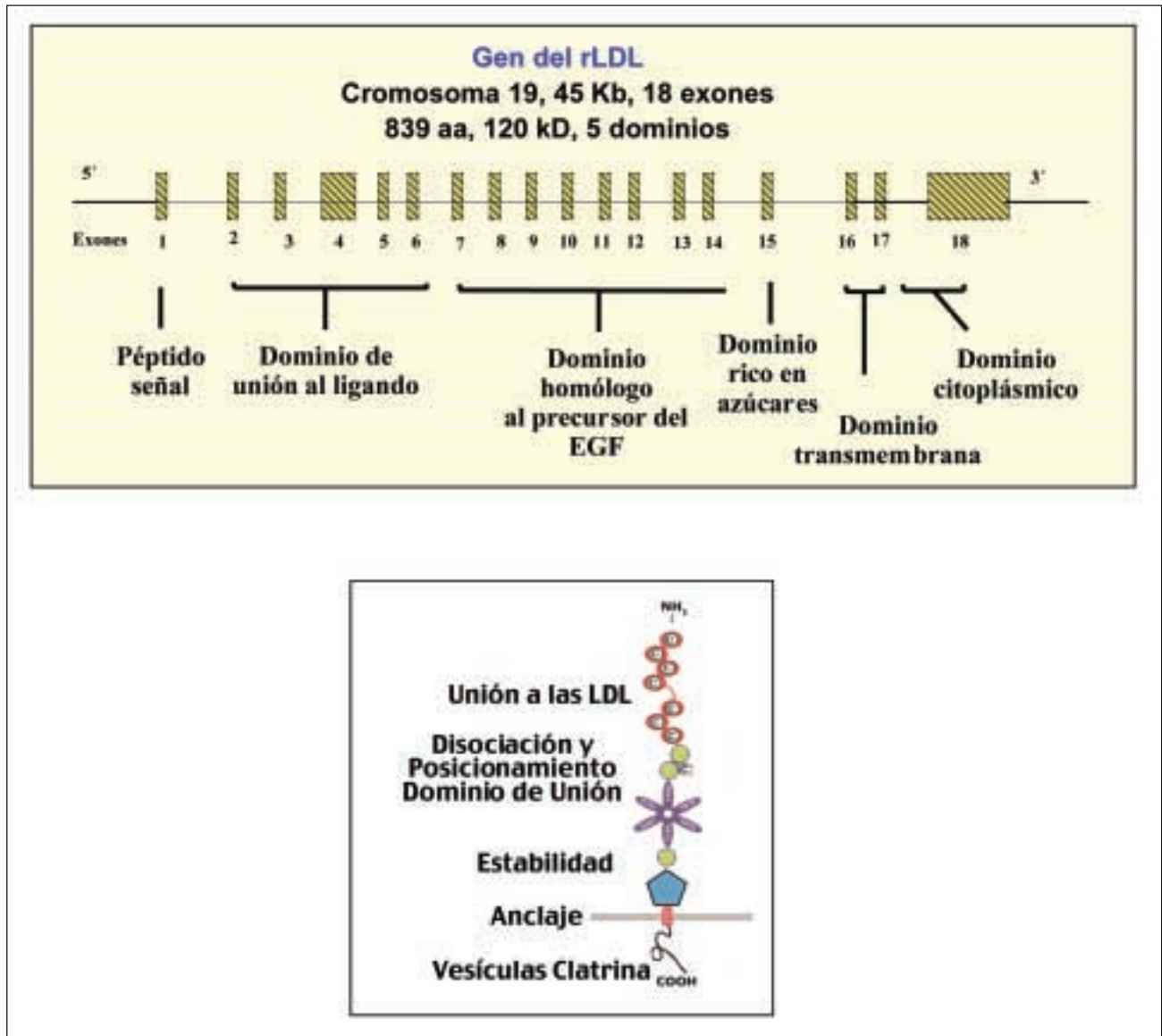


Fig. 1. — Gen del rLDL y su proteína.

heterocigota que es la forma más frecuente<sup>1,2</sup>. La forma homocigota, es muy rara y afecta a 1 cada millón de personas. La HF está causada por mutaciones en el gen del receptor de las lipoproteínas de baja densidad (rLDL), que se localiza en el brazo corto del cromosoma 19 (19p13.1) (fig. 1). Hasta la fecha se han descrito a nivel mundial más de 840 mutaciones funcionales distintas distribuidas a lo largo del gen, responsables de Hipercolesterolemia<sup>3</sup>.

La HF se caracteriza por el aumento en las concentraciones plasmáticas de colesterol y de colesterol LDL (cLDL) en al menos la mitad de los miembros de una familia afectada, asociado a una elevada incidencia de

enfermedad cardiovascular prematura especialmente coronaria. La HF no tratada acorta la esperanza de vida, entre 20 y 30 años, con respecto a la población general, ya que la mayoría de las personas que sufren esta hipercolesterolemia fallecen de enfermedad coronaria prematura (ECP)<sup>1</sup>.

En la forma heterocigota, las concentraciones de colesterol suelen superar dos veces el valor normal, y la enfermedad cardiovascular se hace evidente a partir de los 30 años. En este sentido, en el Registro Español de HF<sup>4</sup>, el 14% de las mujeres y el 31% de los varones ya habían presentado un episodio cardiovascular antes de

los 65 y 55 años de edad respectivamente, al momento de su inclusión en el registro. La edad media de aparición del primer episodio fue a los 42 años en los varones y a los 52 años en las mujeres, siendo la manifestación más severa en los primeros. En los varones, la frecuencia de enfermedad coronaria alcanzó el 55% en la década de los 50 años de edad<sup>4</sup>. Los xantomas tendinosos, aunque patognomónicos, están presente en menos del 30% de los casos con la forma heterocigota.

La HF homocigota, suele presentar concentraciones de colesterol superiores a 800 mg/dL al momento de nacer, y la aparición de xantomas y el desarrollo de estenosis aórtica y de enfermedad coronaria suele ser durante la primera década de la vida, causando la muerte de forma súbita entre los 6 y 12 años de edad<sup>1</sup>. Sin embargo, algunos casos pueden llegar a la vida adulta con escasas manifestaciones clínicas, indicando la gran variabilidad en la expresión fenotípica de este trastorno.

A pesar de ser un trastorno monogénico, las manifestaciones clínicas son muy variables, y algunas familias suelen presentar una hipercolesterolemia más severa y con una mayor incidencia de enfermedad cardiovascular que otras, indicando que además del defecto molecular causal, la interacción gen-gen y gen-ambiente son importantes para la expresión de la enfermedad.

Para el diagnóstico de la HF es fundamental una anamnesis exhaustiva, interrogando por las alteraciones lipídicas en el caso índice y en los familiares. Una distribución bimodal en los niveles de colesterol, junto a una transmisión vertical y una gran agregación familiar, sumado a los signos clínicos (xantomas tendinosos y arco corneal antes de los 45 años) y a los antecedentes de enfermedad cardiovascular prematura, apoyará el diagnóstico clínico de hipercolesterolemia familiar heterocigota. Sin embargo, la confirmación sólo se puede obtener mediante el estudio genético del paciente, al identificar la mutación en el gen del rLDL. Se ha planteado que la concentración de cLDL sería un buen predictor de HF en los familiares de un caso ya diagnosticado; sin embargo, distintos estudios han demostrado que alrededor de un 25% de los sujetos portadores de alguna mutación en el gen del rLDL no serían diagnosticados si se utiliza la concentración de cLDL como criterio diagnóstico único en los familiares<sup>5, 6</sup>.

### Diagnóstico Genético de la HF

Los métodos de diagnóstico basados en el análisis del gen del rLDL son altamente específicos. Y son los métodos recomendados por el programa internacional MedPed (Make Early Diagnosis - Prevent Early Deaths in MEDical PEDigrees) de la OMS. Recientemente, se han publicado las recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de la HF<sup>7</sup> que proponen que el diagnóstico genético debe hacerse en las siguientes circunstancias:

- a) Poblaciones donde sólo algunas mutaciones son las responsables de la mayoría de los casos de HF (por ejemplo, Líbano y Finlandia).
- b) Poblaciones donde se conocen la mayoría de los defectos causantes de HF y se dispone de las herramientas adecuadas para su detección (por ejemplo, España y Holanda).
- c) Personas procedentes de familias con mutación conocida y en las que el diagnóstico clínico es incierto.

La elevada heterogeneidad genética de la HF y el gran tamaño del gen responsable de la enfermedad, han dificultado hasta hace unos años el abordaje de su análisis genético y la aplicación de un cribado genético masivo. En España se han identificado hasta la fecha más de 250 mutaciones funcionales y distintas en el gen del rLDL que se asocian al desarrollo de HF. La mayoría de ellas corresponden a mutaciones puntuales<sup>8</sup>. Desde el año 2004, se encuentra disponible en nuestro país, el primer «ADN-chip» para el diagnóstico genético de la HF, que permite la detección de un gran número de mutaciones en un plazo de tiempo muy corto. La versión actualmente disponible es capaz de detectar 203 defectos distintos en el gen del rLDL asociados a HF y 4 mutaciones asociadas a defecto familiar de apo B 100<sup>9</sup>. Como algunos pacientes pueden tener mutaciones puntuales no incluidas aun en el ADN-chip, se ha elaborado una plataforma de detección genética (Lipochip<sup>®</sup>) que incluye la búsqueda de grandes reordenamientos y la secuenciación completa del gen, en el caso que el ADN-chip dé un resultado negativo (fig. 2).

Además de confirmar la presencia del trastorno genético, el conocimiento de la mutación casual puede ayudar en la toma de decisiones terapéuticas. La heterogeneidad que presentan los pacientes con HF en cuanto a los niveles plasmáticos de cLDL y la incidencia de enfermedad coronaria se debe en parte al tipo de mutación causal<sup>10,11</sup>. Por otra parte, la respuesta hipolipemiente al tratamiento con estatinas que se obtiene en pacientes HF heterocigotos y en algunos homocigotos, también depende en parte del tipo de mutación en el gen del rLDL<sup>12,13</sup>.

### Apo B Defectuosa Familiar

La apo B defectuosa familiar (BDF) es otro trastorno autosómico dominante que se expresa desde el nacimiento de forma similar a la HF. Sin embargo, en este caso, la mutación causal está en el gen de la Apo B100, que se localiza en el cromosoma 2. La BDF es una causa frecuente de hipercolesterolemia en centro Europa<sup>14,15</sup>, y su incidencia puede ser incluso superior a la de la HF. Así, en Suiza la frecuencia de BDF es de 1/230, mientras que la de la HF se estima en 1/500. En España es menos prevalente que la HF, y representa menos del

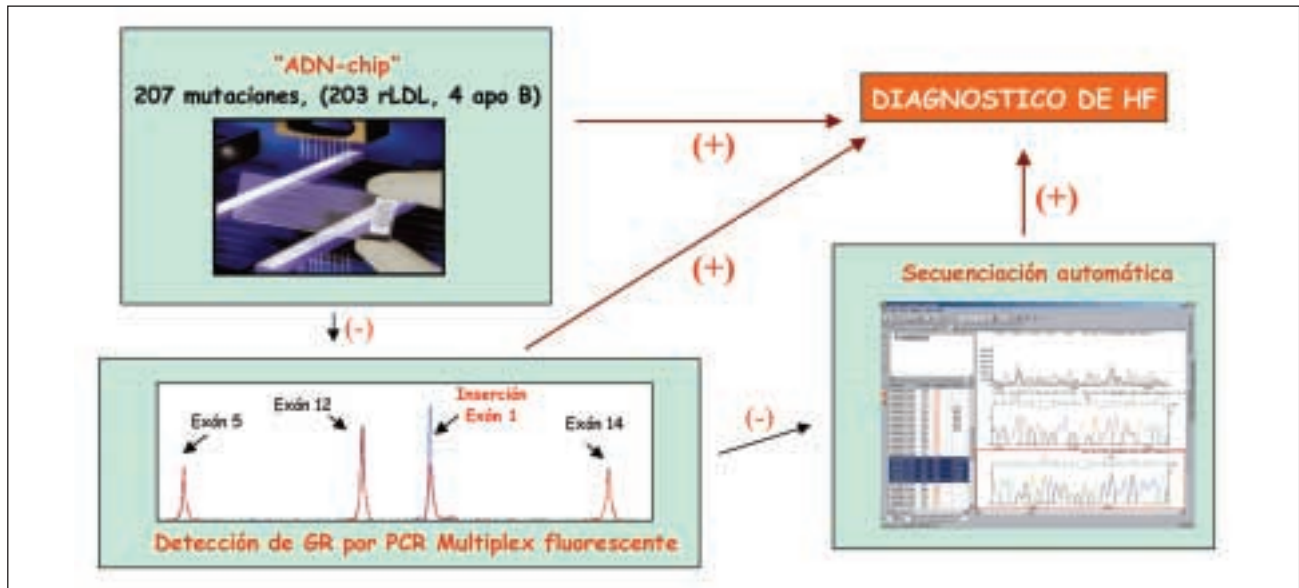


Fig. 2. — Técnicas incluidas en la plataforma Lipochip® para el diagnóstico de la HF en España.

1% de los casos con hipercolesterolemia familiar, aunque se han identificado dos regiones geográficas con una incidencia mayor como son Galicia y la franja Valenciana-turolense<sup>16, 17</sup>.

La apo B es el único componente proteico de las partículas LDL y se une específicamente al rLDL. Las mutaciones en la región de unión al rLDL (Residuos 3359-3600) son, generalmente, las responsables de este trastorno reduciendo la capacidad de unión al receptor en más de un 30%<sup>18</sup>. Además, se ha demostrado que las alteraciones en las posiciones cercanas al extremo carboxi-terminal de esta proteína, pueden afectar a la conformación global de la misma e impedir la unión de la apo B al rLDL, apareciendo el fenotipo hipercolesterolemico<sup>19</sup>.

La BDF es prácticamente indistinguible de la HF, aunque generalmente, las concentraciones de colesterol son más bajas y la incidencia de ECV es menor<sup>16, 20</sup>. Pocos defectos en el gen de la apo B están asociados a la aparición de BDF. En nuestro país, sólo se han encontrado sujetos portadores de la mutación más frecuente, la R3500Q; entre los que ya se describió un paciente homocigoto<sup>21</sup>.

#### Diagnóstico Genético en la BDF

Debido a su baja frecuencia, es complicado establecer unos criterios clínicos específicos y sensibles para el diagnóstico de la misma, ya que suele diagnosticarse clínicamente como una HF. Si se dispone de la tecnología necesaria, el diagnóstico genético de BDF debe plantearse en aquellos sujetos en los que se ha descartado

la presencia de mutaciones en el gen del rLDL o bien, analizar directamente el gen de apo B como primera opción en aquellos casos que procedan de zonas geográficas donde la prevalencia de BDF es alta<sup>16</sup>. En España, el ADN-chip de la plataforma Lipochip®, incluye 4 mutaciones distintas localizadas en el gen de la apo B y que se asocian a la presencia de BDF.

#### Hipercolesterolemia asociada a NARC1

Es una hipercolesterolemia poco frecuente e indistinguible de la HF, aunque en algunos casos las concentraciones de colesterol podrían ser más altas y el desarrollo de ECV más temprano<sup>22</sup>.

La proteína NARC-1 (Neural Apoptosis-Regulated Convertase-1) perteneciente a la familia de las convertasas, juega un papel importante en la eliminación mediante endocitosis de las partículas LDL mediada por receptor, participando así en la homeostasis del colesterol<sup>23</sup>. Se ha demostrado que el aumento de la expresión del gen PCSK9 (proteína de la subtilisina/kesina convertasa tipo 9, 1p32), que codifica la citada proteína, produce una sobreexpresión del rLDL, confirmando que la regulación de estas proteínas está muy relacionada<sup>24</sup>.

Hasta la fecha, se han detectado alrededor de quince mutaciones en el gen PCSK9 en pacientes con fenotipo de hipercolesterolemia en los que previamente se ha descartado la presencia de defectos genéticos en el gen del rLDL y de la apo B<sup>25-27</sup>. Por otra parte, hay algunas mutaciones en este gen que se han asociado con una disminución de los niveles de colesterol (hipocoles-



terolemia)<sup>28</sup>, confirmando este dato el desconocimiento que sobre la función y fisiopatología del gen de la PCSK9 existe todavía. En todo caso, la presencia de mutaciones en este gen podría explicar hasta el 12% de los casos con hipercolesterolemia<sup>29,30</sup>.

Con los datos actualmente disponibles, no sería recomendable el cribaje poblacional de este gen. Sin embargo, sería una opción en aquellos pacientes en lo que se ha descartado la presencia de otras hiperlipemias familiares, o bien cuando se quiere analizar la variabilidad en la expresión fenotípica de la HF<sup>31</sup>.

## Hipercolesterolemias recesivas

### *Hipercolesterolemia autosómica recesiva (ARH)*

Hace 30 años, Khachadurian y cols.<sup>32</sup> caracterizaron una familia de origen libanés, en la cual 4 hijos tenían la típica HF homocigota. Sin embargo, se transmitía de forma autosómica recesiva (ambos padres tenían colesterol normales). Estudios posteriores en la población de la isla Italiana de Cerdeña<sup>33</sup>, demostraron que la tasa de aclaración de las LDL era muy baja, pero que la LDL se unía, internalizaba y degradaba normalmente por los fibroblastos de los pacientes<sup>34,35</sup>.

Este defecto se conoce actualmente como hipercolesterolemia autosómica recesiva<sup>36</sup>, y está causado por la presencia de mutaciones en el gen que codifica la proteína estabilizadora/adaptadora del rLDL (1p36-p35). Esta proteína interviene en el proceso de incorporación del complejo LDL-rLDL al interior de las vesículas recubiertas de clatrina<sup>35</sup>. Hasta la fecha se han descrito unas 15 mutaciones en el gen que codifica esta proteína que se organiza en 9 exones<sup>34,37,38</sup>. También, la ARH ha sido asociada a otro locus localizado en el cromosoma 15<sup>39</sup>.

La prevalencia de este trastorno es muy baja, y está cifrada en 1/10.000.000 en población general<sup>1</sup>. La mayoría de las familias descritas son de origen Italiano (Cerdeña), Libanes, Turco y Sirio. Desde el punto de vista clínico, la ARH cursa con unas concentraciones de colesterol plasmático intermedias entre la HF heterocigota y homocigota. La concentración de triglicéridos es normal, y un tercio de los casos presenta concentraciones de cHDL inferiores a 40 mg/dL. Un hecho interesante en la ARH es la presencia de grandes xantomas tuberosos, tendinosos o planos presentes desde la infancia. Al igual que los pacientes con HF homocigota, los que padecen ARH tienen una elevada incidencia de enfermedad coronaria prematura<sup>38</sup>. Sin embargo, la estenosis aórtica aparece más tardíamente. Por otra parte, a diferencia de las HF homocigota, los pacientes con este trastorno responden significativamente al tratamiento farmacológico con estatinas y ezetimiba<sup>38</sup>. Por esto es importante hacer el diagnóstico diferencial mediante análisis genético.

### *Hipercolesterolemia asociada a sitosterolemia*

La sitosterolemia es un trastorno genético recesivo muy raro, caracterizado por una elevación importante de los esteroides vegetales en plasma, la presencia de xantomas tendinosos desde la infancia y una elevada incidencia de enfermedad cardiovascular, que suele manifestarse como angina, infarto de miocardio o muerte súbita desde los 5 años de edad. Por esto se le conoce con el nombre de hipercolesterolemia pseudohomocigota<sup>40</sup>. Además, hay alteraciones en los hemáties, hemólisis y trombocitopenia. Suelen tener el colesterol total normal o discretamente elevado, pero la relación de esteroides vegetales/colesterol total en plasma es muy alta. Estos datos apoyan la idea que los sitosteroides pueden ser muy nocivos para la pared vascular.

Se han identificado dos genes adyacentes localizados en el cromosoma 2 (región 2p21) que codifican las proteínas ABCG5 y ABCG8, que son las encargadas del transporte de los esteroides (especialmente el sitosterol) al interior del lumen intestinal y de su excreción al ducto biliar<sup>41</sup>. Las mutaciones en uno de estos 2 genes son las responsables de este trastorno<sup>40</sup>. Invariablemente, los pacientes deben ser homocigotos para la condición. No se han descrito pacientes con sitosterolemia que tengan mutaciones en los dos genes. Los casos heterocigotos no presentan síntomas clínicos, pero pueden tener un moderado aumento en la absorción de esteroides.

En condiciones normales, menos del 4% del sitosterol procedente de la dieta es absorbido. En pacientes con sitosterolemia, esta absorción es superior al 60%, por lo que se acumula en plasma<sup>40</sup>. Un hecho característico de este trastorno es la buena respuesta a la restricción dietética de esteroides vegetales, y al uso de resinas o ezetimiba.

Desde el punto de vista clínico, la aparición de xantomas generalizados, del tipo eruptivo o tuberoso en la infancia suele orientar al diagnóstico de estos pacientes; aunque es necesaria la determinación de los niveles plasmáticos de esteroides vegetales para la confirmación del diagnóstico. Desde el punto de vista genético, en población caucásica, la mayoría de las mutaciones se producen en el gen ABCG8<sup>42,43</sup>, y el análisis genético es solo con fines diagnósticos y de investigación.

## B. HIPERCOLESTEROLEMIA POLIGÉNICA

La hipercolesterolemia poligénica es la hiperlipemia primaria más frecuente que se conoce y afecta al 5% de la población general. Se desconoce la causa molecular de la misma, y parece ser que su fenotipo es el resultado de la interacción de varios genes y determinados factores ambientales como son la edad, la dieta, etc.<sup>44</sup>.

La hipercolesterolemia poligénica se caracteriza por la elevación moderada del colesterol en plasma (no suelen superarse cifras de 300 mg/dl) en edades adultas, y

**Tabla II Criterios diagnósticos de la Hiperlipemia familiar combinada**

**FAMILIA AFECTA:**

1. Dos o más miembros de primer grado afectados de hiperlipemia mixta, o de combinaciones de fenotipos, entre hipercolesterolemia pura (II a), hiperlipemia mixta (II b) o hipertrigliceridemia (IV).

*Exclusión:*

- a) Presencia de xantomas tendinosos en la familia.
- b) Concentraciones de c-LDL > 300 mg/dL en dos o más familiares de primer grado con fenotipo IIa.

**DIAGNÓSTICO DE MIEMBRO AFECTO:**

1. En adultos, colesterol total (CT) por encima de 240 mg/dL (o c-LDL > 160 mg/dL) y/o triglicéridos (Tg) por encima de 200 mg/dL. En menores de 20 años, CT > 200 mg/dL (o c-LDL > 130 mg/dL) y/o TG > 120 mg/dL
2. Descartar causas secundarias:
  - a) Índice de masa corporal (IMC) > 35 kg/m<sup>2</sup>.
  - b) HbA1C > 10% (en sujetos con hiperlipemia mixta o hipertrigliceridemia).
  - c) Hipotiroidismo no controlado.
  - d) Consumo de alcohol > 40 g/día.

Fuente: Red temática en Hiperlipemias genéticas del Instituto de Salud Carlos III.

del riesgo cardiovascular a partir de los 55 años de edad.

Tan sólo un 15-20% de los familiares presentan también hipercolesterolemia lo que dificulta el diagnóstico de este defecto, que generalmente viene dado de la exclusión de otros tipos de dislipemias con diagnóstico más sencillo.

### C. HIPERLIPEMIAS MIXTAS

#### Hiperlipemia familiar combinada

La Hiperlipemia familiar combinada (HFC) afecta a un 1-2% de la población general. Se transmite de forma autosómica dominante; sin embargo, aun no se conoce la causa genética responsable de la misma, aunque se han identificado una serie de genes/regiones cromosómicas que parecen estar implicadas en la expresión del trastorno. Desde el punto de vista clínico se caracteriza por una expresión variable en la familia, observándose aumentos de los niveles de colesterol y/o triglicéridos generalmente a partir de la segunda década de la vida<sup>45</sup> (tabla II). Los niveles de cHDL suelen ser bajos y la hiperapobetalipoproteinemia, definida por concentraciones

de apo B > 130 mg/dl, es un hallazgo frecuente que corresponde a un aumento de partículas VLDL y LDL en este trastorno<sup>46</sup>. La HFC se caracteriza también por una elevada incidencia de ECV<sup>47, 48</sup>. Aproximadamente el 20% de los sujetos con infarto de miocardio o ECP presentan una HFC y hasta un 40% cuando se consideran todos los supervivientes de un infarto de miocardio<sup>49, 50</sup>. Los xantomas no están presentes en esta enfermedad. Además, la HFC suele asociarse también a hipertensión arterial, obesidad, y diabetes mellitus tipo 2 en un 30% de los casos.

Desde el punto de vista genético, la HFC es un claro ejemplo de interacción gen-ambiente. Aunque se desconoce la existencia de un locus mayor responsable de la misma, numerosos estudios han demostrado la asociación de distintas regiones cromosómicas con algunos parámetros que se asocian a la hiperlipemia<sup>51, 52</sup>. Así, el clúster APOA1/C3/A4/A5 localizado en el cromosoma 1(1q21-23), se ha asociado con variaciones en los niveles de HDL y TG<sup>53</sup>. La región 11p14 (11p14.1-q12.1) contiene un marcador genético que parece relacionarse con la resistencia a insulina y con variaciones en los niveles de colesterol, parámetros que están alterados en la HFC<sup>54</sup>.

Por último, se ha encontrado una fuerte asociación entre HFC y una región localizada en el cromosoma 16 (16q22-24.1). Parece ser que esta zona es responsable en parte de los bajos niveles de HDL encontrados en los sujetos con HFC<sup>55</sup>. Otras regiones que parecen intervenir en la heterogeneidad clínica de esta enfermedad se circunscriben a los cromosomas 8 y 1 (8p23 y 1p31)<sup>56, 57</sup>.

El diagnóstico clínico es, en estos momentos, el único que puede aplicarse para esta dislipemia. La elevada heterogeneidad clínica de la enfermedad dificulta el diagnóstico y por ello, en cada población se han establecido unos criterios específicos. En nuestro país se han consensuado unos criterios clínicos para facilitar la detección de estas familias.

#### Hiperlipoproteinemia Tipo III o Disbetalipoproteinemia

La Hiperlipoproteinemia tipo III (HLP tipo III) es una enfermedad genética que se presenta como una hiperlipemia mixta, con elevación de los niveles de colesterol y triglicéridos que pueden alcanzar los 500 mg/dl<sup>58</sup>. La HLP tipo III aparece en 1 cada 5000-10.000 sujetos y aproximadamente el 1% de los pacientes con enfermedad coronaria prematura presenta esta hiperlipemia. Es más frecuente en hombres que en mujeres, donde se manifiesta en edades postmenopáusicas<sup>59</sup>. Los xantomas estriados palmares, que aparecen casi en menos del 50% de los casos, son patognómicos de la HLP tipo III<sup>58</sup>. La cardiopatía isquémica es la causa principal de muerte en la HLP tipo III pero, a diferencia de la HF, la afectación vascular suele ser menos selectiva sobre las

arterias coronarias, y en el momento del diagnóstico, el 50% de los sujetos tienen síntomas en los territorios coronarios, cerebrovascular y en extremidades inferiores<sup>60</sup>.

Desde el punto de vista genético, es necesaria la presencia del genotipo E2/E2 en un sujeto para que expresen el fenotipo. La apolipoproteína E, interviene activamente en la maduración y eliminación de las partículas remanentes de VLDL. Las partículas  $\beta$ -VLDL que tienen esta isoforma de apo E, no son aclaradas suficientemente por el hígado y se acumulan en sangre. La frecuencia del genotipo E2/E2 es del 1%, pero solo 1 de cada 50 homocigotos presentan la disbetalipoproteínea. Se presenta como una enfermedad autosómica de penetrancia incompleta aunque si existen determinadas mutaciones en apo E se puede dar el caso de una transmisión dominante<sup>61</sup>. Se requiere la coexistencia de interacciones gen-gen o gen-ambiente para que se exprese. Entre estos últimos destacan la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la obesidad, etc...

El diagnóstico genético de esta hiperlipemia se realiza mediante la caracterización del genotipo de apo E o bien mediante la identificación de alguna de las más de 20 mutaciones distintas localizadas en el gen de la apo E que están asociadas a hiperlipemia mixta.

## D. HIPERTRIGLICERIDEMIAS

### Hipertrigliceridemia familiar

Es una enfermedad autosómica dominante que afecta a 1 cada 100-200 personas en la población general; se caracteriza por la elevación moderada de los niveles de TG, que pueden alcanzar niveles de 200 a 500 mg/dl. Generalmente, se presenta a partir de los 20 años y está causada bien por una superproducción de partículas VLDL o bien un catabolismo defectuoso de las mismas. Clínicamente, suele estar asociada a obesidad, intolerancia a la glucosa e hiperuricemia. En ocasiones, en los casos de TG muy elevados (generalmente superiores a 1000 mg/dl) suele aparecer dolor abdominal recurrente y pancreatitis<sup>62</sup>.

Desde el punto de vista genético, se desconoce el mecanismo molecular que subyace a esta enfermedad. Su diagnóstico suele efectuarse basándose en criterios clínicos y probablemente, muchos de estos casos corresponden a hiperlipemias familiares combinadas lo que condiciona un mayor riesgo cardiovascular.

### Hiperquilomicronemia

La elevación de los niveles de quilomicrones en ayunas se conoce con el nombre de hiperquilomicronemia. Es una enfermedad autosómica recesiva poco frecuente, causada por alteraciones en los genes de la lipoproteína lipasa (LPL) endotelial que se localiza en el cromosoma

8 (déficit familiar de LPL) o bien de la apo C-II, su cofactor enzimático, que se localiza en el cromosoma 19. (Déficit familiar de apo C-II)<sup>63,64</sup>. En ambos casos, la enfermedad se manifiesta por hiperquilomicronemia, xantomas eruptivos en la piel y episodios de dolor abdominal recurrente secundarios a pancreatitis<sup>64</sup>.

Se han detectado unas 50 alteraciones responsables del déficit familiar de LPL, y unas 10 de la apo C-II. El primer defecto se detecta bioquímicamente por la baja actividad lipolítica del suero tras inyección con heparina; y el de la apo C-II, porque la actividad lipolítica en suero revierte al añadir una fuente exógena de apo C-II.

## E. ALTERACIONES DE LAS HDL

### Hiperalfalipoproteinemia

La elevación de las concentraciones de cHDL por encima del percentil 90 se denomina hiperalfalipoproteinemia<sup>65</sup> que generalmente, está asociada a una disminución del riesgo cardiovascular. Se evidencia un aumento de la concentración de los niveles de apo A-I, aunque se desconoce si este último hecho se debe a un aumento de la síntesis de HDL o una disminución de su catabolismo. Las causas de hiperalfalipoproteinemia son genéticas y ambientales; entre las primeras destacan la hiperproducción de apo A-I<sup>66</sup>, el déficit de Lipasa Hepática<sup>67</sup> o el déficit de CETP («Proteína transferidora de ésteres de colesterol»)<sup>68</sup>.

