

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

División de Estudios de Postgrado.



Instituto Mexicano del Seguro Social

Centro Médico Nacional La Raza

Unidad Médica de Alta Especialidad

Hospital General.

“Identificación de mutaciones en el gen Lamin A/C en miocardiopatía dilatada severa de corazones explantados de pacientes sometidos a trasplante de corazón en Hospital General La Raza”

Protocolo de Tesis para obtener la Especialidad de Cirugía Cardiotorácica

Presenta:

Dr. David Hernández Ríos.

Residente de 4to año de Cirugía Cardiotorácica, Teléfono 57245900, ext.23424

davidcrisan@hotmail.com

Tutores:

Dr. Hugo Zetina Tun, Adscrito al servicio de Cirugía Cardiotorácica, Hospital General Centro Médico Nacional la Raza, Teléfono 57245900, ext. 23424. Correo electrónico: hzetina@gmail.com

Dra. Magdalena Sánchez Uribe, Adscrito al servicio de Patología, Hospital General Centro Médico Nacional la Raza, teléfono 57245900, ext. 23052. Correo electrónico:magdasur@hotmail.com

Dra. Vilma Carolina Bekker Méndez, unidad de investigación en inmunología e infectología, hospital de infectología en Centro Médico Nacional la Raza. Teléfono:57821088 ext. 24322 correo electrónico: bekkermendez@yahoo.com

Dr. Guillermo Careaga Reyna, Director General del Hospital General Centro Médico Nacional Raza y profesor Titular del servicio de Cirugía Cardiotorácica y asistencia circulatoria. Teléfono: 57245900, ext.23300. Correo electrónico: gcareaga3@gmail.com

México, D. F. 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón".

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3502
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA, D.F. NORTE

FECHA 31/07/2015

DR. HUGO JESÚS ZETINA TUN

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Identificación de mutaciones en el gen Lamin A/C en miocardiopatía dilatada severa de corazones explantados de pacientes sometidos a trasplante de corazón en Hospital General "Dr Gaudencio Gonzalez Garza" Centro Médico Nacional La Raza

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2015-3502-123

ATENTAMENTE


DR.(A). GUILLERMO CAREAGA REYNA
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3502

INDICE	Páginas
1. Abreviaturas.....	4
2. Resumen.....	5
3. Antecedentes.....	7
4. Justificación.....	15
5. Planteamiento del problema.....	17
6. Objetivo general.....	18
7. Hipótesis general.....	18
8. Material y métodos.....	19
9. Diseño del estudio.....	22
10. Análisis Estadístico.....	22
11. Variables.....	22
12. Procedimientos.....	23
13. Consideraciones éticas.....	25
14. Recursos.....	26
15. Cronograma de actividades.....	26
16. Anexos.....	27
17. Resultados.....	30
18. Bibliografía.....	35

ABREVIATURAS.

SINAIS. Sistema nacional de información en salud.

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición).

NCHS: National Center For Health Statistics (Centro Nacional de Estadísticas en Salud).

NHLBI: National Heart, Lung and Blood Institute (Instituto Nacional de Corazón Pulmon y Sangre).

BNP. Péptido natriuretico tipo B ventricular.

FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

VO2 max: Cantidad máxima de volumen consumido por el cuerpo.

CCS: Canadian cardiovascular society (sociedad canadiense de cardiología).

CMNR. Centro Médico Nacional La Raza.

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social.

ISSSTE: Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado.

NT-pro BNP: prohormona N-terminal del péptido natriurético tipo B.

IC: Índice Cardíaco.

GC: Gasto cardíaco.

GTP: Gradiente transpulmonar.

RESUMEN.

Introducción.

Las enfermedades cardiovasculares en México, a través de los años han desempeñado un papel muy importante en cuanto a morbilidad, mortalidad, así como a la productividad de las personas afectadas, convirtiéndose así en un problema de interés social a todos los niveles.

La descripción de las enfermedades cardiovasculares en general es muy antigua, y crear un conocimiento profundo sobre sus causas y mecanismos no ha sido nada fácil. Durante siglos, fue un misterio la forma de funcionar y de enfermar del corazón y en sí del aparato circulatorio, solamente ahora y a través de numerosos estudios y tecnología es que se sabe la función del mismo¹.

Podemos realizar un diagnóstico certero de manera temprano para así brindar la mejor opción terapéutica de acuerdo al momento de la patología, que puede ir desde la colocación de un marcapasos, desfibrilador automático implantable con la inteligencia artificial de salvar una vida, hasta el último recurso que es un trasplante cardíaco.

Dentro de las varias patologías cardíacas, las miocardiopatías dilatadas han sido un tema de difícil reto para el diagnóstico y tratamiento de las mismas, siendo así que la miocardiopatía dilatada idiopática, permanece como una enfermedad enigmática¹. Actualmente las pruebas genéticas para las miocardiopatías dilatadas potencialmente heredables ha avanzado desde solo el conocimiento científico hasta la aplicación clínica y ya no solo se realiza el diagnóstico fenotípico, sino además se realiza la correlación fenotipo-genotipo.²¹

Objetivo.

Identificar en corazones explantados posoperados de trasplante cardíaco por miocardiopatía dilatada mutaciones en el gen Lamin a/c, ya que se ha reportado a nivel mundial que existe un componente genético en parte de estos casos, esta mutación lleva a una falla cardíaca irreversible, que en nuestro medio se desconoce la asociación de esta mutación y la miocardiopatía dilatada.

Material y método.

Se analizará el gen Lamin a/c y los cambios ultra estructurales e inmunoquímicos del mismo de 28 corazones explantados con miocardiopatía dilatada de pacientes que llegaron a falla cardíaca terminal y requirieron trasplante de corazón como tratamiento definitivo, en el Hospital General La Raza "Dr. Gaudencio González

Garza". Se seleccionarán los bloques de parafina representativos de ventrículo izquierdo dilatado y se analizarán en la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología del hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández" CMNR, para saber la presencia y frecuencia de la mutación de este gen.

Análisis estadístico.

Se utilizara una estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la normalidad de los datos (media y desviación estándar en datos con distribución normal y mediana).

Factibilidad, recursos e infraestructura.

Se cuenta con una adecuada muestra de casos trasplantados de corazón debido al programa exitoso y de mayor trascendencia hasta el momento del país que se lleva a cabo en el Hospital General La Raza, así mismo se cuenta con el recurso humano multidisciplinario que involucra, el servicio de cirugía cardiotorácica, el servicio de patología, servicio de investigación. Se cuenta además con la infraestructura para realizar en un laboratorio el proceso de identificación del gen y mutación del mismo.

Experiencia del grupo.

Es conjunta, por un lado tenemos a todo el grupo que lleva a cabo el proceso de criterios de selección de paciente con miocardiopatía dilatada desde el tratamiento médico inicial hasta la etapa final de la falla cardíaca, el trasplante cardíaco, que al paso del tiempo desde el primer trasplante el 21 de Julio de 1988 realizado en México, hasta ahora se ha tenido un gran cambio en los resultados del mismo.

Tiempo a desarrollar.

El protocolo está proyectado para llevarse a cabo en el periodo de enero del año 2015, donde se llevará a cabo la recolección de datos con la obtención de la lista de pacientes posoperados de trasplante cardíaco desde enero del año 2012 hasta diciembre del año 2014, una vez obtenida la lista, se iniciará la recolección de las muestras en el servicio de patología del CMNR se desarrollara protocolo y se presentara al comité local en Julio 2015 una vez aceptado por comité local se iniciara el proceso de las muestras, resultados y conclusiones en agosto 2015, por lo tanto el tiempo estimado de desarrollo del protocolo es de 6 meses.

ANTECEDENTES.

Las enfermedades del músculo cardíaco se engloban dentro del término miocardiopatías. Entre ellas, la más frecuente es la miocardiopatía dilatada la cual es una afección severa progresiva que conlleva a una contracción ventricular inadecuada, falla cardíaca e incluso a la muerte. Habitualmente afecta al ventrículo izquierdo, aunque puede afectar ambos, esto en ausencia de condiciones de llenado anormal como cardiopatía isquémica con afectación global o como en el caso de las valvulopatías².

La miocardiopatía dilatada es la tercera causa más común de falla cardíaca después de la cardiopatía isquémica y la hipertensión arterial, y la causa más común de trasplante cardíaco a nivel mundial. La incidencia en Estados Unidos y Europa de cardiomiopatía dilatada idiopática es de 8 casos por cada 100 000 habitantes, aunque la forma idiopática de cardiomiopatía dilatada es lo más frecuente, recientemente se ha identificado una etiología familiar que ha podido explicar desde un treinta hasta un 50% de los casos de origen idiopático³.

En México, a pesar de no contar con datos precisos, es bien conocido que las enfermedades del corazón constituyen desde hace más de 5 años la primera causa de mortalidad global y dentro de éstas, la Insuficiencia cardíaca se perfila como una de las causas directas⁴.

