



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

---

---

BÚSQUEDA DE MUTACIONES EN LOS GENES DE LOS CANALES  
IÓNICOS CARDIACOS EN NIÑOS CON MIOCARDIOPATÍA DILATADA Y  
SU ASOCIACIÓN CON LAS ANORMALIDADES EN LA  
REPOLARIZACIÓN ELÉCTRICA

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

CARDIOLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A:

DR. KENNETH GUSTAV ABIMELEC MAGAÑA

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. NORMA ALICIA BALDERRÁBANO SAUCEDO



Ciudad de México, febrero de 2018



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.

HOJA DE FIRMAS

---

**Dra. Rebeca Gómez Chico Velasco**  
Directora de Enseñanza y Desarrollo Académico  
Hospital Infantil de México Federico Gómez



---

**Dr. Julio Roberto Erdmenger Orellana**  
Jefe del Departamento de Cardiología  
Hospital Infantil de México Federico Gómez



---

**Dra. Norma Alicia Balderrábano Saucedo**  
Director de tesis  
Médico Adscrito al Departamento de Cardiología  
Hospital Infantil de México Federico Gómez



---

**Dra. Begoña Magdalena Segura Stanford**  
Tutor asociado  
Médico Adscrito al Departamento de Cardiología  
Hospital Infantil de México Federico Gómez

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi madre, mi Lolita querida (QEPD), por quien todo he hecho y continuaré haciendo, mi eterna fuente de inspiración y pilar fundamental en mi vida...

A mi abuelita Carmen, por el gran cariño y apoyo realmente incondicional en todo lo que emprendo aunque, a veces, no lo entienda...

A mi alma gemela, Nancy Luna, por los numerosos momentos compartidos, mi compañera de aventuras, quien me mantiene vivo día con día y me motiva siempre a dar lo mejor de mí...

A mi familia, mis tíos, tías, primos y primas que siempre están ahí y no me abandonan...

A mis amigos, con quienes comparto mis sueños y me alientan a conquistarlos...

A mis maestros, a los verdaderos, que han dejado en mí una huella y me han permitido crecer como médico, pediatra, cardiólogo pediatra y como persona...

A mis pacientes, sobre todo a esos pequeños que mantienen siempre viva la llama, el espíritu, y me motivan a ser como ellos y a seguir aprendiendo...

A todos ellos, gracias por existir.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Capítulo</b>	<b>Página</b>
1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN	3
3. MARCO TEÓRICO	5
3.1 Diagnóstico	5
3.2 Repolarización ventricular	8
3.3 Implicación genética en miocardiopatía dilatada	12
4. ANTECEDENTES	15
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	17
7. JUSTIFICACIÓN	18
8. OBJETIVOS	19
8.1 Objetivo principal	19
8.2 Objetivos secundarios	19
9. HIPÓTESIS	20
9.1 Hipótesis alternativa	20
9.2 Hipótesis nula	20
10. METODOLOGÍA	21
10.1 Diseño del estudio	21
10.2 Población de estudio	21
10.3 Criterios de inclusión	21
10.4 Criterios de exclusión	22
10.5 Criterios de eliminación	22
10.6 Tamaño de la muestra	22
10.7 Metodología	22
11. CONSIDERACIONES ÉTICAS	27
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	28
13. VARIABLES	29
13.1 Variables demográficas	29
13.2 Variables clínicas	30
13.3 Variables ecocardiográficas	30
13.4 Variables electrocardiográficas	30
14. RESULTADOS	33
15. DISCUSIÓN	40
16. CONCLUSIONES	43
17. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO	45
18. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	46
19. BIBLIOGRAFÍA	47
20. ANEXOS	51
20.1 Consentimiento informado	51
20.2 Formato de recolección de datos	57

## 1. RESUMEN

*Búsqueda de mutaciones en los genes de los canales iónicos cardiacos en niños con miocardiopatía dilatada y su asociación con las anomalías en la repolarización eléctrica.*

**Introducción.** La miocardiopatía dilatada (MCD) es la miocardiopatía más frecuente en la edad pediátrica. Es la primera causa de muerte por insuficiencia cardiaca refractaria en los niños y es el principal motivo de referencia para trasplante cardiaco en este grupo de edad. Los pacientes pediátricos con MCD presentan trastornos en la repolarización ventricular, lo que conlleva mayor riesgo de presentar muerte súbita secundaria a arritmias ventriculares, adicionando un peor pronóstico a la enfermedad. Hasta un 50% de los casos de MCD tienen una presentación familiar y es de causa genética. Hasta la fecha se han identificado mutaciones asociadas con esta enfermedad en más de 40 genes diferentes relacionados con proteínas del citoesqueleto, el sarcómero, las uniones intercelulares, la membrana nuclear, canales iónicos y proteínas mitocondriales.