Aunque la elevación de los niveles de cHDL se asocia a una disminución del riesgo cardiovascular; en algunos casos, como en el déficit de CETP parece que la cantidad de partículas de HDL presentes no es tan importante como para que puedan llevar a cabo su función de transporte de colesterol correctamente, y esto explicaría el aumento de riesgo CV encontrado en algunos estudios<sup>69</sup>.

Estas alteraciones son defectos raros, si bien el déficit familiar de CETP es una enfermedad frecuente en Japón, afectando al 2% de la población y siendo la principal causa de cHDL elevado<sup>70</sup>. Al contrario de lo que cabría esperar, el diagnóstico de estas alteraciones es importante porque algunas de ellas, pese a cursar con elevación de los niveles de cHDL, pueden estar asociadas a un mayor riesgo cardiovascular<sup>69</sup>.

### Hipoalfalipoproteinemia

Se habla de hipoalfalipoproteinemia cuando las concentraciones de cHDL son inferiores a 35 mg/dl, y desde el punto de vista epidemiológico supone un mayor riesgo cardiovascular. Las hipoalfalipoproteinemias de base genética se caracterizan, en menor o mayor medida, por la disminución de los niveles de cHDL hasta cifras prácticamente indetectables como consecuencia de la presencia de mutaciones en distin-

tos genes: ABCA1 (Enfermedad de Tangier e hipoalfalipoproteinemia familiar)<sup>71</sup>, Apo A-I (Déficit familiar de apo A-I)<sup>72</sup> o el gen de la glucocerebrosidasa ácida (GBA, Enfermedad de Gaucher)<sup>73</sup>.

La presencia de mutaciones en estos genes y su caracterización, explican solo el 15% de los casos con hipoalfalipoproteinemia y la identificación de otros genes, es importante ya que tienen un elevado riesgo de padecer eventos cardiovasculares<sup>74, 75</sup>.

El análisis de determinadas familias con niveles bajos de cHDL y apo A-I ha llevado a la identificación de determinadas regiones cromosómicas que muestran asociación con este fenotipo, como son las localizadas en los cromosomas: 7, 3, 11, 16 y 20<sup>76, 77</sup>.

Así como no todo cHDL alto es predictor de un menor riesgo cardiovascular, tampoco todo cHDL bajo implica un mayor riesgo. En este sentido, se ha descrito la presencia de una mutación en la apo A-I, conocida como Apo A-I Milano, que condiciona concentraciones de cHDL muy bajas y sin embargo, no hay evidencia de desarrollo de enfermedad cardiovascular<sup>72</sup>.

## CONCLUSIONES

El conocimiento de las causas genéticas de muchas dislipemias ha permitido en los últimos años, un abordaje diagnóstico y terapéutico más individualizado. La mayoría de las dislipemias que cursan con hipercolesterolemia, hiperlipemia mixta y/o cHDL bajo suponen un mayor riesgo cardiovascular. El conocimiento de los factores genéticos y ambientales y su interrelación han permitido conocer en parte el riesgo atribuible a los mismos para el desarrollo de enfermedad cardiovascular. Los grandes avances en el diagnóstico genético de las hiperlipemias se ha dado en el campo de la Hipercolesterolemia Familiar. En España se han identificado más de 250 mutaciones diferentes causales de HF, y actualmente pueden diagnosticarse de forma rápida y segura mediante una plataforma diagnóstica que incluye el primer ADN-chip diseñado para ese fin. El conocimiento de la causa genética de la HF permitirá en parte predecir el riesgo genético de una persona y su familia y la respuesta terapéutica a las medidas dietéticas y farmacológicas.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a fondos de la Red Temática de Investigación en Hiperlipemias Genéticas G03/181 del Instituto de Salud Carlos III y a la Fundación Hipercolesterolemia Familiar.

## BIBLIOGRAFÍA

- Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS: The metabolic and molecular basis of inherited disease. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly

- WS y Valle D editors. Familial Hypercholesterolemia. New York, McGraw-Hill 2001, 120: p. 2863.
- Marks D, Thorogood M, Neil H, Humphries S: A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2003, 168: 1-14.
- Villegier L, Abifadel M, Allard D, Rabes J, Thiart R, Kotze M y cols.: The UMD-LDLR database: additions to the software and 490 new entries to the database. *Hum Mutat* 2002, 20: 81-87.
- Alonso R, Castillo S, Civeira F, Puzo J, Cruz J, Pocovi M y cols.: Hipercolesterolemia familiar heterocigota. Estudio descriptivo de 819 casos no relacionados. *Med Clin (Barc)* 2002, 118: 487-492.
- ten Asbroek A, van de Mheen P, Defesche J, Kastelein J, Gunnig-Shepers L: Results from a family and DNA based active identification programme for familial hypercholesterolemia. *J Epidemiol Community Health* 2001, 55: 500-502.
- Damgaard D, Larsen M, Nissen P, Jensen J, Jensen H, Sorensen V y cols.: *Atherosclerosis* 2005; 180: 155-160.
- Civeira F: Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2004, 173: 55-68.
- Mozas P, Castillo S, Tejedor D, Reyes G, Alonso R, Franco M y cols.: Molecular Characterization of Familial Hypercholesterolemia in Spain: Identification of 39 Novel and 77 Recurrent Mutations in LDLR. *Human Mutat* 2004, 24: 187.
- Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT y cols.: A reliable low density DNA-array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clinical Chemistry* 2005, 51: 1137-1144.
- Gudnason V, Day IN, Humphries: Effect on plasma lipid levels of different classes of mutations in the low density lipoprotein receptor gene in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1994; 14: 1717-1722.
- Umans-Eckenhausen M, Sijbrands E, Kastelein J, Defesche J: Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Mutations and Cardiovascular Risk in a Large Genetic Cascade Screening Population. *Circulation* 2002, 106: 3031-6.
- Jeenah M, September W, Graadt van Roggen F, de Villiers W, Seftel H, Marais D: Influence of specific mutations at the LDL-receptor gene locus on the response to simvastatin therapy in Afrikaner patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1993; 98: 51-58.
- Sijbrands EJ, Lombardi MP, Westendorp RG, Leuven JA, Meinders AE, Van der Laarse A y cols.: Similar response to simvastatin in patients heterozygous for familial hypercholesterolemia with mRNA negative and mRNA positive mutations. *Atherosclerosis* 1998; 136: 247-254.
- Miserez AR, Laager R, Chiodetti N, Keller U: High prevalence of familial defective apolipoprotein B-100 in Switzerland. *J Lipid Res* 1994, 35: 574-583.
- Kotze MJ, Peeters AV, Langenhoven E, Wauters J, van Gaal L: Phenotypic expression and frequency of familial defective apolipoprotein B-100 in Belgian hypercholesterolemics. *Atherosclerosis* 1994, 111: 217-225.
- Castillo S, Tejedor D, Mozas P, Reyes G, Civeira F, Alonso R y cols.: The apolipoprotein B R3500Q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2002, 165: 127-135.
- Ejarque I, Real JT, Chaves FJ, Blesa S, Gonzalez V, Milián E y cols.: Clinical and biochemical characteristics of familial ligand-defective apo B-100 in a South European population. *Med Clin (Barc)* 2004, 123: 456-9.
- Boren J, Lee I, Zhu W, Arnold K, Taylor S, Innerarity T: Identification of the low density lipoprotein receptor-binding site in apolipoprotein B100 and the modulation of its binding activity by the carboxyl terminus in familial defective apo-B100. *J Clin Invest* 1998, 101: 1084-1093.

19. Boren J, Ekstrom U, Agren B, Nilsson-Ehle P, Innerarity T: The molecular mechanism for the genetic disorder familial defective apolipoprotein B100. *J Biol Chem* 2001, 276: 9214-9218.
20. Brugger D, Schuster H, Zollner N: Familial hypercholesterolemia and familial defective apolipoprotein B-100: comparison of the phenotypic expression in 116 cases. *Eur J Med Res* 1996, 24: 383-386.
21. Ejarque I, Civer M, Ascaso J, Knecht E, Armengod E, Carmena R y cols.: Identification and characterization of the first Spanish familial ligand-defective apolipoprotein B homozygote. *Med Clin* 2001, 116: 138-141.
22. Naoumova RP, Tosi I, Patel D, Neuwirth C, Horswell S, Marais A y cols.: Severe hypercholesterolemia in four British families with the D374Y mutation in the PCSK9 gene: long-term follow-up and treatment response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25: 2654-2660.
23. Park SW, Moon YA, Horton JD: Post-transcriptional regulation of low-density lipoprotein receptor protein by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9a in mouse liver. *J Biol Chem* 2004, 279: 50630-50638.
24. Dubuc G, Chamberland A, Wassef H, Davignon J, Seidah N, Bernier L y cols.: Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004, 24: 1454-1459.
25. Timms KM, Wagner S, Samuels ME, Forbey K, Goldfine H, Jammulapati S y cols.: A mutation in PCSK9 causing autosomal-dominant hypercholesterolemia in a Utah pedigree. *Hum Genet* 2004, 114: 349-353.
26. Allard D, Amsellem S, Abifadel M, Trillard M, Devillers M, Luc G y cols.: Novel mutations of the PCSK9 gene cause variable phenotype of autosomal dominant hypercholesterolemia. *Hum Mutat* 2005, 26:497.
27. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Deviller M y cols.: Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003, 34: 154-156.
28. Berge KE, Ose L, Leren TP: Missense Mutations in the PCSK9 Gene Are Associated With Hypocholesterolemia and Possibly Increased Response to Statin Therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, (en prensa).
29. Shioji K, Mannami T, Kokubo Y, Inamoto N, Takagi S, Goto Y y cols.: Genetic variants in PCSK9 affect the cholesterol level in Japanese. *J Hum Genet* 2004, 49: 109-114.
30. Leren TP: Mutations in the PCSK9 gene in Norwegian subjects with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Clin Genet* 2004, 65: 419-422.
31. Pisciotta L, Oliva CP, Cefalu AB, Discala L, Bellocchio A y cols.: Additive effect of mutations in LDLR and PCSK9 genes on the phenotype of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2005 (en prensa).
32. Khachadurian AK, Uthman SM: Experiences with the homozygous cases of familial hypercholesterolemia. A report of 52 patients. *Nutr Metab* 1973, 15: 132-140.
33. Arca M, Zuliani G, Wilund K, Campagna F, Fellin R, Bertolini S y cols.: Autosomal recessive hypercholesterolaemia in Sardinia, Italy, and mutations in ARH: a clinical and molecular genetic analysis. *Lancet* 2002 359: 841-847.
34. García CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M y cols.: Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science* 2001, 292: 1394-1398.
35. Sirinian MI, Belleudi F, Campagna F, Ceridono M, Garafolo T, Quagliariini F y cols.: Adaptor protein ARH is recruited to the plasma membrane by low-density lipoprotein (LDL) binding and modulates endocytosis of the LDL/LDL receptor complex in hepatocytes. *J Biol Chem* 2005, 280: 38416-38423.
36. Zuliani G, Vigna GB, Corsini A, Maioli M, Romagnoni F, Fellin R: Severe hypercholesterolaemia: unusual inheritance in an Italian pedigree. *Eur J Clin Invest* 1995, 25: 322-331.
37. Cohen JC, Kimmel M, Polanski A, Hobbs HH: Molecular mechanisms of autosomal recessive hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol* 2003, 14: 121-127.
38. Soutar AK, Naoumova RP, Traub LM: Genetics, clinical phenotype, and molecular cell biology of autosomal recessive hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, 23: 1963.
39. Ciccicarese M, Pacifico A, Tonolo G, Pintus P, Nikoshkov A, Zuliani G y cols.: A new locus for autosomal recessive hypercholesterolemia maps to human chromosome 15q25-q26. *Am J Hum Genet* 2000, 66: 453-60.
40. Wang J, Joy T, Mymin D, Frohlich J, Hegele RA: Phenotypic heterogeneity of sitosterolemia. *J Lipid Res* 2004, 45: 2361-2367.
41. Lu K, Lee MH, Hazard S, Brooks-Wilson A, Hidaka H, Krojima H y cols.: Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet* 2001, 69: 278-290.
42. Heimerl S, Langmann T, Moehle C, Mauerer R, Dean M, Beil F y cols.: Mutations in the human ATP-binding cassette transporters ABCG5 and ABCG8 in sitosterolemia. *Hum Mutat* 2002, 20: 151.
43. Hubacek JA, Berge KE, Cohen JC, Hobbs HH: Mutations in ATP-cassette binding proteins G5 (ABCG5) and G8 (ABCG8) causing sitosterolemia. *Hum Mutat* 2001, 18: 359-360.
44. Miserez AR, Muller PY, Barella L, Barella S, Staehelin H, Leitersdorf E y cols.: Sterol-regulatory element-binding protein (SREBP)-2 contributes to polygenic hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2002, 164: 15-26.
45. Goldstein JL, Hazzard WR, Schrott HG, Bierman EL, Motulsky AG: Hyperlipidemia in coronary heart disease: II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973; 52: 1533-1543.
46. McNeely MJ, Edwards KL, Marcovina SM, Brunzell J, Motulsky A, Austin M: Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia: a 20-year prospective study. *Atherosclerosis* 2001, 159: 471-481.
47. Porkka KV, Nuotio I, Pajukanta P, Ehnholm C, Suurinkeroinen L, Svanne M y cols.: Phenotypic expression in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1997, 133: 245-253.
48. Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, Province M, Pankow J, Eckfeldt J y cols.: Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial hypertriglyceridemia: a case-control comparison from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation* 2003 108: 519-523.
49. Veerkamp MJ, de Graaf J, Bredie SJH, Hendriks JCM, Demacker PNM, Stalenhoef AFH: Diagnosis of familial combined hyperlipidemia based on lipid phenotype expression in 32 families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 274-282.
50. Genest JJ, Martin Munley SS, McNamara JR, Ordovas JM, Jenner J, Myers RH y cols.: Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992; 85: 2025-2033.
51. Shoulders CC, Jones EL, Naoumova RP: Genetics of familial combined hyperlipidemia and risk of coronary heart disease. *Hum Mol Genet* 2004, 1: R149-160.
52. Pajukanta P, Terwilliger JD, Perola M, Hiekkalinna T, Nuotio I, Ellonen P y cols.: Genome wide scan for familial combined hyperlipidemia genes in Finnish families, suggesting multiple susceptibility loci influencing triglyceride, cholesterol, and apolipoprotein B levels. *Am J Hum Genet* 1999, 64: 1453-1463.
53. Mar R, Pajukanta P, Allayee H, Groennendijk M, Dallinga-Thie G, Krauss RM y cols.: Association of the APOLIPOPROTEIN A1/C3/A4/A5 gene cluster with triglyceride levels and LDL particle size in familial combined hyperlipidemia. *Circ Res* 2004, 94: 993-999.
54. Aouizerat BE, Allayee H, Cantor RM, Davis RC, Lanning CD, Wen PZ y cols.: A genome scan for familial combined hyperlipi-

- demia reveals evidence of linkage with a locus on chromosome 11. *Am J Hum Genet* 1999, 65: 397-412.
55. Soro A, Pajukanta P, Lilja HE, Ylitalo K, Hiekkalinna T, Perola M et al. Genome scans provide evidence for low-HDL-C loci on chromosomes 8q23, 16q24.1-24.2, and 20q13.11 in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2002, 70:1333-1340.
  56. Naoumova RP, Bonney SA, Eichenbaum-Voline S, Patel HN, Jones B, Amey J y cols.: Confirmed locus on chromosome 11p and candidate loci on 6q and 8p for the triglyceride and cholesterol traits of combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, 23: 2070-2077.
  57. Allayee H, Krass KL, Pajukanta P, Cantor RM, van der Kallen C, Mar R y cols.: Locus for elevated apolipoprotein B levels on chromosome 1p31 in families with familial combined hyperlipidemia. *Circ Res* 2002, 90: 926-931.
  58. Mahley RW, Rall SC: Type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): The role of apolipoprotein E in normal and abnormal lipoprotein metabolism. En: Sriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle eds. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases*. 7<sup>th</sup> ed. New York, McGraw-Hill 1995. p: 1953-1980.
  59. Mahley RW, Huang Y, Rall SC Jr: Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia). Questions, quandaries, and paradoxes. *J Lipid Res* 1999 40: 1933-1949.
  60. Dornmeyer J, Lohrmann J, Feusner G: Prevalence and association of atherosclerosis at three different arterial sites in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1996: 119: 89-98.
  61. Civeira F, Pocoví M, Cenarro A, Casao E, Vilella E, Joven J y cols.: Apo E variants in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1996 127: 273-282.
  62. Sloop GD: Familial hypertriglyceridemia. *Metabolism* 2001, 50: 989-90.
  63. Reina M, Brunzell JD, Deeb SS: Molecular basis of familial chylomicronemia: mutations in the lipoprotein lipase and apolipoprotein C-II genes. *J Lipid Res* 1992, 33: 1823-1832.
  64. Brunzell J: Familial lipoprotein lipase deficiency and other causes of chylomicronemia syndrome. En: *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*. Edit: Scriver CL, Beaudet A, Sly W, Valle D. Six ed. McGraw-Hill, New York. 1989: 1165.
  65. Glueck CJ, Fallat RW, Millett F, Gartside P, Elston R, Go RC: Familial hyper-alpha-lipoproteinemia: studies in eighteen kindreds. *Metabolism* 1975, 24: 1243-1265.
  66. Pagani F, Sidoli A, Giudici GA, Barenghi L, Vergani C, Baralli FE: Human apolipoprotein A-I gene promoter polymorphism: association with hyperalphalipoproteinemia. *J Lipid Res* 1990, 31: 1371-1377.
  67. Breckenridge WC, Little JA, Alaupovic P, Wang CS, Kuksis A, Kakis G y cols.: Lipoprotein abnormalities associated with a familial deficiency of hepatic lipase. *Atherosclerosis* 1982, 45: 161-179.
  68. Inazu A, Brown ML, Hesler CB, Agellon L, Koizumi, Takata K y cols.: Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med* 1990, 323: 1234-1238.
  69. Ishigami M, Yamashita S, Sakai N, Arai T, Hirano K, Hiraoka H y cols.: Large and cholesteryl ester-rich high-density lipoproteins in cholesteryl ester transfer protein (CETP) deficiency can not protect macrophages from cholesterol accumulation induced by acetylated low-density lipoproteins. *J Biochem (Tokyo)*, 1994, 116: 257-262.
  70. Yamashita S, Maruyama T, Hirano K, Sakai N, Nakajima N, Matsuzawa Y: Molecular mechanisms, lipoprotein abnormalities and atherogenicity of hyperalphalipoproteinemia. *Atherosclerosis* 2000, 152: 271-85.
  71. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang L, Roomp K, van Dam M y cols.: Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet* 1999, 22: 336-345.
  72. Franceschini G, Sirtori CR, Capurso A, Weisgraber K, Mahley RW y cols.: A-Milano apoprotein. Decreased high-density lipoprotein cholesterol levels with significant lipoprotein modifications and without clinical atherosclerosis in an Italian family. *J Clin Invest* 1980, 66: 892-900.
  73. Pocoví M, Cenarro A, Civeira F, Torralba MA, Perez-Calvo J, Mozas P y cols.: Beta-glucocerebrosidase gene locus as a link for Gaucher's disease and familial hypo-alpha-lipoproteinaemia. *Lancet* 1998, 351: 1919-1923.
  74. Yamakawa-Kobayashi K, Yanagi H, Fukayama H, Hirano C, Shimakura Y, Yamamoto N y cols.: Frequent occurrence of hypoalphalipoproteinemia due to mutant apolipoprotein A-I gene in the population: a population-based survey. *Hum Mol Genet* 1999, 8: 331-336.
  75. Miettinen HE, Gylling H, Tenhunen J, Virtamo J, Jauhiainen M, Huttunen JK, Kantola I y cols.: Molecular genetic study of Finns with hypoalphalipoproteinemia and hyperalphalipoproteinemia: a novel Gly230 Arg mutation (LCAT[Fin]) of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) accounts for 5% of cases with very low serum HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998, 18: 591-598.
  76. Kort EN, Ballinger DG, Ding W, Hunt SC, Bowen B, Abkevich V y cols.: Evidence of linkage of familial hypoalphalipoproteinemia to a novel locus on chromosome 11q23. *Am J Hum Genet* 2000, 66: 1845-1856.
  77. Shearman AM, Ordovás JM, Cupples LA, Schaefer E, Harmon MD, Shao Y y cols.: Evidence for a gene influencing the TG/HDL-C ratio on chromosome 7q32.3-qter: a genome-wide scan in the Framingham study. *Hum Mol Genet* 2000, 22: 1315-1320.

# Genética de las arritmias

J. M. Rubio, J. A. Cabrera, F. Sanmillán y J. Farré

Unidad de Arritmias. Servicio de Cardiología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

## INTRODUCCION

Durante los últimos años, la arritmología, dentro de la cardiología, ha experimentado un avance extraordinario en el conocimiento de síndromes ya clásicos, como el descrito por Wolff, Parkinson y White, o las taquicardias que incorporan la unión auriculo-ventricular como parte fundamental del circuito. Sin embargo, el hecho de que algunos síndromes arrítmicos puedan ocasionar una muerte súbita, asociado al hecho de tener una prevalencia no despreciable, ha acelerado la necesidad de adquirir conocimientos sobre los mismos para poder identificar precozmente a los portadores y familiares y ofrecer la mejor terapéutica posible. Si importante es la genética de la miocardiopatía hipertrófica o de la displasia arritmogénica ventricular derecha, los nuevos síndromes arrítmicos sin cardiopatía estructural, como el descrito en nuestro país por los hermanos Brugada en 1992, el síndrome del QT largo, o las taquicardias ventriculares catecolaminérgicas son quizás los paradigmas de esos nuevos síndromes cuya etiología común es la alteración de una serie de canales iónicos que dan lugar además a diferentes expresiones en el ECG que permiten su identificación. Estos últimos se engloban dentro de la nueva clasificación de «canalopatías» y su conocimiento es fundamental en la cardiología actual. A ellos, y a la displasia arritmogénica ventricular derecha dirigimos este capítulo sobre genética, abordando brevemente desde el punto de vista clínico cada uno de ellos y exponiendo los conocimientos actuales sobre su génesis y transmisión.

## DISPLASIA ARRITMOGÉNICA VENTRICULAR DERECHA

### Definición. Aspectos clínicos. Diagnóstico. Tratamiento

La Displasia Arritmogénica Ventricular Derecha (DAVD) es una entidad que se caracteriza por la sustitución progresiva de los miocitos normales por tejido graso y fibroso<sup>1</sup>. Hoy en día se considera una miocardiopatía y como tal se incluye dentro de la clasificación de miocardiopatías de la *Organización Mundial de la Salud*<sup>2</sup>. Su prevalencia varía según las series descritas y la zona geográfica estudiada, desde 1/2000 hasta 1/10000 habitantes. En las zonas donde se ha llevado a cabo un mayor estudio

de la enfermedad, como Francia o el Véneto italiano, se estima una prevalencia de 1/5000. Desde el punto de vista anatomopatológico, se caracteriza por la presencia de gran cantidad de tejido fibro-adiposo en zonas donde debería de existir tejido miocárdico normal<sup>3</sup>. La afectación en las fases iniciales es regional, y las zonas más comúnmente afectadas son el tracto de entrada y cara diafragmática, el ápex, y el infundíbulo del VD. La afectación de la pared tampoco es uniforme, pues es mayor en el epicardio y mesomiocardio. En formas avanzadas, las paredes aparecen muy adelgazadas y con gran fibrosis, siendo frecuente la presencia de aneurismas y saculaciones. Es también muy frecuente observar infiltrados linfocitarios, lo que ha hecho que algunos autores aboguen por la teoría inflamatoria como causa de la enfermedad, con destrucción miocitaria por miocarditis y sustitución por tejido fibroso y graso<sup>4</sup>. Suele existir afectación del ventrículo izquierdo (VI) en un 40% - 70% de los casos y aparece sobre todo en porciones posteriores y en el septo. En general, la edad de los pacientes con afectación del VI es mayor, lo que indicaría el carácter progresivo de la enfermedad, afectando primero al VD y, más tarde, al VI<sup>5</sup>.

La DAVD afecta más frecuentemente a varones, en una proporción 2:1 con respecto a las mujeres, y casi el 80% de los casos son diagnosticados antes de los 40 años, con una edad de comienzo de síntomas en torno a los 25-35 años<sup>6</sup>. La característica fundamental de la DAVD es el desarrollo de arritmias ventriculares, con morfología típica de bloqueo de rama izquierda (BRI), como consecuencia de su origen en el VD. La presencia de islotes de tejido fibro-graso embebidos entre el miocardio normal favorece el desarrollo de zonas de conducción lenta y de reentrada<sup>7</sup>. Las arritmias frecuentemente se ven facilitadas por la actividad física o la hiperestimulación catecolaminérgica, y muchos pacientes desarrollan arritmias ventriculares rápidas/polimorfas, especialmente en las primeras fases de la enfermedad, donde hay una afectación generalmente más regional, con poca dilatación del VD. Por todo ello, los síntomas son muy diversos, desde palpitaciones mal toleradas hasta síncope o muerte súbita. Hoy en día, se estima que la tasa de mortalidad anual en la DAVD es del 3% sin tratamiento y del 1% en pacientes con tratamiento, no portadores de un cardioversor desfibrilador implantable (CDI). Los pacientes con DAVD pueden desarrollar además diversos grados de insuficiencia

cardíaca, ya sea derecha o biventricular. Esto es más frecuente a partir de los 50-60 años. El mecanismo del fracaso derecho es la dilatación e hipofunción del VD debido a la atrofia y adelgazamiento del mismo. Cuando el VI se afecta, el desarrollo de fracaso cardíaco biventricular depende del grado de extensión, y será más severo cuanto mayor sea ésta<sup>8,9</sup>.

Hoy en día se sabe que la enfermedad tiene un carácter progresivo, con expresión fenotípica tardía, con desarrollo en la adolescencia y juventud, donde es más frecuente la aparición de los primeros síntomas. Se desconocen actualmente los factores genéticos o moleculares que puedan hacer que unos casos evolucionen más rápidamente que otros, pues de hecho hay pacientes en los que la enfermedad experimenta un «silencio clínico» durante años, hasta que tardíamente vuelve a evolucionar. Se ha propuesto la existencia de 4 fases en la enfermedad<sup>10</sup>: Una primera «oculta», caracterizada por mínimas alteraciones del VD, en la cual la muerte súbita puede ser la primera manifestación clínica, sobre todo en pacientes jóvenes. Una segunda fase «arrítmica», en la cual el VD se encuentra más globalmente afectado y hay una gran probabilidad de desarrollar arritmias ventriculares y síntomas derivados de las mismas. Una tercera de «progresión anatómica», con afectación difusa de todo el VD y síntomas de fracaso cardíaco derecho y arritmias ventriculares, con un VI ligeramente afectado. Una última fase «terminal», con afectación biventricular extensa y disfunción de VD y VI, síntomas de fracaso cardíaco biventricular y arritmias ventriculares o supraventriculares. Esta fase suele aparecer en pacientes mayores de 60 años.

El diagnóstico definitivo exige la presencia histológica de reemplazo fibro-graso transmural en el VD en una necropsia, en la cirugía, o en una biopsia<sup>11</sup>. Esto último no siempre es posible, por lo que el diagnóstico clínico se debe basar en la presencia de otros signos o síntomas sugerentes, que incluyen desde el ECG a técnicas de imagen. Es por ello que un grupo de expertos del «Working Group of Myocardial and Pericardial Disease» de la Sociedad Europea de Cardiología (ESC) y de la «International Federation and Society of Cardiology» (ISFC) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) propusieron unos criterios de consenso para su diagnóstico<sup>12</sup>, dividiéndolos en criterios «mayores» o «menores» (tabla I). La presencia de 2 criterios mayores, de un criterio mayor y 2 criterios menores, o de 4 criterios menores se considera altamente específica de la presencia de DAVD. El electrocardiograma (ECG) suele estar afecto en el 45-55% de los pacientes, dependiendo de la extensión de la enfermedad<sup>13</sup>. El 70-90% de los pacientes tienen ondas T negativas en derivaciones precordiales, el 10-20% bloqueo completo de rama derecha y del 20 al 50% incompleto. El dato más específico es el hallazgo de la denominada «onda epsilon», que consiste en una serie de potenciales fragmentados de baja amplitud que se pueden registrar en derivaciones

**Tabla I** Criterios del Grupo de Trabajo de Miocardiopatías de la Sociedad Europea de Cardiología para el diagnóstico de la displasia arritmogénica ventricular derecha

### I. Disfunción global o segmentaria y alteraciones estructurales

#### Criterios Mayores

- Dilatación severa y disminución de la fracción de eyección del VD sin (o con ligera) afectación del VI
- Aneurismas en el VD (areas aquinéticas o disquinéticas con deformidad diastólica)
- Dilatación segmentaria severa del VD

#### Criterios Menores

- Dilatación global leve del VD y disminución de la fracción de eyección del VD con VI normal
- Dilatación segmentaria leve del VD
- Hipoquinesia regional del VD

### II. Caracterización tisular de las paredes

Criterio Mayor: Presencia de reemplazo fibro-graso del miocardio en la biopsia endomiocárdica

### III. Alteraciones de la Repolarización

Criterio Menor: T negativas en derivaciones precordiales derechas (V2-V3), en pacientes mayores de 12 años, en ausencia de bloqueo de rama derecha.