En general el pronóstico no es bueno, con una mortalidad a los 5 años, según el estudio Framingham, de 75% en varones y 62% en mujeres. Y es de esperarse el aumento de su incidencia debido al aumento de la supervivencia de pacientes con factores de riesgo como obesidad, tabaquismo, hipertensión arterial y dislipidemia que conlleva a cardiopatía isquémica e insuficiencia cardíaca⁴.

Esto es debido a los avances importantes en tecnología que ayudan a un diagnóstico más específico y temprano así como a las mejoras en la terapéutica que disminuye la mortalidad a corto plazo.

Se estima que 1 de cada cuatro personas de 65 años o más, con uno o más factores de riesgo mencionados anteriormente, tendrá un episodio clínico de insuficiencia cardíaca en el próximo año y de seguir así esta tendencia, en el año 2020 ocupara el cuarto lugar de discapacidad a nivel mundial⁴.

La incidencia y prevalencia de la miocardiopatía dilatada en México no es conocida de manera exacta sin embargo, es sabido, de acuerdo al sistema nacional de información en salud, que el 70.3% de la población mexicana adulta tiene al menos 1 de los siguientes factores de riesgo cardiovascular:

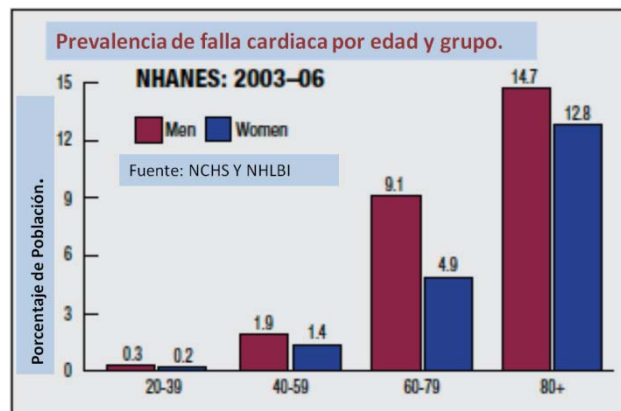
- Hipertensión arterial sistémica.
- Dislipidemia.

- Diabetes.
- Obesidad.

Esto equivale a más de 30 millones de mexicanos⁴.

Según el SINAIS (sistema nacional de información en salud), en México las enfermedades cardiovasculares entran en segundo lugar solo después de la Diabetes Mellitus, como principal causa de mortalidad general en 2008, con una tasa de 70.8 por cada 100 000 habitantes.

En países de primer mundo como los es Estados Unidos el comportamiento de la insuficiencia cardiaca ha ido en aumento, esto debido también al aumento de factores de riesgo cardiovascular en dicha población, con la mayor prevalencia en pacientes mayores de 80 años, y mayor porcentaje en hombres (14.7%) que en las mujeres (12.8%), como muestra la siguiente gráfica.



NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey.

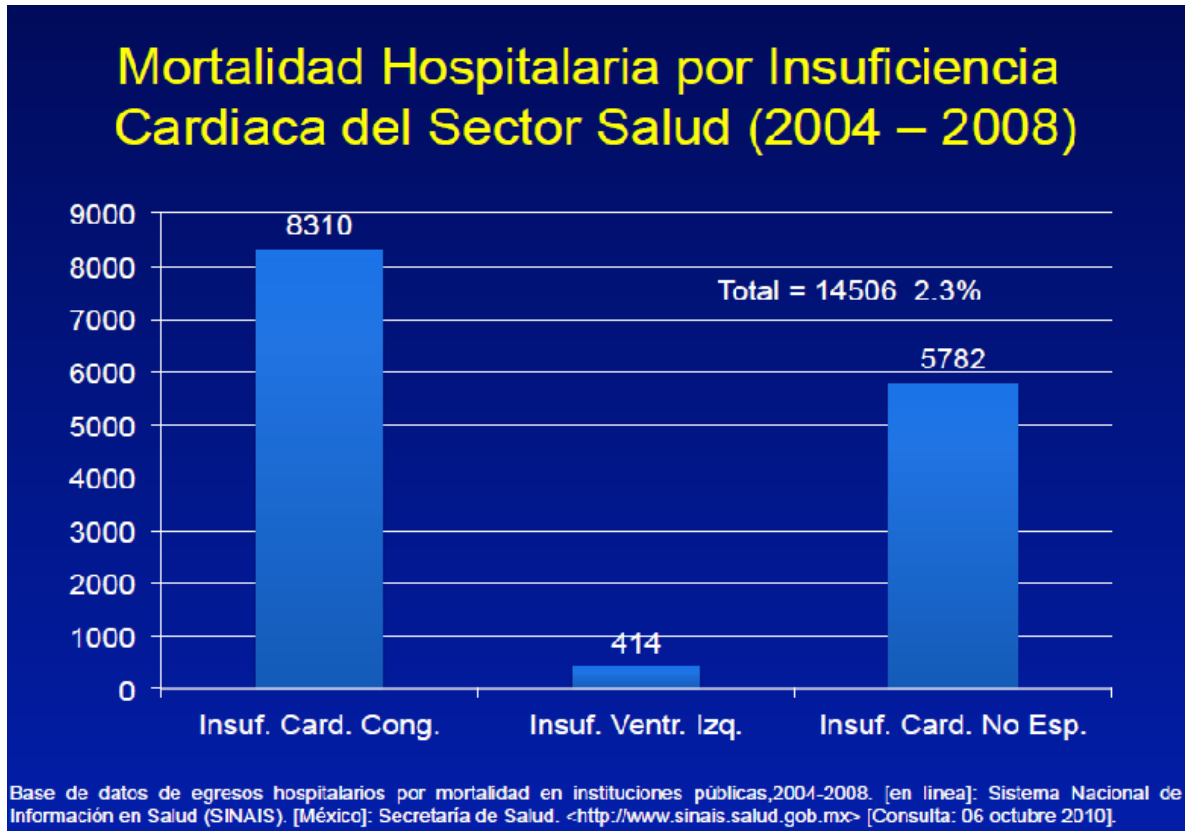
NCHS: National Center For Health Statistics.

NHLBI: National Heart, Lung and Blood Institute.

Esto generó un costo hospitalario estimado directo e indirecto de 39.2 millones de dólares en el año 2010⁴.

En México según datos de egresos hospitalarios por morbilidad en instituciones públicas (IMSS, ISSSTE, Salubridad) del año 2001 al año 2008 reportados al SINAIS, la morbilidad por insuficiencia cardiaca congestiva más insuficiencia ventricular izquierda e insuficiencia cardiaca no especificada fue de un total de

106,611 casos reportados. Y la mortalidad por insuficiencia cardíaca alcanzó un total de 14 506 casos.



De aquellos pacientes con insuficiencia cardíaca grave, con una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), menor a 40%, sólo 5% progresarán a una clase funcional IV de la New York Heart Association (NYHA) que corresponde alrededor de 250 000 casos, con pronóstico mortal a un plazo de 2 años. Estos pacientes requieren un tratamiento definitivo como lo es el trasplante cardíaco⁶.

En la actualidad el trasplante cardíaco se ha convertido en una alternativa válida y universalmente aceptada en el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardíaca severa en mala situación funcional y sin tratamientos alternativos aceptables⁷.

Algunas de las indicaciones para la realización de trasplante cardíaco incluyen:

- Falla cardíaca ventricular izquierda [fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI), menor a 35%] debida a miocardiopatía isquémica,

cardiomiopatía dilatada, cardiomiopatía valvular o cardiomiopatía hipertensiva.

- Enfermedad isquémica con angina intratable no susceptible de revascularización y que no responde a terapia médica máxima.
- Arritmia intratable, no susceptible de ablación y que no responde a máximo tratamiento médico.
- Cardiopatía hipertrófica, donde fallo la máxima terapia médica y la terapia quirúrgica⁷.

Así mismo existen otras indicaciones de trasplante cardiaco desde el punto de vista hemodinámico funcional, como lo serían el índice cardíaco (IC), el gasto cardíaco (GC), la cantidad máxima de volumen consumido (VO₂ max) que es la capacidad máxima de oxígeno que un individuo puede transportar y absorber en determinado tiempo (metabolizar) y está íntimamente relacionado con la capacidad cardiovascular, las resistencias capilares vasculares pulmonares y el gradiente transpulmonar (GTp), tomándose en cuenta para la adecuada selección del receptor y así la obtención de un resultado exitoso⁷.

La cardiomiopatía dilatada es una de las causas más importantes de falla cardiaca y de trasplante cardiaco, su diagnóstico se establece en base de una buena historia clínica, examen físico, radiografía de tórax, electrocardiografía, cateterismo cardiaco, clase funcional y en ocasiones algunos apoyos auxiliares como son la resonancia magnética y biomarcadores como péptidos natriureticos.²²

Otras causas de miocardiopatía dilatada no genéticas son la viral (miocarditis), por tóxicos como el alcohol o drogas, periparto y no compactada²⁴.