**Objetivos.** Fundamentar la asociación directa entre las mutaciones en genes de los canales iónicos y la presencia de anomalías específicas de la repolarización eléctrica en niños con diagnóstico de miocardiopatía dilatada.

**Material y Métodos.** Estudio observacional, analítico, ambispectivo. Se estudiaron 27 pacientes con diagnóstico de MCD en niños del HIMFG, a quienes se les extrajo material genético para búsqueda de mutaciones mediante secuenciación masiva de última generación en un panel de 145 genes estructurales y funcionales, corroborados mediante técnica de secuenciación tipo Sanger. Posteriormente con análisis de hallazgos electrocardiográficos en búsqueda de alteraciones en la repolarización ventricular y evaluación de los datos para identificar relación causal de ciertas mutaciones con la presencia de anomalías específicas en el electrocardiograma de superficie.

**Resultados.** Se encontraron 54 mutaciones en 33 genes diferentes afectados, el 69% de las mutaciones en genes estructurales y 31% en los funcionales, siendo respectivamente TTN y SCN10A los más frecuentemente afectados. En cuanto a las anomalías eléctricas, los parámetros más afectados fueron la onda T y el QTc. La onda T anormal se presentó afectando en 82.37% a los genes funcionales vs 72.97% a los estructurales. El QTc prolongado se identificó en el 76.47% en genes funcionales vs 56.75% en los estructurales.

**Conclusiones.** Las mutaciones en los genes de los canales iónicos o funcionales son menos frecuentes y están más relacionados, como subgrupo, con algunas alteraciones en la repolarización ventricular, como la onda T invertida o bifásica, el intervalo QT corregido prolongado y el infra o supradesnivel del segmento ST. En este estudio no se encontró una mutación específica, tanto estructural como funcional, que se relacione de manera causal con una alteración electrocardiográfica determinada.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las miocardiopatías son trastornos del músculo cardíaco que afectan la función sistólica ventricular, la función diastólica, o ambas. Se clasifican por la Organización Mundial de la Salud como: 1) la miocardiopatía dilatada (MCD), 2) la miocardiopatía hipertrófica, 3) la miocardiopatía restrictiva y 4) la displasia-miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho. La mayoría de los pacientes presentan formas "puras" que cumplen los criterios diagnósticos estrictos, aunque algunos presentan superposición con formas mixtas de la enfermedad<sup>1</sup>.

A pesar del gran interés en estas enfermedades de alto impacto, la demografía y las causas subyacentes aún permanecen difíciles de discernir, sobre todo en los niños<sup>1</sup>.

La miocardiopatía dilatada, un trastorno miocárdico caracterizado por una cámara dilatada del ventrículo izquierdo (VI) y disfunción sistólica que suele dar lugar a insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), es la forma más común de estas cardiomiopatías y motivo de trasplante cardíaco en adultos y niños. En algunos casos, también se observa disfunción ventricular derecha y puede aumentar la gravedad clínica de la enfermedad<sup>1</sup>.

El costo estimado del cuidado de pacientes con este trastorno es de \$ 4 mil millones a \$ 10 mil millones de dólares de forma anual sólo en los Estados Unidos. En adultos, se ha informado que la incidencia de MCD es de 5,5 casos por 100.000 habitantes al año, con una prevalencia de 36 casos por 100.000 habitantes. La causa subyacente en los adultos suele ser enfermedad arterial coronaria, pero también se observan otras causas, como enfermedad cardíaca inflamatoria, toxinas miocárdicas y defectos genéticos. Aproximadamente 30% a 35% de los pacientes se informa que tienen una forma genética de MCD. Sin embargo, los lactantes y los niños mayores parecen tener un espectro más amplio de causas, aunque la identificación de éstas ha sido difícil<sup>1</sup>.

Se ha publicado relativamente poca información sobre la incidencia de cardiomiopatías en la infancia. Arola et al informaron una incidencia de MCD de 0,34 casos por 100.000 niños al año y una prevalencia de 2,6 casos por 100.000 niños en Finlandia, una población racialmente homogénea<sup>1</sup>.