### IV. Alteraciones de la Despolarización / Conducción

Criterio Mayor: Ondas epsilon o duración del QRS > 110 ms en derivaciones precordiales V1 a V3

Criterio Menor: Potenciales tardíos en el ECG de promediado de señales

### V. Arritmias

#### Criterios Menores

- Taquicardia ventricular (sostenida o no sostenida) con imagen de bloqueo de rama izquierda documentada en ECG, Holter o Prueba de esfuerzo
- Extrasistolia ventricular recurrente (>1000/24 h en registro Holter)

### VI. Historia Familiar

#### Criterio Mayor

- Caso familiar documentado mediante necropsia o cirugía

#### Criterios Menores

- Historia familiar de muerte súbita prematura (< 35 años) y sospecha de DAVD
- Historia familiar (diagnóstico clínico basado en los presentes criterios)

V1 a V3, y que reflejan la activación tardía de algunas zonas del VD afectas por la displasia<sup>14</sup> (fig. 1). Las técnicas de imagen son hoy en día herramientas fundamentales, y en general, los hallazgos dependerán de la



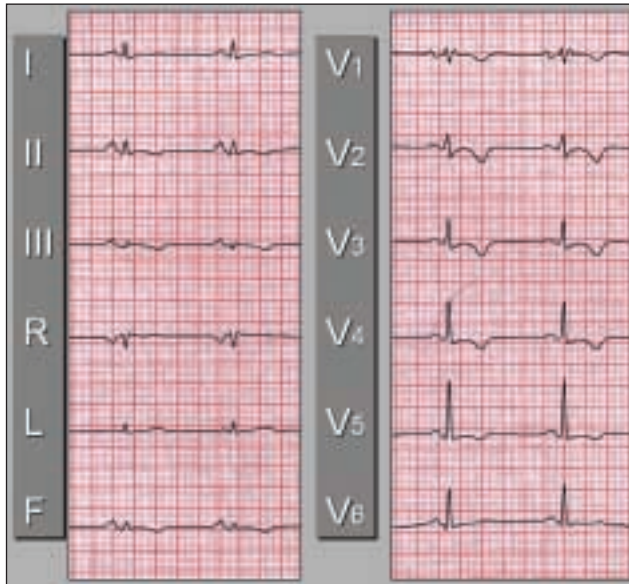


Fig. 1. — ECG de un paciente con displasia arritmogénica ventricular derecha. Bloqueo de rama derecha, ondas T negativas en derivaciones precordiales; Onda epsilon.

capacidad de diferenciar tejido miocárdico del normal, y de la extensión de la enfermedad, siendo en general el diagnóstico más difícil en formas poco desarrolladas<sup>15</sup>. La angiografía del VD se sigue considerando la técnica de referencia, y los datos más frecuentemente observados son la dilatación global del VD, la presencia de aneurismas infundibulares o apicales, la hipertrofia trabecular, que da lugar a la formación de «fisuras profundas» en la cara anterior del VD y la imagen clásica en «pilas de monedas», el aumento de retención del contraste en ápex, la presencia de deformidades múltiples en la cara inferior del VD, o el abombamiento diastólico de la zona sub-tricusúpea<sup>16</sup>. La resonancia magnética se ha convertido en los últimos años en una de las técnicas diagnósticas más útiles, pues puede diferenciar una señal hiperintensa sugerente de grasa respecto al miocardio normal, así como detectar alteraciones de la motilidad regional, deformidades diastólicas o aneurismas. Sin embargo, tiene las limitaciones derivadas de la propia presencia de tejido graso normal en sujetos sanos, lo que puede traducir una menor especificidad en el diagnóstico, especialmente en casos poco evidentes<sup>17</sup>. Debido a las dificultades diagnósticas, a las diversas interpretaciones histológicas, y a la diferente presentación clínica y formas geográficas, se ha propuesto por un comité de expertos de Europa y EEUU la creación de unos «Registros Internacionales»<sup>18</sup>. La inclusión de pacientes se puede hacer en las páginas web de los dos registros en marcha actualmente, uno de los EEUU ([www.arvd.org](http://www.arvd.org)) y otro en Europa ([www.anpat.unipd.it/ARVC](http://www.anpat.unipd.it/ARVC))<sup>19</sup>.

Las diferentes estrategias terapéuticas en pacientes con DAVD incluyen los fármacos antiarrítmicos, el desfibrilador automático cardioversor desfibrilador implantable (DAICDI) y la ablación con catéter mediante radiofrecuencia. Los factores asociados significativamente a un mayor riesgo de recurrencia de arritmias son: presencia de muerte súbita abortada previa, TV mal tolerada hemodinámicamente, TV inducible durante un estudio electrofisiológico, edad joven, varones, dilatación severa del VD y afectación ventricular izquierda<sup>20</sup>.

### Otras Miocardiopatías arritmogénicas

Existirían diversas variedades de la forma «pura» de DAVD, descritas recientemente. Una de ellas es el denominado «*Síndrome de Naxos*», porque se describió en la isla griega de Naxos<sup>21</sup>. Tiene transmisión autosómica recesiva, y muy alta penetrancia familiar. La clínica es similar a la forma «pura», pero se acompaña de manifestaciones típicas dérmicas (queratodermia palmo-plantar) y pelo lanoso. Otra entidad recientemente descrita es el «*Síndrome de Carvajal*», descrito en Ecuador, similar a la enfermedad de Naxos, pero con afectación predominante del VI<sup>22</sup>.

### Etiología y Genética de la DAVD

La DAVD tiene una transmisión autosómica dominante, con grados diferentes de penetrancia y expresión incompleta, y los estudios familiares han demostrado que tanto varones como hembras pueden portar y transmitir la enfermedad, con una incidencia familiar variable, pero que en general se sitúa en torno al 25-35%. Aunque existen diversas teorías para explicar el origen de la DAVD, hoy en día la más aceptada es la degenerativa, según la cual habría una destrucción progresiva de miocitos, con sustitución por tejido graso y fibroso, siendo la base de esta destrucción miocitaria la presencia de mutaciones en las proteínas de la unión intercelular. El conocimiento de las mismas se ha hecho a partir de las formas de DAVD con transmisión autosómica recesiva, como la enfermedad de Naxos en el que se ha descrito alteraciones del gen de la plakoglobina, una proteína involucrada en la formación de la unión intercelular<sup>23</sup>. A partir del hallazgo de esta mutación se abrió el camino en la búsqueda de otras proteínas involucradas<sup>24</sup>. Así, en el síndrome de Carvajal<sup>25</sup> se ha descrito la mutación de otra proteína de la unión intercelular, la desmoplakina, y recientemente se ha descrito en una larga familia árabe una mutación en la zona C-terminal de esta proteína. Ambas entidades comparten similares alteraciones dérmicas y presencia de pelo lanoso, pero así como en el síndrome de Carvajal hay afectación predominante del ventrículo izquierdo, en la familia árabe la afectación del VD es la clásica de la DAVD.

En las formas de transmisión autonómica dominante, que son la mayoría en la DAVD, la desmoplakina también se ha involucrado en la génesis de la patología. Rampazzo et al<sup>26</sup> describieron una mutación en una familia italiana consistente en una sustitución de un aminoácido que da lugar a una fosforilación defectuosa en el N-terminal del dominio de unión a la plakoglobina, y más recientemente se han descrito también mutaciones de la plakofilina, otra proteína de la unión intercelular<sup>27</sup>. La pregunta es, ¿Qué son estas proteínas y qué papel cumplen? Hoy en día sabemos que los miocitos cardiacos están comunicados entre sí por unas estructuras especializadas que se conocen con el nombre de discos intercalares, que sirven de unión mecánica y eléctrica. Estos discos contienen tres tipos diferentes de uniones: uniones gap, uniones adherentes y desmosomas. Las uniones gap median la transferencia de iones, y están formadas por dos hemi-canales o conexones, cada uno a su vez formado por seis conexinas. Las uniones adherentes garantizan la contracción sincrónica mediante la transmisión de fuerzas, y están formadas por cadherinas, unas glicoproteínas  $Ca^{++}$  dependiente. La N-cadherina es la isoforma predominante del músculo cardiaco. Unidas al terminal citoplasmático de la N-cadherina están la  $\beta$ -catenina y la plakoglobina ( $\gamma$ -catenina), que se unen ambas a la  $\alpha$ -catenina, que a su vez interactúa con los microfilamentos de actina del sarcómero. Los desmosomas comparten con las uniones adherentes la contractilidad mecánica, pero a diferencia de las primeras, no se unen a la actina, sino a otros filamentos celulares, sobre todo a la desmina. Las cadherinas desmosómicas se forman a partir de genes del cromosoma 18q12.1, y forman el componente transmembrana del complejo desmosómico. Su porción extracelular se une a otras células, y la intracelular se une con proteínas como la plakoglobina y la plakofilina. Esta última se encuentra en los desmosomas y en el núcleo, aunque su función a este nivel se desconoce. Los sitios de unión de la plakoglobina y la plakofilina son el N-terminal de la desmoplakina. El terminal C se une a su vez a los filamentos de desmina de la superficie celular. Además de su función de unión celular, las cadherinas también sirven de regulación de la morfogénesis.

### Patogénesis de la DAVD

Los genes hasta ahora identificados en la DAVD<sup>28-30</sup> codifican proteínas desmosómicas, lo que ha permitido, como dijimos mas arriba, desarrollar una nueva teoría en la patogénesis de esta enfermedad<sup>31</sup>. La alteración de los desmosomas bajo condiciones de estrés mecánico o de inflamación es lo que se cree que produce su desacoplamiento y la muerte de los miocitos, que se verían sustituidos por tejido fibroso y graso. Esta teoría explicaría algunos de los hechos fundamentales de la DAVD, como son su carácter progresivo y la afectación

preferente de algunas zonas del VD. Las zonas del VD con la pared más delgada (tracto de entrada, zona posteroapical y tracto de salida) son las que soportan más tensión y donde antes se produciría la muerte miocitaria por alteración de los desmosomas y desacoplamiento celular. En el VI, las zonas donde primero aparece la afectación suelen ser las de pared más delgada, como la cara posterolateral, respetando el septo. La DAVD es frecuente en atletas, donde el estrés mecánico sostenido haría que se desarrollasen con más frecuencia estas alteraciones. A medida que las zonas del VD soportan más tensión, la enfermedad progresaría hasta dilatar todo el VD y parte del VI. La alteración de los desmosomas a nivel dérmico también explicaría la queratosis en las zonas más afectas al estrés, las palmas y plantas.

### Otras proteínas afectadas

En 1994, se identificó un locus para la forma dominante de la DAVD, en la zona 14q23-q24, y a esta variedad se la denominó DAVD1<sup>32</sup>. Uno de los genes candidatos en esta zona es el que codifica el factor de crecimiento (TGF $\beta$ 3), una citosina involucrada en la génesis de fibrosis y que en algunas familias se encuentra en gran cantidad<sup>33</sup>. Se han descrito hasta la actualidad nueve formas genéticas. La DAVD2 se caracteriza por la presencia, no de taquicardias ventriculares monomorfas, sino por taquicardias polimorfas inducidas por el esfuerzo. No suele tener las mismas alteraciones estructurales que la clásica DAVD y afecta por igual a varones y hembras. En este tipo se describió una alteración del receptor de rianodina (RyR2), relacionado con la liberación de calcio al retículo sarcoplásmico de los miocitos<sup>34,35</sup>. La alteración de este receptor daría lugar a una gran liberación de calcio y al desarrollo de arritmias ventriculares rápidas con el ejercicio. Otro gen involucrado codifica el receptor de laminina (Lamr1), que en ratones produce fibrosis masiva y destrucción miocitaria del VD, pero sin las características típicas de la displasia<sup>36</sup>.

### Relevancia clínica del análisis genético en la DAVD

El diagnóstico de la DAVD es complejo y se basa hoy en día en los criterios del Task Force arriba expuestos, que adolecen de poca sensibilidad en casos incipientes<sup>12</sup>. Es por ello que el diagnóstico genético en esta patología, como en otras que exponemos más adelante, es fundamental no sólo para reconocer la entidad sino como guía terapéutica y consejo familiar. De todas formas, seguimos sin resolver muchas de las incógnitas de la enfermedad, como la presencia de fases de mayor arritmogénesis en las que hay una mayor progresión y desarrollo de arritmias ventriculares.

## SÍNDROME DE QT LARGO

El denominado síndrome de QT largo (SQTL) se caracteriza por una prolongación excesiva del intervalo QT en el ECG (fig. 2). Tiene una prevalencia aproximada de 1/5000 individuos, y suele tener afectación familiar, con desarrollo de síncope y muerte súbita por arritmias ventriculares polimorfas (Torsades des Pointes) desde la infancia y adolescencia<sup>37</sup>. Se ha descrito la forma de transmisión autosómico dominante (síndrome de Romano-Ward) y la recesiva (síndrome de Jervell, Lange-Nielsen), también asociada a sordera congénita<sup>38</sup>.

### Etiopatogenia

La repolarización cardiaca es un complejo proceso en el que se ven involucrados diferentes corrientes iónicas de entrada ( $\text{Na}^+$ , Calcio<sup>++</sup>) y de salida ( $\text{K}^+$ ). Las alteraciones de estas corrientes dan lugar a anomalías que se traducirán en una prolongación o acortamiento del intervalo QT y a una dispersión y heterogeneidad de la repolarización, lo que predispone al desarrollo de arritmias (fig. 3). En el SQTL, hay en general una reducción de las corrientes de salida, con prolongación del potencial de acción, que depende sobre todo de dos corrientes de potasio ( $\text{K}^+$ ), una rápida ( $I_{kr}$ ) y otra lenta ( $I_{ks}$ ), ésta última bajo control del sistema simpático<sup>39</sup>. Mucho menos frecuentemente, puede deberse a una despolarización prolongada por persistencia de una pequeña corriente de entrada de sodio ( $I_{Na+}$ ). Es por ello que la búsqueda genética se dirigió a las corrientes de  $\text{K}^+$ , las más importantes en la repolarización, identificándose genes que codificaban las

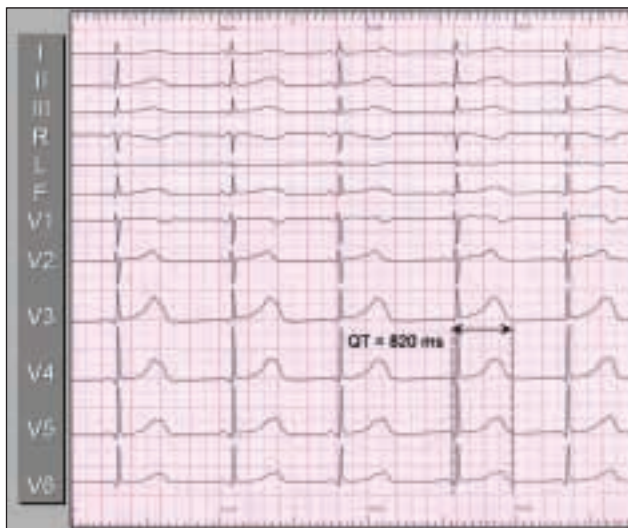


Fig. 2. — ECG de una paciente portadora de síndrome de QT largo. QT = 820 ms.

subunidades alfa de estos canales (KCNQ1 y KCNQ2) y sus proteínas (KCNE1 y KCNE2), describiéndose las formas SQTL1 y SQTL2. El SQTL1 afecta al canal  $I_{ks}$  y el SQTL2 al  $I_{kr}$ <sup>40,41</sup>. Además de estas dos formas, se describió otra tercera (SQTL3) en la cual el gen SCN5A, que codificaba el canal del  $\text{Na}^+$  también daba lugar a una prolongación excesiva del QT, ahora por un exceso de corriente de salida de  $\text{Na}^+$ <sup>42</sup>. Todos los genes conocidos hasta ahora del SQTL codifican canales iónicos, menos el SQTL4. En este se ha descrito otro gen, asociado al QTL, el ANK2, que no codifica ninguna proteína de canales iónicos pero si una proteína de membrana, la ankirina-B. Las mutaciones de esta proteína resultarían en una alteración del intercambiador de  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ , la ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  y el receptor  $\text{InsP3}$ , todos relacionados con la corriente de calcio<sup>43</sup>. El SQTL5 se debe a una mutación también del canal  $I_{ks}$ , pero en este caso del gen KCNE1, que codifica otra-subunidad de este canal.

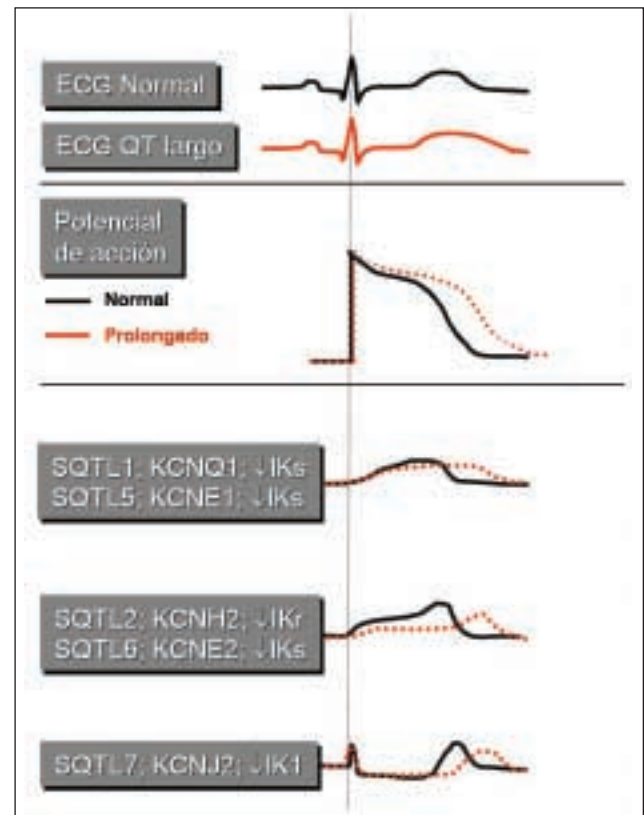


Fig. 3. — Modificaciones de los canales iónicos y su efecto sobre el intervalo QT en el síndrome de QT largo. Línea negra: ECG normal. PAT normal. Acción normal del canal. Línea roja: ECG con intervalo QT prolongado. PAT prolongado. Efecto del canal normal. Efectos de las mutaciones de los diversos canales sobre el intervalo QT. Una reducción del canal  $I_{ks}$  prolonga el PAT en los SQTL 1 y 5, y una reducción del  $I_{kr}$  los SQTL 2 y 6. El SQTL 7 se debe a una reducción de la actividad del canal  $I_{K1}$  durante la fase final del PAT.

**Tabla II Tipos genéticos, genes, proteína implicada, locus cromosómicos, tipo de herencia y canales iónicos afectados en los diferentes subtipos de síndrome de QT largo (SQTL), síndrome de Jerwell Lange-Nielsen (JLN), síndrome de QT corto (SQTC) y en las Taquicardias ventriculares catecolaminérgicas (TVC)**

Subtipo	Gen	Proteína	Locus	Herencia	Canal iónico
SQTL1	KCNQ1	KvLQT1	11p15.5	Dominante	IKs
SQTL2	KCNH2	HERG	7q35-q36	Dominante	IKr
SQTL3	SCN5A	Nav1.5	3p21	Dominante	INa
SQTL4	ANK2	Ankyrin-B	4q25-q27	Dominante	múltiple
SQTL5	KCNE1	minK, Isk	21q22.1-q22.2	Dominante	IKs
SQTL6	KCNE2	MiRP1	21q22.1	Dominante	IKr
SQTL7	KCNJ2	kir2.1, IRK1	17q23.1-q24.2	Dominante	IK1
SQTL8	CACNA1C	Cav1.2	12p13.3	De novo	ICa-L
JLN1	KCNQ1	KvLQT1	11p15.5	Recesiva	IKs
JLN2	KCNE1	minK, Isk	21q22.1-q22.2	Recesiva	IKs
SQTC1	KCNH2	HERG	7q35-q36	Dominante	IKr
SQTC2	KCNQ1	KvLQT1	11p15.5	Desconocida	IKs
SQTC3	KCNJ2	Kir2.1, IRK1	17q23.1-q24.2	Dominante	IK1
TVC1	RYR2 t	?	1q42.1-q43	Dominante	Liberación Ca <sup>++</sup> RS
TVC2	CASQ2	?	1p13.3-p11	Recesiva	Liberación Ca <sup>++</sup> RS

RS: Retículo sarcoplásmico.

La forma dominante del SQTL es la más frecuente y puede resultar de cualquiera de estas anomalías genéticas. La forma recesiva resulta de las mutaciones heterocigotas del KCNQ1, que también tienen un papel importante en células del oído y en la homeostasis del K<sup>+</sup> en la endolinfa, lo que explicaría la sordera típica de esta forma.

Se han descrito otras formas de SQTL, algunas de ellas asociadas a manifestaciones extracardiacas (tabla II). El SQTL7, o síndrome de Andersen-Tawil, da lugar a una prolongación ligera del intervalo QT con ondas U prominentes, taquicardia ventricular bidireccional y, menos frecuentemente, síncope y TV polimorfos<sup>44</sup>. Las manifestaciones extracardiacas incluyen parálisis periódica muscular y alteraciones del desarrollo, como paladar hendido, inserción baja del pabellón auricular y baja estatura. En su génesis se ha involucrado el gen KCNJ2, que codifica el canal de potasio Kir 2.1 tanto en músculo cardíaco como esquelético y que aparece en la fase final del potencial de acción. El SQTL8 (síndrome de Timothy) asocia una prolongación excesiva del QT, sindactilia, calvicie y dientes pequeños, y se debe a una mutación del gen CACNA1C que codifica el canal de Ca<sup>++</sup>. Este tipo de SQTL es raro, pero muy letal<sup>45</sup>.

### Correlación genotipo-fenotipo

La clasificación genética de los subtipos de SQTL ha hecho que se diferencie también fenotípicamente a los

sugetos afectados. En los últimos años, una serie de estudios han desarrollado una correlación entre genotipo y fenotipo que tiene en cuenta no sólo la expresión en el ECG sino también el pronóstico, los factores desencadenantes de las arritmias y el mejor tratamiento posible<sup>46</sup>. Desde el punto de vista del ECG, aunque en todos ellos hay prolongación del QT, se han descrito diferentes patrones según cada genotipo<sup>47</sup>. Así, un QT muy largo con ondas T tardías suele aparecer en los SQTL3, sobre todo en reposo, mientras que el SQTL1 se caracteriza por un intervalo QT prolongado y ondas T picudas de alta amplitud. En el SQTL2 son casi patognomónicas las ondas T muy anchas y bifidas dentro de un intervalo QT prolongado. Desde el punto de vista clínico<sup>48</sup>, en el SQTL1, los estímulos adrenérgicos son los factores desencadenantes más importantes, así como bucear o nadar, esto último algo casi exclusivo de este tipo. Los pacientes con SQTL3 tienen sin embargo más eventos en reposo o durante el sueño, ya que el QT se prolonga excesivamente a bajas frecuencias pero se normaliza con el ejercicio. Los pacientes con SQTL2 comparten factores del tipo 1 y 2, y pueden tener eventos tanto en reposo como en ejercicio. En este tipo, son especialmente importantes los estímulos auditivos, como los gritos o los sonidos agudos. El problema es a veces más complejo, pues dentro del SQTL2 puede haber mutaciones en varias partes del canal I<sub>Kr</sub>. En el registro internacional del SQTL, se ha demostrado que las mutaciones en la parte central o poro del canal son

mucho más letales que las que aparecen en los extremos C-terminal o N-terminal. Los fármacos como la cisaprida o la terfenadina que prolongan el QT lo hacen también alterando la conducción de  $K^+$  en la zona central del canal. La edad de comienzo de síntomas también depende del tipo genético, ya que a los 10 años casi el 40% de los niños con SQT1 están sintomáticos, sólo el 10% en el SQT2 y muy pocos en el SQT3, siendo la media de edad en el primer evento de 9 años en el SQT1, de 12 en el SQT2 y de 16 en el SQT3.

Todo ello hace que en cada caso se seleccione la mejor terapia posible, incluidos los cambios en hábitos de vida con el fin de evitar factores desencadenantes<sup>49,50</sup>. Los betabloqueantes son muy efectivos en el SQT1, menos en el SQT2 y nada e incluso perjudiciales en el SQT3<sup>51</sup>. En este último, el gen *SCN5A*, que codifica la subunidad alfa del principal canal de sodio puede tener a su vez diferentes mutaciones que dan lugar a la misma prolongación del QT y desarrollo de arritmias, pero diferente respuesta a fármacos bloqueadores del canal. Así, hay mutaciones que responden bien a flecainida y otras a mexiletina<sup>52</sup>. El futuro en todos ellos está abierto al desarrollo de nuevos fármacos o terapias que puedan contrarrestar las corrientes iónicas afectas. De todas formas, dada la letalidad del síndrome y el hecho de existir pacientes que no responden al tratamiento con beta-bloqueantes, hay que considerar siempre el implante de un DAI.

## SÍNDROME DE BRUGADA

El síndrome de Brugada, descrito en 1992, se caracteriza por una elevación característica del segmento ST en derivaciones precordiales derechas y una alta incidencia de muerte súbita<sup>53</sup>. Se estima actualmente que es el responsable del 4% de las muertes súbitas en general y del 20% de las mismas en pacientes sin cardiopatía estructural. Su prevalencia es variable, desde los 5 hasta los 60 casos por 10000 habitantes, dependiendo de la zona geográfica, siendo muy alta en zonas del sudeste asiático<sup>54,55</sup>. Se han descrito varios patrones electrocardiográficos, aunque sólo uno (tipo I) puede considerarse en realidad como patognomónico de la entidad (fig. 4), con punto J y segmento ST elevados y T negativa en derivaciones precordiales V1-V3 («coved-type» en la literatura anglosajona)<sup>56</sup>. Este punto J elevado da lugar a una onda R' que simula un bloqueo incompleto de rama derecha, y que se cree debido a la repolarización anormal epicárdica del VD. Se ha descrito otro patrón (tipo II) con concavidad ascendente y T positiva o bifásica que da lugar a un aspecto típico en «silla de montar» y un tercero (tipo III) con elevación de segmento ST < 1 mm con forma tanto de silla de montar como de «coved-type». Un mismo paciente puede presentar diferentes patrones a lo largo del tiempo, tener un ECG casi normal, e incluso durante circunstancias muy concretas, como la fiebre, hacerse más evidente<sup>57</sup>. Es por ello que tras su descripción se

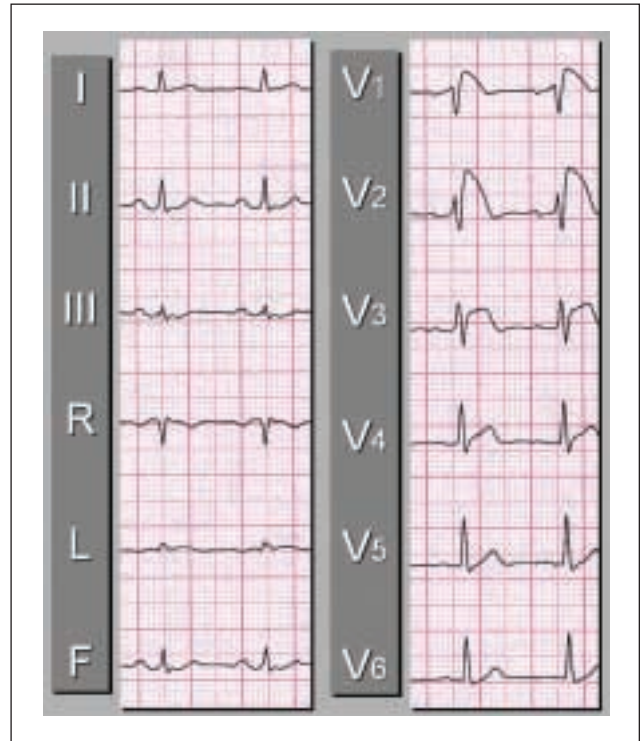


Fig. 4. — ECG típico de síndrome de Brugada

hizo patente la necesidad de buscar maniobras que pudiesen identificar a los pacientes portadores del síndrome, sin que ello supusiese un riesgo arritmico excesivo. Los fármacos bloqueadores de canales de  $Na^+$ , como la flecainida, la procainamida o la ajmalina tienen una alta sensibilidad y especificidad en la capacidad para desenmascarar el patrón electrocardiográfico, por lo que es obligado su uso como test en pacientes con sospecha de padecer el síndrome o en familiares cercanos<sup>58</sup>.

La explicación de la elevada arritmogenezidad del síndrome hay que buscarla en un desbalance de corrientes iónicas, en especial de la fase 2, con alteración del potencial de acción epicárdico pero no endocárdico, lo que se traduce en una dispersión transmural de la repolarización y la refractariedad<sup>59</sup>. La mayor parte de las arritmias del síndrome de Brugada tienen lugar durante el sueño o en reposo, en fases de bradicardia. Dada la letalidad de las mismas, se recomienda actualmente el implante de DAI en pacientes con eventos, y en pacientes asintomáticos con patrón tipo I y en los cuales se induzca una arritmia ventricular sostenida durante la realización de un estudio electrofisiológico<sup>60</sup>. En pacientes sin cardiopatía, síncope de causa oscura y patrón dudoso en el ECG es obligado hacer el test farmacológico para diagnosticar los posibles portadores de síndrome de Brugada, especialmente en varones.

## Etiopatogenia y genética del Síndrome de Brugada

El síndrome de Brugada tiene transmisión autonómica dominante, con una baja penetrancia. Aunque varones y hembras pueden heredar el gen de la misma manera, la manifestación fenotípica es mucho más frecuente en varones que en mujeres, quizás debido al papel de los andrógenos, como se ha sugerido recientemente<sup>61</sup>. En 1998 se describió la existencia de un defecto en el gen SCN5A que codifica la sub-unidad alfa del canal de sodio, describiéndose posteriormente más alteraciones de este gen<sup>62</sup>. En un estudio de Priori et al<sup>63</sup>, sin embargo, sólo el 15% de los pacientes con patrón de Brugada típico basal poseían esta alteración, mientras que el 45% de de los probandos familiares asintomáticos (de 4 pacientes con el síndrome) la tenían, considerándose «portadores silentes». Había una gran homogeneidad en las mutaciones dentro de cada familia, pero sin embargo las manifestaciones clínicas eran muy diferentes. Dentro de las mutaciones puntuales que daban lugar a cambios de aminoácidos en diversas partes del canal, la mutación L567Q era la más mortal. Para complicar más la relevancia clínica, se hizo test farmacológico en los portadores silentes y sólo en el 15% de ellos fue positivo. En este mismo estudio, la penetrancia del síndrome en las diferentes familias fue de tan sólo un 12,5%.

Dado que esta mutación sólo explica un pequeño porcentaje de los pacientes con el síndrome, se están buscando nuevos genes que se relacionen con la enfermedad<sup>64</sup>. Recientemente se ha descrito otra mutación en el cromosoma 3, en un locus cercano al del SCN5A (3p22-25), pero diferente a éste<sup>65</sup>. Los portadores de esta mutación tienen también transmisión autosómico dominante y se asocia a enfermedad progresiva del sistema de conducción, baja sensibilidad al test de procainamida y un relativo buen pronóstico.