Aunque la miocardiopatía dilatada se ha asociado a diferentes causas, el termino de cardiomiopatía se refiere a causa genética²¹. Actualmente la miocardiopatía dilatada se ha asociado a mutaciones más de 30 genes y aproximadamente el 6% a 12% de estas mutaciones son debidas al gen lamin A/C (LMNA)⁸.

Las mutaciones en el gen LMNA se ha ligado a diferentes enfermedades²². La mayoría resultan en enfermedades del musculo estriado mientras que el resto afectan al tejido adiposo, sistema nervioso periférico o múltiples tejidos (tabla 1). Los pacientes con mutaciones en LMNA exhiben una variedad de fenotipos celulares y fisiológicos⁸.

Tabla 1.

Enfermedades causadas por mutaciones en LMNA. Herencia mendeliana en humanos en línea (OMIM).²³

Patologías del musculo estriado.

Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante.

Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica recesivo.

Cardiomiopatía dilatada, autosómica dominante.

Distrofia muscular de Limb Girdle, autosómica dominante.

Neuropatías periféricas.

Enfermedad de Charcot Marie Tooth, autosómica recesivo.

Síndromes lipodistroficos.

Lipodistrofia parcial familiar tipo Dunnigan. Autosómico dominante.

Displasia mandibuloacral. Autosómico recesivo.

Patologías de envejecimiento acelerado.

Síndrome atípico de Werner. Autosómico dominante.

Síndrome de progeria tipo Hutchinson Gilford. Autosómico dominante.

Dermopatía letal restrictiva. Autosómico dominante.

El gen lamin A/C se encuentra en el brazo largo del cromosoma 1 (1q21.2), que codifica para dos isómeros principalmente lamin A y C, estas son proteínas o filamentos que soportan la parte interna de la membrana nuclear y están involucradas en la estructura de la cromatina y su expresión genética⁹. La Lamin A y la Lamin C se expresan en la mayoría de las células somáticas, pero no en algunas células embrionarias tempranas, en algunas células hematopoyéticas, en

neuronas, células mesenquimatosas y epiteliales no diferenciadas y en diferentes células cancerígenas²³.

A las mutaciones en genes que codifican filamentos intermediarios nucleares o a proteínas asociadas a estos filamentos se les llama Laminopatias²³. Estas proteínas pueden ser hasta 80.

Se ha reportado previamente anormalidades ultraestructurales en el musculo cardiaco en pacientes con mutaciones del gen lamin A/C, estas mutaciones se han caracterizado principalmente en reorganización de la cromatina nuclear, perdida del volumen neoplasmico y de la formación de grandes invaginaciones de la membrana nuclear²².

En años recientes la contribución de la identificación de mutaciones genéticas que expliquen la miocardiopatía dilatada ha sido más frecuente, explicando la presencia de esta patología en diferentes líneas familiares, actualmente se considera que de un 20 hasta 50% de las miocardiopatías dilatadas Idiopáticas tiene un origen familiar¹⁰.

Las pruebas genéticas para enfermedades cardiovasculares cada vez son más comunes sobre todo en países de primer mundo como en Estados Unidos llegando a detectar mutaciones en gen lamin A/C hasta en un 60% sobre todo cuando está asociado a trastornos de la conducción, y en miocardiopatía dilatada pura se ha detectado hasta en un 20%²⁴.

Y a pesar de la tecnología genética reciente que permite realizar un diagnóstico genético con un buen margen costo beneficio, el tamizaje genético revela que solo en 30 al 35 % de la miocardiopatía dilatada familiar sigue el modelo Mendeliano de herencia, mientras que el porcentaje restante tiene un origen más complejo multi variante¹¹.

En la mayoría de los casos se observa la penetrancia relacionada con la edad. Por lo tanto se ha observado que solo el 7% de la personas con mutación en LMNA, menores de 20 años tienen algún fenotipo cardiaco; pero este porcentaje aumenta a 66% cuando tienen edad entre 20 y 39 años, 86% en edad entre 40 y 59 años y el 100% en mayores de 60 años¹². Algunas teorías sugieren que estas proteínas perturban el DNA dañado causando inestabilidad genómica²³.

Las mutaciones en este gen causan miocardiopatía dilatada, frecuentemente complicada por defectos en la conducción y defectos en musculo esquelético, además de que esta mutación ha sido reportada en casos de distrofia muscular de Emery Dreifuss, neuropatía de Charcot-Marie-Tooth tipo 2 y lipodistrofia

familiar, así como la correlación genotípica y fenotípica de estos casos es aún desconocida⁹.

Desde el descubrimiento de la primera cardiomiopatía causada por un gen en 1990, hasta las causas genéticas que derivan en canalopatías en 1995, los avances científicos en pruebas genéticas para cardiomiopatías y canalopatías potencialmente heredables han ido desde el descubrimiento de bases científicas hasta la aplicación clínica terapéutica. Hoy en día a nivel mundial se cuenta con pruebas diagnósticas de la mayoría de las causas genéticas de las cardiomiopatías¹³.

Existen más de 50 patologías genéticas asociadas con canalopatías y cardiomiopatías con cientos de mutaciones de tipo discretas inserciones, deleciones, con cambio en el marco de lectura, sin sentido, de corte y empalme¹⁴.

La cardiomiopatía dilatada está caracterizada por una disfunción sistólica del ventrículo izquierdo que lleva al crecimiento del mismo. Aunque varias patologías o insultos hacia el miocardio pueden causar fenotípicamente cardiomiopatía dilatada. La mayoría de los pacientes que se presentan como cardiomiopatía dilatada de origen desconocido se les asigna el diagnóstico de cardiomiopatía dilatada idiopática, esto es después de haber excluido alguna otra causa detectable (de origen isquémico, valvular, viral o hipertensiva, por ejemplo) sin embargo un gran porcentaje de los paciente diagnosticados como cardiomiopatía dilatada tienen en realidad son origen en una mutación genética y una vez realizada la detección de la mutación y su patrón heredable se considera entonces una miocardiopatía dilatada familiar¹⁵.

En la mayoría de los casos no hay características fenotípicas específicas para diferenciar una cardiomiopatía dilatada de una cardiomiopatía dilatada idiopática, incluso se ha demostrado casos donde los pacientes diagnosticados con cardiomiopatía dilatada idiopática tienen en realidad miocardiopatía dilatada familiar, como se mencionó anteriormente, ocurriendo esto desde 20 a 35% de los casos, esto al complementar con historia clínica a familiares de primer grado mas electrocardiograma, ecocardiograma y pruebas genéticas. Por esta razón es recomendable realizar una historia clínica sobre familiares cuando estamos ante un caso de miocardiopatía dilatada idiopática¹⁶.

El consejo genético es recomendado según las guías de Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA), a los pacientes con familiares con patologías cardiacas, donde el consejo debería incluir una discusión sobre los riesgos, beneficios y las opciones para las pruebas genéticas, sobre todo en canalopatías y otras enfermedades genéticas donde se ha demostrado una clara relación fenotipo genotipo. Todos los parientes de primer grado de un

paciente con MCD (miocardiopatía dilatada) idiopática deben ser evaluados mediante ecocardiografía y electrocardiografía donde la inferencia sobre el riesgo de arritmia puede ser influenciado por los resultados de las pruebas genéticas¹³.

Aunque la cardiomiopatía dilatada esporádica es principalmente una enfermedad genética, sigue sin estudiarse como tal en los grandes estudios prospectivos, por lo que las pruebas genéticas de esta enfermedad aún son inciertas.

En la miocardiopatía dilatada de origen genético se han visto implicadas mutaciones en más de 30 genes, sin embargo ninguno de estos genes llegan al 5% en los casos de miocardiopatía dilatada familiar. Hay revisiones recientes que proveen de una lista de genes en miocardiopatía dilatada y resaltan una amplia variedad de proteínas codificadas implicadas en la patogénesis de la miocardiopatía dilatada, incluyendo proteínas del citoesqueleto, de miofilamentos, de la envoltura nuclear y de canales iónicos¹⁷.

De hecho aún no se sabe la prevalencia de las grandes deleciones, duplicaciones, o reordenamientos, estudiados por los métodos más comunes en pruebas genéticas.

La mayoría de las miocardiopatías heredables o familiares siguen un patrón autosómico dominante, aunque también se han descrito patrones ligados al sexo, autosómicos recesivos, o mitocondrial. La sensibilidad de las pruebas genéticas se estima entre el 15% al 25%. Esto varía en relación con el número de genes que se prueban y las características fenotípicas de la persona examinada. Las personas con trastornos de conducción, niveles elevados de creatinina cinasa, y miembros de la familia igualmente afectados, pueden tener el mayor positividad de las pruebas genéticas para miocardiopatía dilatada mostrando penetrancia dependiente de la edad¹³.

Esto significa que una persona que lleva una variante rara que causa la enfermedad es más probable que muestren un fenotipo de la enfermedad con la edad, y que una evaluación fenotípica normal mediante ecocardiograma y electrocardiograma no excluye la posibilidad de enfermedad de aparición tardía¹³.