Recientemente, el Pediatric Cardiomyopathy Registry (PCMR), informó la incidencia de miocardiopatía pediátrica en los Estados Unidos, con una incidencia anual de 1,13 por 100.000 lactantes y niños en general, con diferencias por raza, sexo y región. Estos datos están respaldados por hallazgos similares en Australia<sup>1,2</sup>. La incidencia anual de solamente MCD fue de 0.57 casos por cada 100.000 niños al año, fue significativamente más alta en lactantes menores de 1 año (8.34 casos por 100.000 niños al año), así como en hombres que en mujeres (1.32 vs. 0.92 por 100.000 al año), y en personas de raza negra comparadas con personas de raza blanca (1.47 vs. 1.06 por 100.000 al año). Sin embargo la incidencia de miocardiopatía puede ser potencialmente subestimada debido a que la muerte súbita como síntoma de presentación en los niños puede no ser identificada ni reportada por lo médicos clínicos o patólogos<sup>2</sup>.



### **3. MARCO TEÓRICO**

La miocardiopatía dilatada (MCD) es la principal causa de insuficiencia cardiaca en niños y la primera causa de muerte por insuficiencia cardiaca refractaria a tratamiento médico en este grupo de edad. La MCD es la forma más común de las cardiomiopatías en la edad pediátrica<sup>2</sup>. El pronóstico de la enfermedad es muy pobre, ya que de no realizarse un trasplante cardiaco, el 40% de los casos fallecen dentro de los primeros 5 años de establecido el diagnóstico<sup>3</sup>.

De los niños diagnosticados de primera vez con MCD, sólo el 34% tienen causa conocida: 16% con miocarditis, 9% con trastornos neuromusculares, 5% miocardiopatía familiar, 4% con errores innatos del metabolismo y 1% con síndrome genéticos con malformaciones. El resto se consideran como MCD idiopática, siendo la más frecuente con el 66% de prevalencia según el Pediatric Cardiomyopathy Registry (PCMR)<sup>4</sup>.

En total, el 71% de los niños con MCD que se presenta con insuficiencia cardiaca al diagnóstico, y aunque varían por mucho las causas, todos los grupos se presentan con fracción de acortamiento del ventrículo izquierdo gravemente reducida<sup>4</sup>.

#### **3.1 Diagnóstico**

##### **3.1.1 Manifestaciones clínicas:**

Se sospecha en todo niño con insuficiencia cardiaca, sin embargo la presentación inicial es variable, desde la forma asintomática hasta la insuficiencia cardiaca grave y refractaria a tratamiento, tromboembolia, infarto, arritmia y muerte súbita (MS)<sup>4</sup>.

##### **3.1.2 Ecocardiograma bidimensional:**

La MCD se corrobora al demostrar con ecocardiograma un ventrículo izquierdo (VI) dilatado, con adelgazamiento de su pared y con una función sistólica reducida. Es común demostrar también una relajación del VI alterada y una distensibilidad del VI anormal (disfunción

diastólica). La MCD afecta primordialmente al VI aunque el ventrículo derecho (VD) puede estar también involucrado con un grado variable de dilatación y disminución de su contractilidad<sup>5</sup>.

Existen varios métodos ecocardiográficos para evaluar la función cardíaca, el parámetro más ampliamente utilizado como prueba de función sistólica del ventrículo izquierdo (VI) es la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI). La FEVI se puede obtener utilizando el modo M bidimensional y expresa el porcentaje de sangre expulsada por el VI durante la sístole; es una relación normalizada entre los volúmenes diastólicos y sistólicos finales. Hasta la fecha es el parámetro más utilizado pues se correlaciona como predictor confiable y orienta el manejo en muchas situaciones clínicas. En los casos en los que se observa que la geometría del VI está alterada debido a la gran dilatación ventricular como sucede en la miocardiopatía dilatada, el método de Simpson o biplanar complementa la evaluación. Este método calcula la FEVI con base en los volúmenes ventriculares tanto al final de la sístole como al final de la diástole, mismo que es evaluado en diferentes aproximaciones del VI (cuatro cámaras y dos cámaras). Una vez delimitado el borde endocárdico en diástole y en sístole, en ambas proyecciones, la FEVI se calcula mediante la siguiente fórmula<sup>5</sup>:

$$FEVI = (VTD-VTS/VTD) \times 100$$

Donde FEVI = fracción de expulsión del ventrículo izquierdo; VTD = volumen en telediástole; VTS = volumen en telesístole<sup>5</sup>.