## SÍNDROME DE QT CORTO

### Definición y aspectos clínicos

En la búsqueda de nuevos síndromes arrítmicos sin cardiopatía, Gussak et al en el año 2000 describieron tres individuos de una misma familia que presentaban un patrón ECG característico con intervalo QT corto, teniendo uno de ellos múltiples episodios de fibrilación auricular paroxística<sup>66</sup>. A raíz de otro caso aislado con muerte súbita y QT corto, se empezó con la búsqueda de más pacientes, y Gaita et al, en 2003 definieron el síndrome de manera definitiva con dos familias que presentaban una muy alta incidencia de arritmias, tanto ventriculares como supraventriculares, en varios miembros de las mismas junto con un intervalo QT corto<sup>67</sup>. Hoy en día sabemos que el síndrome de QT corto

(SQTC) se caracteriza, desde el punto de vista electrocardiográfico, por un intervalo QT corto (con un punto de corte establecido generalmente en < 300-320 ms), ausencia casi total de segmento ST, onda T picuda pero normal en cuanto a polaridad y configuración, y una onda U claramente visible. El intervalo QT hay que corregirlo con la frecuencia cardiaca, y se acorta con el ejercicio, pero en este caso prácticamente no se modifica a frecuencias elevadas. Ello hace que en niños sea muy difícil su diagnóstico, ya que el intervalo QT se encuentra fisiológicamente acortado por la alta frecuencia basal. Es por ello obligado hacer registro de Holter para medir el QT a frecuencias más bajas. En algunos casos con fibrilación auricular paroxística, se ha descrito depresión del intervalo PR. Desde el punto de vista clínico, se caracteriza por una elevada inducibilidad de arritmias ventriculares malignas, por historia familiar de muerte súbita y síncope y por el desarrollo de fibrilación auricular paroxística<sup>68</sup>. La edad de comienzo de síntomas es variable, pero generalmente es en la juventud, habiéndose descrito casos en neonatos y en la infancia. Dado que hay muy pocos casos descritos en la literatura (menos de 40 en el momento actual), el manejo del síndrome es complejo, pues no hay experiencia suficiente ni correlación entre genotipo-fenotipo, como ocurre en el síndrome de QT largo<sup>69</sup>. Además, dentro de una misma familia, las manifestaciones pueden ser muy diversas. En casos con alta incidencia de muerte súbita familiar o tras eventos malignos, se recomienda el implante de DAI, aspecto difícil en neonatos o niños pequeños. Respecto al manejo farmacológico, los fármacos teóricamente más útiles serían aquellos que prolongan el intervalo QT, como los antiarrítmicos de clase III, aunque se han descrito casos aislados en los que el sotalol no alargó de manera significativa el intervalo QT. Otro fármaco podría ser la quinidina, con algunos casos descritos en los que era altamente eficaz.

### Genética del SQTC

De la misma forma que otros síndromes, también éste se debe a mutaciones de genes que codifican iones del potencial de acción cardiaco (tabla II). Posiblemente su transmisión sea autonómica dominante, y hasta ahora, se han definido tres genes en esta entidad, (KCNH2, KCNQ1 y KCNJ2) que codifican diferentes canales de potasio<sup>70-72</sup>. El gen KCNH2, también conocido como HERG, codifica, como vimos en el síndrome del QT largo, una proteína del canal rectificador rápido de salida de potasio  $I_{Kr}$ . Se ha identificado una mutación en el mismo (cambio de asparagina por lisina en el codon 588; N588K) en la superficie externa de la boca del poro del canal, que se traduce ahora en una hiperactividad del mismo y en un acortamiento de la duración del potencial de acción. Esta mutación parece además selectiva de canales del miocardio ventricular, pero no

del Purkinje, lo que explicaría la arritmogénesis dentro del síndrome, al haber diferentes refractariedades dentro del ventrículo. El hecho de que haya portadores del síndrome que tengan una alta incidencia de fibrilación auricular se explicaría por la alteración del canal también a nivel auricular<sup>73</sup>. El gen *KCNQ1* codifica una subunidad del canal rectificador lento de potasio,  $I_{Ks}$ , identificándose mutaciones del mismo en pacientes con fibrilación auricular paroxística. Por último, también se han descrito mutaciones en el gen *KCNJ2*, que codifica una subunidad del canal rectificador de entrada de potasio  $I_{K1}$ , lo que subraya la gran heterogeneidad del síndrome.

### Taquicardias ventriculares catecolaminérgicas. Definición y aspectos clínicos

El síndrome de taquicardia ventricular catecolaminérgica (STVC) es una enfermedad rara que afecta sobre todo a niños y adolescentes, aunque hay casos descritos en adultos. Descritas por P. Coumel<sup>74</sup>, Leenhardt et al publicaron en 1995<sup>75</sup> la primera serie de pacientes con el síndrome (niños con edad media de comienzo de síntomas de 7,8 años) y hoy sabemos que se caracteriza por la ausencia de cardiopatía estructural, el desarrollo de taquicardias ventriculares (TV) polimorfas y bidireccionales y un alto riesgo de muerte súbita (hasta el 30-50% entre los 20 y 30 años). Suele haber afectación familiar en torno al 30-35% de los casos. Los síntomas aparecen durante el estrés físico o emocional, o con cualquier aumento de la actividad adrenérgica, por lo que algunos casos se confunden con el SQT1 con QT normal. El mecanismo de producción de las TV sería el desarrollo de actividad desencadenada por post-depolarizaciones tardías precipitadas por la actividad adrenérgica, especialmente a nivel epicárdico<sup>76,77</sup>. Su origen hay que buscarlo además en una liberación anómala de calcio desde el retículo sarcoplásmico. Dado que el origen de las arritmias es la estimulación adrenérgica, el tratamiento de elección y al que responden la mayor parte de los pacientes son los beta-bloqueantes. Hay, sin embargo, un subgrupo de pacientes que no responden a estos fármacos y son candidatos al implante de un DAI<sup>78</sup>.

### Genética de las TV catecolaminérgicas

Hay una forma autosómica dominante (tabla II) en la que se ha identificado una mutación (1q42.1-q43) en el gen que codifica el receptor 2 de la rianodina (*RyR2*)<sup>79</sup>. Este receptor es un canal del retículo sarcoplásmico que libera  $Ca^{++}$  en respuesta a la entrada de este ión en la célula a través de los canales L en la fase 2 del potencial de acción. Hay otra forma autosómica recesiva, con mutación (1p13.3-p11) homocigótica del gen que codifica la calsecuestrina (*CASQ2*), una proteína que consti-

tuye el mayor reservorio de  $Ca^{++}$  dentro del retículo sarcoplásmico<sup>80,81</sup>. En esta forma los síntomas son más severos y precoces, y el diagnóstico es más difícil al no haber historia familiar por ser recesiva.

### BIBLIOGRAFÍA

- Fontaine G, Fontaliran F, Frank R: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathies: clinical forms and main differential diagnoses. *Circulation* 1998; 97: 1532-1535.
- Richardson P, McKenna WJ, Bristow M y cols.: Report of the 1995 WHO/ISFC Task Force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93: 841-843.
- Basso C, Thiene G, Corrado D y cols.: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: dysplasia, dystrophy or myocarditis? *Circulation* 1996; 94: 983-991.
- Chimenti C, Pieroni M, Maseri A y cols.: Histologic Findings in Patients With Clinical and Instrumental Diagnosis of Sporadic Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 2305-2313.
- Daliento L, Turrini P, Nava A y cols.: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in young versus adult patients: Similarities and differences. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 655-664.
- Marcus FI, Fontaine G: Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: a review. *Pacing Clin Electrophysiol* 1995; 18: 1298-1314.
- Corrado D, Basso C, Thiene G y cols.: Spectrum of clinicopathologic manifestations of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: a multicenter study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 1512-1520.
- Tabib A, Loire R, Chalabreysse L y cols.: Circumstances of Death and Gross and Microscopic Observations in a Series of 200 Cases of Sudden Death Associated With Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy and/or Dysplasia. *Circulation* 2003; 108: 3000-3005.
- Hulot JS, Jouven X, Empana JP y cols.: Natural History and Risk Stratification of Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy. *Circulation* 2004; 110: 1879-1884.
- Sen-Chowdhry S, Lowe MD, Sporton SC y cols.: Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy: Clinical Presentation, Diagnosis, and Management. *Am J Med* 2004; 117: 685-695.
- Angelini A, Thiene G, Boffa GM y cols.: Endomyocardial biopsy in right ventricular cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 1993; 40: 273-282.
- McKenna WJ, Thiene G, Nava A y cols.: Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: task force of the working group of myocardial and pericardial disease of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the International Society and Federation of Cardiology. *Br Heart J* 1994; 71: 215-218.
- Peters S, Trümmel M: Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia: value of Standard ECG revisited. *ANE* 2003; 83: 238-245.
- Fontaine G, Fontaliran F, Herbert JL y cols.: Arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *Ann Rev Med* 1999; 50: 17-35.
- Bomma C, Rutberg J, Tandri H y cols.: Misdiagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004; 15: 300-306.
- Hébert JL, Chemla D, Gerard O y cols.: Angiographic Right and Left Ventricular Function in Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia. *Am J Cardiol* 2004; 93: 728-733.
- Tandri H, Calkins H, Nasir H y cols.: Magnetic resonance imaging findings in patients meeting task force criteria for arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2003; 14: 476-482.
- Study Group on Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy of the Working Groups on Myocardial and Pericar-

- dial Disease and Arrhythmias of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the World Heart Federation. Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy Need for an International Registry. *Circulation* 2000; 101: e101-e106.
19. Marcus F, Towbin JA, Zareba W y cols.: for the ARVD/C Investigators. Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy (ARVD/C) A Multidisciplinary Study: Design and Protocol. *Circulation* 2003; 107: 2975-2978.
  20. Roguin A, Bomma ChS, Nasir K y cols.: Implantable Cardioverter-Defibrillators in Patients With Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1843-1852.
  21. Protonotarios N, Tsatsopolou A, Patsourakos P y cols.: Cardiac abnormalities in familial palmoplantar keratosis. *Br Heart J* 1986; 56: 321-326.
  22. Durán M, Avellán F, Carvajal L: Miocardiopatía dilatada en las displasias del ectodermo. Observaciones electro-ecocardiográficas en la hiperqueratosis palmoplantar con pelo lanoso. *Rev Esp Cardiol* 2000; 53: 1296-1300
  23. Coonar AS, Protonotarios N, Tsatsopolou y cols.: Gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with diffuse nonepidermolytic palmoplantar keratoderma and wooly hair (Naxos disease) maps to 17q21. *Circulation* 1998; 97: 2049-2058.
  24. Alcalai R, Metzger S, Rosenheck S y cols.: A Recessive Mutation in Desmoplakin Causes Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia, Skin Disorder, and Woolly Hair. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 319-327.
  25. Kaplan SR, Gard JJ, Carvajal-Huerta L y cols.: Structural and molecular pathology of the heart in Carvajal syndrome. *Cardiovasc Pathol* 2004; 13: 26-32.
  26. Rampazzo A, Nava A, Danieli GA y cols.: The gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy maps to chromosome 14q23 to q24. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 959-962.
  27. Mckoy G, Protonotarios N, Crosby A y cols.: Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and wooly hair (Naxos disease). *Lancet* 2000; 355: 2119-2124.
  28. Ahmad F, Li D, Karibe A y cols.: Localization of a gene responsible for arrhythmogenic right ventricular dysplasia to chromosome 3p23. *Circulation* 1998; 98: 2791-2795.
  29. Rampazzo A, Pivotto F, Occhi G y cols.: Characterization of C14orf4, a novel intronless human gene containing a polyglutamine repeat, mapped to the ARVD1 critical region. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 278: 766-774.
  30. Li D, Ahmad F, Gardner MJ y cols.: The Locus of a Novel Gene Responsible for Arrhythmogenic Right-Ventricular Dysplasia Characterized by Early Onset and High Penetrance Maps to Chromosome 10p12-p14. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 148-156.
  31. Danieli GS, Rampazzo A: Genetics of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol* 2002; 17: 218-221.
  32. Rampazzo A, Nava A, Erne P y cols.: A new locus for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVD2) maps to chromosome 1q42-q43. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 2151-2154.
  33. Beffagna G, Occhi G, Nava A y cols.: Regulatory mutations in transforming growth factor-beta3 gene cause arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 1. *Cardiovascular Research* 2005; 65: 366-373.
  34. Tiso N, Stephan DA, Nava A y cols.: Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). *Hum Mol Genet* 2001; 10: 189-194.
  35. Bauce B, Nava A, Rampazzo A y cols.: Familial effort polymorphic ventricular arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy map to chromosome 1q42-43. *Am J Cardiol* 2000; 85: 573-579.
  36. Asano Y, Takashima S, Asakura M y cols.: Lamr1 functional retroposon causes right ventricular dysplasia in mice. *Nature Gen* 2004; 36: 123-130.
  37. Moss AJ, Schwartz PJ, Crampton RS y cols.: The long QT syndrome: prospective longitudinal study of 328 families. *Circulation* 1991; 84: 1136-1144.
  38. Jervell A, Lange-Nielsen F: Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death. *Am Heart J* 1957; 54: 59-68.
  39. Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK: Two components of cardiac delayed rectifier K<sup>+</sup> current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J Gen Physiol* 1990; 96: 195-215
  40. Splawski I, Shen J, Timothy KW y cols.: Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes: KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation* 2000; 102: 1178-1185.
  41. Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME y cols.: A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel. *Cell* 1995; 81: 299-307.
  42. Wang, Q. y cols.: Cardiac sodium channel mutations in patients with long QT syndrome, an inherited cardiac arrhythmia. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1603-1607.
  43. Yong S, Tian X, Wang Q: LQT4 gene: the «missing» ankyrin. *Mol Interv* 2003; 3: 131-136.
  44. Donaldson MR, Yoon G, Fu YH, Ptacek LJ: Andersen-Tawil syndrome: a model of clinical variability, pleiotropy, and genetic heterogeneity. *Ann Med* 2004; 36(Suppl 1): 92-97.
  45. Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM y cols.: Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell* 2004; 119: 19-31.
  46. Schwartz, PJ y cols.: Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation* 2001; 103: 89-95.
  47. Zhang L, Timothy KW, Vincent GM y cols.: Spectrum of ST-T wave patterns and repolarization parameters in congenital long-QT syndrome. ECG findings identify genotypes. *Circulation* 2000; 102: 2849-2855.
  48. Zareba W, Moss AJ, Schwartz PJ y cols.: Influence of genotype on the clinical course of the long-QT syndrome. International Long-QT Syndrome Registry Research Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 960-965.
  49. Moss AJ: Long QT syndrome. *JAMA* 2003 ; 289: 2041-2044.
  50. Priori SG, Napolitano C, Paganini V y cols.: Molecular biology of the long QT syndrome: impact on management. *PACE* 1997; 20: 2052-2057.
  51. Moss AJ, Zareba W, Hall WJ y cols.: Effectiveness and limitations of beta-blocker therapy in congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2000; 101: 616-623.
  52. Benhorin J, Taub R, Goldmit M y cols.: Effects of flecainide in patients with new SCN5A mutation: mutationspecific therapy for long-QT syndrome? *Circulation* 2000; 101: 1698-1706.
  53. Brugada P, Brugada J. Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20: 1391-1396.
  54. Antzelevitch C, Brugada P, Brugada J y cols.: Brugada syndrome: a decade of progress. *Circ Res* 2002; 91: 1114-1118.
  55. Nademanee K, Veerakul G, Nimmannit S y cols.: Arrhythmogenic marker for the sudden unexplained death syndrome in Thai men. *Circulation* 1997; 96: 2595-2600.
  56. Wilde AA, Antzelevitch C, Borggreffe M y cols.: Proposed diagnostic criteria for the Brugada syndrome. A consensus report. *Eur Heart J* 2002; 23: 1648-1654.
  57. Antzelevitch C, Brugada R: Fever and Brugada syndrome. *Pacing Clin Electrophysiol* 2002; 25: 1537-1539
  58. Brugada R, Brugada J, Antzelevitch C y cols.: Sodium channel blockers identify risk for sudden death in patients with ST-segment elevation and right bundle branch block but structurally normal hearts. *Circulation* 2000; 101: 510-515.
  59. Antzelevitch C: The Brugada syndrome: ionic basis and arrhythmia mechanisms. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001; 12: 268-272.



60. Antzelevitch Ch, Brugada P, Borggrefe M y cols.: Brugada Syndrome Report of the Second Consensus Conference Endorsed by the Heart Rhythm Society and the European Heart Rhythm Association. *Circulation* 2005; 111: 659-670.
61. Matsuo K, Akaoshi 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. *Pace Clin Electrophysiol* 2003; 26: 1551-1553.
62. Chen Q, Kirsch GE, Zhang D y cols.: Genetic basis and molecular mechanisms for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* 1998; 392: 293-296.
63. Priori SG, Napolitano C, Gasparini M y cols.: Clinical and genetic heterogeneity of right bundle branch block and ST-segment elevation syndrome: a prospective evaluation of 52 families. *Circulation* 2000; 102: 2509-2515.
64. Smits JP, Eckardt L, Probst V y cols.: Genotype-phenotype relationship in Brugada syndrome: electrocardiographic features differentiate SCN5A-related patients from non-SCN5A-related patients. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 350-356.
65. Weiss R, Barmada M, Nguyen T y cols.: Clinical and molecular heterogeneity in the Brugada syndrome. A novel gene locus on chromosome 3. *Circulation* 2002; 105: 707-713.
66. Gussak I, Brugada P, Brugada J, Wright RS, Kopecky SL, Chaitman BR, Bjerregaard P: Idiopathic Short QT Interval: A New Clinical Syndrome? *Cardiology* 2000; 94: 99-102 (DOI: 10.1159/000047299)  
Gussak I, Brugada P, Brugada J y cols.: Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome? *Cardiology* 2000; 94: 99-102.
67. Gaita F, Giustetto C, Bianchi F y cols.: Short QT Syndrome: a familial cause of sudden death. *Circulation* 2003; 108: 965-970.
68. Gussak I, Bjerregaard P, Short QT: Syndrome. 5 years of progress. *Journal of Electrocardiology* 2005; 38: 375-377.
69. Gaita F, Giustetto C, Bianchi F y cols.: Short QT syndrome: pharmacological treatment. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1494-1499.
70. Brugada R, Hong K, Dumaine R y cols.: Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG. *Circulation* 2004; 109: 30-35.
71. Bellocq C, van Ginneken AC, Bezzina CR y cols.: Mutation in the KCNQ1 gene leading to the short QT-interval syndrome. *Circulation* 2004; 109: 2394-2397.
72. Priori SG, Pandit SV, Rivolta I y cols.: A novel form of short QT syndrome (SQT3) is caused by a mutation in the KCNJ2 gene. *Circ Res* 2005; 96: 800-807.
73. Hong K, Bjerregaard P, Gussak I y cols.: Short QT syndrome and atrial fibrillation caused by mutation in KCNH2. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005; 16: 394-396.
74. Coumel P: Catecholaminergic polymorphic ventricular tachyarrhythmias in children. *Card Electrophysiol Rev* 2002; 6: 93-95.
75. Leenhardt A, Lucet V, Denjoy I y cols.: Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in children: a 7-year follow-up of 21 patients. *Circulation* 1995; 91: 1512-1519.
76. Kontula K, Laitinen PJ, Lehtonen A y cols.: Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: recent mechanistic insights. *Cardiovasc Res* 2005; 67: 379-387.
77. Nam GB, Burashnikov A, Antzelevitch Ch y cols.: Cellular Mechanisms Underlying the Development of Catecholaminergic Ventricular Tachycardia. *Circulation* 2005; 111: 2727-2733.
78. Sumitomo N, Harada K, Nagashima M y cols.: Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: electrocardiographic characteristics and optimal therapeutic strategies to prevent sudden death. *Heart* 2003; 89: 66-70.
79. Swan H, Piippo K, Viitasalo M y cols.: Arrhythmic disorder mapped to chromosome 1q42-q43 causes malignant polymorphic ventricular tachycardia in structurally normal hearts. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 2035-2042.
80. Priori SG, Napolitano C, Memmi M y cols.: Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2002; 106: 69-74.
81. Postma AV, Denjoy I, Hoorntje TM y cols.: Absence of caldesmon 2 causes severe forms of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circ Res* 2002; 91: e21-e26.

# Síndromes de hipercoagulabilidad genéticamente determinados

N. Tarín Vicente<sup>1</sup>, J. A. Hernández Rivas<sup>2</sup>, J. Cachá Acosta<sup>3</sup>, A. Criado Millán<sup>1</sup>, L. Torres Madera<sup>1</sup>, J. Vargas López<sup>1</sup> y A. Lavín Cobo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Cardiología. Hospital de Móstoles. <sup>2</sup>Servicio de Hematología Clínica. Hospital de Fuenlabrada.

<sup>3</sup>Servicio de Hematología Clínica. Hospital de Móstoles. Madrid.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte y discapacidad en nuestras sociedades modernas, incluida España<sup>1</sup>, fundamentalmente fruto de la trombosis vascular. En el seno de estos cuadros trombóticos puede existir, en algunos casos, un estado de hipercoagulabilidad de origen hereditario y/o adquirido; son las llamadas trombofilias<sup>2</sup>. El cardiólogo, al igual que otros médicos que asisten a pacientes con enfermedades tromboembólicas, debe conocer la importancia de hacer un despistaje correcto de este tipo de patologías. Ello se debe fundamentalmente a dos razones, por un lado porque las técnicas diagnósticas de laboratorio están disponibles fácilmente, y por otro porque pueden existir implicaciones preventivas y terapéuticas para el paciente, y en los casos de base genética, también para los familiares.

Está aceptado que ciertos polimorfismos genéticos favorecen la aparición de cuadros de tromboembolia venosa, pero estudios recientes los relacionan también con eventos trombóticos arteriales<sup>3</sup>. En el presente trabajo se revisa la implicación de estos síndromes de hipercoagulabilidad de base genética en la enfermedad trombótica venosa y arterial.

## TROMBOFILIAS

El nombre de trombofilia se ha extendido en los últimos años y traduce un incremento de la tendencia a la trombosis<sup>2,4</sup>. En relación a los mecanismos causantes de la trombosis, Virchow fue el primero en proponer en 1884 tres que explicaran la génesis de la aparición de las mismas: daño de la pared vascular, estasis del flujo sanguíneo e hipercoagulabilidad de la sangre. Con el desarrollo de las técnicas de laboratorio y la investigación hematológica, hoy en día se dispone de nueva información relacionada con la vía de la coagulación, el equilibrio entre sus factores y los factores antitrombóticos que actúan como inhibidores de la generación de

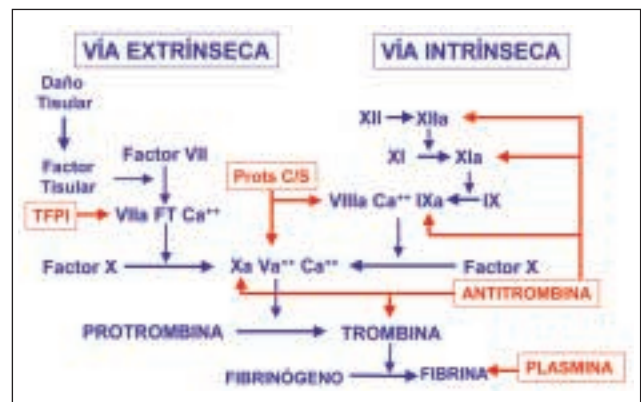


Fig. 1. — Cascada de la coagulación y sus inhibidores naturales. TFPI: inhibidor de la vía del factor tisular.

trombina, y el sistema fibrinolítico (fig. 1). El término trombofilia engloba trastornos adquiridos (tabla I) y/o heredados (tabla II) que predisponen a fenómenos trombóticos, bien por un aumento de la trombogénesis o por un defecto en el sistema anticoagulante-fibrinolítico natural. Si varios de estos procesos confluyen en un momento concreto y se supera un determinado umbral el paciente, probablemente, presentará un fenómeno trombótico<sup>4</sup>.

En la población general no está justificado realizar de rutina un estudio de hipercoagulabilidad, porque su incidencia es baja y las técnicas a realizar no son sencillas ni baratas. Sin embargo, clínicamente, se debería sospechar y tratar de descartar trombofilia en un paciente con historia familiar de trombosis, o recurrencia de trombosis sin factores de riesgo o en localizaciones atípicas para trombosis (tabla III). Cabría añadir, que incluso estaría justificado su estudio, en mujeres con embarazos complicados por retraso del crecimiento fetal, preeclampsia grave, desprendimiento de placenta o abortos de repetición, ya que existe relación entre la existencia de trombofilias congénitas o adquiridas en la embarazada y estos problemas obstétricos<sup>5</sup>.

**Tabla I Causas de trombofilia adquirida**

- Cáncer.
- Síndrome antifosfolípido.
- Hemoglobinuria paroxística nocturna.
- Síndromes mieloproliferativos crónicos.
- Síndrome nefrótico.
- Uso de estrógenos.
- Tratamientos de quimioterapia para el cáncer.
- Reducción postoperatoria de la actividad fibrinolítica.

**TROMBOFILIA HEREDADA RELACIONADA CON TROMBOEMBOLIA VENOSA**

Los tromboembolismos venosos (TEV), incluyendo las trombosis venosas profundas y el embolismo pulmonar, son una patología frecuente en los países occidentales, con una incidencia de un caso por 1000 habitantes y año<sup>5</sup>. Los TEV aumentan con la edad y por factores precipitantes que están bien establecidos<sup>7</sup>, tanto de origen adquirido como genético. Dado que el valor predictivo de cada factor es diferente (tabla IV) y que su asociación puede variar, debemos estimar el riesgo individual y global para orientar el tratamiento y prevenir recurrencias en los enfermos con TEV. La proporción de pacientes en los que se confirma el diagnóstico de TEV aumenta con el número de factores de riesgo que presentan<sup>8</sup>, y, asimismo, la probabilidad de

**Tabla II Tipos de trombofilia familiar (heredada)**

- **Asociación establecida**
  - Resistencia a la proteína C activada (factor V Leiden-G1691A).
  - Variante de la protrombina G20210A.
  - Deficiencia de antitrombina III.
  - Deficiencia de proteína C.
  - Deficiencia de proteína S.
  - Disfibrinogenemia (rara).
  - Hiperhomocisteinemia (mutación C677T MTHFR).
  - Aumento de factores de coagulación: VIII, IX, XI, XII.
- **Asociación no probada con tromboembolia**
  - Deficiencia de plasminógeno.
  - Deficiencia del cofactor II-heparina.
  - Incremento de la glicoproteína rica en histidina.
  - Disminución de la actividad del activador de plasminógeno.

**Tabla III Manifestaciones clínicas que sugieren trombofilia**

- Historia familiar de trombosis venosa.
- Trombosis en jóvenes.
- Trombosis venosa recurrente.
- Trombosis idiopática.
- Trombosis venosa con mínima causa (viaje largo en avión...).
- Combinación de trombosis arterial y venosa.
- Trombosis recurrente con anticoagulación correcta.
- Trombosis venosa de localizaciones inusuales:
  - Vena mesentérica, cava inferior, vena cerebral, hepática, renal o axilar.
- Mujeres con mala historia obstétrica.
  - Abortos de repetición, mortinatos.

recurrencia de TEV aumentará hasta el 70-90% con algunas combinaciones de 2 o más factores de riesgo<sup>9</sup>.

En muchas ocasiones, los episodios de TEV se manifiestan como procesos relacionados con la hospitaliza-

**Tabla IV Factores de riesgo de tromboembolismo venoso**

- **Fuerte (odds ratio > 10)**
  - Fractura (pierna o cadera) y/o reemplazo (prótesis de rodilla, fundamentalmente).
  - Cirugía mayor o traumatismo mayor.
  - Lesión de la espina dorsal.
- **Moderado (odds ratio 2-9)**
  - Catéter venoso central
  - Quimioterapia y/o cáncer
  - Embarazo/postparto
  - Parálisis post-ictus
  - Terapia hormonal (anticonceptivos o uso postmenopausia).
  - Artroscopia de rodilla.
  - Insuficiencia cardíaca o respiratoria.
  - Tromboembolismo venoso previo.
  - Trombofilia.
- **Débil (odds ratio < 2)**
  - Reposo en cama > 3 días
  - Edad avanzada
  - Obesidad
  - Varices
  - Sedestación prolongada (viaje...)
  - Cirugía laparoscópica.
  - Embarazo/antes del parto.

ción o la inmovilidad. Sin embargo, en estudios realizados en pacientes con TEV, de un 25-50% no habían estado hospitalizados previamente, ni estaban convalescentes de ninguna enfermedad o cirugía<sup>7</sup>. Precisamente en estos casos, con pocos factores de riesgo aparentes, cobra mayor interés el estudio de una posible trombofilia con la intención de ofrecer una mejor profilaxis y tratamiento al paciente.

Se han reconocido varias alteraciones hereditarias que afectan al sistema anticoagulante fisiológico como factores de riesgo para TEV (tabla II)<sup>10, 11</sup>. Cronológicamente, según su descripción, Egeberg en 1965<sup>12</sup> presenta por primera vez a una familia con tendencia a presentar trombosis venosa profunda de repetición debido a la deficiencia de antitrombina III. Sin embargo, no es hasta los años 80 cuando se descubren las deficiencias de proteína C<sup>13</sup> y S<sup>14</sup> como otras causas de trombofilia heredada. Estos tres síndromes de hipercoagulabilidad de origen heredado son causa de <10% de todas las causas de trombosis venosa recurrente<sup>7</sup>. Tras el descubrimiento en la década pasada de la resistencia a la proteína C activada (RPCA)/factor V Leiden<sup>15</sup> y la mutación G20210A de la protrombina<sup>16</sup>, se incrementa el interés por estos procesos, ya que estos trastornos hereditarios (polimorfismos del factor V Leiden y del gen de la protrombina, deficiencia de antitrombina y de proteína C y S) llegan a estar presentes hasta en el 50 % de TEV en jóvenes o en TEV de causa no explicada<sup>7</sup>.

Por otro lado, y aunque supera el cometido de este artículo, destacamos de cara al diagnóstico diferencial cómo entre las causas adquiridas más frecuentes de

**Tabla V Pruebas complementarias**

- Hemograma.
- Homocisteína en sangre.
- Estudio básico de coagulación.
- Estudio de hipercoagulabilidad
  - Congénita, estudio serológico:
    - Antritrombina III (valor normal 70-100%).
    - Proteína C (cromogénica, coagulativa, antigénica) (valor normal 70-100%).
    - Proteína S total y libre (valor normal 70-100%).
    - Resistencia a la proteína C activada.
  - Congénita, estudio molecular:
    - Factor V Leiden.
    - Mutación del gen de la protrombina 20210A.
    - Mutación del gen de la metilen tetrahidrofolatoreductasa 677T.
  - Adquirida:
    - Anticoagulante lúpico.
    - Anticuerpos anticardiolipina.

**Tabla VI Estudio de hipercoagulabilidad**

- *Cómo realizarlos:*
  - Con el paciente sin recibir anticoagulantes.
  - Alejado del evento trombotico.
  - Después de excluir causas adquiridas.
  - Confirmar las deficiencias en los familiares.
- *En caso de realizarse mientras se recibe anticoagulación puede analizarse:*
  - Antitrombina III: con anticoagulantes orales.
  - Proteína C: con dosis altas de heparina subcutánea.
  - Proteína S: con dosis altas de heparina subcutánea.
  - Resistencia a la proteína C activada: pruebas genéticas con cualquier anticoagulante.
- *Otras recomendaciones y consejos:*
  - Repetirlos en varias ocasiones.
  - Realizarlos a los familiares, incluso aunque estén asintomáticos.
  - En las mujeres con trombofilia con o sin eventos tromboticos deben recibir consejo sobre:
    - Futuros embarazos.
    - El uso de anticonceptivos.
    - Sobre el uso de terapia hormonal sustitutiva.

trombofilia están la presencia de anticuerpos anticardiolipina (anticoagulante lúpico), el cáncer y la quimioterapia, siendo el resto de causas más raras. Así, el tipo de pruebas de laboratorio que completan el estudio de trombofilia se describe en la tabla V y algunos otros aspectos de cómo realizarlos se describen en la tabla VI.