En la DCM (miocardiopatía dilatada) también se ha demostrado manifestaciones de penetrancia variable de la enfermedad y que pueden variar de persona a persona o incluso entre los miembros de la familia donde todos tengan la misma variante, manifestándose en algunos sujetos con síntomas muy leves (por ejemplo, disfunción sistólica mínima, FEVI ligeramente disminuida) hasta una enfermedad completamente agresiva¹³.

Dentro de las implicaciones pronósticas de las pruebas genéticas en la DCM, no hay un papel pronóstico claro, excepto por el mayor riesgo de muerte súbita cardíaca en la enfermedad relacionada con la mutación en LMNA¹³.

Implicaciones terapéuticas de las pruebas genéticas en DCM.

Existe un papel terapéutico para las pruebas genéticas en la DCM y enfermedad del sistema de conducción cardíaco que a menudo se debe a mutaciones en LMNA, donde se ha visto relación con bloqueos auriculo ventriculares de 3er grado o arritmias ventriculares graves que pueden llevar a síncope o muerte súbita, se opta en ocasiones la colocación temprana de desfibrilador automático implantable como medida terapéutica preventiva. Se desconoce si el tratamiento farmacológico temprano de sujetos asintomáticos con mutación positiva, pueda prevenir o retrasar la manifestación de la enfermedad¹¹.

JUSTIFICACIÓN.

La insuficiencia cardíaca es uno de los problemas de salud pública de mayor impacto a nivel mundial dada a su incidencia en la población. Tan sólo en los Estados Unidos de Norteamérica se estima que al menos 5 millones de personas padecen de esta enfermedad, su incidencia es de alrededor de 1 millón de casos por año y se asocia con mortalidad equivalente a 50,000 casos anuales; de hecho, es la primera causa de internamiento en personas mayores de 65 años. Por todo lo anterior representa un elevado costo para su prevención, diagnóstico, tratamiento y control⁵.

Es por eso que es importante saber las causas de falla cardíaca secundaria a cardiomiopatía dilatada ya que se ha reportado que existe un componente genético en algunos de estos casos, que corresponde a mutaciones en el gen Lamin A/C.

En nuestro país se desconocen los tipos de mutaciones y su frecuencia en pacientes con cardiomiopatía dilatada, por lo que es necesario proponer un grupo de asesoramiento genético para identificar mutaciones genéticas en miocardio dañado, como una medida preventiva del daño.

La miocardiopatía dilatada a grandes rasgos puede ser dividida en miocardiopatía familiar y no familiar. La prevalencia de la miocardiopatía dilatada es de 1:2500 y de estos del 30 al 50% son casos familiares. La miocardiopatía dilatada se ha convertido en la principal causa de trasplante cardíaco, de falla cardíaca y de muerte súbita²⁵.

En la literatura se mencionan alrededor de 30 hasta 60 genes implicados en la cardiomiopatía dilatada, con variaciones en el porcentaje en distintas poblaciones¹³. En el año 2012 Herman and Collegues publicaron un estudio demostrando mutaciones en el gen titina (TTN) en un 25% en miocardiopatía familiar y en miocardiopatía no familiar en 18% y el gen lamin A/C en segundo lugar con mutaciones hasta en 12 % de los casos no familiares y 18% en casos de

miocardiopatía familiar²⁵. Se ha elegido a lamin A/C para iniciar un programa de análisis genético en el que están involucrados diversos genes en diversos procesos celulares y en este caso es un proceso en el que la interacción de las células con el componente de la matriz extracelular podría indicarnos o daría evidencia de un posible papel de mutación en este gen. Por reportes internacionales se ha demostrado que la mutación se presenta entre el 5 y 10 % en pacientes con esta patología¹³. En México se desconoce las frecuencias de las mutaciones en este gen y de la mayoría de los ya reportados a nivel mundial. Por lo tanto se decide estudiar este gen en particular dado que es uno de los que se ha asociado a cardiomiopatía dilatada que ha llevado a trasplante cardiaco y que en ocasiones se asocia a rasgos fenotípicos como puede ser defectos en sistema de conducción o muerte súbita¹³, además que no se compartiría como una canalopatía asociada, es decir, un evento más dirigido hacia la enfermedad.

Por lo tanto la justificación de este estudio es de tratar de correlacionar fenotípicamente y genotípicamente las mutaciones del gen Lamin A/C con la miocardiopatía dilatada en pacientes que llegaron a insuficiencia cardíaca terminal y requirieron trasplante de corazón, así como la prevalencia de esta laminopatía, sería entonces una manera de saber si en nuestra muestra los pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía dilatada idiopática en realidad tienen algún componente genético y en realidad son una cardiomiopatía dilatada familiar.

Dentro las guías de Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA) se menciona las recomendaciones dadas por un consejo de expertos de las pruebas genéticas en cardiomiopatía dilatada (clase I, IIa), además de un resumen de los genes comúnmente relacionados con la patología en cuestión, se menciona a continuación:

Recomendaciones de las pruebas genéticas para cardiomiopatía dilatada. (DCM)

¹³.

- Clase I (recomendada), la prueba genética sobre el LMNA es recomendada para pacientes con miocardiopatía dilatada y alguna enfermedad del sistema de conducción (bloqueo A-V primero, segundo o tercer grado), o para pacientes con DCM mas antecedentes de familiares de primer grado con muerte súbita. En caso de identificar la mutación en el caso-paciente, se podrá recomendar la extensión de la prueba para los familiares sintomáticos también.
- Clase IIa (puede ser de utilidad), la prueba de identificación del gen puede ser de utilidad para pacientes con historia familiar de miocardiopatía dilatada para confirmar el diagnóstico, para identificar los que tienen mayor

riesgo de arritmias o para facilitar la identificación de la cascada familiar y llevar a cabo estrategias de planificación.

Genes asociados a cardiomiopatías cardiacas (>5% de la enfermedad).

- **Cardiomiopatía dilatada (DCM)**

Gen.	Locus	proteína	% de la enfermedad
SCN5A	3p21	Subunidad alfa de canales de sodio cardiacos	5 al 10%
LMNA	1q22	Lamin A/C	5 al 10%

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

- ¿Existirán mutaciones en el gen Lamin A/C asociados al daño miocárdico en corazones explantados de pacientes que cursaron con cardiomiopatía dilatada y falla cardíaca, que requirieron trasplante cardíaco?
- De ser así, ¿Cuál es la prevalencia de esta mutación o laminopatía en nuestra población de pacientes trasplantados de corazón que tenían el diagnóstico de cardiomiopatía dilatada idiopática?
- De identificar esta mutación en pacientes con cardiomiopatía dilatada que requirieron trasplante cardíaco ¿Se puede considerar como prueba de tamizaje para un grupo altamente seleccionado con costo beneficio y como predictor para prevenir y limitar el daño miocárdico con un tratamiento más temprano y eficaz?
- Debido a que se desconoce las mutaciones presentes en nuestra población, se podrá identificar la frecuencia y así posteriormente proponer estrategias dirigidas a identificación de sujetos susceptibles a cardiomiopatía dilatada que los lleve a falla cardiaca terminal.

OBJETIVO GENERAL.

- Identificar la presencia de mutaciones en Lamin A/C en biopsias de miocardio dañado que tenían como diagnóstico cardiomiopatía dilatada idiopática y falla cardíaca que requirieron trasplante cardíaco.
- Objetivos específicos:
 - 1.-Determinar la expresión proteica del gen por estudiar en los tejidos mediante inmunohistoquímica.
 - 2.-Determinar si la mutación genera un patrón de expresión inmunohistoquímico distinto a la expresión normal (en intensidad).
 - 3.-Determinar la frecuencia del tipo de mutación presente. (Por ejemplo, sin sentido, con sentido, inserción, deleción).
 - 4.-Determinar probable asociación entre la mutación y la enfermedad, así como correlacionar clínicamente la presencia de la mutación con defectos de sistema de conducción como ha sido reportado en la literatura.

HIPOTESIS GENERAL.

- La mutación de gen lamin A/C se presentarán entre el 5 al 10% de los casos de miocardiopatía dilatada diagnosticada como idiopática en nuestro centro, de corazones explantados de pacientes con miocardiopatía dilatada que requirieron trasplante cardíaco^{9,13}.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio será realizado por parte del departamento de Cirugía Cardiorácica y Asistencia Circulatoria en el Hospital General Centro Médico nacional la Raza “Dr. González Gaudencio Garza” con colaboración de la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología del hospital de Infectología “Dr. Daniel Méndez Hernández” CMNR. Previo consentimiento informado escrito obtenido de todos los participantes del estudio según los requerimientos locales.