Los equipos modernos de ecocardiografía entregan al operador el resultado de los volúmenes adquiridos y la FEVI calculada. Existen diversos criterios que utilizan la FEVI del ecocardiograma para definir la presencia y severidad de la insuficiencia cardíaca (IC). Uno de los más utilizados es el propuesto por la Sociedad Americana de Ecocardiografía

que considera FEVI normal (sin IC)  $\geq 60\%$ , FEVI 50-59% (IC grado I), FEVI 40-49% (IC grado II), FEVI 20-39% (IC grado III) y FEVI  $< 20\%$  (IC grado IV)<sup>5</sup>.

Otro parámetro que evalúa la función del VI por ecocardiografía es la fracción de acortamiento del VI (FA). La FA es la relación normalizada entre diámetros, al final de la diástole y la sístole, en un corte circunferencial determinado ( $[\text{diámetro diastólico} - \text{diámetro sistólico} / \text{diámetro diastólico}] \times 100$ ). Su valor normal, mayor de 26%, representa un parámetro del segmento evaluado. Si se calcula la FA de área, aún sigue siendo un parámetro segmentario. La limitación del método es el hecho de que esta medida sólo es evaluada en aquellos pacientes que no tienen anomalías segmentarias de la movilidad ni movimiento septal paradójico; debe asegurarse que el corte sea perpendicular a los músculos papilares ya que un corte oblicuo puede dar lugar a falsas mediciones y por lo tanto a cálculos no confiables<sup>5</sup>.

Un estudio reciente reveló que la incidencia a 5 años de muerte súbita (MS) por MCD en niños es alrededor del 3%, siendo los pacientes de mayor riesgo los diagnosticados a edades más tempranas y los que muestran mayor grado de dilatación ventricular con menor grosor de la pared al ecocardiograma<sup>3</sup>.

### 3.1.3 Electrocardiograma de superficie de 12 derivaciones:

Los parámetros electrocardiográficos muestran complejos QRS de gran amplitud, simulando hipertrofia, pero relacionándolo con la clínica se infiere que es dilatación de cavidades (Fig. 1); en pacientes adultos es muy común encontrar bloqueo completo de rama izquierda del haz de His (BCRIHH), pero en la población pediátrica no es común; se cree que pudiera ser porque los potenciales de acción se retrasan demasiado y no es captado por un electrocardiógrafo de manera rutinaria, por lo tanto el bloqueo no es perceptible<sup>6</sup>.

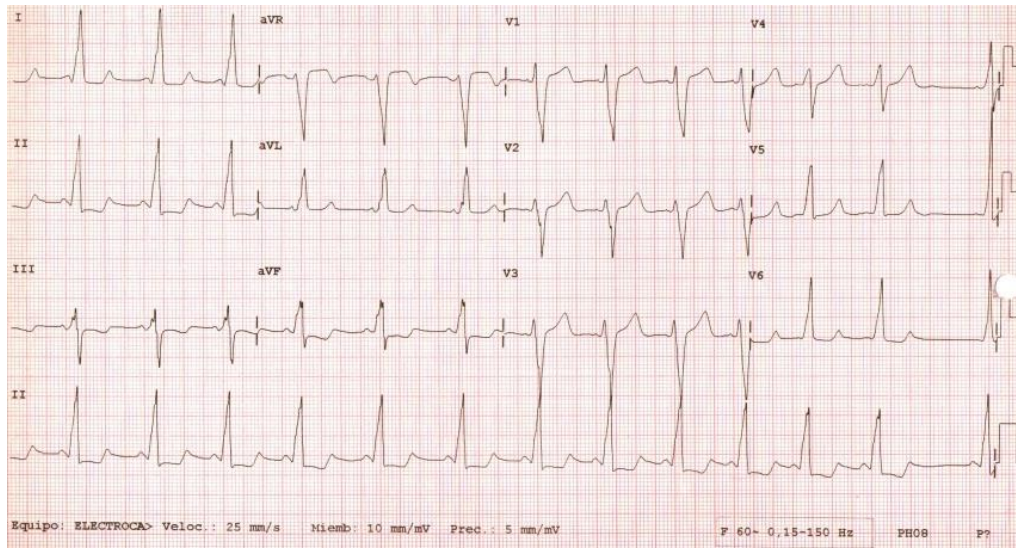


Fig. 1. Electrocardiograma de superficie de 12 derivaciones de un paciente con MCD, donde se observa complejos QRS de gran amplitud en derivaciones precordiales indicando gran dilatación ventricular.

### 3.2 Repolarización ventricular

Los pacientes pediátricos con MCD presentan un patrón electrocardiográfico diferente al de la población adulta, pues existen trastornos en la repolarización ventricular.