Las alteraciones genéticas protrombóticas pueden producirse por disminución de proteínas antitrombóticas o por el incremento de proteínas protrombóticas, y se describen a continuación.

### **Disminución heredada de los niveles de proteínas antitrombóticas (inhibidores naturales de la coagulación)**

En el total de pacientes con TEV, en el 5-10% se puede encontrar una de las deficiencias siguientes<sup>7</sup>. Estos 3 déficits proteicos están relacionados con una amplia variedad de mutaciones sin encontrar una diferencia geográfica en su distribución.

#### *Deficiencia de antitrombina III*

La antitrombina III (AT), hoy llamada antitrombina, es una glucoproteína de síntesis hepática que regula la formación de fibrina inactivando la trombina y el factor Xa.

En la población general tiene una incidencia baja (0,02-0,3%), sin embargo, en pacientes no seleccionados con TEV, la frecuencia de antitrombina es del 1,1% frente al 2,4% (rango 0,5-4,9%) en pacientes seleccionados<sup>17</sup>. Generalmente se hereda de modo autonómico dominante. Existen múltiples mutaciones que exceden el objetivo del presente trabajo y que se traducen en dos tipos de deficiencia<sup>18</sup>: a) la tipo I con disminución de la síntesis de AT, en la que la mayoría de los afectados son heterocigotos con niveles de AT del 40-70%, siendo raros los homocigotos ya que su presentación es incompatible con la vida y b) tipo II, que cursa con niveles normales pero con actividad disminuida por modificación del sitio de unión a la heparina o sitio reactivo. Todos los defectos descritos traducen hasta un 50% más de riesgo de trombosis frente a individuos sanos. Las personas con deficiencia heredada de AT tienen más riesgo que los portadores de déficit de proteína C o S, tal es así que el 85% de ellos habrá experimentado un evento TEV a los 50 años<sup>19</sup>, frente a sólo el 50% de los heterocigotos de déficit de proteínas C y S<sup>20</sup>.

### Deficiencia de proteína C

La proteína C es una glucoproteína dependiente de vitamina K, de síntesis hepática. Se activa por el complejo trombina-trombomodulina en el endotelio y actúa degradando el factor Va y el factor VIIIa, mientras que la proteína S funciona como cofactor. El déficit de proteína C predispone a TEV y su prevalencia en adultos sanos es de hasta un 0,5%, mientras que en pacientes con TEV no seleccionados puede ser del 3%<sup>21,22</sup>. Su presencia eleva el riesgo de trombosis entre 2 y 6 veces. Se transmite generalmente de modo autosómico dominante, aunque algunos patrones pueden ser de transmisión recesiva. Existen dos formas de presentación: tipo I, con deficiencia funcional y de los niveles de dicha proteína y el tipo II con niveles normales y déficit en su función. Publicaciones recientes<sup>23</sup> la relacionan también con trombosis arteriales (infartos de miocardio e ictus). Existen más de 160 mutaciones descritas en el gen de la proteína C<sup>24</sup>. Es importante ver que su asociación a otros factores trombogénicos puede predisponer aún más a la aparición de síndromes trombóticos<sup>25</sup>. Un cuadro poco frecuente pero característico de la deficiencia heterocigota de la proteína C, y también de la proteína S, es la necrosis cutánea al iniciarse el tratamiento con anticoagulantes orales (dicumarínicos). La forma homocigota es incompatible con la vida.

### Deficiencia de proteína S

La proteína S es una glucoproteína vitamina K dependiente de origen hepático y endotelial, que actúa como cofactor de la proteína C activada. Un 40% circula libre y

el resto unido a la fracción C4b del complemento. Se desconoce su prevalencia en la población general, pero en pacientes con TEV no seleccionados es del 1-2%. Su deficiencia lleva a un riesgo de trombosis del 50% a los 45 años. Al igual que en los casos anteriores puede existir déficit de los niveles de esta proteína o de su función. Se transmite como herencia autosómica dominante aunque existe un gran espectro de mutaciones con distintas penetrancias<sup>26</sup>.

### Aumento heredado de la actividad de factores protrombóticos

#### *Resistencia a la proteína C activada-Factor V Leiden*

En 1993 Dahlback describe la resistencia a la proteína C activada (RPCA), tras estudiar el plasma de pacientes con TEV y sus familiares<sup>15</sup>. Comprobó cómo a pacientes con trombosis recurrente al añadirles proteína C activada se prolongaba el tiempo de tromboplastina parcial activado (aPTT) menos que en individuos sanos. Posteriormente, se puso de manifiesto que es la anomalía genética más frecuentemente encontrada en pacientes con TEV (20-30%), y que hasta un 50% de los europeos con trombosis recurrente tenían RPCA<sup>15,27</sup>.

En más del 90% de casos se produce por una mutación G1691A (guanidina por adenosina en el nucleótido 1691) del gen del factor V (en el cromosoma 1), que provoca la sustitución de glutamina en lugar de arginina, en el aminoácido 506 de la molécula del factor V, y que se denomina Factor V Leiden. Su herencia es autosómica dominante (1q21) y produce una mayor resistencia del factor V activado a la proteólisis por la proteína C activada. Este defecto es frecuente entre los caucásicos y llega a estar presente en el 5% de la población general, mientras que prácticamente está ausente en los africanos y orientales<sup>28</sup>. Incluso entre los europeos hay variaciones poblacionales con un incremento positivo en las poblaciones del sur al norte de Europa. En España la prevalencia en la población general es del 3% y del 10% en los pacientes con TEV<sup>4</sup>; entre los vascos está ausente prácticamente, en parte por el escaso cruce entre razas.

Entre las mujeres que tuvieron una trombosis y tomaban anticonceptivos, el 60% tuvieron RPCA<sup>29</sup>, ya que la conjunción de esta mutación con la toma de anticonceptivos eleva 30 veces el riesgo de TEV. El riesgo relativo de trombosis venosa es de 3-10 veces para heterocigotos y de 50-100 veces para homocigotos<sup>28,30</sup>.

#### *Resistencia a la proteína C activada – no asociada a Factor V Leiden*

Esta resistencia a la proteína C activada en ausencia de la mutación tipo Factor V Leiden, puede ser adquirida o genética, esta última por existir otras variantes

genéticamente determinadas aunque con importancia menor al factor V Leiden<sup>31</sup>. Entre las causas adquiridas están el embarazo, el consumo de anticonceptivos y algunos cánceres.

### *Mutación de la protrombina G20210A (Factor II)*

Es el segundo polimorfismo protrombótico en humanos en frecuencia. Consiste en la sustitución de guanidina por adenosina en el nucleótido 20210 del gen de la protrombina. Esta variación produce un aumento de los niveles de protrombina (molécula precursora de la trombina). Su transmisión es autosómica dominante (11p11) y su prevalencia es más frecuente en la raza caucásica europea, en la que llega a estar presente entre el 1,7-3% de los individuos, y llega a un 18% en un grupo seleccionado por historia personal o familiar previa de trombosis venosa<sup>16</sup>. Hay un incremento en la prevalencia en los países del sur de Europa frente a los del norte<sup>28</sup>. Los portadores de esta mutación tienen un aumento del riesgo de 3 veces de desarrollar TEV. En España<sup>4</sup> la prevalencia es de 3,5% y entre los españoles con TEV es del 17%.

### *Factores de la coagulación*

El aumento de factores de la coagulación como VII, VIII, IX, y XI se ha visto asociado a un mayor riesgo trombótico en el *Leiden Thrombophilia Study*. Hasta un 25% de los pacientes con un primer episodio de TEV tenían >150% más elevado el factor VIII frente a sólo un 11% en los controles sanos<sup>32</sup>. También el aumento de factor IX<sup>33</sup> y XI<sup>34</sup> eleva modestamente el riesgo trombótico (2,5 y 2,2 veces respectivamente). Se desconoce la base molecular del incremento de estos factores pero, al menos en parte, es muy probable que tengan una base genética.

### *Hiperhomocisteinemia relacionada a la mutación C677T del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR)*

La homocisteína es un producto intermedio del metabolismo de la metionina, y su aumento se ha relacionado con un incremento del riesgo de desarrollar trombosis venosa y arterial. Aumentos moderados (>15 micromoles/l), elevan no de manera significativa, el riesgo de TEV. Se pueden encontrar niveles altos de homocisteína en el 5% de la población. Entre las causas ambientales cabe destacar la escasa ingesta de vitamina B6-12 y folatos. Entre los genéticos, destaca el polimorfismo que sustituye la citosina por timidina en el nucleótido 677 del gen de la MTHFR. Este enzima participa en la formación de metionina a partir de la homocis-

teína, y ayuda a evitar la elevación de los niveles de esta última. Este polimorfismo, descrito en 1995, conlleva un cambio de alanina por valina en el aminoácido 223, que hace que esta enzima sea termolábil a 37° C y su actividad es la mitad de la normal. Aunque, como ya se ha referido, su papel es menos marcado en la génesis de las trombosis, se ha comprobado un aumento de incidencia de la misma en los portadores homocigotos, especialmente si hay deficiencia vitamínica o ingesta insuficiente de folatos. Su prevalencia varía ampliamente en Europa y Asia, y así, es más prevalente en los países de la cuenca mediterránea<sup>28</sup>.

### **Otros factores de riesgo heredables**

Este término engloba algunos perfiles genéticos que implican más riesgo para TEV: la raza negra se asocia con una incidencia más alta que la blanca, y en éstos es mayor que en los asiáticos más orientales<sup>7</sup>. Hay más incidencia en hombres que en mujeres. Asimismo, las personas con grupo sanguíneo distinto al cero, tienen un riesgo aumentado de trombosis venosa de dos a cuatro veces<sup>4</sup>.

### **TROMBOFILIA HEREDADA RELACIONADA CON TROMBOSIS ARTERIAL**

Como se ha descrito en el apartado anterior, estos síndromes de hipercoagulabilidad se encuentran totalmente aceptados como implicados en los procesos de TEV. Sin embargo, la trombosis arterial parece tener más relación con la interacción pared vascular y plaqueta, influyendo menos el sistema hemostático<sup>35</sup>. Cada vez conocemos mejor los mecanismos fisiopatológicos que median en la evolución de la aterotrombosis y los factores de riesgo que causan o precipitan la enfermedad<sup>36</sup>. En este contexto, hay casos en la práctica clínica que se escapan al patrón habitual de perfil de riesgo vascular, e investigaciones recientes empiezan a dejar al descubierto el poder trombótico arterial de algunas trombofilias (tabla VII). En un meta-análisis con más de 17.000 pacientes con enfermedad arterial se comprobaba como las tres anomalías genéticas más frecuentemente asociadas con riesgo de trombosis arterial son: el factor V Leiden, la mutación G20210A de la protrombina y la mutación C677T de la MTHFR<sup>37</sup>. Las 2 primeras tienen una asociación mayor con los menores de 55 años y con el sexo femenino.

En pacientes con factores tradicionales de riesgo aterosclerótico, la importancia de estos polimorfismos queda diluida. Sin embargo, con las evidencias actuales<sup>3</sup>, deberíamos descartar hipercoagulabilidad heredada en jóvenes (hombres ≤ 50 y mujeres ≤ 55 años) con tromboembolismos recurrentes sin estenosis arteriales, escasos factores de riesgo tradicionales

**Tabla VII Condiciones heredadas predisponentes a tromboembolismo arterial**

- *Polimorfismos genéticos del sistema hemostático:*
  - Factor V Leiden (G1691A).
  - Variante de la protrombina G20210A.
  - Variantes con incremento funcional de fibrinógeno, factor VII, inhibidor del activador de plasminógeno-1.
  - Glicoproteína IIIa (Leu33Pro).
  - Historia familiar de trombosis arterial.
  - Homocistinurias.
  - Dislipemias heredadas.

(hipertensión, diabetes, tabaquismo, dislipemia) y sin enfermedades o tratamientos protrombóticos, y/o con historia familiar de trombosis. Según se recoge en la figura 2, en todo paciente con un episodio de trombosis arterial se justificaría descartar trombofilia si además asocia alguna de las siguientes condiciones:

- eventos tromboembólicos recurrentes
- en hombres de edad  $\leq 50$  años, o mujeres  $\leq 55$  años
- en hombres de edad  $\leq 55$  años, o mujeres  $\leq 60$  años pero ausencia de factores de riesgo clásicos para trombosis, y de enfermedades o tratamientos que la favorezcan

- ausencia de estenosis arteriales angiográficamente significativas
- fuerte historia familiar de trombosis, definida como tener al menos un familiar en primer grado afectado antes de los 50 años si es hombre o antes de los 55 si es mujer

En estos grupos seleccionados la prevalencia de estos polimorfismos puede ser hasta 5 veces superior que en los controles<sup>38-40</sup>. La importancia de hacer estos diagnósticos puede obligar a asociar anticoagulación a la aspirina para la prevención secundaria de aparición de síndromes isquémicos arteriales<sup>41</sup>.

**IMPLICACIONES DE PRÁCTICA CLÍNICA**

El manejo de los pacientes con trombofilia de base genética debería cubrir dos aspectos: el tratamiento de los que ya han presentado un episodio trombótico y la profilaxis en situaciones de riesgo en aquellos pacientes trombofílicos que nunca presentaron cuadros trombóticos.

**Tratamiento del proceso trombótico agudo**

El tratamiento es similar al de los pacientes con un evento trombótico sin trombofilia, e incluso la indicación de trombolisis, colocación de dispositivos de filtro de cava o de cirugía es similar<sup>42-46</sup>. Se puede utilizar hepa-

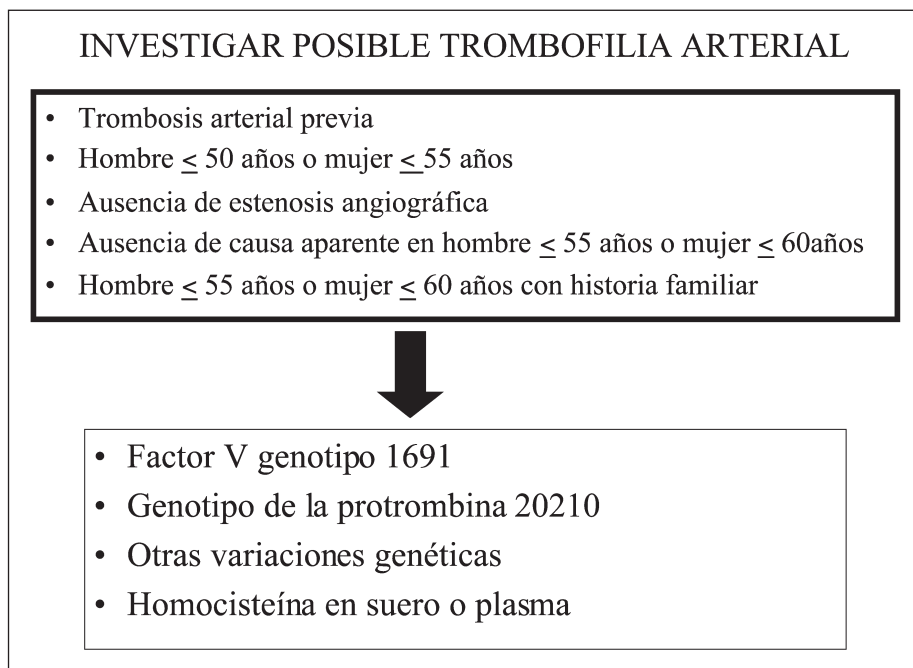


Fig. 2. – ¿En qué pacientes debe descartarse trombofilia arterial?

rina en cualquiera de sus presentaciones en la dosis habitual. Además, deberá considerarse el tratamiento con anticoagulantes de modo indefinido. Algunos aspectos especiales a considerar son:

1. Con déficit congénito de AT puede existir resistencia a prolongar el aPTT, incluso con dosis altas de heparina. Por esta razón puede ser necesario añadir concentrados de AT III para mantener un nivel de al menos el 80% de la AT normal y así restaurar la respuesta a la heparina.

2. En pacientes con déficit conocido de proteína C se debe esperar al inicio de los dicumarínicos a tener una heparinización correcta de más de 5 días, comenzar con dosis bajas de acenocumarol (1 mg) y aumentar la dosis del tratamiento anticoagulante oral a partir del tercer día de tratamiento. Se debe suspender la heparina después de 2-3 días con INR correcto. Así se evitará la posible aparición de necrosis cutánea.

3. Con antecedentes de necrosis cutánea, se debe valorar la utilización de concentrados de proteína C en los primeros días de la administración de acenocumarol.

4. Si el cuadro trombótico es arterial se puede considerar la asociación de aspirina y dicumarínicos, dado que hay estudios que han demostrado una seguridad similar al uso de aspirina sola y una eficacia incluso mayor<sup>41</sup>.

### Duración de la prevención secundaria en trombofilias heredadas

No existen reglas fijas para la duración del tratamiento anticoagulante después de un primer episodio trombótico asociado a un defecto genético que condiciona la aparición de hipercoagulabilidad. La decisión debe ser individualizada y consensuada entre el médico y el paciente. No obstante, es probable que en las circunstancias que se mencionan a continuación, sea preferible la anticoagulación indefinida<sup>45-47</sup>:

1. La aparición de un primer episodio a edad temprana y sin otras situaciones de riesgo añadido sugiere una trombofilia más agresiva y quizá la duración del tratamiento anticoagulante debería ser indefinida, dado que no se pueden predecir ni evitar circunstancias desencadenantes.

2. Antecedentes familiares graves de episodios trombóticos recurrentes y severos.

3. Si el episodio trombótico se localizó en órganos vitales.

No habrá que olvidar valorar el tipo de vida y de trabajo del paciente, ya que si es sedentario o está imposibilitado para moverse se puede facilitar el estasis venoso, lo cual aconsejaría un tratamiento indefinido.

En los últimos años han aparecido trabajos que avalan el efecto del tratamiento con heparina en el embarazo de mujeres con trombofilia<sup>5</sup> para la prevención de resultados obstétricos adversos, aunque constituye aún un campo en desarrollo.

### Prevención antitrombótica en situaciones de riesgo

Si el paciente trombofílico no está anticoagulado deben vigilarse situaciones ambientales que aumentan el riesgo de trombosis, como son las circunstancias que se describen en la tabla IV, con especial atención a las situaciones que facilitan el estasis venoso como la inmovilidad por distintas causas, el embarazo y periparto. En esos casos se debe aconsejar el uso profiláctico de heparina. Otras recomendaciones específicas se dirigen a la mujer con trombofilia y a los familiares de pacientes con uno de los defectos descritos.

1. Debe darse consejo a toda mujer con trombofilia sobre los riesgos de un embarazo<sup>5</sup> y del uso de anticonceptivos orales o de terapias hormonales. Por ello, son preferibles otros métodos anticonceptivos no hormonales y evitar la terapia hormonal sustitutiva en la menopausia.

2. La identificación de familiares con estos defectos, aunque no hayan presentado eventos trombóticos, permite aplicar medidas preventivas.

Por último, en el caso de la mutación C677T de la MTHFR el incremento en la toma de vitaminas B6, B12 y folatos puede disminuir el riesgo trombótico.

### CONCLUSIONES

Los síndromes de hipercoagulabilidad heredados deben tenerse en cuenta como facilitadores de procesos trombóticos venosos y arteriales, sobre todo en los casos atípicos, por su escaso perfil de riesgo tradicional. La presencia de estos polimorfismos genéticos que favorecen trombofilia puede inferirse a partir de la historia clínica, pero deben ser diagnosticados en pacientes y familiares con estudios realizados en los Servicios de Hematología mediante análisis de sangre para coagulación y biología molecular obtenida por venopunción. Debe recordarse que su diagnóstico tiene implicaciones terapéuticas y preventivas, con unas consideraciones más especiales en las mujeres en su época fértil y en la menopausia.

No obstante, se necesitan más estudios prospectivos que ayuden a la toma de decisiones de cara al tratamiento. Aunque no deben olvidarse las recomendaciones respecto al estilo de vida y las medidas preventivas antitrombóticas, el manejo agresivo anticoagulante en la fase aguda del episodio trombótico y la decisión de anticoagulación indefinida en los casos que asocien un perfil de riesgo más alto.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Centro Nacional de Epidemiología: Área de análisis epidemiológico y situación de la salud. Mortalidad por capítulo, causa y sexo (2000). Disponible en : [http://193.146.50.130/mortal/mortal2000/w00\\_cap\\_cau.htm](http://193.146.50.130/mortal/mortal2000/w00_cap_cau.htm).



2. Espinosa G, Tàssies D, Reverter JC: Coagulación y fibrinólisis plasmática. Estados de hipercoagulabilidad. *Jano* 2004; 66 :66-72.
3. Andreotti F, Becker RC: Atherothrombotic disorders. New insights from hematology. *Circulation* 2005; 111: 1855-1863.
4. Lecumberri Villamediana R, Sánchez Antón MP, Feliú Sánchez J, Rocha Hernando E: *Medicine* 2004; 22 : 1391-1400.
5. Walker MC, Ferguson SE, Allen VM: Heparina para las mujeres embarazadas con trombofilia adquirida o heredada (Revisión Cochrane traducida). En la Biblioteca Cochrane Plus, 2005 número 4 Oxford: Update Software Lf. Disponible en : <http://www.update-software.com> (traducida de The Cochrane Library, 2005 Issue 4. Chichester, UK : John Wiley & Sons, Ltd.).
6. Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN y cols.: The epidemiology of venous thromboembolism in the community. *Thromb Haemost* 2001; 86: 452-463.
7. Anderson FA, Spencer FA: Risk factors for venous thromboembolism. *Circulation* 2003; 107 (Suppl I): 9-16.
8. Wheeler HB, Anderson FA Jr, Cardullo PA y cols.: Suspected deep vein thrombosis. Management by impedance plethysmography. *Arch Surg* 1982; 117: 1206-1209.
9. Caprini JA, Goldshteyn S, Glase CJ, Hathaway K: Thrombophilia testing in patients with venous thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 30: 550-555.
10. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA y cols.: Inherited thrombophilia: Part 1. *Thromb Haemost* 1996; 76: 651-662.
11. Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA y cols.: Inherited thrombophilia: Part 2. *Thromb Haemost* 1996; 76: 823-834.
12. Egeberg O: Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 1965;13: 516-530.
13. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS y cols.: Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest* 1981; 68: 1370-1373.
14. Comp P, Esmon C: Recurrent venous thromboembolism in patients with a partial deficiency of protein S. *N Engl J Med* 1984; 311: 1525-1528.
15. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ: Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1004-1008.
16. Poor SR, Rosendaal FR, Reitsma y cols.: A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88: 3698-3703.
17. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM: Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes and management. *Blood* 1996; 87: 3531-3544.
18. Bayston TA, Lane DA: Antithrombin: molecular basis of deficiency. *Thromb Haemost* 1997; 78: 339-343.
19. Thaler E, Lechner K: Antithrombin III deficiency and thromboembolism. *Clin Haematol* 1981; 10: 369-390.
20. Allaart CF, Poort SR, Rosendaal FR y cols.: Increased risk of venous thrombosis in carriers of hereditary protein C deficiency defect. *Lancet* 1993; 314: 134-138.
21. Tait RC, Walker ID, Reitsma PH y cols.: Prevalence of protein C deficiency in the health population. *Thromb Haemost* 1995; 73: 87-93.
22. Heijboer H, Brandjes DP, Buller HR y cols.: Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1990; 323: 1512-1516.
23. Tiong IY, Allkotob ML, Ghaffari S: Protein C deficiency manifesting as an acute myocardial infarction and ischaemic stroke. *Heart* 2003;89:e7. Disponible en: [www.heartjnl.com/cgi/content/full/89/2/e7](http://www.heartjnl.com/cgi/content/full/89/2/e7).
24. Reitsma PH: Protein C deficiency: from gene defects to disease. *Thromb Haemost* 1997; 78: 344-350.
25. Koeleman BPC, Reitsma PH, Allaart CF y cols.: Activated protein C resistance as an additional risk factor for thrombosis in protein C deficient families. *Blood* 1994; 84: 1031-35.
26. Borgel D, Gandrille S, Alach M: Protein S deficiency. *Thromb Haemost* 1997; 78: 351-356.
27. Koster T, Rosendaal FR, de Ronde H y cols.: Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet* 1993; 342: 1503-1506.
28. Bauduer F, Lacombe D: Factor V Leiden, prothrombin 20210A, methylenetetrahydrofolate reductase 677T, and population genetics. *Mol Gen Metabol* 2005; 86: 91-99.
29. Vandembroucke JP, Koster T, Briët E y cols.: Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet* 1994; 344: 1453-1457.
30. Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P y cols.: Factor V Leiden and the risk for venous thromboembolism in the adult Danish population. *Ann Intern Med* 2004; 140: 330-337.
31. Rodeghiero F, Tosetto A: Activated protein C resistance and factor V Leiden are independent risk factors for venous thromboembolism. *Ann Intern Med* 1999;130: 643-650.
32. Koster T, Blann AD, Brier E y cols.: Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep vein thrombosis. *Lancet* 1995; 345: 152-155.
33. van Hylckama VA, van del Linden IK, Bertina RM y cols.: High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. *Blood* 2000; 95: 3678-3682.
34. Meijers JCM, Tekelenburg WLH, Bouma BN y cols.: High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med* 2000; 342: 696-701.
35. Mustard JF, Packham MA, Kinlough-Rathbone RI: Platelets, blood flow and vessel wall. *Circulation* 1990; 81(suppl 1): 124-127.
36. Vilariño JO, Esper R, Badimón JJ: Fisiopatología de los síndromes coronarios agudos. Tres paradigmas para un nuevo dogma. *Rev Esp Cardiol* 2004; 4: 13-24.
37. Kim RJ, Backer RC: Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. *Am Heart J* 2003; 146: 948-957.
38. De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K y cols.: Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood* 1998; 91: 3562-3565.
39. Van de Water NS, French JK, Lund M y cols.: Prevalence of factor V Leiden and prothrombin variant G20210A in patients < 50 years with no significant stenosis at angiography three to four weeks after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 717-722.
40. Burzotta F, Paciaroni K, De Stefano V y cols.: Increased prevalence of the G20210A prothrombin gene variant in acute coronary syndromes without metabolic or acquired risk factors or with limited extent of disease. *Eur Heart J* 2002; 23: 26-30.
41. Hurlen M, Abdelnoor M, Smith P y cols.: Warfarin, aspirin and both after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002; 347: 969-974.
42. Goldhaber SZ, Haire WD, Feldstein ML y cols.: Alteplase vs heparin in acute pulmonary embolism: randomised trial assessing right ventricular function and pulmonary perfusion. *Lancet* 1993; 341: 507-511.
43. Meyer G, Tamisier D, Sors H y cols.: Pulmonary embolectomy: a 20-years experience at one centre. *Ann Thorac Surg* 1991; 51: 232-236.
44. Magnant JG, Walsh DB, Juravsky LI y cols.: Current use of inferior vena cava filters. *J Vasc Surg* 1992; 16: 701-706.
45. Hirsch J, Hoak J: Management of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. A statement for healthcare professionals from the council on thrombosis (in consultation with the council on cardiovascular radiology), American Heart Association. *Circulation* 1996; 93: 2212-2245.
46. López JA, Kearon C, Lee AYY: Deep vein thrombosis. *Haematol* 2004; 439-456.
47. Duboscq C, Lanari Zubiaur EA, Korin J: Trombofilia hereditaria. *Avances en Medicina* 1999:185-197. Sociedad Argentina de Medicina. Disponible en: <http://www.sam.org.ar/publicaciones/avances/avances99/19.pdf>.

# Genética de las miocardiopatías

M.<sup>a</sup> T. Tomé Esteban

Consultant Cardiologist. The Heart Hospital. Londres. Reino Unido.

Las miocardiopatías constituyen un grupo de enfermedades del músculo cardíaco cuya historia no es sólo reciente sino que está estrechamente interrelacionada con el descubrimiento, evolución y desarrollo de la genética.

## CONCEPTOS EN MIOCARDIOPATÍAS

El término miocardiopatías se acuñó a finales de 1950 para describir las enfermedades del músculo cardíaco de origen no coronario. Se abrió entonces un capítulo fascinante en la historia de la cardiología. En 1958, Teare, anatomopatólogo del St George's Hospital de Londres, analizó las características de los corazones de un grupo de pacientes jóvenes que murieron súbitamente<sup>1</sup>. Describió por primera vez la hipertrofia septal asimétrica, la obstrucción al tracto de salida del ventrículo izquierdo, y la desorganización de las fibras musculares en el miocardio (*disarray*). Desde entonces, las publicaciones no hicieron más que sucederse y esta entidad llegó a describirse con más de 60 nombres diferentes.

El término en sí ha evolucionado y, a fecha actual, las miocardiopatías se definen como enfermedades del músculo cardíaco asociadas a disfunción del mismo<sup>2</sup>. Se clasifican en: miocardiopatía dilatada, hipertrófica, arritmogénica del ventrículo derecho, restrictiva y no clasificadas. Además, se incluyen bajo el término de miocardiopatías específicas la hipertensiva, isquémica, metabólica, asociada a enfermedades neuromusculares, etc.

Lo que las miocardiopatías tienen en común es su origen genético. Los descubrimientos de las últimas décadas en genética molecular han modificado y continúan modificando los conceptos actuales, las herramientas diagnósticas y la fisiopatología de las enfermedades. Así mismo, las miocardiopatías representan los distintos patrones de remodelado cardíaco, ya sea hipertrofia, dilatación, aumento del tejido conectivo, fibrosis o adelgazamiento y apoptosis. Por lo tanto, el entendimiento de la fisiopatología de las mismas puede ayudar a entender otras patologías con remodelado similar.

## CONCEPTOS EN GENÉTICA

El genoma es el juego completo de instrucciones para la formación de un organismo. Cada célula contiene

una copia del genoma en el núcleo consistente en madejas compactas compuestas de ácido desoxirribonucleico (ADN) y de proteínas llamadas histonas, y denominadas cromosomas. El ser humano tiene 23 pares de cromosomas, 22 autosomas y un cromosoma sexual. Cada par está constituido por una copia paterna y una copia materna.

En Abril de 1953 J.D. Watson y F.H.C Crick publicaron en Nature «A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid». En su publicación propusieron la estructura del ADN, lo que constituye la base de la genética molecular actual<sup>3</sup>.

El ADN está formado por nucleótidos. Cada nucleótido consta de una base nitrogenada, un fosfato y una pentosa. Existen cuatro nucleótidos, cada uno con una base nitrogenada distinta, adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G). Dichas bases se organizan en pares AT y CG a través de enlaces hidrogenados y, entre ellas, con uniones fosfato entre los carbonos 3 y 5 formando la estructura de doble hélice que constituye la base del código genético. El genoma humano está constituido por 3 billones de pares de nucleótidos.