MUESTRAS

La base de datos obtenida consta de los pacientes posoperados de trasplante cardíaco por parte del departamento de Cirugía Cardiorácica y Asistencia Circulatoria en el Hospital General Centro Médico nacional la Raza “Dr. González Gaudencio Garza” desde el enero del año 2012 hasta diciembre del año 2014, correspondiendo a una muestra de 29 biopsias de corazón explantado, con diagnóstico de cardiomiopatía idiopática, procesados en bloques de parafina por parte del servicio de patología del Hospital General CMNR.

De cada biopsia de corazón explantado del 2012 a 2014, se obtuvieron entre 5 hasta 13 bloques de parafina, de los cuales se tomó solo 1 bloque que representa la mayor cantidad de tejido miocárdico dañado y principalmente el bloque correspondiente al ventrículo izquierdo, para ser procesado por parte de la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología del hospital de Infectología “Dr. Daniel Méndez Hernández” CMNR.

Num.	Biopsia	Año	Sexo	Edad	diagnostico	Clase funcional
1	VAR	2012	Fem	56	Cardiomiopatía dilatada.	IV
2	HPE	2012	Fem	27	Cardiomiopatía dilatada.	IV
3	OLA	2012	Masc	44	Cardiomiopatía dilatada.	IV
4	MFA	2012	Masc	45	Cardiomiopatía dilatada.	IV
5	FWM	2012	Masc	49	Cardiomiopatía dilatada.	IV
6	GPM	2012	Fem	50	Cardiomiopatía dilatada.	IV
7	FVA	2012	Masc	25	Cardiomiopatía dilatada.	IV

8	GLM	2012	Masc	62	Cardiomiopatia dilatada.	III
9	LSM	2012	Masc	48	Cardiomiopatia dilatada.	IV
10	LHN	2012	Fem	38	Cardiomiopatia dilatada.	IV
11	PCE	2012	Masc	58	Cardiomiopatia dilatada.	IV
12	RDL	2012	Masc	41	Cardiomiopatia dilatada.	IV
13	RGJ	2012	Masc	57	Cardiomiopatia dilatada.	IV
14	PRM	2012	Masc	43	Cardiomiopatia dilatada.	IV
15	OAO	2013	Masc	23	Cardiomiopatia dilatada.	IV
16	GSC	2013	Masc	63	Cardiomiopatia dilatada.	IV
17	VGM	2013	Masc	52	Cardiomiopatia dilatada.	III
18	SCC	2013	Masc	8	Cardiomiopatia dilatada.	IV
19	JTC	2013	Masc	55	Cardiomiopatia dilatada.	IV
20	FAE	2013	Masc	30	Cardiomiopatia dilatada.	IV
21	AAR	2013	Masc	45	Cardiomiopatia dilatada.	IV
22	JOB	2013	Masc	44	Cardiomiopatia dilatada.	IV
23	MRD	2013	Fem	11	Cardiomiopatia dilatada.	IV
24	LPC	2013	Masc	53	Cardiomiopatia dilatada.	IV
25	JAR	2013	Masc	61	Cardiomiopatia dilatada.	IV
26	RMJ	2014	Masc	55	Cardiomiopatia dilatada.	IV
27	FDP	2014	Masc	21	Cardiomiopatia dilatada.	IV

28	HGS	2014	Masc	63	Cardiomiopatía dilatada.	IV
29	LHA	2014	Fem.	53	Cardiomiopatía dilatada	IV

METODOS.

A partir del bloque de parafina, se realizarán cortes histológicos de 30 micras y ponerlas a desparafinar en xilol por 30 min a 30 grados centígrados, posteriormente en baños de alcohol al 95%, 70% y 30% por 5 min cada uno, finalmente poner los tejidos en agua y agregar Proteinasa K por 10 ug/ml y dejar incubar por 18 hs a 60 grados centígrados. Una vez degradadas las proteínas, se obtendrá el DNA de las muestras con precipitación con etanol al 95%.

Una vez purificado el DNA, 100 ng de cada muestra será sujeta a PCR con los iniciadores específicos para cada exon del gen en cuestión siguiendo las condiciones previamente reportadas. A los amplicones obtenidos, se purificarán a partir de los corrimientos en gel de agarosa al 2% y se enviarán a la prueba de secuenciación de DNA mediante un secuenciador automatizado. Los electroferogramas de cada reacción de secuenciación mostrarán las secuencias de los exones del gen en cuestión.

De forma paralela, a cortes histológicos (4 um) de cada tejido será sujeto a la prueba de inmunohistoquímica utilizando un anticuerpo monoclonal anti-Lamin A/C. Brevemente, los cortes histológicos serán desparafinados mediante baños de xilol, e hidratados mediante un tren de alcoholes 95%, 70% y 30% hasta agua destilada. La peroxidasa celular será “quemada” con un baño de etanol 5%-peróxido de oxígeno 20%. El anticuerpo se dejará incubando en el corte histológico cubierto con albúmina para eliminar reacción inespecífica a una dilución de 1:100 en cámara húmeda. Una vez terminada la incubación el tejido se lavará e se incubará con un segundo anticuerpo marcado con peroxidasa por 1 h. Finalmente, la reacción se hará evidente mediante la solución diaminobencidina-peróxido de oxígeno hasta observar un precipitado de color café (positividad de reacción), y serán contrateñidos con hematoxilina.

DISEÑO DEL ESTUDIO.

Observacional Descriptivo, experimental de una serie de casos que mide la prevalencia de la exposición del gen, estudio transversal.

Se realizará diseño descriptivo, recolectando información de varias muestras en este caso tratando de establecer si el fenómeno de la mutación se repite y en cuántos casos se repiten.

ANALISIS ESTADÍSTICO

Estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la normalidad de los datos.

Para la relación fenotipo–genotipo se utilizara un análisis descriptivo y comparativo, entre los resultados positivos a la mutación y la presencia o no de alteraciones del ritmo, esta variable será expresada en términos de desviación estándar y media así como en distribución relativa de frecuencia.

VARIABLES.

VARIABLES INDEPENDIENTES.

Mutación. Definición conceptual. La mutación o cambio de nucleótidos del gen Lamin A/C que constituye la mayoría de la estructura de la lamina nuclear. La definición operacional la identificación de cambios significativos en la secuencia de ADN mediante el electroferograma. Amplificar los exones del gen Lamin A/C, derivados del DNA extraído del bloque de parafina usando reacción de polimerasa en cadena (PCR), los fragmentos obtenidos del PCR se analizarán en electroforesis en gel de agarosa y su posterior secuenciación para identificar la presencia o no de la mutación. Esta es una variable independiente con una escala nominal, dicotómica.

Sexo. Variable independiente de escala nominal con medición dicotómica.

Otras variables que se tomarán en cuenta para el estudio son:

Edad de trasplante. Variable dependiente de escala nominal con medición numérica. La relevancia de esta variable será importante para determinar la correlación la edad de presencia de síntomas ya que como se comento en antecedentes, existe una variación dependiente (edad vs inicio síntomas).

Clase funcional según CCS (Sociedad Canadiense de Cardiología). Variable independiente. Definición conceptual, es la escala mayormente usada en el mundo para medir la severidad de la angina distinguiendo cuatro clases (I, II, III, IV) distinguiendo cada una en función de la limitación que esta supone en la actividad cotidiana del paciente. La definición operacional es; Clase I, no limitación de la vida normal, la angina solo aparece ante esfuerzos extenuantes. Clase II, limitación ligera de la actividad física, la angina aparece al andar rápido o subir escaleras o cuestras, puede andar más de 1 o 2 manzanas o subir un solo piso de escaleras. Clase III limitación marcada de actividad física, la angina aparece al andar 1 o 2 manzanas o al subir 1 piso de escaleras. Clase IV incapacidad para realizar ninguna actividad sin angina, esta puede aparecer en reposo. Esta es una variable independiente con escala nominal.

Presencia de bloqueo AV. Variable independiente. Definición conceptual: se clasificara según la sociedad americana de corazón (AHA) en bloqueo av de 1er, 2do y 3er grado. Presencia o ausencia de bloqueo av. Escala de medición dicotómica.

Falla cardiaca expresada en Fracción de expulsión menor al 35%. Variable dependiente. Definición conceptual: es la un función baja del ventrículo izquierdo cuantificada ecocardiograficamente, siendo normal un valor por encima de 50% de fracción de expulsión. Definición operacional. Ecocardiograficamente con técnica de cubos o método de Simpson se calcula la FEVI.

Antecedentes de cardiopatías relacionadas. Variable dependiente. Definición conceptual. En descendencia, familiares vivos con antecedentes de arritmias o muerte súbita que pueda explicar la correlación demostrada genotípica y fenotípicamente en la literatura. Variable que se manejara con respuesta dicotómica de presencia o no del factor de riesgo familiar.

PROCEDIMIENTOS.

Protocolo de trasplante cardiaco¹⁰.

Dentro de las indicaciones para realizar trasplante cardiaco, es la disfunción miocárdica grave, irreversible, sin respuesta a fármacos establecidos a su manejo y con una expectativa de vida de 12 meses. Causas.