El nodo sinusal es el marcapasos primario del corazón y una vez que sus células se han despolarizado, transmiten el potencial eléctrico a sus células vecinas propiciando la contracción del resto de la aurícula, septum interauricular y aurícula izquierda. Posteriormente, el impulso eléctrico arriba a una zona ubicada en la cercanía de la unión aurículo-ventricular (AV) a nivel del septum interventricular conocida como nodo AV.

El nodo AV está conformado por células altamente especializadas cuya función es por un lado propiciar un ligero enlentecimiento de la conducción eléctrica proveniente de la aurículas y por otro dirigir el impulso eléctrico hacia los ventrículos, inicialmente hacia el VD por medio de la rama derecha del haz de His (RDHH) y sus fibras de Purkinje seguido de la conducción eléctrica hacia el VI vía rama izquierda del haz de His (RIHH) con sus subdivisiones hacia el

fascículo anterior de la RIHH y hacia el fascículo posterior de la RIHH y finalmente hacia las fibras de Purkinje del VI.

La conducción del impulso eléctrico generado desde el nodo sinusal hacia los diferentes subsegmentos del corazón debe tener una temporalidad precisa y debe suceder en perfecta sincronía.

El tiempo de conducción normal desde la generación del impulso eléctrico en el nodo sinusal hasta la unión AV es alrededor de 120 milisegundos (ms). El VD precede en contraerse al VI con una diferencia de 20 a 30 ms. El septum interventricular es la primera estructura del VI en contraerse siendo la última la pared postero-lateral del mismo. El tiempo total de contracción del VI desde el inicio de la contracción septal hasta el final de la contracción de la pared lateral posterior debe tener una duración no mayor de 50 ms.

Existen de dos tipos de potencial de acción de las células cardiacas: uno de las células excitables y otro de las células con automatismo, que implica al nodo sinusal y AV (Fig. 2).

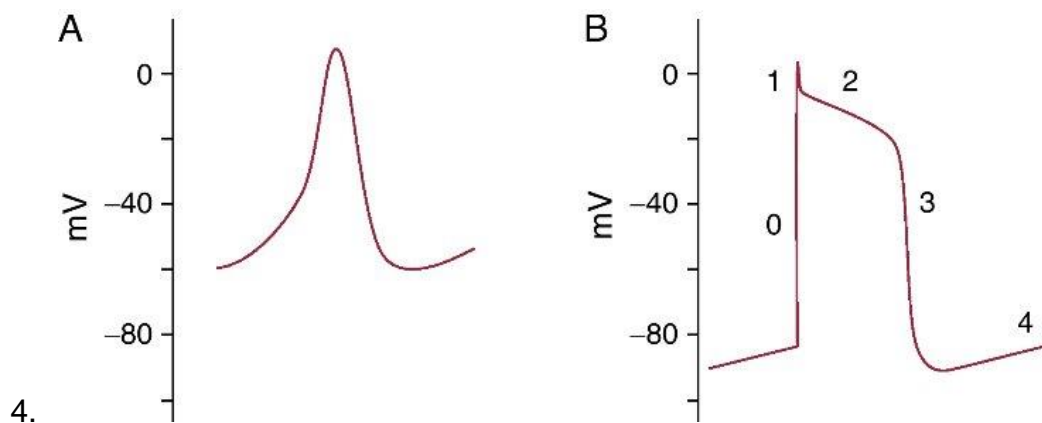


Fig. 2. A) Potencial de acción de células autómatas. B) potencial de acción de células excitables del corazón.

Enfocándose a las células excitables se entiende que la repolarización ventricular comprende desde el punto J (final del QRS) hasta el final de la onda

T y, si es visible, la onda U, correspondiendo a las fases 3 y 4 del potencial de acción (Fig. 3).

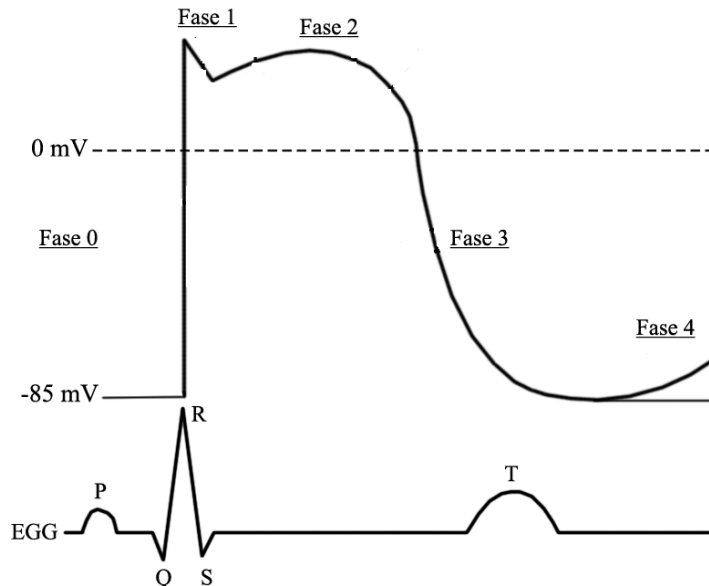


Fig. 3. Esquema que relaciona el potencial de acción con el trazo electrocardiográfico