Los conceptos de la genética clásica han ido evolucionando y adaptándose a los descubrimientos de la genética molecular, siendo así que se entiende por gen aquella porción del ADN que codifica una proteína funcional. El gen es por lo tanto una secuencia de nucleótidos y por ello en la actualidad se prefiere usar el término «unidad de transcripción». Existen aproximadamente unos 100.000 genes.

Sin embargo, sólo el 10% del ADN codifica proteína. A estas regiones se las denomina «exones». El resto de regiones del ADN sin función codificadora conocida se denominan «intrones».

Las proteínas están constituidas por veinte aminoácidos diferentes. Cada aminoácido se codifica a través de una secuencia específica de nucleótidos agrupados de tres en tres. Estas secuencias específicas se conocen como codones.

La primera secuencia refinada del genoma humano se completó en abril del 2003, cincuenta años después del descubrimiento de Watson y Crick. La conclusión del proyecto nos permite localizar fácilmente distintos genes en los cromosomas. Es como tener un mapa de alta resolución del ADN.

Una mutación genética es aquella modificación permanente de la secuencia del ADN que constituye un

gen. Las mutaciones pueden ser adquiridas durante la vida o heredadas de los progenitores. Las mutaciones heredadas están presentes en todas las líneas celulares del organismo. Las mutaciones que afectan a una célula germinal se denominan de novo, ya que no se encuentran en el resto de estirpes celulares y sin embargo se transmiten a la descendencia.

Las mutaciones adquiridas que no afectan a las células germinales, no se transmiten a la descendencia. Por último, las mutaciones que ocurren cuando el embrión está en desarrollo afectan sólo a distintas estirpes celulares, y eso se denomina mosaicismo.

Algunas mutaciones son raras y otras son muy comunes. Los cambios genéticos que ocurren en más del 1% de la población se denominan polimorfismos. Se consideran variaciones de la normalidad y fuente de la variedad genética de las distintas razas humanas.

Existen diferentes mutaciones genéticas: aquellas causadas por mutaciones puntuales, ya sea sin sentido, translocaciones, inserciones, deleciones o sustituciones. No todas las mutaciones son causantes de enfermedad, y si lo son en la mayoría se asocian a herencia autosómica recesiva.

### Patrones de herencia

Autosómica o ligada a los cromosomas sexuales, dependiendo de si los cromosomas implicados son los somáticos o los sexuales.

Se transmiten con patrón dominante aquellos defectos en los que sólo es necesaria una copia defectuosa, es decir sólo uno de los alelos está afectado, y pasan al 50% de la descendencia. Aquellos defectos que se transmiten con herencia recesiva requieren dos copias defectuosas: ambos alelos deben estar afectados. Se transmite al 25 % de la descendencia.

### Genética mitocondrial

Cuando los gametos se unen, el femenino aporta la mayoría de citoplasma y los organelos. La mayor parte de las mitocondrias, si no en su absoluta mayoría, son por lo tanto maternas. Se sabe, sin embargo, que la herencia mitocondrial es compleja y que es posible que el espermatozoide aporte también alguna mitocondria dentro de su pequeño citoplasma.

Las mitocondrias tienen su propio ADN, que es circular y se compone de 37 genes, de los que 24 son necesarios para la transcripción del propio ADN, y 13 de ellos para regulación de la cadena oxidativa<sup>4,5</sup>. Sin embargo, los factores reguladores de la cadena oxidativa dependen del ADN nuclear.

Las mutaciones en el ADN mitocondrial (ADNm) se rigen por patrones diferentes del ADN nuclear. La cantidad de ADNm mutado difiere en las distintas células.

Esta propiedad se denomina heteroplasmicidad, lo que explica la diferente afectación de los tejidos en las enfermedades mitocondriales. En ciertos defectos es necesaria una cantidad mínima de ADNm mutado para que el defecto cause disfunción, lo que se denomina efecto umbral. Por último, la distribución de las mitocondrias durante la mitosis es aleatoria.

### Otros conceptos en genética

«Locus» es el lugar que ocupa un gen en un cromosoma. El término «expresión» se refiere al hecho de que un gen se manifieste, mediante la síntesis de la proteína que codifica. Por último, «penetrancia» es el grado de expresión de un gen.

### MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA

La miocardiopatía hipertrófica (MCH) (fig. 1) es una enfermedad primaria del miocardio que se define por la presencia de hipertrofia ventricular en ausencia de una causa cardíaca o sistémica responsable de la misma<sup>6</sup>. Está causada por mutaciones en los genes que codifican las proteínas del sarcómero y se hereda con patrón autosómico dominante, con penetrancia variable<sup>7</sup>. La prevalencia en adultos se estima alrededor de 1:500<sup>8</sup>. Es posible demostrar agregación familiar hasta en el 60% de los sujetos afectados, aunque hay, además, casos esporádicos debidos a mutaciones *de novo*, que constituyen hasta el 20%<sup>9,10</sup>. Existen otras patologías que cursan con hipertrofia ventricular izquierda que simulan la MCH clásica como, por ejemplo, la enfermedad de Anderson-Fabry, particularmente prevalente en edades más avanzadas y con patrón de herencia ligado al cromosoma X<sup>11</sup>. Hasta el 5 al 10% de los pacientes



Fig. 1. — Ecocardiograma de una miocardiopatía hipertrófica.

**Tabla I Miocardiopatía hipertrófica**

Anomalías producidas por mutaciones en		Locus
Proteínas del sarcómero	$\beta$ -miosina	14q11.2-q13
	$\alpha$ -tropomiosina	15q22
	Troponina I	19p13.2-q13.2
	Troponina T	1q32
	Proteína C de unión a la miosina	11p11.2
	Cadenas ligeras, esencial y reguladora	3p21,12q23-q24
	Actina	15q14
	$\alpha$ -miosina	14q12
	Sistemas generadores de ATP	PRKAG2
Friedreichs		9q13-q21.1
Mitocondriales		A4317G,A4269G
VLCAV (Deficiencia de la cadena larga de la Acil-CoA deshidrogenasa)		17p 11.2-p11.1
Otros	Complejo distrofina: $\alpha$ -distrobrevina	
	Titina	2q31

con MCH presentan, además, el síndrome de Wolf-Parkinson White<sup>12,13</sup>. En este grupo de pacientes se ha podido identificar una causa de hipertrofia ventricular cardiaca diferente de las alteraciones en las proteínas del sarcómero. Los individuos afectados heredan de forma autosómica dominante una mutación en la subunidad reguladora de una proteínquinasa activada por el AMP (PRKAG2), enzima relacionada con la utilización de la glucosa y la glicólisis<sup>14</sup>.

La MCH es única entre las enfermedades cardiovasculares por su presentación durante cualquier fase de la vida<sup>15-18</sup>. Clásicamente<sup>19</sup> se ha defendido que el desarrollo de la hipertrofia ventricular coincide con la adolescencia<sup>20</sup>, cuando el crecimiento somático es mayor<sup>21,22</sup>, pero puede presentarse tanto desde el nacimiento como en etapas posteriores. Sin un diagnóstico basado en la demostración de la alteración genética responsable, el screening ha repetirse, ya que una evaluación clínica puntual no excluye la enfermedad. En las edades tempranas el diagnóstico es más difícil, ya que los portadores genéticos pueden presentar hipertrofia ventricular leve o incluso espesores parietales normales.

De la observación de que la MCH ocurre en familias se llegó al descubrimiento de la primera mutación. El análisis

mediante *linkage* proporcionó la primera evidencia de la heterogenicidad genética que caracteriza a la MCH. Se descubrieron de forma secuencial distintos *loci* en los cromosomas 14q11, 1q32, 15q22 y 11p11-q13<sup>23-26</sup>. El hallazgo de que las mutaciones de la cadena pesada de la  $\beta$  miosina ( $\beta$ -MHC)<sup>27</sup>, la troponina T (TnT)(28), la  $\alpha$ -tropomiosina ( $\alpha$ -TM)<sup>28</sup> y la proteína C<sup>26</sup> de la unión de la miosina (MyBP-C) tenían lugar en esos *loci* dio lugar a la conclusión de que la MCH es una enfermedad del sarcómero. Posteriormente se descubrieron mutaciones relacionadas con la MCH en las cadenas ligeras esencial y reguladora de la miosina (MCL1 y MCL-2)<sup>29</sup>, en la actina cardiaca<sup>30</sup> y troponina I (TnI)<sup>31</sup> (tabla I).

El sarcómero es la unidad funcional de la contracción de las células musculares. Las proteínas del sarcómero se organizan formando una matriz cuyo entramado está formado por filamentos gruesos (cadenas pesadas y ligeras de la miosina) y ligeros (el complejo formado por la actina,  $\alpha$ -tropomiosina y el de la troponina). Los filamentos se ensamblan y separan durante la contracción y relajación muscular participando en la generación y la transmisión de la fuerza de la contracción. La sincronía de todo el proceso viene dada por las concentraciones del calcio intracelular, regulada por los canales iónicos del calcio. Ambos tiempos del ciclo cardíaco, sístole y diástole, son procesos activos que precisan ATP.

## Mutaciones en el filamento grueso

### Cadena pesada de la $\beta$ -miosina

Existen dos isoformas de la miosina cuyos genes se codifican en el cromosoma 14. La forma  $\alpha$ , que predomina en la vida fetal y se codifica por el gen específico MYH6, y la forma  $\beta$ , que predomina en la vida adulta constituyendo aproximadamente el 70%. El gen que codifica esta isoforma es también específico, MYH7.

Se han descrito múltiples mutaciones distintas tanto en casos familiares como esporádicos<sup>10,27,32-38</sup>. Se estima que las mutaciones en la  $\beta$ -MHC constituyen el 30% los casos de MCH. El fenotipo asociado se caracteriza por hipertrofia ventricular marcada, presente en casi todos los sujetos al final de la adolescencia. El pronóstico sin embargo es variable.

### Proteína C ligada a la miosina

La MyBP-C se distribuye de forma transversal en el sarcómero de forma que proporciona estabilidad anclando la titina y la miosina. Tiene gran heterogeneidad en cuanto a las manifestaciones, y las formas relacionadas con alteraciones de esta proteína se caracterizan por la aparición clínica retrasada un par de décadas e hipertrofia leve. No se asocia con muerte súbita en edades tempranas, pero sí a partir de los 50 años de edad.

### *Cadenas ligeras de la miosina*

Las mutaciones en los genes que codifican estas proteínas que causan MCH son raras, aproximadamente el 5%. Su participación en el remodelado cardíaco parece muy probable en particular en los casos de obliteración medioventricular.

### **Mutaciones en el filamento ligero**

#### *$\alpha$ -actina*

Las mutaciones de las proteínas que codifican la actina son una causa poco frecuente de MCH. La expresión de estas mutaciones es relativamente leve con respecto a la incidencia de muerte súbita y al grado de hipertrofia. Existen mutaciones de la actina que están relacionadas con la génesis de la miocardiopatía dilatada (MCD) familiar.

#### *Troponina I (TnI)*

Las mutaciones en esta proteína constituyen el 5% de los casos. Dichas mutaciones se han descrito en una familia con pacientes afectos de MCH y con miocardiopatía restrictiva<sup>31,39</sup>.

#### *Troponina T (TnT)*

Las mutaciones en la TnT se han relacionado con escasa expresión fenotípica pero con alta incidencia de muerte súbita. Es probable que las conclusiones derivadas de dichos estudios se vieran influenciadas por un gran sesgo de selección. Parece que los afectados con estas mutaciones tienen hipertrofia leve pero aumento del tejido conectivo y abundante fibrosis.

#### *$\alpha$ -Tropomiosina*

Se han descrito 4 mutaciones, y se estima que constituyen entre el 3 y el 4% de los casos con MCH. Presentan una baja incidencia de muerte y algunos casos se asocian a progresión a fase dilatada e insuficiencia cardíaca.

La MCH demuestra su heterogeneidad como característica principal a la hora de establecer relaciones genotipo-fenotipo aplicables los individuos afectados. Existen variaciones dependientes de mutaciones puntuales así como mutaciones particulares de una sola familia, lo cual hace muy difícil realizar extrapolaciones.

La penetrancia de la enfermedad es dependiente de la edad<sup>40,41</sup> así como de la mutación subyacente. Aun así, la expresión fenotípica es variable, por lo que deben

considerarse otros condicionantes, o modificadores del desarrollo de la hipertrofia como responsables de la forma final de la MCH.

### **Estudio genético para el clínico**

La MCH es una enfermedad genética familiar y por lo tanto los clínicos deben familiarizarse con los conceptos genéticos así como con la disponibilidad de la caracterización genética para sus pacientes. En la actualidad existen más de 300 mutaciones descritas, pero todavía no se han descubierto todas las responsables de la enfermedad. La mayoría de los laboratorios en los que se realizan determinaciones genéticas pertenecen a centros de investigación, y estos estudios no forman parte de la rutina clínica habitual. En muy pocos casos están subvencionados por la sanidad pública y la valoración de los resultados requiere la opinión de un equipo cualificado. El resultado de un estudio genético de forma aislada sin contexto clínico o sin previa descripción en la literatura tiene un significado incierto y a menudo no cuantificable.

Los estudios genéticos se deben realizar en el seno del consentimiento informado y el clínico debe suministrar al paciente unas mínimas nociones de genética en relación a un defecto genético autosómico dominante de penetrancia variable. Para el sujeto afecto, la caracterización genética añade información cualitativa pero no diagnóstica. Sin embargo, para los descendientes o familiares de primer grado, el resultado de la información genética puede ser definitivo e influenciar elecciones vitales como el tipo de trabajo y la práctica deportiva.

Existen casos de MCH donde el diagnóstico es difícil ya que las manifestaciones son muy sutiles, es el caso de algunas mutaciones en la Troponina T o I. En estos casos el diagnóstico genético constituye una ayuda fundamental.

### **MIOCARDIOPATÍA ARRITMOGÉNICA DEL VENTRÍCULO DERECHO**

EL concepto de la displasia arritmogénica del ventrículo derecho (DAVD), descrito por primera vez por Dalla Volta<sup>42</sup> en 1961 y posteriormente caracterizado por Fontaine y cols.<sup>43</sup> en 1977, ha evolucionado hasta la fecha actual. En la actualidad forma parte del grupo de enfermedades del miocardio incluida en la clasificación de la OMS<sup>44-46</sup>. Las descripciones iniciales están todas centradas en la característica más llamativa de la enfermedad, las arritmias ventriculares. El espectro actual incluye tanto ciertas zonas del ventrículo derecho, del llamado «triángulo de la displasia», como la afectación difusa de esta cavidad, la afectación única ventricular izquierda y biventricular en fase dilatada, a menudo indistinguible de la miocardiopatía dilatada<sup>47</sup>.

## Genética y patogenia

La MAVD se hereda con patrón autosómico dominante con expresión variable y penetrancia incompleta; (30%)<sup>48, 49</sup>. La forma autosómica recesiva también se ha descrito, asociada a la Enfermedad de Naxos<sup>49, 50</sup> y a mutaciones en el gen codificador de la desmoplakina<sup>51</sup>. Se demuestra agregación familiar hasta en el 50 % de los casos.

Se han descrito nueve *loci* asociados con la MAVD, y existen mutaciones en tres genes relacionadas causalmente con la enfermedad. La tabla II resume los *loci* aislados mediante técnicas de mapeo cromosómico.

Aunque la causa de la MAVD es aún desconocida, se barajan distintas teorías. La teoría inflamatoria, apoyada por la aparición de infiltrados inflamatorios en series necrópsicas explica la lesión miocárdica por un proceso continuado de daño y reparación, simulando una miocarditis crónica. Por otro lado, en el diagnóstico diferencial de la MAVD se debe incluir la miocarditis crónica con afectación única del VD, lo que aumenta la complejidad a la hora de teorizar sobre la etiología. En la teoría genética, las mutaciones de genes que codifican proteínas específicas darían lugar a la «distrofia» miocárdica. Este paradigma introduce una nueva teoría patogénica basada en el estrés mecánico intercelular. Los estudios descriptivos señalan que la sustitución progresiva del miocardio por células del tejido adiposo y fibroso sucede tras un exagerado e inadecuado proceso de apoptosis<sup>52</sup>. En modelos animales, se puede constatar el desequilibrio provocado por el estrés mecánico intercelular como un desencadenante de la apoptosis.

Uno de los potenciales mecanismos del origen de la MAVD es la pérdida progresiva de miocitos secundaria a alteraciones estructurales. Tal analogía se usa para entender la génesis de la MCD<sup>53</sup>.

Los desmosomas están constituidos por tres familias de proteínas: las plakinas (desmoplakina (DSP), plectina, etc), las cadherinas (demogleina y desmocollinas) y

proteínas de repetición del armadillo (la plakoglobina (JUP) y la plakofilina (P2PK), que son clave en la transducción del estrés mecánico y la comunicación intracelular. En el ser humano, se encuentran presentes tanto en los miocitos cardiacos como en las uniones epidérmicas<sup>54, 55</sup>. La JUP es una proteína citoplasmática que forma parte tanto de los desmosomas como de las uniones adherentes, participa en la unión de los filamentos intermedios y el citoesqueleto de actina con los complejos transmembrana que conectan las células adyacentes. La forma mutada de la JUP<sup>56</sup> favorece un sustrato inestable a nivel intercelular<sup>50</sup>. Se ha demostrado que la plakoglobina además regula la expresión de la proteína anti-apoptótica BCL-2<sup>57</sup>.

La DSP es un constituyente de la placa desmosómica, ancla los filamentos intermedios a la membrana plasmática constituyendo un plataforma esencial para el mantenimiento de la integridad celular. En las células de Purkinje además también sirve de unión para la desmina<sup>58</sup>.

La primera mutación del gen que codifica la JUP se describió con transmisión autosómica recesiva, denominándose con el nombre de la isla en la que se descubrió, Enfermedad de Naxos (queratoderma palmoplantar no queratolítico, cabello lanoso y MAVD), descrito en el brazo largo del cromosoma 17<sup>50, 59</sup>. Esta tríada, se ha descrito tanto en formas recesivas de MAVD (Naxos) como en formas recesivas de MCD<sup>60</sup>. Una mutación en la DSP se ha descrito en una familia con herencia autosómica dominante con MAVD<sup>61</sup>.

El receptor cardíaco de la ryanodina (RyR2) forma parte de la estructura que regula los canales del calcio del retículo sarcoplasmático. El correcto funcionamiento de dichos canales es fundamental para el acoplamiento excitación-contracción y la homeostasis del calcio en los miocitos. Se han descrito diferentes mutaciones de la RyR2, en distintas familias: tres codifican el aminoácido terminal y otras tres el centro de la proteína de unión<sup>62, 63</sup>. En estas familias se describe una susceptibili-

**Tabla II Causas genéticas de MAVD**

<b>ARVD1</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 14, brazo largo.	14q23-q24	<i>Rampazzo et al., 1994</i>
<b>ARVD2</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 1 brazo largo	1q42-q43	<i>Rampazzo et al., 1995</i>
<b>ARVD3</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 14 brazo largo	14q12-q22)	<i>Severini et al., 1996</i>
<b>ARVD4</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 2 brazo largo	2q32.1-q32.3	<i>Rampazzo et al., 1997</i>
<b>ARVD5</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 3 brazo corto	3p23	<i>Ahamad et al., 1998</i>
<b>ARVD6</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 10 brazo corto	10p12-p14	<i>Li D. et al., 2000</i>
<b>ARVD7</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 10 brazo largo	10q22	<i>Melberg et al., 1999</i>
<b>ARVD8</b>	(AD), mapeo en el cromosoma 6 brazo corto	6p24	<i>Rampazzo et al., 2002</i>
<b>NAXOS</b>	(AR), mapeo en el cromosoma 17 brazo largo	17q21	<i>Coonar et al., 1998</i>
<b>Síndrome de Carvajal</b>	(AR), mapeo en el cromosoma 6 brazo corto	6p24	<i>Norgett et al., 2000</i>

**AD:** Autosómico dominante; **AR:** Autosómico Recesivo; **ARVD:** Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho

**Tabla III Causas genéticas de la MCD**

Locus	Proteína	Gen	Localización	Fenotipo asociado
2q35	Desmina	Desmina	Citoesqueleto	Miopatía esquelética
1p1-q21	Lamina A/C	LMN A/C	Membrana nuclear	Trastornos de conducción y
5q33	Sarcoglicano $\delta$	SGCD	Membrana cel mitol	Miopatía
14q12	$\beta$ miosina	MYH7	Sarcómero	Miopatía
15q14	Actina	ACTC	Sarcómero	—
1q32	Troponina T	TnT	Sarcómero	—
15q22	$\alpha$ -tropomiosina	TPM1	Sarcómero	—
6p23-p4	Desmoplakina	DSP	Uniones	Quatorderma plantar y pelo
			Intercelulares	lanoso
Xp21	Distrofina	DMD	Citoesqueleto	Miopatía
	Tafazzina	G4.5/TAZ	Membrana cel mito	Miopatía
10q22-q23	Vinculina	MVCL	Discos intercalares	Prolapso valvular mitral
2q31	Titina	TTN	Sarcómero	—
2q14-q22	?	?		Trastornos de la conducción
3p22-p25	?	?		Trastornos de la conducción
6q22.1	Fosfolambam	PLN	Metabolismo del Ca	—
6q23-q24		EYA4		Sordera neurosensorial y
				miopatía esquelética
12p12.1	ATP-canal K	ABCC9		Arritmias
11p15.1	Proteína LIM	CLP		—
10q22.3-23.2	Cypher-ZASP	LDB3		Síndrome de no compactación
19q13.2	?	?		Trastornos de la conducción
16p11	Cardiotrofina 1	CTF1		—

lidad mayor a las taquicardias ventriculares inducidas por el ejercicio. Las enfermedades descritas incluyen, Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica, la Taquicardia Ventricular Polimórfica Familiar y la MAVD tipo 2<sup>63-65</sup>. Estas, a diferencia de la MAVD tipo 2 no presentan sustitución fibroadiposa.

La progresiva descripción de mutaciones causales de la MAVD abre el abanico tanto al entendimiento del amplio espectro de presentación de la enfermedad, su variabilidad Inter- e intrafamiliar, así como a la controversia, ya que algunas entidades quizá no debieran contemplarse bajo la denominación sindrómica de MAVD. Del mismo modo, la afectación del ventrículo derecho no es exclusiva, y también se ha descrito una forma de miocardiopatía arritmogénica donde la característica principal es la afectación del ventrículo izquierdo.

Recientemente se han descrito mutaciones en otro de los componentes de los desmosomas, las plakofilinas (PKP2). Los estudios fenotipo-genotipo sugieren una vez más que los criterios diagnósticos necesitan ser revisados a la luz de la información aportada por la genética molecular. El diagnóstico de la MAVD es difícil cuando la presentación es temprana y en los estadios iniciales. El diagnóstico genético, aún sólo al alcance de

los centros de investigación, se perfila como una de las armas diagnósticas más importantes para el futuro de esta patología.

### MIOCARDIOPATÍA DILATADA

La MCD es una enfermedad primaria del miocardio caracterizada por dilatación y disfunción ventricular izquierda o biventricular. Para establecer el diagnóstico de MCD se usan los valores estandarizados, y el diagnóstico se realiza en presencia de un Diámetro diastólico final del Ventrículo Izquierdo (DDFVI) >112% ajustado por edad y superficie corporal, y una Fracción de eyección (FE) menor de 0,45 y/o un acortamiento fraccional menor del 25%. El DDFVI esperado se calcula de acuerdo a la fórmula de Henry ( $[45,3 \times (\text{superficie corporal})^{1/3}] - [0,03 \times \text{edad}] - 7,2$ ).

La prevalencia de la MCD idiopática es 40 casos/100.000. Se admite que hasta un 25-30% de los casos presentan asociación familiar. Existen distintos patrones de herencia relacionados con la MCD. El más frecuente es la herencia autosómica dominante, aunque existen casos asociados con herencia autosómica recesiva. Cuando se presenta en la infancia, la MCD se asocia

particularmente a alteraciones en otros órganos, ya sea inmunodeficiencias, alteraciones hematológicas o músculo-esqueléticas, y se transmite con patrones de herencia ligados al cromosoma X, como en el síndrome de Bart.

La MCD tiene sin embargo origen multifactorial y a veces hace falta la ocurrencia simultánea de varios factores para la expresión de la enfermedad. Es así que se asocia también a deficiencias como las ligadas a déficit de carnitina o de los mecanismos de transporte y metabolismo de la misma. También existen otros defectos asociados a herencia mitocondrial.

El descubrimiento de las alteraciones genéticas responsables de la MCD es relativamente reciente. Las primeras alteraciones descritas fueron mutaciones que codificaban proteínas del citoesqueleto celular (tabla III). A la luz de los primeros hallazgos, nació el primer paradigma de la base genética de la MCD: la enfermedad del citoesqueleto celular. Dicho paradigma es difícil de mantener, ya que se han descrito numerosas mutaciones implicadas en la génesis de la MCD, algunas de las cuales incluyen también mutaciones en genes que codifican proteínas sarcoméricas como la troponina<sup>66</sup>. Además, se ha descrito fenotipo de MCD como resultado de mutaciones en las moléculas de adhesión celular, como la desmoplakina<sup>67</sup>.

Es importante señalar que las mutaciones en el mismo gen responsable de algunas formas de MCD causan a menudo enfermedades completamente diferentes.

## CONCLUSIONES

El entendimiento de las bases de la enfermedad es clave para el diseño de la terapéutica adecuada. La genética es una disciplina que no se puede considerar ajena a la práctica clínica. Sin embargo, aún queda un largo camino por recorrer para completar el conocimiento de la patogenia de estas enfermedades. El médico de hoy en día tiene que familiarizarse de forma periódica con estos conceptos en evolución constante, ya que tienen implicaciones directas en cuestiones de planificación familiar y orientación laboral.

## BIBLIOGRAFÍA

- TEARE D: Asymmetrical hypertrophy of the heart in young adults. *Br Heart J* 1958; 20: 1-8.
- Richardson P, McKenna W, Bristow M y cols.: Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93: 841-842.
- Watson JD, Crick FH: Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953; 171: 737-738.
- Heckerling PS: Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 2002; 347: 2081-2082.
- Egger J, Wilson J: Mitochondrial inheritance in a mitochondrially mediated disease. *N Engl J Med* 1983; 309: 142-146.
- Richardson P, McKenna W, Bristow M y cols.: Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93: 841-842.
- McKenna WJ, Cocco F, Elliott PM: Genes and disease expression in hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 1998; 352: 1162-1163.
- Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE: Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation* 1995; 92: 785-789.
- Olson TM, Doan TP, Kishimoto NY y cols.: Inherited and de novo mutations in the cardiac actin gene cause hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 1687-1694.
- Dohlemann C, Hebe J, Meitinger T, Vosberg HP: Apical hypertrophic cardiomyopathy due to a de novo mutation Arg719Trp of the beta-myosin heavy chain gene and cardiac arrest in childhood. A case report and family study. *Z Kardiol* 2000; 89: 612-619.
- Sachdev B, Takenaka T, Teraguchi H y cols.: Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002; 105: 1407-1411.
- Moroooka S, Kato A, Murao S, Ohsuzu H: A 17-year follow-up study of a family with idiopathic hypertrophic cardiomyopathy and WPW syndrome. *Jpn Heart J* 1978; 19: 332-345.
- Gollob MH, Green MS, Tang AS, Roberts R: PRKAG2 cardiac syndrome: familial ventricular preexcitation, conduction system disease, and cardiac hypertrophy. *Curr Opin Cardiol* 2002; 17: 229-234.
- Arad M, Moskowitz IP, Patel VV y cols.: Transgenic mice overexpressing mutant PRKAG2 define the cause of Wolff-Parkinson-White syndrome in glycogen storage cardiomyopathy. *Circulation* 2003; 107: 2850-2856.
- Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK y cols.: American College of Cardiology/European Society of Cardiology clinical expert consensus document on hypertrophic cardiomyopathy. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1687-1713.
- Romeo F, Cianfrocca C, Pelliccia F, Colloridi V, Cristofani R, Reale A: Long-term prognosis in children with hypertrophic cardiomyopathy: an analysis of 37 patients aged less than or equal to 14 years at diagnosis. *Clin Cardiol* 1990; 13: 101-107.
- Yetman AT, Hamilton RM, Benson LN, McCrindle BW: Long-term outcome and prognostic determinants in children with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1943-1950.
- McCrindle BW, Yetman AT: Myocardial bridging of the left anterior descending coronary artery in children with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 921-922.
- Wigle ED, Rakowski H, Kimball BP, Williams WG: Hypertrophic cardiomyopathy. Clinical spectrum and treatment. *Circulation* 1995; 92: 1680-1692.
- McKenna WJ, Franklin RC, Nihoyannopoulos P, Robinson KC, Deanfield JE: Arrhythmia and prognosis in infants, children and adolescents with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11: 147-153.
- Maron BJ, Moller JH, Seidman CE y cols.: Impact of laboratory molecular diagnosis on contemporary diagnostic criteria for genetically transmitted cardiovascular diseases: hypertrophic cardiomyopathy, long-QT syndrome, and Marfan syndrome. A statement for healthcare professionals from the Councils on Clinical Cardiology, Cardiovascular Disease in the Young, and Basic Science, American Heart Association. *Circulation* 1998; 98: 1460-1471.
- Panza JA, Maron BJ: Relation of electrocardiographic abnormalities to evolving left ventricular hypertrophy in hypertrophic car-