- Falla cardíaca sistólica (fracción de eyección menor a 35%) debida a miocardiopatía isquémica, cardiomiopatía dilatada, cardiomiopatía valvular, cardiomiopatía hipertensiva.

- Cardiopatía hipertrófica, donde fallo la máxima terapia médica y la terapia quirúrgica^(3,4)

Las indicaciones claras o definitivas son:

1. Choque cardiogénico resistente a tratamiento médico.
2. VO2 max menor de 10 ml/kg/min.
3. Arritmias mortales resistentes. Riesgo de muerte súbita.
4. Isquemia coronaria aguda limitante a labores sin opción de revascularización coronaria, quirúrgica o percutánea.

Contraindicaciones para trasplante cardiaco:

- Edad mayor de 70.
- Hipertensión pulmonar fija.
- Limitantes de vida sistémicos incluidos pero no limitados a: 1) presencia de enfermedad por malignidad y otras neoplasias de la piel. 2) Diabetes Mellitus con daño a órgano blanco, 3) Disfunción renal, hepática o pulmonar irreversible, 4) Enfermedad vascular periférica o cerebrovascular o en etapa terminal, 5) VIH/SIDA, 6) Sepsis u otras infecciones sistémicas, 7) Lupus eritematoso o sarcoidosis activa y 8) Cualquier proceso sistémico que pueda afectar el injerto cardíaco.
- Abuso activo de drogas y alcohol.
- Incapacidad para adherirse a tratamiento médico estricto o enfermedades psiquiátricas intratables.
- Ausencia o limitado soporte psicosocial.

Selección y manejo del candidato a trasplante cardíaco⁷.

El objetivo era enriquecer la tesis ya que siendo quirúrgico mi especialidad es en lo que más ahondamos. Pero ya se retiró la logística y protocolo de trasplante.

Criterios de inclusión y exclusión.

Dentro de los procedimientos para el estudio a realizar se realizaran criterios de inclusión y de exclusión, que básicamente se excluyen todas aquellas muestras de pacientes trasplantados que llegaron a falla cardiaca terminal por alguna otra

causa que no sea la miocardiopatía dilatada por ejemplo por miocardiopatía no compactada, así como los corazones que llegaron a cardiomiopatía dilatada que se pudo establecer un diagnóstico de su etiología como serían los casos de cardiomiopatía dilatada de origen isquémico o cardiomiopatía dilatada de origen valvular.

Dentro de los criterios de inclusión, el más importante de todos son todos aquellos corazones que se les realizó diagnóstico de cardiomiopatía dilatada idiopática de los cuales no se pudo llegar a un diagnóstico etiológico de por qué la falla cardíaca, excluyendo además causas frecuentes o endémicas como por enfermedad de Chagas además de las ya comentadas.

CONSIDERACIONES ETICAS.

El presente estudio será sometido a evaluación por parte del comité local de investigación del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” de la unidad médica de alta especialidad, del Centro Médico Nacional “La Raza”.

Su propuesta se apega a lo establecido de la declaración de Helsinki de 1964, declaración de Venecia 1983, Hong Kong 1989, Edimburgo 2000; la ley general de salud de los Estados Unidos Mexicanos en lo referente para la salud y a las normas del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Garantizando el manejo confidencial de la información otorgada a través de un consentimiento informado por escrito. Se requirió además, la realización de un oficio de petición de las muestras de patología a la jefatura del mismo servicio, con la consigna del resguardo, el cuidado del manejo y la devolución a integram de las mismas, considerándose este material valioso para el instituto.

RECURSOS.

- A) Recursos humanos.
 - a) Residentes.
 - b) Médicos adscritos al servicio, que colaboran en logística de trasplante cardíaco.
 - c) Personal de Patología.
 - d) Personal del área de investigación.

- B) Recursos Materiales.
 - a) Muestras obtenidas del servicio de patología.

- b) Reportes de patología de corazones explantados.
- c) Laboratorio de genética e inmunohistoquímica.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

ACTIVIDAD	FEBRERO A MAYO. 2015.	JUNIO. 2015.	JULIO. 2015	AGOSTO 2015	SEPT. 2015	OCTUBRE. 2015	NOVIEMBRE 2015	DICIEMBRE 2015
Desarrollo de protocolo								
Revisión de Protocolo por asesores.								
Revisión de protocolo CLIES.								
Recolección datos.								
Recolección de muestras.								
Identificación de la mutación en laboratorio.								
Análisis de información								
Análisis estadístico								
Resultados.								

ANEXOS.

Se anexa a continuación, el consentimiento informado que corresponde a la autorización de procedimiento quirúrgico del momento del trasplante cardiaco, de la dirección de prestaciones médicas del Instituto Mexicano del Seguro Social.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio:	Identificación de mutaciones en el gen Lamin A/C en miocardiopatía dilatada severa de corazones explantados de pacientes sometidos a trasplante de corazón en Hospital General La Raza.						
Patrocinador externo (si aplica):							
Lugar y fecha:	Hospital General centro Médico Nacional la Raza, Servicio de cirugía cardiotorácica, México DF. Marzo 2015.						
Número de registro:							
Justificación y objetivo del estudio:	Saber las causas de falla cardiaca que llevaron a trasplante cardiaco y reportar si existe un componente genético/hereditario en estos casos.						
Procedimientos:	Del corazón que se retiró (Enfermo) para realizar el trasplante cardiaco, es enviado a patología para análisis del mismo, de ahí se tomara una parte que sea representativo del musculo cardiaco, del tamaño de medio centímetro y se enviara a analizar a un laboratorio en búsqueda de anomalías que nos digan si hay un componente hereditario y si hay mutaciones o no.						
Posibles riesgos y molestias:	Ninguna, ya que el proceso no implica nueva invasión o procedimiento quirúrgico para el paciente.						
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Saber si la falla del corazón que lo llevo al trasplante de corazón tiene alguna asociación con mutación genética.						
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	Se proporcionara a los pacientes la información del resultado, y la relevancia de los mismos.						
Participación o retiro:	Todos los pacientes del protocolo de investigación podrán declinar su participación en el estudio en cualquier momento.						
Privacidad y confidencialidad:	Se compromete por parte de los investigadores participantes del protocolo la privacidad del manejo de muestras, nombres y datos confidenciales.						
En caso de colección de material biológico (si aplica):	<table><tr><td><input type="checkbox"/></td><td>No autoriza que se tome la muestra.</td></tr><tr><td><input type="checkbox"/></td><td>Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.</td></tr><tr><td><input type="checkbox"/></td><td>Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.</td></tr></table>	<input type="checkbox"/>	No autoriza que se tome la muestra.	<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.	<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.
<input type="checkbox"/>	No autoriza que se tome la muestra.						
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.						
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.						
Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):	No aplica						
Beneficios al término del estudio:	Solo informativos.						
En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:							
Investigador Responsable:	Dr. David Hernández Ríos Cirugía cardiaca en el Hospital General Centro Médico Nacional la Raza. Teléfono 57245900, ext.23424.						

Colaboradores:

Dr. Hugo Zetina Tun, Dra. Magdalena Sánchez Uribe, Dr. Guillermo Careaga Reyna.

Usted tiene derecho a tener el resultado de la presencia o no de la mutación del gen Lamin AC al momento de solicitarlo.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del sujeto

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio

Clave: 2810-009-013

RESULTADOS.

A continuación se expone la hoja de recolección de datos correspondiente a la muestra de 29 biopsias además de las otras variables recolectadas que ayudaron a establecer la asociación de otros factores de riesgo para la mutación del gen Lamin A/C.

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS.

# De Biopsia	paciente	Sexo	Edad	Diagnostico	Arritmias. (S/N)	Clase Funcional.	Presencia de Mutación.	FEVI	Antecedente s cardiopatías. (s/n)
1	VAR	Fem	56	CMD	N	IV	N	20%	N
2	HPE	Fem	27	CMD	N	IV	N	30%	N
3	OLA	Masc	44	CMD	N	IV	N	35%	N
4	MFA	Masc	45	CMD	N	IV	N	25%	N
5	FWM	Masc	49	CMD	N	IV	N	20%	N
6	GPM	Fem	50	CMD	N	IV	N	25%	N
7	FVA	Masc	25	CMD	S	IV	N	30%	N
8	GLM	Masc	62	CMD	N	IV	N	35%	N
9	LSM	Masc	48	CMD	N	IV	N	30%	N
10	LHN	Fem	38	CMD	N	IV	N	30%	N
11	PCE	Masc	58	CMD	N	IV	N	35%	N
12	RDL	Masc	41	CMD	N	IV	N	20%	S
13	RGJ	Masc	57	CMD	N	IV	N	25%	N
14	PRM	Masc	43	CMD	N	IV	N	20%	N
15	OAO	Masc	23	CMD	S	IV	S	30%	N
16	GSC	Masc	63	CMD	N	IV	N	25%	N
17	VGM	Masc	52	CMD	N	IV	N	20%	S
18	SCC	Masc	8	CMD	N	III	S	35%	N
19	JTC	Masc	55	CMD	N	IV	N	25%	N
20	FAE	Masc	30	CMD	S	IV	N	20%	N
21	AAR	Masc	45	CMD	N	IV	N	30%	N
22	JOB	Masc	44	CMD	N	IV	N	35%	S
23	MRD	Fem	11	CMD	N	III	S	35%	N
24	LPC	Masc	53	CMD	N	IV	N	20%	N
25	JAR	Masc	61	CMD	N	IV	N	25%	N
26	RMJ	Masc	55	CMD	N	IV	N	20%	N
27	FDP	Masc	21	CMD	N	IV	N	30%	N
28	HGS	Masc	63	CMD	N	IV	N	30%	N
29	LHA	Fem.	53	CMD	N	IV	N	20%	N