Múltiples estudios en cardiomiocitos de diferentes especies de mamíferos<sup>7,8</sup> han descrito que el tejido miocárdico contiene 3 estirpes en cuestiones electrofisiológicas: las células endocárdicas, epicárdicas y las células M<sup>9</sup>. La principal diferencia entre estas estirpes es la duración de la repolarización, donde las células epicárdicas se repolarizan primero, seguidas por las endocárdicas y finalizando con las células M. Esto provoca gradientes en el voltaje que derivan en la deflexión positiva habitual de la onda T en el electrocardiograma de superficie y por ende también le confieren su duración al intervalo QT<sup>10, 11</sup>. Este gradiente de voltaje es denominado como dispersión transmural de la repolarización (DTR).

Se ha encontrado que el final de la repolarización de las células endocárdicas coincide con el final de la onda T y el final de la repolarización de las células epicárdicas coincide con el pico de la onda T en un electrograma bipolar endo-epicárdico. Por lo tanto el intervalo desde el pico hasta el término de la onda T (intervalo T<sub>peak-Tend</sub>) se correlaciona bien con el valor de dispersión transmural de la repolarización (DTR)<sup>16</sup>. Por lo tanto hay evidencia que

sostiene que se puede estimar el DTR a partir del segmento que va del pico (o nadir, dependiendo de la polaridad) de la onda T hasta su final ( $T_{p-e}$ )<sup>12, 13, 14</sup>.

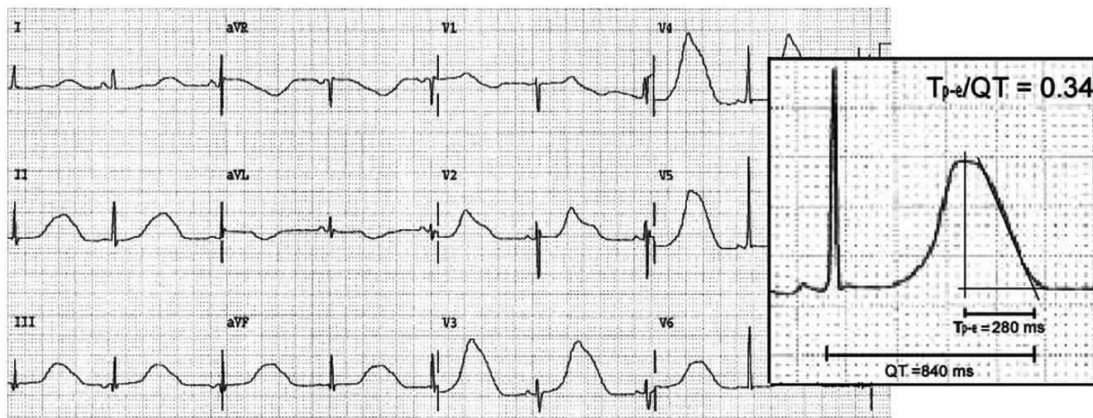


Fig. 4. El intervalo  $T_{p-e}$  y la relación  $T_{p-e}/QT$  se encuentran incrementados en pacientes con síndrome de QT largo congénito con síncope recurrente.

Fuente: Gupta P, et al.  $T(p-e)/QT$  ratio as an index of arrhythmogenesis. J Electrocardiol, 2008. 41(6): p. 570.

El intervalo  $T_{p-e}$  en un estudio de ECG de 12 derivaciones es poco probable que provea una medida absoluta del DTR. Sin embargo, se propone que sirve más bien como índice de dispersión total de la repolarización (transmural, apicobasal o global) y los cambios en este parámetro desde el valor basal pueden pronosticar el riesgo de arritmia<sup>16, 17</sup>.