- diomyopathy during childhood. *Am J Cardiol* 1989; 63: 1258-1265.
23. Jarcho JA, McKenna W, Pare JA y cols.: Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14q1. *N Engl J Med* 1989; 321: 1372-1378.
  24. Durand JB, Bachinski LL, Bieling LC y cols.: Localization of a gene responsible for familial dilated cardiomyopathy to chromosome 1q32. *Circulation* 1995; 92: 3387-3389.
  25. Thierfelder L, MacRae C, Watkins H, Tomfohrde J, Williams M, McKenna W y cols.: A familial hypertrophic cardiomyopathy locus maps to chromosome 15q2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6270-6274.
  26. Watkins H, Conner D, Thierfelder L y cols.: Mutations in the cardiac myosin binding protein-C gene on chromosome 11 cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1995; 11: 434-437.
  27. Geisterfer-Lowrance AA, Kass S, Tanigawa G y cols.: A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell* 1990; 62: 999-1006.
  28. Thierfelder L, Watkins H, MacRae C y cols.: Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell* 1994; 77: 701-712.
  29. Poetter K, Jiang H, Hassanzadeh S y cols.: Mutations in either the essential or regulatory light chains of myosin are associated with a rare myopathy in human heart and skeletal muscle. *Nat Genet* 1996; 13: 63-69.
  30. Mogensen J, Klausen IC, Pedersen AK y cols.: Alpha-cardiac actin is a novel disease gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1999; 103: R39-R43.
  31. Kokado H, Shimizu M, Yoshio H y cols.: Clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by a Lys183 deletion mutation in the cardiac troponin I gene. *Circulation* 2000; 102: 663-669.
  32. Ackerman MJ, VanDriest SL, Ommen SR y cols.: Prevalence and age-dependence of malignant mutations in the beta-myosin heavy chain and troponin T genes in hypertrophic cardiomyopathy: a comprehensive outpatient perspective. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 2042-2048.
  33. Conte MR, Morello M, Mangiardi L y cols.: An ARG403GLN beta-myosin heavy chain gene mutation identified in an Italian family with hypertrophic cardiomyopathy; description of clinical features of the family members. *Eur Heart J* 1997; 18: 1033-1034.
  34. Fananapazir L, Dalakas MC, Cyran F, Cohn G, Epstein ND: Missense mutations in the beta-myosin heavy-chain gene cause central core disease in hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3993-3997.
  35. Greber-Platzer S, Marx M, Fleischmann C, Suppan C, Dobner M, Wimmer M: Beta-myosin heavy chain gene mutations and hypertrophic cardiomyopathy in Austrian children. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 141-148.
  36. Havndrup O, Bundgaard H, Andersen PS y cols.: The Val606Met mutation in the cardiac beta-myosin heavy chain gene in patients with familial hypertrophic cardiomyopathy is associated with a high risk of sudden death at young age. *Am J Cardiol* 2001; 87: 1315-1317.
  37. Huang X, Song L, Ma AQ y cols.: A malignant phenotype of hypertrophic cardiomyopathy caused by Arg719Gln cardiac beta-myosin heavy-chain mutation in a Chinese family. *Clin Chim Acta* 2001; 310: 131-139.
  38. Hwang TH, Lee WH, Kimura A y cols.: Early expression of a malignant phenotype of familial hypertrophic cardiomyopathy associated with a Gly716Arg myosin heavy chain mutation in a Korean family. *Am J Cardiol* 1998; 82: 1509-1513.
  39. Mogensen J, Kubo T, Duque M y cols.: Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations. *J Clin Invest* 2003; 111: 209-216.
  40. Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S y cols.: Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998; 338: 1248-1257.
  41. Rosenzweig A, Watkins H, Hwang DS, Miri M, McKenna W, Traill TA y cols.: Preclinical diagnosis of familial hypertrophic cardiomyopathy by genetic analysis of blood lymphocytes. *N Engl J Med* 1991; 325: 1753-1760.
  42. Dalla Volta S, Battaglia G, Zerbini E: «Auricularization» of right ventricular pressure curve. *Am Heart J* 1961; 61: 25-33.
  43. Fontaine G, Guiraudon G, Frank R: Stimulation studies epicardial mapping in VT: Study of mechanisms and selection for surgery. En: Hulbertus HE, editor. Reentrant arrhythmias Lancaster, PA. MTP Publishers 1997; 334-350.
  44. Richardson P, McKenna W, Bristow M y cols.: Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93: 841-842.
  45. Brugada J, Brugada P, Brugada R: [Sudden death (VI). The Brugada syndrome and right myocardiopathies as a cause of sudden death. The differences and similarities]. *Rev Esp Cardiol* 2000; 53: 275-285.
  46. Brugada J, Mont L, Brugada R: [Arrhythmogenic dysplasia of the right ventricle]. *Rev Esp Cardiol* 1997; 50: 541-547.
  47. Burke AP, Farb A, Tashko G, Virmani R: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and fatty replacement of the right ventricular myocardium: are they different diseases? *Circulation* 1998; 97: 1571-1580.
  48. McKenna WJ, Thiene G, Nava A y cols.: Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. Task Force of the Working Group Myocardial and Pericardial Disease of the European Society of Cardiology and of the Scientific Council on Cardiomyopathies of the International Society and Federation of Cardiology. *Br Heart J* 1994; 71: 215-218.
  49. Protonotarios N, Tsatsopoulou A, Patsourakos P, Alexopoulos D, Gezerlis P, Simitsis S et al. Cardiac abnormalities in familial palmoplantar keratosis. *Br Heart J* 1986; 56: 321-326.
  50. McKoy G, Protonotarios N, Crosby A y cols.: Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease). *Lancet* 2000; 355: 2119-2124.
  51. Alcalai R, Metzger S, Rosenheck S, Meiner V, Chajek-Shaul T: A recessive mutation in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia, skin disorder, and woolly hair. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 319-327.
  52. Ahmad F: The molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia-cardiomyopathy. *Clin Invest Med* 2003; 26: 167-178.
  53. Mestroni L, Milasin J, Vatta M y cols.: Genetic factors in dilated cardiomyopathy. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1996; 89 Spec No 2: 15-20.
  54. Hertig CM, Butz S, Koch S, Eppenberger-Eberhardt M, Kemler R, Eppenberger HM: N-cadherin in adult rat cardiomyocytes in culture. II. Spatio-temporal appearance of proteins involved in cell-cell contact and communication. Formation of two distinct N-cadherin/catenin complexes. *J Cell Sci* 1996; 109 (Pt 1): 11-20.
  55. Haftek M, Hansen MU, Kaiser HW, Kreysel HW, Schmitt D: Interkeratinocyte adherens junctions: immunocytochemical visualization of cell-cell junctional structures, distinct from desmosomes, in human epidermis. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 498-504.
  56. Hatzfeld M: The armadillo family of structural proteins. *Int Rev Cytol* 1999; 186: 179-224.
  57. Hakimelahi S, Parker HR, Gilchrist AJ, Barry M, Li Z, Bleackley RC y cols.: Plakoglobin regulates the expression of the anti-apoptotic protein BCL-2. *J Biol Chem* 2000; 275: 10905-10911.
  58. Leung CL, Green KJ, Liem RK: Plakins: a family of versatile cyto-linker proteins. *Trends Cell Biol* 2002; 12: 37-45.
  59. Coonar AS, Protonotarios N, Tsatsopoulou A, Needham EW, Houlston RS, Cliff S y cols.: Gene for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with diffuse nonepidermolytic palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease) maps to 17q21. *Circulation* 1998; 97: 2049-2058.

60. Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L y cols.: Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2761-2766.
61. Rampazzo A, Nava A, Malacrida S y cols.: 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.
62. Bauce B, Nava A, Rampazzo A y cols.: Familial effort polymorphic ventricular arrhythmias in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy map to chromosome 1q42-43. *Am J Cardiol* 2000; 85: 573-579.
63. Tiso N, Stephan DA, Nava A y cols.: Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). *Hum Mol Genet* 2001; 10: 189-194.
64. Marks AR, Priori S, Memmi M, Kontula K, Laitinen PJ: Involvement of the cardiac ryanodine receptor/calcium release channel in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Cell Physiol* 2002; 190: 1-6.
65. Laitinen PJ, Brown KM, Piippo K, Swan H, Devaney JM, Brahmbhatt B y cols.: Mutations of the cardiac ryanodine receptor (RyR2) gene in familial polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2001; 103: 485-490.
66. Mogensen J, Murphy RT, Shaw T y cols.: Severe disease expression of cardiac troponin C and T mutations in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 2033-2040.
67. Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L y cols.: Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, woolly hair and keratoderma. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2761-2766.

# Proteómica y enfermedad cardiovascular

F. Vivanco<sup>1,2</sup>, M.<sup>a</sup> G. Barderas<sup>1</sup>, V. M. Dardé<sup>1</sup>, F. de la Cuesta<sup>1</sup>, J. Egido<sup>3,4</sup> y J. Tuñón<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Inmunología. Fundación Jiménez Díaz. <sup>2</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I. Unidad de Proteómica. Universidad Complutense. <sup>3</sup>Laboratorio de Patología Vascul. Fundación Jiménez Díaz.

<sup>4</sup>Departamento de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid. <sup>5</sup>Servicio de Cardiología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

## INTRODUCCIÓN

El genoma es el conjunto de genes que definen a una especie y que se encuentra en todas las células de cada individuo. Como consecuencia del gran desarrollo de la biología molecular en el siglo pasado, ha sido posible descifrar el genoma humano y el de diversas especies animales de interés en la investigación biomédica (ratón, rata, virus, bacterias, etc.). Ahora conocemos que nuestro patrimonio genético está formado por unos 30.000 genes y que éste número es similar al de otras especies. El conocimiento de nuestros genes y su localización y ordenamiento en los cromosomas es un avance sin precedentes, que está originando un cambio esencial en la biología y en la patología humana. Sin embargo, tal conocimiento es tan necesario como insuficiente para una comprensión de los mecanismos moleculares de las células y los organismos. Los genes (ADN) se expresan transcribiéndose a RNA y éste se traduce a proteínas. Son las proteínas las moléculas encargadas de llevar a cabo las funciones celulares: unas son estructurales y organizan el citoesqueleto, o son enzimas encargadas del metabolismo, o actúan como receptores o transmisores de señales, o llevan a cabo las esenciales funciones de defensa frente a los patógenos (anticuerpos). Además, más del 90% de las dianas farmacológicas son proteínas. Existe una gran cantidad de información que no puede obtenerse con el mero conocimiento de los genes. Las proteínas, una vez sintetizadas, son modificadas eliminando algunos aminoácidos de sus extremos, o añadiendo azúcares (glicosilación), lípidos (palmitoilación, prenilación), o diversos grupos químicos (fosforilación, acilación, nitración, etc). Se han descrito más de 200 modificaciones postraduccionales en las proteínas. Estas modificaciones alteran, radicalmente en algunos casos, las propiedades y funciones de las proteínas, de modo que pueden trasladarse del citoplasma al núcleo o a la membrana celular, interactuar con otras proteínas o receptores generando rutas de señalización, etc. Toda esta información no está contenida en la secuencia de los genes, y debe obtenerse estudiando directamente las proteínas.

## DE LA GENÓMICA A LA PROTEÓMICA

La genómica estudia los genomas de los distintos organismos. La proteómica estudia los proteomas o conjunto global de proteínas que puede generarse a partir de un genoma, sus interacciones, modificaciones y el conjunto de sus funciones<sup>1</sup>. A partir de un solo gen puede producirse más de una proteína y diversas formas moleculares de cada una de ellas mediante las modificaciones antes citadas. Se estima que nuestros genes pueden, en promedio, generar al menos siete variantes, de modo que con 30.000 genes, al menos tendríamos 200.000 proteínas<sup>2</sup>. Mientras que el genoma es relativamente estático, el proteoma es un conjunto de proteínas dinámico, constantemente cambiante. Las células en cada momento están expresando distintos tipos y cantidades de proteínas en función de las circunstancias, temperatura, estrés, acción de los fármacos, nutrientes, etc.<sup>3</sup> (fig. 1). El genoma es lo que una célula puede ser y el proteoma lo que en cada momento es. El genoma está constituido por los genes que nos

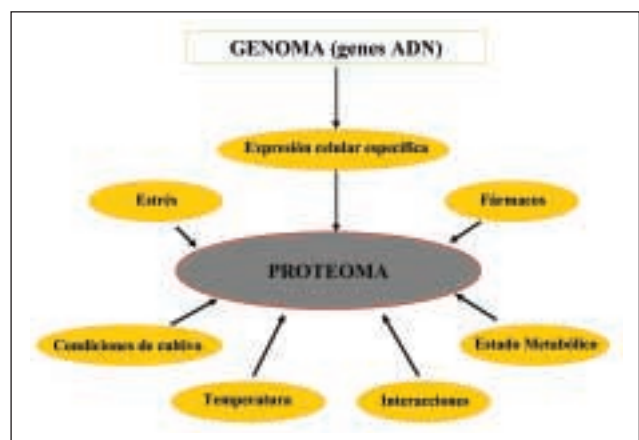


Fig. 1.—Esquema de la relación entre el genoma (el conjunto de genes) y el proteoma (el conjunto de proteínas presentes) de una muestra biológica. El proteoma varía constantemente en función de las condiciones y factores que afectan a dicha muestra.

definen y las proteínas son las encargadas del trabajo diario de nuestro organismo. Las proteínas presentes en una célula dada en unas condiciones concretas, constituyen una foto molecular (el fenotipo) que refleja muy fielmente su estado fisiológico y patológico. Con frecuencia el número de proteínas es tan elevado (se estima que una célula puede estar expresando habitualmente 15-20.000 proteínas) que se estudian subproteomas, i.e., de mitocondrias, membranas, núcleos, etc.

## LAS HERRAMIENTAS CLÁSICAS DE LA PROTEÓMICA

Tradicionalmente, estamos acostumbrados a ver trabajos de investigación en los que se estudia el comportamiento de una proteína, o de un reducido número de ellas. Este es el caso, por ejemplo, de los estudios de la proteína C reactiva, en los que se analiza su comportamiento como predictor de riesgo cardiovascular. A diferencia de esto, los estudios proteómicos permiten valorar el comportamiento de cientos o miles de proteínas simultáneamente en una muestra biológica (plasma, orina, tejido, etc.) en un único ensayo en un corto período de tiempo<sup>4</sup>. La estrategia proteómica utiliza métodos de alta resolución para la separación masiva de proteínas, como la electroforesis bidimensional (2-DE) o la Cromatografía Multidimensional (MudPIT). Posteriormente, cada proteína se identifica mediante espectrometría de masas (EM). Esto supone un salto cualitativo sin precedentes en el análisis de muestras biológicas, que una vez desarrollado como investigación básica, está aplicándose de forma creciente en la patología humana y particularmente en la enfermedad cardiovascular<sup>5-11</sup>.

### Electroforesis Bidimensional

La 2-DE es una técnica de separación de proteínas que consiste en la realización sucesiva de dos modalidades de electroforesis sobre una misma muestra<sup>12-16</sup>. En la primera dimensión o electroenfoque, la mezcla de proteínas se separa en función de su carga en un gradiente estable de pH (por ej. pH 3-10). Se lleva a cabo aplicando la muestra de proteínas sobre unas pequeñas tiras (0.5 x 18 cm), disponibles comercialmente, con una variedad de gradientes de pH amplios (pH 3-10), que permiten una visión general de las proteínas, o expandidos (pH 4-7, 6-9, 4-5, 5-6, etc), que se concentran en las proteínas presentes en un gradiente de pH menor.

La segunda dimensión es una electroforesis en geles de poliácridamida en presencia del detergente SDS (PAGE-SDS) en la que la separación de las proteínas se produce en función de su masa molecular. La tira de la primera dimensión se deposita sobre el gel, desarrollándose la segunda electroforesis perpendicular respecto a

la primera (fig. 2). Los geles 2-D resultantes se tiñen con colorantes específicos de proteínas (Azul Coomassie, tinción con plata, compuestos fluorescentes como el Sypro Rubí, etc.). También pueden utilizarse tinciones múltiples sucesivas, con reactivos que revelan diversas características de las proteínas: tinción de glicoproteínas, de proteínas fosforiladas o con lípidos, etc. obteniéndose una información adicional muy valiosa<sup>14,15</sup>. Los geles 2-D teñidos, se escanean y digitalizan mediante programas de imagen (Melanie, PDQuest, Image Master) y se obtiene un "mapa" del conjunto de las proteínas de una muestra en un gel (o su imagen) de 20 x 20 cm. La posición de cada proteína en el gel 2-D queda definida por su pI y su masa molecular (a modo de coordenadas). En condiciones estándar, una muestra de un lisado celular conteniendo 100-300 µg de proteína total, genera 1000-2000 manchas (proteínas) y en condiciones particulares (empleando geles de mayores dimensiones o combinando geles de gradientes de una unidad de pH), se logra visualizar 10.000-12.000 proteínas<sup>16</sup>. Las proteínas presentes en muy baja concentración o de características particulares (muy básicas, muy hidrofóbicas, etc.) se detectan con dificultad en los geles 2-D. La 2-DE ha sido utilizada para multitud de estudios en el área cardiovascular fundamentalmente

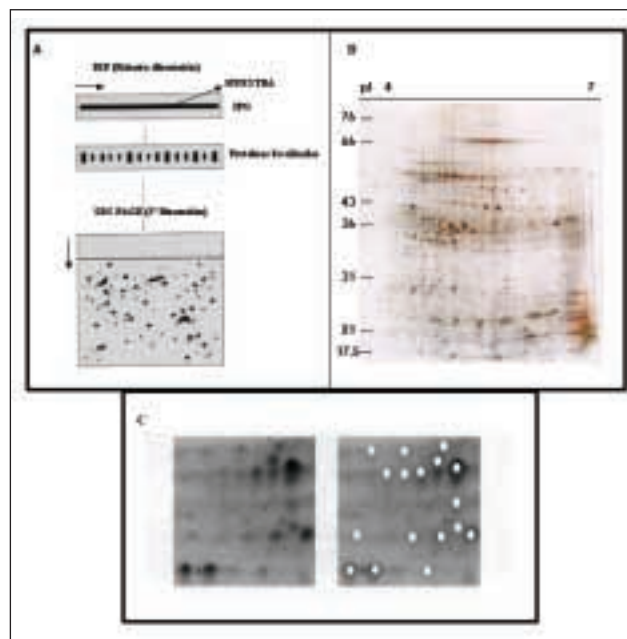


Fig. 2.—Electroforesis bidimensional. A: esquema de la realización de una electroforesis bidimensional. IEF: focalización isoeléctrica o electroenfoque. B: Gel bidimensional de las proteínas presentes en una muestra de monocitos humanos. C: Fragmento de un gel bidimensional (izquierda) y del mismo una vez que han sido extraídas las proteínas teñidas (derecha) mediante un robot. Cada proteína es digerida con tripsina y sus péptidos analizados mediante EM, lo que permite identificar la proteína.

en tejido cardíaco<sup>17-22</sup>, pero también en células circulares (monocitos, plaquetas)<sup>23-25</sup> placas de aterosclerosis<sup>26</sup> y sus componentes celulares (células endoteliales, espumosas, musculares lisas, etc.)<sup>27-30</sup>.

### Cromatografía Multidimensional

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) es otra opción para la separación de proteínas y péptidos, con un uso creciente debido a sus características y ventajas, especialmente porque es un método que puede automatizarse. Aunque la HPLC permite la separación de proteínas, se utiliza por su mejor resultado en la separación de péptidos<sup>31-35</sup>. Por este motivo, una vez solubilizada una muestra celular o tejido, el conjunto de las proteínas se digiere con tripsina y se produce una mezcla muy compleja de péptidos (decenas de miles). En el cromatógrafo se conectan en tándem dos columnas cromatográficas con medios de separación diferentes (aniónico, catiónico, hidrofóbico, hidrofílico, de afinidad, etc.) (fig. 3). Lo más habitual es combinar una columna de intercambio iónico con otra de fase reversa (hidrofóbica). Según van eluyendo los péptidos del HPLC entran directamente al EM, que los fragmenta y los secuencia (total o parcialmente), lo que permite identificar la proteína de la que procede. En un solo experimento pueden identificarse miles de péptidos (y las correspondientes proteínas), una estrategia denominada "shotgun proteomics" o MudPIT<sup>32, 34, 35</sup>. A diferencia de lo que ocurría en la 2-DE, aquí se identifican proteínas presentes en muy baja concentración, hidrofóbicas, etc. Utilizando esta tecnología se ha estudiado, por ejemplo, la célula espumosa, una de las células fundamentales implicadas en la lesión aterosclerótica<sup>36, 37</sup>. Fach et al.,<sup>36</sup> analizó de forma diferencial células THP1 estimuladas con LDL oxidada (como modelo de célula espumosa) en comparación con las mismas células estimuladas con LDL nativa. Se estudiaron las proteínas secretadas al medio de cultivo, mediante cromatografía multidimensional, intentando identificar aquellas proteínas que caracterizasen a la célula espumosa. De esta forma se identificaron 59 proteínas cuya concentración estaba incrementada en las células tratadas con oxLDL en comparación con las tratadas con LDL. Otras 17 proteínas estaban disminuidas y había 57 cuya concentración no se alteraba. Entre las incrementadas se observó que pertenecían a 7 grupos: proteínas de unión de ácidos grasos, enzimas tipo quitinasa, ciclofilinas, catepsinas, proteoglicanos, receptores scavenger y proteínas tipo urokinasa activador del receptor de plasminógeno. Igualmente, utilizando una combinación de 2-DE y cromatografía multidimensional, Coppinger et al.<sup>25</sup> han identificado más de 300 proteínas segregadas por las plaquetas tras ser activadas por trombina. Muchas de las proteínas identificadas no

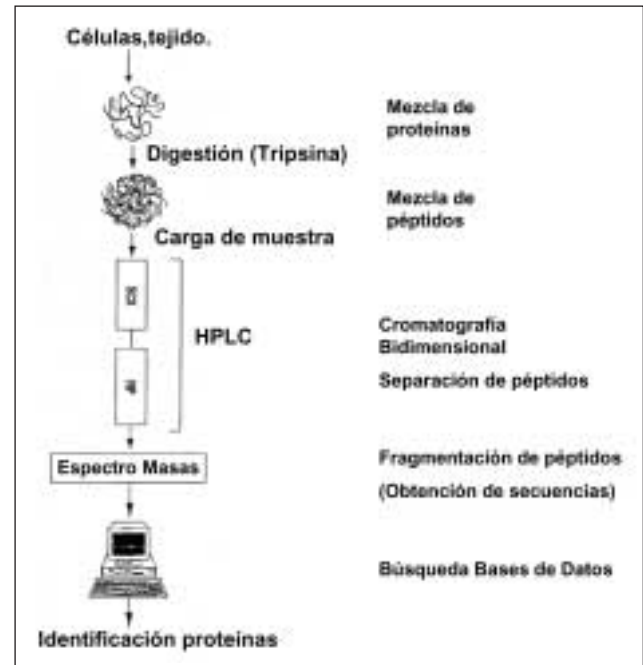


Fig. 3. — Esquema del análisis de las proteínas de una muestra biológica mediante cromatografía multidimensional (MudPIT). Las células son solubilizadas y las proteínas digeridas con tripsina. El conjunto de los péptidos se separan mediante dos cromatografías consecutivas, la primera de intercambio iónico (SCX) y la segunda de fase reversa (RP). Según eluyen los péptidos del HPLC (cromatógrafo) entran directamente en el espectrómetro de masas donde son fragmentados y secuenciados, lo que permite la identificación de la proteína de la que proceden mediante análisis bioinformáticos.

eran previamente conocidas en plaquetas, como la secretogranina III (quimiotáctica para monocitos), ciclofilina A (un factor de crecimiento de células musculares lisas), o la calumenina. Estas proteínas no están presentes en las arterias normales pero sí en las lesiones ateroscleróticas, por lo que están estudiándose como potenciales dianas terapéuticas.

### Espectrometría de masas

Una vez separadas las proteínas o los péptidos por 2-DE o HPLC es preciso identificarlas. Esto se lleva a cabo mediante EM, que es una técnica analítica que determina con alta sensibilidad y precisión las masas moleculares de compuestos químicos o biológicos. A partir de la masa pueden deducirse datos estructurales e identificar los compuestos<sup>38-40</sup>.

En el espectrómetro de masas más habitual (denominado MALDI-TOF) los péptidos o las proteínas se mezclan con un compuesto que cristaliza fácilmente. Al hacer incidir un rayo láser sobre los cristales, los péptidos o las proteínas se volatilizan y mediante un intenso

campo eléctrico (25 kV) se les hace atravesar un tubo de vuelo al final del cual hay un detector (fig. 4). Las moléculas de mayor masa tardan más en recorrer el tubo que las más ligeras que llegan antes al detector. Por el tiempo de vuelo en el tubo se calcula la masa de los péptidos o las proteínas. El resultado es un espectro de masas en el que se representa la masa frente a la intensidad (abundancia) de cada molécula (fig. 4).

El conjunto de las masas de los péptidos procedentes de una proteína dada, proporciona una huella dactilar peptídica (“fingerprinting”). Mediante diversos programas informáticos pueden generarse las huellas peptídicas teóricas que se producirían al digerir todas las proteínas de un organismo dado (contenidas en las bases de datos) y compararse con la huella experimental obtenida. Esta comparación permite identificar la proteína si la huella experimental coincide con alguna de las teóricas<sup>38,39</sup>. En los espectrómetros de masas más complejos, además de la masa de los péptidos, puede obtenerse su secuencia de aminoácidos, lo que proporciona una identificación de la proteína con gran fiabilidad. Una de las grandes ventajas de la EM es que reali-

za las medidas de forma extremadamente rápida, en décimas de segundo. Así, puede medir la masa de las miles de proteínas contenidas en el suero (utilizando unos pocos  $\mu$ l) en pocos segundos.

## ANÁLISIS PROTEÓMICO EN PATOLOGÍA CARDIOVASCULAR

Entre las diversas modalidades de análisis proteómico de muestras patológicas, se utiliza de forma preferente el análisis comparativo diferencial<sup>11</sup>: se analiza un mismo tipo de muestra en dos condiciones o situaciones diferentes. Así, se puede estudiar, por ejemplo, la diferencia entre las proteínas expresadas por una célula cardíaca hipertrófica frente a otra normal, en sueros de pacientes con infarto de miocardio frente a los de sujetos sanos o en suero de pacientes tratados y sin tratar con un fármaco determinado. El estudio de la expresión diferencial de las proteínas de tales parejas o grupos de muestras (fig. 5), permite detectar aquellas proteínas que aparecen incrementadas o disminuidas

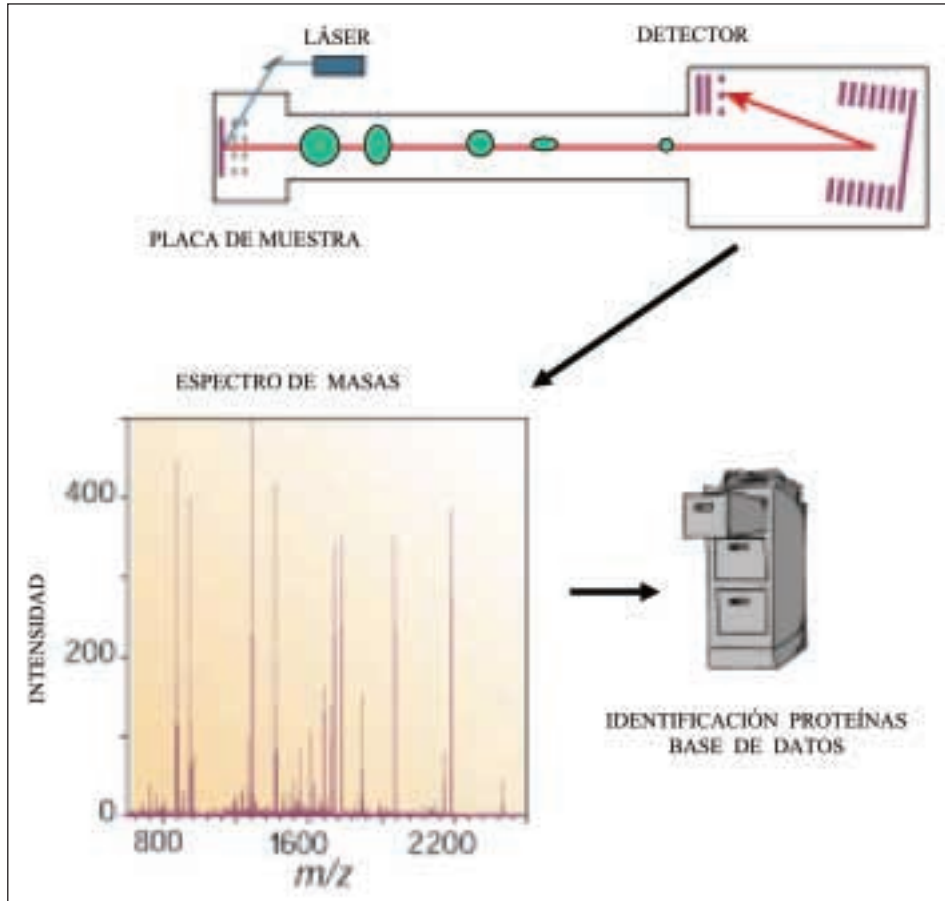


Fig. 4.—Esquema del funcionamiento de un espectrómetro de masas tipo MALDI-TOF. Los péptidos obtenidos de la digestión de cada proteína (ver figura 2C) son depositados en la placa de muestra y vaporizados mediante un pulso del láser. Al ser acelerados mediante un campo eléctrico, los péptidos (esferas verdes) de menor masa vuelan más rápido que los de mayor masa que quedan retrasados, llegando al detector ordenados de forma creciente según su masa. El resultado es un espectro de masas representando la intensidad frente a la masa ( $m/z$ ). El conjunto de las masas de los péptidos de una proteína constituye su huella dactilar peptídica que puede utilizarse para identificarla en las bases de datos.

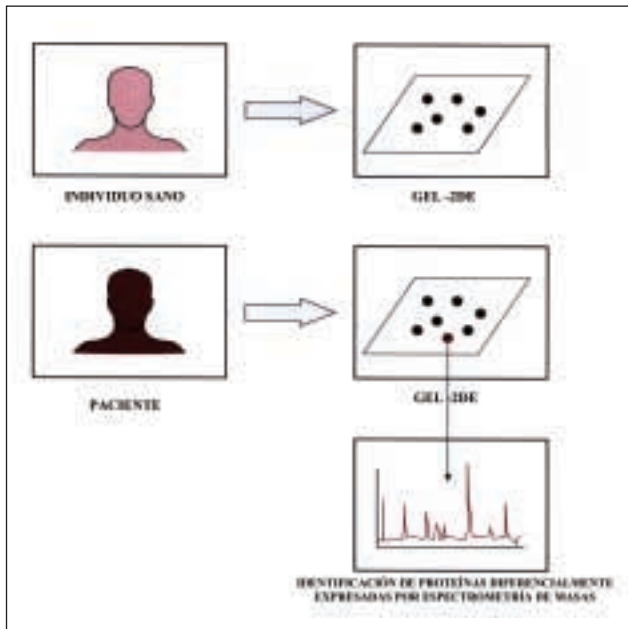


Fig. 5. —Esquema del análisis proteómico diferencial mediante 2-DE. Muestras de controles y pacientes son analizadas en paralelo. El escaneo de los gels permite identificar las posibles diferencias en las proteínas presentes. Las proteínas así detectadas tienen una alta probabilidad de ser específicas de la patología estudiada y pueden convertirse en nuevas dianas diagnósticas y terapéuticas o ser utilizadas como biomarcadores.

en su concentración, o que están solo presentes en una de las muestras estudiadas. Además, también puede mostrarnos proteínas que han visto alterada alguna de sus propiedades (su carga eléctrica, su masa) por modificaciones postraduccionales. Evidentemente, el ser capaces de observar, por ejemplo, todas las proteínas que sufren cambios de expresión cuando una célula se vuelve hipertrófica va a facilitarnos la búsqueda de las que estén implicadas en la fisiopatología de la hipertrofia celular y que pueden ser dianas terapéuticas en su tratamiento. Igualmente, el análisis proteómico puede mostrarnos las proteínas alteradas en el plasma de pacientes con un síndrome coronario agudo y conducirnos a determinar aquellas que están involucradas de algún modo en su fisiopatología. Es más, puede facilitarnos la búsqueda de proteínas cuya alteración pueda ser un marcador pronóstico de mayor recurrencia de eventos vasculares. En este sentido, es probable que se llegue a la identificación de grupos de proteínas cuya alteración en plasma sea mejor marcador pronóstico que la alteración de una sola. Por tanto, el análisis proteómico de expresión diferencial de proteínas puede ser una estrategia fundamental para la búsqueda de nuevos biomarcadores en patología cardiovascular.

## LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS PROTEÓMICAS CON APLICACIÓN CLÍNICA: OBTENCIÓN DE PERFILES PROTEICOS DIAGNÓSTICOS

Las técnicas previamente descritas son muy útiles por tanto para el estudio de proteomas, la comprensión de las bases moleculares de las enfermedades y especialmente para la búsqueda e identificación de nuevos biomarcadores. Sin embargo, son técnicas lentas para poder ser utilizadas en la práctica clínica diaria, que requiere rapidez y fiabilidad en los datos analíticos que tengan un valor pronóstico, diagnóstico y de seguimiento de los pacientes. Por eso se han desarrollado técnicas muy rápidas que permiten la detección de las proteínas presentes en una muestra obteniéndose su perfil o patrón proteico. Se utilizan prioritariamente para líquidos fisiológicos, especialmente para suero o plasma. Este análisis se lleva a cabo fundamentalmente por dos técnicas: mediante EM utilizando el sistema SELDI-TOF o utilizando chips (arrays o micromatrices) de proteínas.

### La Plataforma SELDI-TOF

En el SELDI-TOF (surface enhanced laser desorption/ionization time of flight), las proteínas del suero se detectan como un patrón de bandas o perfil proteico, en el que se representan el total de las proteínas analizadas, ordenadas según su masa molecular frente a la intensidad (que refleja la abundancia). De esta forma se obtiene una especie de código de barras, con cientos o miles de ellas, correspondiendo cada una a una proteína. Así, la muestra del suero de cada individuo queda identificada por su código o patrón proteico, a modo de firma molecular proteica.

El sistema SELDI-TOF combina la retención de proteínas con la EM<sup>41-45</sup>. Las proteínas son capturadas en la superficie sólida de un "chip", una tira de aluminio de 1 x 8 cm, dividido en varias zonas de 2 mm de diámetro, en las que se ha depositado soportes de distinta naturaleza química (aniónicas, catiónicas, hidrofóbicas, hidrofílicas, iones metálicos, etc.) o bioquímica (anticuerpos, receptores, ADN, enzimas, etc.). Una muestra biológica, suero por ejemplo, se deposita sobre el chip y las proteínas se quedan retenidas en las distintas zonas en función de sus características y las del soporte, mediante adsorción, partición, afinidad, interacción electrostática, etc. Los componentes de un sistema SELDI-TOF son los chips de retención de proteínas, un espectrómetro de masas (tipo MALDI-TOF) y el software de análisis (fig. 6A). El SELDI-TOF requiere cantidades mínimas de muestra (típicamente 5 µl de suero o 50-100 células solubilizadas). Una vez retenidas las proteínas, se añade la matriz (ácido sinapínico) para formar los cristales, como se ha descrito anteriormente, y el chip se introduce en el MALDI-TOF. Las proteínas son vaporizadas e ionizadas mediante el láser y sus masas moleculares

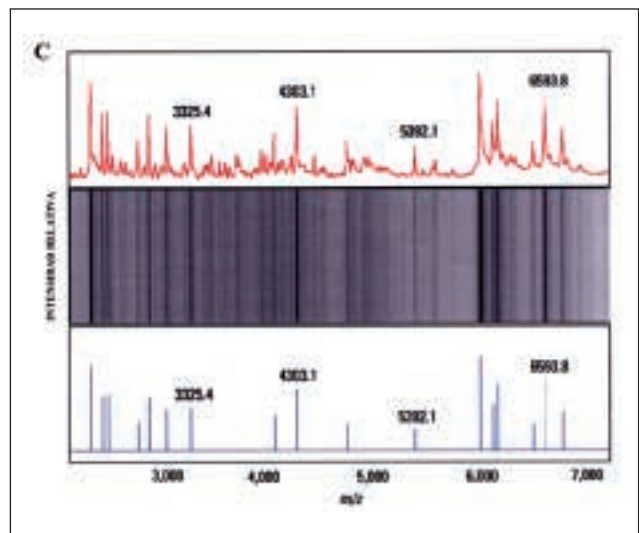
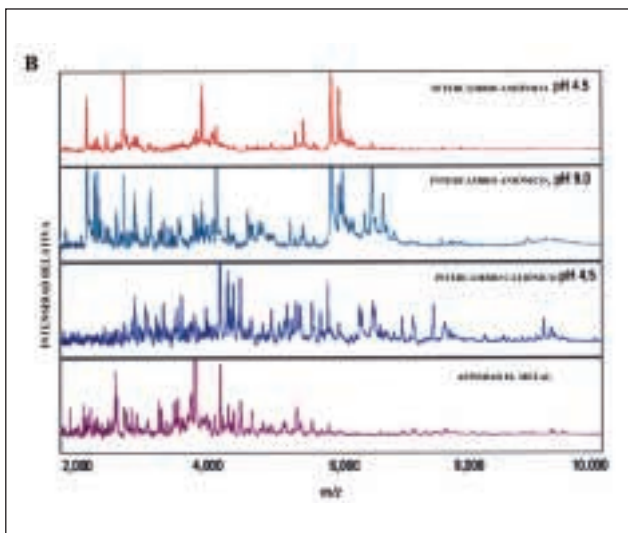
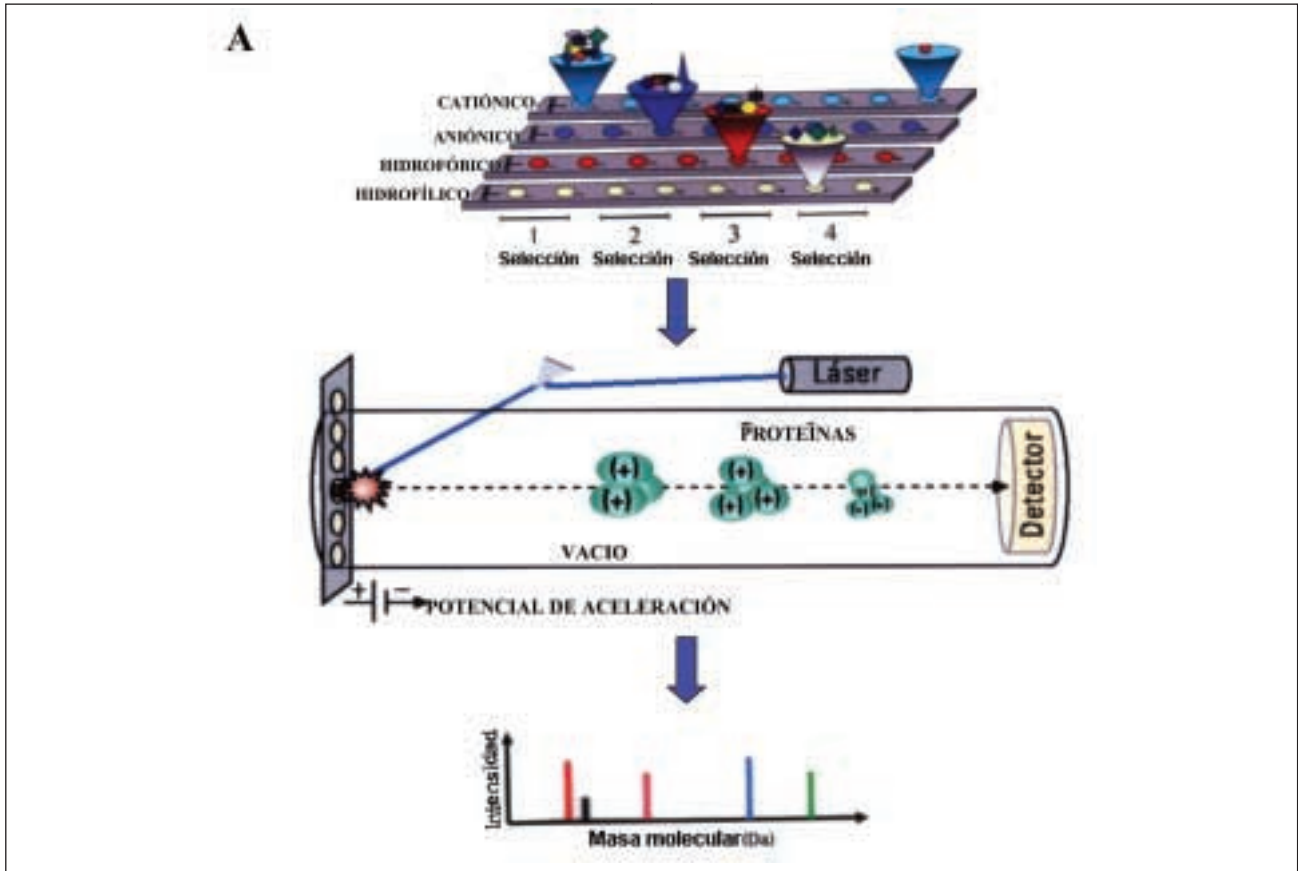


Fig. 6.—A. El Sistema SELDI-TOF. Las distintas proteínas de una muestra son retenidas en biochips de diferente naturaleza (parte superior) lo que permite seleccionar el más adecuado para cada tipo de muestra. El biochip se coloca en el MALDI-TOF, las proteínas son ionizadas (adquieren cargas positivas) y volatilizadas mediante un pulso del láser. La aplicación de un alto campo eléctrico (25 kV) las dirige a través de un tubo de vuelo (en el que se ha hecho vacío para evitar interferencias) hacia el detector (parte media). El resultado es un perfil proteico que representa la masa molecular (en realidad  $m/z$ ;  $m$ : masa,  $z$ : carga) frente a la abundancia (intensidad) (parte inferior de la figura). B. Ejemplos de perfiles proteicos obtenidos con el SELDI-TOF de suero humano utilizando distintos biochips. C. Tres formas diferentes de representar un perfil proteico.



frente a la masa molecular de las proteínas detectadas, a modo de perfiles proteicos. Mediante el software<sup>43</sup>, este perfil puede presentarse en forma de bandas o de picos (fig. 6C), que facilite la comparación entre muestras distintas. El programa permite también el análisis de grupos de proteínas que identifica diferencias o similitudes en un conjunto muy numeroso de muestras<sup>43-45</sup>.

Una de las aplicaciones fundamentales del SELDI-TOF es utilizar los perfiles proteicos para el diagnóstico<sup>43</sup>. Mediante el análisis estadístico que está incluido en el software se pueden identificar patrones o perfiles específicos que se ajusten al estado de la enfermedad (fig. 7). Muy recientemente se ha aplicado esta tecnología en la búsqueda de nuevos marcadores de ictus. Actualmente su diagnóstico se basa en el estudio neurológico y las técnicas de imagen, como el TAC o la resonancia magnética, por lo que la identificación de algún marcador temprano que sea capaz de discriminar el ictus isquémico del hemorrágico sería muy conveniente. A partir de los perfiles proteicos del plasma obtenidos mediante el sistema SELDI, se identificaron cuatro proteínas candidatas, la apolipoproteína CI (ApoC-I), apolipoproteína CIII (ApoC-III), el amiloide sérico (SAA) y un fragmento de la antitrombina-III (AT-III<sub>f</sub>). Cuando se determinaron los niveles en plasma de ApoC-I y ApoC-III mediante ELISA se comprobó que permiten la distinción entre ictus isquémico y hemorrágico ( $p < 0,001$ )<sup>46</sup>. Igualmente han sido identificadas y cuantificadas mediante SELDI-TOF las apolipoproteínas presentes en las distintas subclases de LDL en pacientes con síndrome metabólico y con diabetes tipo 2<sup>47</sup>. En una estrategia

similar Marshall et al.<sup>48</sup> han analizado los péptidos del suero de pacientes con infarto de miocardio y han detectado la presencia de un fragmento del tercer componente del sistema del complemento, denominado C3f, así como del péptido A del fibrinógeno. La participación del complemento en la reacción inflamatoria tras un infarto ya había sido descrita<sup>49</sup>, pero no así la presencia de C3f, que requiere un mayor estudio.

### Chips de Proteínas

Los chips de proteínas, también denominados arrays, micromatrices, o biochips, son pequeños dispositivos que permiten determinar la presencia (identificación) y la cantidad (cuantificación) de proteínas presentes en una muestra biológica. Entre los diversos tipos de chips de proteínas existentes<sup>50-54</sup>, uno de los más utilizados son los de anticuerpos<sup>51,52</sup>. Un conjunto de anticuerpos (cientos, miles, según la disponibilidad) de distintas especificidades, se inmovilizan mediante métodos químicos sobre una superficie plana (habitualmente de cristal, similar a un porta de microscopía óptica). El uso de robots facilita depositar, como microgotas independientes, miles de anticuerpos, de forma ordenada, en 1-2 cm<sup>2</sup>. El conjunto de las proteínas de la muestra a analizar y el del correspondiente control, se marcan con dos fluoróforos que emiten luz de distinta longitud de onda ( $\lambda$ ; en el rojo y el verde). Ambas muestras se mezclan y se depositan sobre el chip. Los anticuerpos capturan las proteínas de forma competi-

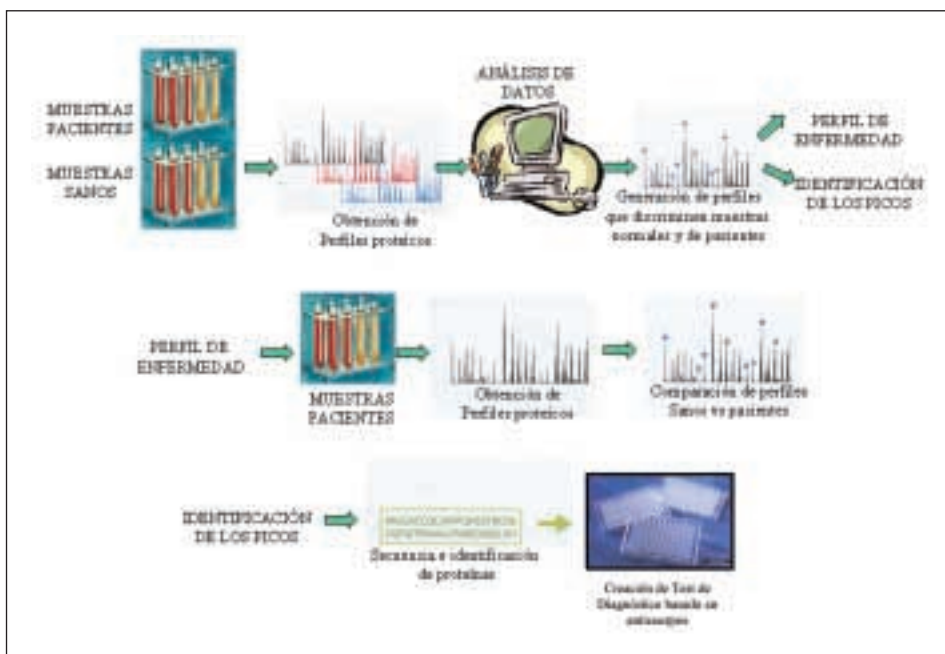


Fig. 7. — Obtención y validación de perfiles proteicos diagnósticos obtenidos mediante el sistema SELDI-TOF. En la parte superior se representa el abordaje para identificar un perfil específico de enfermedad, comparando controles sanos con un grupo reducido de pacientes cuyas características clínicas están bien definidas. En el centro, ese perfil debe validarse frente a un grupo muy numeroso de pacientes, para verificar su poder discriminatorio. La identificación de las proteínas que componen el perfil define completamente los componentes del perfil o patrón proteico (parte inferior).

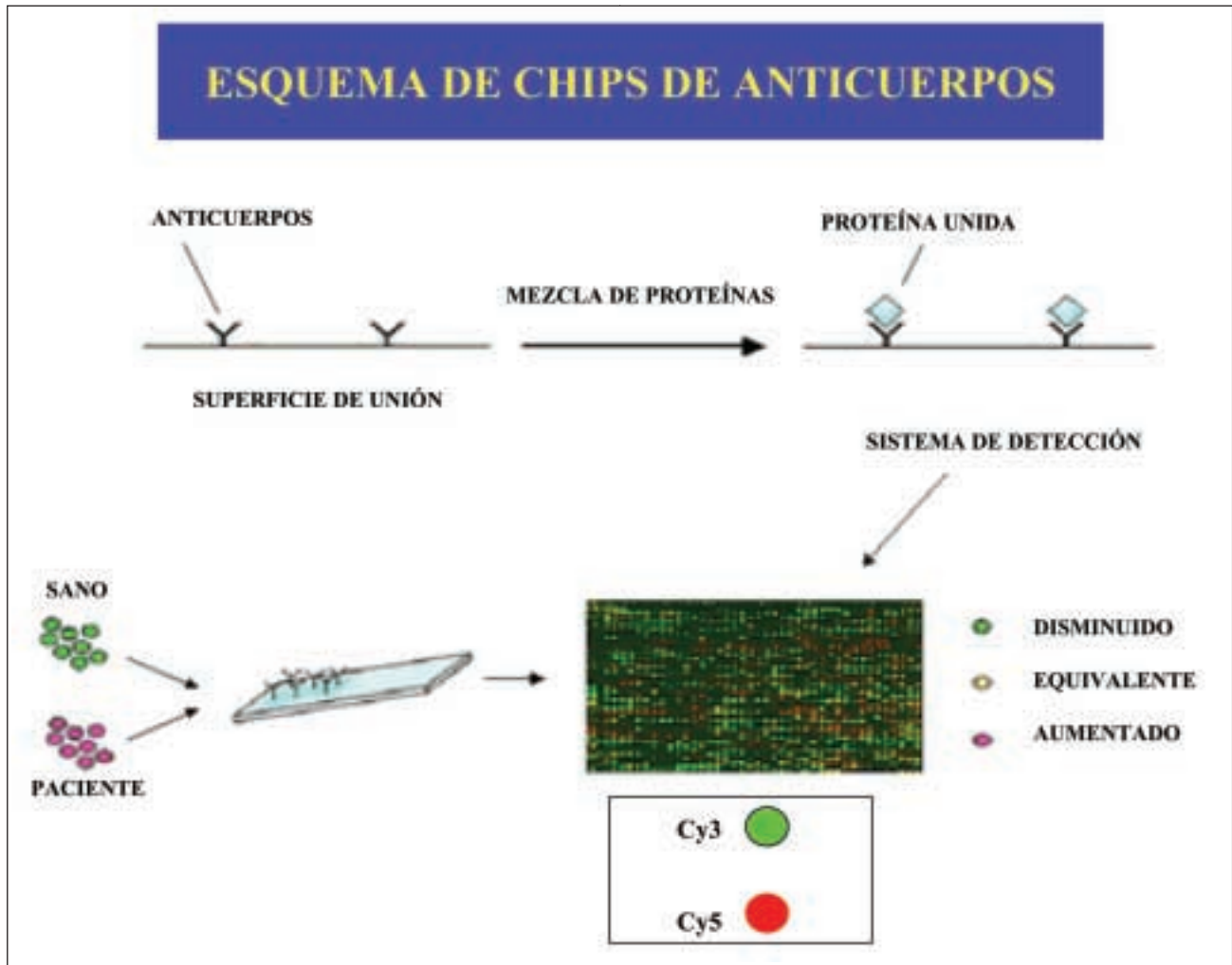


Fig. 8. —Chips de proteínas. Los anticuerpos son depositados mediante un robot y fijados químicamente a una superficie plana (vidrio o membranas de distinta naturaleza, como nylon o nitrocelulosa). Las proteínas de la muestra a analizar son retenidas específicamente por los anticuerpos. Las proteínas de dos muestras que son analizadas comparativamente se marcan con dos fluoróforos que emiten a distinta longitud de onda (Cy3, Cy5), lo que permite su cuantificación relativa. Alternativamente, las proteínas retenidas pueden ser detectadas mediante un segundo anticuerpo marcado con un compuesto fluorescente.

va, de forma que si se determina la intensidad de la luz emitida a las distintas  $\lambda$ , utilizando un escáner de fluorescencia, se puede detectar y cuantificar las proteínas presentes en la muestra patológica respecto al control (fig. 8). Existen chips comerciales con amplios paneles de anticuerpos (validados para la cuantificación) o pueden ser preparados manualmente con los anticuerpos disponibles para una aplicación o patología concreta. Muy recientemente se han utilizado ambos tipos de chips para medir las proteínas específicamente expresadas por células musculares lisas de aorta humana y por monocitos/macrofagos, al ser estimulados con lipoproteínas oxidadas<sup>55,56</sup>.

## BIBLIOGRAFIA

1. Pandey A, Mann M: Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 2000; 405: 837-846.
2. Hadman M, Righetti PG. (Eds.). *Proteomics Today*. Wiley-Interscience. 2005. New Jersey, USA.
3. Naaby-Hansen S, Waterfield D, Cramer R. Proteomics: post-genomic cartography to understand gene function. *Trends Pharm Sci* 2001; 22:376-385.
4. Vivanco F, Gonzalez-Barderas, ME: Nuevas técnicas de análisis proteómico. En: *Aterotrombosis. De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica*. Ed. Línea de Comunicación. Egido J, Tuñón J, López-Bescós L. (Eds.). 2004, p. 275-294, Madrid.
5. Vivanco F, López-Bescós L, Tuñón J, Egido J: Proteómica y enfermedad cardiovascular. *Rev. Esp. Cardiol.* 2003, 56, 289-302.

6. Vivanco F, Martín-Ventura JL, Durán MC y cols.: Quest for novel cardiovascular biomarkers by proteomic analysis. *J Proteom Res* 2005; 4: 1181-1191.
7. Vivanco F, Dardé V, Mas S, De la Cuesta F, Barderas MG: Nuevos abordajes proteómicos en la búsqueda de biomarcadores de aterosclerosis. *Cardiovasc Risk Factors* 2006; 15: 41-51.
8. Mayr M, Mayr U, Chung YL y cols.: Vascular proteomics: linking proteomic and metabolomic changes. *Proteomics* 2004; 4: 3751-3761.
9. Marian AJ, Nambi V: Biomarkers of cardiac disease. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4: 805-820.
10. Gallego-Delgado J, Lázaro A, Osende J y cols.: Proteomic approach in the search of new cardiovascular biomarkers. *Kid Inter* 2005; Supplement 99: S1-S5.
11. Monteoliva L, Albar JP: Differential proteomics: an overview of gel and non-gel based approaches. *Brief Funct. Genomic Proteomic* 2004; 3: 220-239.
12. Gorg A, Weiss W, Dunn MJ: Current two dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics* 2004; 4: 3665-3685.
13. Beranova-Giorgianni S: Proteome analysis by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry: strengths and limitations. *Trends Anal Chem* 2003; 22: 273-279.
14. Link JA: (Ed.). 2-D Proteome analysis protocols. *Methods in Molecular Biology*, 1999, 112. Humana Press. NY, USA.
15. Schulenberg B, Patton W. F: Multiplexed proteomics. Fluorescence detection of protein differences by two dimensional gel electrophoresis and computer based differential display. En: Conn P M. *Handbook of Proteomic Methods*. p. 107-115. New Jersey, 2003, Humana Press.
16. Inagaki N, Katsuta K: Large gel two-dimensional electrophoresis: improving recovery of cellular proteome. *Current Proteomics* 2004; 1: 35-39.
17. Jungblut P, Otto A, Regitz V y cols.: Identification of human myocard proteins separated by two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis* 1992; 13: 739-741.
18. Baker C, Corbett J, May A y cols.: A human myocardial two-dimensional electrophoresis database: protein characterisation by microsequencing and immunoblotting. *Electrophoresis* 1992; 13: 723-726.
19. Jungblut P, Otto A, Zeindl-Eberhart E y cols.: Protein composition of the human heart: the construction of a myocardial two-dimensional electrophoresis database. *Electrophoresis* 1994; 15: 685-707.
20. Corbett J, Wheeler C, Baker C y cols.: The human myocardial two-dimensional gel protein database: update 1994. *Electrophoresis* 1994; 15: 1459-1465.
21. Gállego-Delgado J, Lázaro A, Osende J y cols.: Comparison of the protein profile of established and regressed hypertension induced left ventricular hypertrophy. *J Proteom Res* 2006; 5: 404-413.
22. Lázaro A, Gallego-Delgado J, Osende J y cols.: Expresión diferencial de proteínas en el corazón de ratas espontáneamente hipertensas con hipertrofia cardiaca. *Clin Invest Arterioscl* 2005; 17: 1-9.
23. Gonzalez-Barderas ME, Gallego-Delgado J, Mas S y cols.: Isolation of circulating human monocytes with high purity for proteomic analysis. *Proteomics* 2004; 4: 432-437.
24. Barderas MG, Gállego-Delgado J, Durán MC y cols.: Análisis proteómico de monocitos circulantes humanos. Aplicación a pacientes con síndrome coronario agudo. *Invest. Cardiovasc.* 2004; 7: 1-18.
25. Coppinger JA, Cagney G, Toomey S y cols.: Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. *Blood* 2004; 103: 2096-2104.
26. Durán MC, Mas S, Martín-Ventura JL y cols.: Proteomic analysis of human vessels: application to atherosclerotic plaques. *Proteomics* 2003; 3: 973-978.
27. Bruneel A, Labas V, Mailloux A y cols.: Proteomic study of human umbilical vein endothelial cells in culture. *Proteomics* 2003; 3: 714-723.
28. Yu YL, Huang ZY, Yang PY, Rui YC, Yan PY: Proteomic studies of macrophage-derived foam cell from human U937 cell line using two-dimensional gel electrophoresis and tandem mass spectrometry. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42: 782-789.
29. Yu YL, Yang PY, Fan HZ, Huang ZY, Rui YC, Yang PY: Protein expression in macrophage-derived foam cells: comparative analysis by two-dimensional gel electrophoresis. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 873-877.
30. Mayr M, Siow R, Chung YL, Mayr U, Griffiths JR, Xu Q: Proteomic and metabolomic analysis of vascular smooth muscle cells: role of PKC delta. *Circ Res* 2004; 65: 87-96.
31. Washburn MP, Wolters DA, Yates JR: Large-scale analysis of the yeast proteome by multidimensional protein identification technology. *Nat Biotech* 2001; 19: 242-247.
32. Washburn MP: Utilisation of proteomics datasets generated via multidimensional protein identification technology (MudPIT). *Brief Funct Genomic Proteomic* 2004; 3: 280-286.
33. Lill J: Proteomic tools for quantitation by mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 2003; 22: 182-194.
34. Paoletti AC, Zybaylov B, Washburn MP: Principles and applications of multidimensional protein identification technology. *Expert Rev Proteomics* 2004; 7: 275-282.
35. Kislinger T, Gramolini AO, Mac Lennan DH, Emili A: Multidimensional protein identification technology (MudPIT): technical overview of a profiling method optimised for the comprehensive proteomic investigation of normal and diseased heart tissue. *J Am Soc Mass Spectrom* 2005; 78: 1207-1220.
36. Fach EM, Garulacan LA, Gao J y cols.: In vitro biomarker discovery for atherosclerosis by proteomics. *Mol Cell Proteom.* 2004; 3: 1200-1210.
37. Tuomisto TT, Binder BR, Yla-Herttuala S: Genetics, genomics and proteomics in atherosclerosis research. *Ann Med* 2005; 37: 323-332.
38. Karas M, Glücklichmann M, Schafer J: Ionization in matrix assisted laser desorption/ionisation: singly charged molecular ions are the lucky survivors. *J Mass Spectrom* 2000; 35: 1-12.
39. Henzel WJ, Watanabe C, Stults J: Protein identification: the origins of peptide mass fingerprinting. *J Am Soc Mass Spectrom* 2003; 14: 931-942.
40. Griffiths W, Jhonsson PA, Liu S y cols.: Electrospray and tandem mass spectrometry in biochemistry. *Biochem J* 2001; 355: 545-561.
41. Issaq H, Veenstra TD, Conrads T y cols.: The SELDI-TOF MS approach to proteomics : protein profiling and biomarker identification. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 292: 587-592.
42. Tang N, Tornatore P, Weinberger S: Current developments in SELDI affinity technology. *Mass Spectrom Reviews* 2004; 23: 34-44.
43. Issaq H, Conrads T, Prieto A D y cols.: SELDI-TOF MS for diagnostic proteomics. *Anal Chem* 2003; 149A- 155 A.
44. Fung ET, Enderwick C: Protein chip clinical proteomics: computational challenges and solutions. *Comput Proteomics* 2002; Supplement 32, S34-S41.
45. Petricoin EF, Liotta LA: SELDI-TOF based serum proteomic pattern diagnostics for early detection of cancer. *Curr Op Biotech* 2004; 15: 24-30.
46. Lescuyer AL, Burgess J, Leung KY y cols.: ApoC-I and ApoC-III as potential plasmatic markers to distinguish between ischemic and hemorrhagic stroke. *Proteomics* 2004; 4: 2242-2251.
47. Davidsson P., Hulthe J., Fagerberg B. y cols.: A proteomic study of the apolipoproteins in LDL subclasses in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. *J Lipid Res* 2005; 46: 1999-2006.
48. Marshall J, Kupchak P, Zhu W y cols.: Processing of serum proteins underlies the mass spectral fingerprinting of myocardial infarction. *J Proteome Res* 2003; 2: 361-372.

49. Frangogianis NG, Smith CW, Etman ML: The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 31-47.
50. Lueking A, Cahill D, Mülner S: Protein biochips: a new and versatile platform technology for molecular medicine. *Drug Discov Today* 2005; 10: 789-794.
51. Angenendt P: Progress in protein and antibody microarray technology. *Drug Discov Today* 2005; 10: 503-511.
52. Utz PJ: Protein arrays for studying blood cells and their secreted products. *Immunol Rev* 2005; 204: 264-282.
53. Chan SM, Ermann J, Fathman CG, Utz PJ: Protein microarrays for multiplex analysis of signal transduction pathways. *Nat Med* 2004; 10: 1390-1396.
54. Bertone P, Snyder M: Advances in functional protein microarray technology. *FEBS J* 2005; 272: 5400-5411.
55. Tuomisto TT, Riekkinen MS, Viita H y cols.: Analysis of gene and protein expression during monocyte-macrophage differentiation and cholesterol loading cDNA and protein array study. *Atherosclerosis* 2005; 180: 283-291.
56. Sukhanov S, Delafontaine P: Protein chip-based microarray profiling of oxidized low density lipoprotein-treated cells. *Proteomics* 2005; 5: 1274-1280.