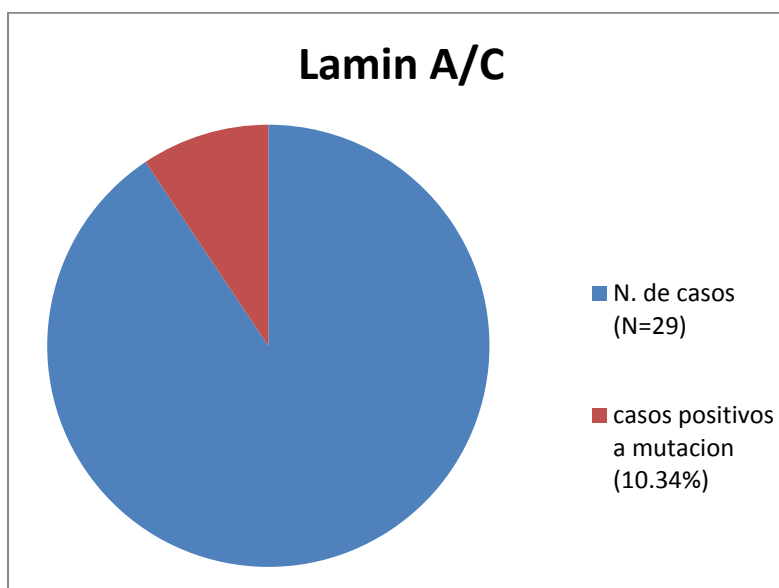
En la rutina clínica, solamente los casos trabajados detalladamente sobre los antecedentes hereditarios son los que han demostrado componente familiar. A menudo, esto se ve impedido por pequeñas estructuras familiares, miembros de la familia no disponibles o los casos de penetrancia incompleta por lo que rutinariamente se clasifican muchos casos esporádicos o idiopática.

Por esta razón en nuestro estudio al incluir pacientes que llegaron a falla cardiaca con diagnostico de cardiomiopatía dilatada idiopática se ha podido determinar que algunos casos tienen un componente genético asociado, esto debido a la positividad de la mutación del gen Lamin A/C en 3 de los 29 casos que corresponde a un 10.34% en la identificación de la mutación en nuestra población ya mencionada, así además no se encontró una asociación más alta de mutación (p no significativa) y alteraciones del ritmo de base como lo serian bloqueo AV de cualquier grado como se ha descrito en la literatura.

DISTRIBUCION DE LOS DATOS RELEVANTES Y SU ASOCIACION CON MUTACION, ARRITMIAS Y OTROS FACTORES DE RIESGO.

PACIENTES	TOTAL (n=29)	EDAD (MEDIA)	% PRESENCIA DE ARRITMIAS	FEVI (media : mediana)
SEXO MASC.	23			
SEXO FEM.	6			
TOTAL (n=29)		44.13	10.34	27% : 30%

Mutacion	N. de casos positivos.	Porcentaje.
Lamin A/C	3	10.34%



Inmunohistoquímica.

Previa realización del microarreglo de las 29 muestras. (Fig 1, 2 y 3) El análisis de inmunofluorescencia indirecta de las biopsias de miocardio explantado con miocardiopatía dilatada específicamente del ventrículo izquierdo, reveló que todos los núcleos de los cardiomiocitos estaban inmunoteñidos con los anticuerpos dirigidos contra el epítipo del anticuerpo secundario que a su vez estaba sobre el anticuerpo primario de timoglobulina, que como está claro en la literatura la timoglobulina siempre va ligada biológicamente a la proteína lamin A/C a nivel de la parte interna de la membrana nuclear.

Sin embargo, el anticuerpo A, dirigido contra lamina A solamente, muestra una inmunotinción marcadamente reducida en comparación con el control, lo que sugiere una disminución de la isoforma de lamin A o una conformación anormal de los polímeros de laminina.

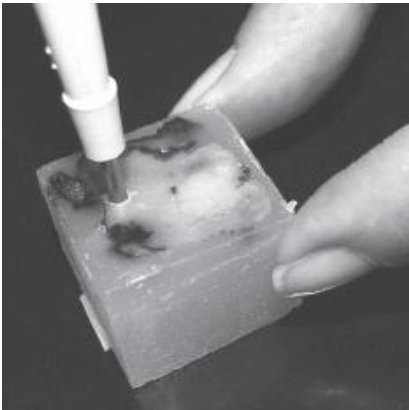


Fig 1. Punch o sacabocado de bloque de parafina de tejido miocárdico dilatado (Ventrículo Izquierdo)

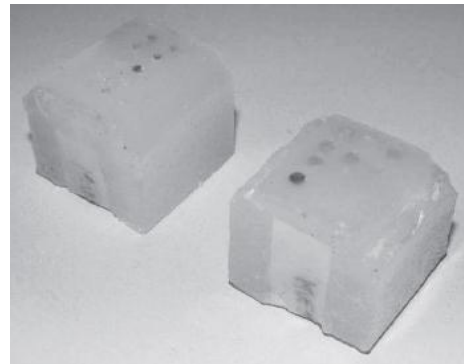


Fig. 2. Microarreglo en proceso, de estos bloques se obtuvo a través de micrótopo la laminilla para trabajar.

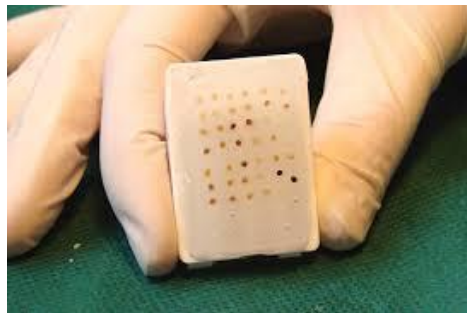


Fig 3. Microarreglo terminado.

Un análisis ultraestructural reveló que en aproximadamente el 30 % de los núcleos (57 de 190 que se pudieron identificar) mostraban una dramática alteración en la distribución nuclear, así como en la organización que afectaba la forma del núcleo, la densidad de la cromatina y su organización.

Mientras el núcleo de cardiomiocitos normales es casi circular o ovoide, los observados en este estudio eran altamente elongados, irregulares y severamente deformados. Incluso diferentes grados de agregación de cromatina fueron observados dentro del núcleo de los cardiomiocitos.

Además el 15% de los núcleos estaban parcialmente carentes de membrana nuclear. En dichos núcleos se encontró una adherencia de la mitocondria a la parte “desnuda” de la membrana.

El hallazgo más sorprendente fue la aparición de organelos sarcoplasmicos como la mitocondria, canales de retículo sarcoplasmico, lipofusina, gránulos de glucógeno dentro de la matriz nuclear aun y con una membrana aparentemente sana. Estos organelos fueron localizados libres en el nucleoplasma y no estaban conectados por membranas. El número de elementos sarcoplasmicos dentro de la membrana nuclear fue variable. En algunos casos estaban llenos de mitocondrias o de otros organelos y en otros núcleos la cromatina era muy fina, envolviendo la mitocondria fuera de lugar.

Este fenómeno intrigante de organelos sarcoplasmicos dentro del nucleoplasma sugiere que han llegado ahí debido a una disrupción de la membrana nuclear. Este tipo de daño solo ha sido observado en el núcleo de los cardiomiocitos pero no ha sido demostrado en otros tejidos como en fibroblastos o musculo liso de vasos sanguíneos. Además de los cambios en la arquitectura nuclear descrita arriba, se observó una hipertrofia de los miocitos del tejido cardiaco.

DISCUSION.

Múltiples genes pueden causar cardiomiopatía dilatada como se ha demostrado en diferentes ensayos, ocasionando, entonces, una miocardiopatía dilatada hereditaria. Debido al conocimiento incompleto de genes involucrados en la miocardiopatía dilatada con además de la variación de la población específica en cuanto a estructura y genética propia, la caracterización de la asociación Fenotipo–genotipo ha sido un reto importante aun con mucho que descifrar.