Estudios recientes sugieren que la medición del  $T_{p-e}$  en las derivaciones precordiales (especialmente V4) es más precisa para estimar la TDR<sup>15</sup>. Además se recomienda la corrección con la frecuencia cardiaca usando la fórmula de Bazett ( $T_{p-e}c = T_{p-e}/\sqrt{RR'}$ ) con un rango normal calculado para niños sanos de 51.5-118.3ms<sup>19, 21</sup>. Así como su corrección con la masa corporal dividiendo con el intervalo QT medido ( $T_{p-e}/QT$ )<sup>16</sup>. Para este último parámetro contamos con un valor normal entre 0.1256-0.2864<sup>20</sup>.

El aumento patológico o inducido de la TDR puede causar un efecto de despolarización temprana al momento en que se sobrepongan las fases 2 y 3 de los potenciales de acción de las células epicárdicas y M desencadenando mecanismos de reentrada que estimulan la presencia de extrasístoles que pueden desatar arritmias ventriculares malignas como torsades de pointes (TdP) y fibrilación ventricular (FV) que al final conlleven a una muerte súbita<sup>19</sup>.

Este fenómeno se ha observado en diversas entidades como el síndrome de Brugada<sup>22</sup>, síndrome de QT largo<sup>23,24</sup>, síndrome de QT corto<sup>25</sup>, taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica<sup>26</sup>, miocardiopatía hipertrófica<sup>27</sup>, miocardiopatía dilatada y recientemente en pacientes con insuficiencia cardíaca bajo terapia de estimulación biventricular<sup>28,29</sup>.

### 3.3 Implicación genética en miocardiopatía dilatada

Hasta un 50% de los casos de MCD tienen una presentación familiar y es de causa genética. El modo predominante de herencia es autosómico dominante, siendo las formas ligadas al sexo y la herencia mitocondrial menos frecuentes. Estudios para tamizaje familiar, mostraron que el 48% de las MCD son hereditarias<sup>30</sup>.

**Tabla 1. Genes mayores causantes de Miocardiopatía Dilatada.**

Gen	Proteína	Fración estimada de MCD (%)	Herencia
<b>TTN</b>	Titina	15–25	AD
<b>LMNA</b>	Lamina A/C	4–8	AD
<b>MYH7</b>	Cadena pesada de la $\beta$ -miosina	4–8	AD
<b>TNNT2</b>	Troponina cardíaca T	3–6	AD
<b>RBM20</b>	Proteína 20 ligada a ARN	3–6	AD
<b>BAG3</b>	BCL2-associated athanogene 3	2–4	AD
<b>TPM1</b>	$\alpha$ -tropomiosina	2-4	AD
<b>DSP</b>	Desmoplaquina	1-3	AD y AR
<b>SCN5A</b>	Canal de sodio	1-2	AD
<b>ACTC1</b>	Actina cardíaca	1-2	AD
<b>MYBPC3</b>	Proteína C ligada a miosina	1	AD
<b>DMD</b>	Distrofina	<1	LX
<b>TAZ</b>	Tafazina	<1	LX
<b>PLN</b>	Fosfolamban	<1	AD
<b>PKP2</b>	Placofilina	<1	AD
<b>DES</b>	Desmina	<1	AD y AR
<b>DSG2</b>	Desmogleina	<1	AD
<b>LDB3</b>	Cypher/ZASP	<1	AD
<b>TNNI3</b>	Troponina cardíaca I	<1	AD y AR
<b>TNNC1</b>	Troponina cardíaca C	<1	AD

*AD: Autosómico Dominante, AR: Autosómico Recesivo, LX: Ligado al X*

Fuente: Garcia-Pavia P, Cobo-Marcos M, Guzzo-Merello G, et al. *Genetics in dilated cardiomyopathy. Biomarkers in Medicine*, 2013; 7(4): 517-533.

Hasta la fecha se han identificado mutaciones asociadas con esta enfermedad en más de 40 genes diferentes relacionados con proteínas del citoesqueleto, el



sarcómero, las uniones intercelulares, la membrana nuclear, canales iónicos y proteínas mitocondriales<sup>31</sup>. Los genes mostrados en la tabla 1 son los principales e incluyen más del 70% de las mutaciones previamente asociadas con el desarrollo de MCD<sup>32, 33</sup>.

### **3.3.1 Genes funcionales y genes que codifican para canales iónicos:**

Además de los genes estructurales que se han estudiado ampliamente en la MCD y otras enfermedades, existe otro grupo de genes denominados funcionales, entre ellos de gran relevancia los genes que codifican para los canales iónicos. Mutaciones en genes de los canales iónicos han sido ampliamente reportados en asociación con enfermedades eléctricas hereditarias causantes de muerte súbita cardiaca entre las que podemos mencionar por frecuencia al síndrome de QT largo, síndrome de Brugada, taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, síndrome de QT corto y displasia arritmogénica del ventrículo derecho por mencionar algunas.