La lamin A/C interactúa con la mayor parte de las proteínas de la membrana nuclear, así como con muchas proteínas del nucleoplasma. Por lo menos existen 20 diferentes proteínas ligadas a lamin A/C y estas proteínas a su vez están ligadas a la envoltura nuclear y se hacen llamar complejos Laminina–emerina,

Las mutaciones ocurridas en la Lamin A/C pueden ocasionar defectos en los procesos de ensamblaje de los filamentos y a su vez interferir con la interacción de proteínas ligadas a la membrana nuclear, esto conlleva a diferentes anomalías en la función de la membrana nuclear

La posición central observada de los núcleos individuales en cardiomiocitos con organelos sarcoplásmicos circundantes, principalmente mitocondrias, así como la función continua contráctil de los miocitos, puede resultar en la inserción de organelos vecinos en el interior de la membrana, es decir dentro del nucleoplasma

Este fenómeno estructural encontrado en los núcleos de los cardiomiocitos en nuestros pacientes positivos a los cambios ultraestructurales con inmunohistoquímica positiva está en acuerdo con el hecho de que la expresión de lamin A da lugar a la agregación de cuerpos agregados dentro del núcleo por un defecto en la membrana nuclear.

Estos resultados indican que la presencia de mutaciones en el gen Lamin A/C en la miocardiopatía dilatada son los causantes de los cambios en la membrana (disrupción) nuclear.

Teniendo en cuenta todos los datos presentados anteriormente, así como nuestro estudio ultraestructural, se puede sugerir que una mutación de Gen LMNA ejerce diferentes efectos sobre la arquitectura nuclear del músculo cardíaco. Esta variabilidad podría ser el resultado de diferencias en la estructura del músculo cardíaco así como su función.

CONCLUSION.

La envoltura nuclear o la lamina nuclear se ha convertido en los últimos años un foco importante de investigación por parte de las diferentes comunidades científicas esto debido al impacto clínico que podría tener la aplicación de la detección de una mutación específica para una enfermedad.

Sin embargo aun no se ha podido correlacionar de manera precisa que una sola mutación como lo es en este caso la de Lamin A/C sea la responsable absoluta de la miocardiopatía dilatada hereditaria ya que es posible que intervengan mutaciones de otros genes que codifican otras proteínas estructurales, así como los efectos ambientales propios de cada individuo. Aunque no se descarta que en el futuro se pueda asociar con alto índice de certeza, la probabilidad de que una laminopatía se manifieste clínicamente con una enfermedad, y es ahí donde se podrá limitar un daño antes de que este inicie, incluso, el primer síntoma.

Bibliografía.

1. R. González, J. Alcalá. **Enfermedad isquémica del corazón, epidemiología y prevención.** Rev Fac Medicina UNAM, 53 (2010), pp. 35-43.
2. E. Oropeza, C. Navarrete, *Et al.* **New phenotype of familial dilated cardiomyopathy and conduction disorders.** American Heart Journal, 145 (2003), pp. 317–323
3. R. Graham, W. Owens. **Pathogenesis of inherited forms of dilated cardiomyopathy.** N Engl J Med, 341 (1999), pp. 1759-1762.
4. Lara, M. Rosas, *Et al.* **Hipercolesterolemia e hipertensión arterial en México. Consolidación urbana actual con obesidad, diabetes y tabaquismo.** Arch Cardiol. Mex, 74 (2004). Pp. 231-245.
5. O. Tadashi, M. Kazutomo, *Et al.* **Heart Transplant Risk Factors Risk Factor Analysis of Orthotopic Heart Transplantation.** Asian Cardiovascular and thoracic surgery Annals, 11 (2003), pp. 33-36.
6. J. Stehlik, L. Edwards. **The registry of the international society for heart and lung transplantation report.** J. Heart Lung Transplant, 31 (2012), pp. 1052-1064.
7. L. Almenar, J. Delgado. **Situación de trasplante cardiaco en España.** Rev Española de Cardiol, 63 (2010), pp. 132-149.
8. F. Tesson, M. Saj. *Et al.* **Lamin A/C mutations in dilated cardiomyopathy.** Cardiology Journal, 21 (2014), pp. 331-342
9. R. Matthew, R. Pamela, *Et al.* **Natural History of dilated cardiomyopathy due to Lamin A/C gene mutations.** Journal of the American College of Cardiology, 42 (2003), pp. 590-59.
10. N. Ghosh, H. Haddad. **Recent progress in the genetics of cardiomyopathy and its role in clinical evolution of patients with cardiomyopathy.** Curr Opin Cardiol, 26 (2011), pp. 155-164.
11. R. Hershberger, J. Siegfried. **Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy.** J. Am Coll cardiol, 57 (2011), pp. 1641-1649.
12. M. Pasotti, C. Klersy, *et al.* **Long term outcome and risk stratification in dilated cardio laminopathies.** J Am Coll Cardiol, 52 (2008), pp. 1250-1260.

13. J. Ackerman, G. Priori, *et al.* **HRS/EHRA Expert Consensus Statement on the State of Genetic Testing for the Channelopathies and Cardiomyopathies.** The Heart Rhythm Society and European Heart Rhythm Association, 13 (2011), pp.1077–1109.
14. D. Tester, M. Ackerman. **Genetic testing for potentially lethal highly treatable inherited cardiomyopathies / channelopathies in clinical practice.** *Circulation*, 123 (2011), pp. 1021-1037.
15. W. Michels, P Moll, *et al.* **The frequency of familial dilated cardiomyopathy in a series of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.** *N Engl J Med*, 326 (1992), pp. 77–82.
16. E. Grunig, J. Tasman, *et al.* **Frequency and phenotypes of familial dilated cardiomyopathy.** *J Am Coll Cardiol*, 31 (1998), pp. 186–194.
17. D. Judge, M Johnson. **Genetic evaluation of familial cardiomyopathy.** *J Cardiovasc Trans Res*, 1 (2008), pp. 144–154.
18. G. Careaga, C. Ramírez. **Importancia de la valoración terciaria del potencial donador en trasplante de Corazón.** *Rev Mex Cardiol*, 14 (2008), pp. 149-151.
19. A. Kilic, E. Weiss, *et al.* **Should orthotopic heart transplantation using marginal donors be limited to higher volume centers?.** *Ann Thorac Surg*, 94 (2012), pp. 695-702.
20. T. Abdelnour, S. Rieke. **Relationship of hormonal resuscitation therapy and the central venous pressure on increasing organs for transplant.** *J Heart and Lung Transplant*, 28 (2009), pp. 480-485.
21. F. Pastore, V. Parisi. *Et al.* **Genetic test for dilated and hypertrophic cardiomyopathies: Useful or less than useful for patients.** *Trans Med*, 5 (2013), pp 14-17.
22. A. fidzianska, Z. Bilinska, *et al.* **Obliteration of cardiomyocyte nuclear architecture in a patient with LMNA gene mutation.** *J Neurol sci*, 271 (2008), pp. 91-96.
23. H. worman, G. Bonne. **Laminopathies a wide spectrum of human diseases.** *Exp cell Res*, 10 (2007), pp. 2121-2133.
24. J Lynn, J. Towbin. **Dilated cardiomyopathy.** *Lancet*, 375 (2010), pp 752-762.

25. O. Akinride, L. Ollila. *Et al.* **Genetics and genotype-phenotype correlations in Finnish patients with dilated cardiomyopathy.** *Europ Heart J*, 1 (2015) pp 1-11
26. J. Jefferies, J. Towbin. **Dilated cardiomyopathy.** *Lancet*, 375 (2010), pp.752–762.
27. R. Hershberger, J. Lindenfeld, *et al.* **Genetic evaluation of cardiomyopathy a Heart Failure Society of America practice guideline.** *J Card Fail*, 15 (2009), pp. 83–97.
28. O. Méndez. **Miocardiopatía dilatada, estado del arte.** *Archivos de cardiología de México*, 74 (2004), pp. 338-342.
29. D. Gregori, C. Rocco, *et al.* **Estimating the frequency of familial dilated cardiomyopathy in the presence of misclassification errors,** *J Appl Stat*, 28 (2001), pp. 53–62.
30. T. Olson, N. Kishimoto, *et al.* **Mutations that alter the surface charge of alpha-tropomyosin are associated with dilated cardiomyopathy.** *J Mol Cell Cardiol*, 33 (2001), pp. 723–732.
31. C. Hutchison, M. Alvarez. *et al.* **Lamins in disease: why do ubiquitously expressed nuclear envelope proteins give rise to tissue-specific disease phenotypes?** *J Cell Sci*, 114 (2001), pp. 9–19
32. E. Arbustini, A. Pilotto, *et al.* **Autosomal dominant dilated cardiomyopathy with atrioventricular block: a lamin A/C defect-related disease.** *J Am Coll Cardiol*, 39 (2002), pp. 981–990
33. J. Goldman, A. Caforio, *et al.* **Familial dilated cardiomyopathy: cardiac abnormalities are common in asymptomatic relatives and may represent early disease.** *J Am Coll Cardiol*, 31 (1998), pp. 195–201.
34. R. Hershberger, A. Morales, *et al.* **Clinical and genetic issues in dilated cardiomyopathy: a review for genetics professionals.** *Genet Med*, 12 (2010), pp. 655–667.