Estos genes funcionales codifican para los canales iónicos cardiacos de sodio, potasio y calcio, principalmente, y también se incluyen algunos genes que coparticipan en la apertura-cierre de los canales iónicos y/o en procesos que participan en la excitación-contracción cardiaca. Uno de estos genes con mayor trascendencia es el gen SCN5A que codifica para el canal de sodio y que se expresa principalmente en el tracto de entrada, es decir, en el miocardio de las venas cavas, mientras que la expresión en el ventrículo es más basal. SCN5A es uno de los pocos genes de los canales iónicos que se ha reportado en asociación a la MCD. Actualmente, no existen datos sobre la distribución de SCN1B en el corazón fetal, y tampoco sobre la distribución de estos canales en el sistema de conducción cardíaco.

La expresión de los genes KCNQ1, KCNH2 y KCNE3 que codifican para canales iónicos de potasio, es homogénea en el miocardio fetal. Sin embargo, las subunidades auxiliares presentan un patrón de expresión dinámico. KCNE1 se queda restringido al miocardio ventricular, mientras

que KCNE2 y KCNE3 están confinados al miocardio atrial. La expresión de ciertas subunidades en el sistema de conducción cardíaco es interesante. Los transcritos de KCNQ1 presentan niveles de expresión semejantes en el sistema de conducción cardíaco y en el miocardio de trabajo, pero existe un claro incremento en la cantidad de proteína de KCNQ1 en el sistema de conducción (nódulo AV, fascículo de His y rama derecha e izquierda).

Dichas diferencias permiten postular que existe un mecanismo de control postranscripcional específico de tejido en el sistema de conducción. La expresión de KCNH2 es semejante tanto en el ARNm como en la proteína en el miocardio.

Los estudios familiares de los síndromes con implicación de herencia mendeliana, análisis de genes candidatos y los estudios de asociación del genoma completo (GWAS siglas en inglés de Genome-Wide Association Studies) pueden ayudar al entendimiento de las implicaciones genotipo-fenotipo de enfermedades como la MCD. La secuenciación masiva de última generación (NGS por sus siglas en inglés Next Generation Sequencing) permite un análisis rápido de gran cantidad de información genética y es útil en el estudio de los genes que se conocen causantes de MCD<sup>34</sup>, existen antecedentes que el uso del NGS contribuye en la identificación de las variantes de riesgo y las mutaciones causantes de la enfermedad, muchos de ellos codifican para componentes estructurales del músculo cardíaco, sobre todo sarcómero o los discos Z<sup>35,36</sup>, con esto es posible el estudio genético de casos familiares<sup>37</sup>. La relación genotipo/fenotipo, ofrece a las familias una oportunidad de obtener un diagnóstico genético y puede ser útil en planificación de futuros embarazos y el desarrollo de un tratamiento más dirigido.

## 4. ANTECEDENTES

En la comunidad científica contamos con numerosas publicaciones a cerca del pobre pronóstico de la MCD en cuanto a su curso con datos de insuficiencia cardiaca o presencia de arritmias. Se ha encontrado que hasta en el 76.9% de los pacientes que fallecen se ha documentado una arritmia, siendo éste un factor de riesgo de mortalidad estadísticamente significativo en los pacientes con MCD idiopática<sup>39, 40, 41</sup>.

Por otra parte, los enfoques genéticos han revelado los genes de la enfermedad para la miocardiopatía primaria hereditaria y otros estudios han demostrado que las alteraciones funcionales características inducidas por las mutaciones asociadas a la enfermedad están estrechamente relacionadas con los tipos clínicos, de tal manera que la disminución de la sensibilidad del  $Ca^{2+}$  a la contracción muscular está asociada a MCD. Estudios recientes han sugerido que las mutaciones en los componentes del disco Z que se encuentran en la MCD pueden dar lugar a la disminución de la rigidez de la sarcómera. Además, el análisis funcional de las mutaciones en los otros componentes del músculo cardiaco ha sugerido que la respuesta alterada a las tensiones metabólicas está asociada con miocardiopatía, lo que indica la heterogeneidad en la etiología y patogénesis de la MCD<sup>33</sup>.

A pesar de lo anterior, no existen estudios reportados que busquen una relación específica de las mutaciones con las manifestaciones electrocardiográficas ya expuestas y que condicionan peor pronóstico para el paciente con MCD. Por lo que se considera un estudio pionero en este aspecto.

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las anomalías en la repolarización eléctrica que muestran los niños con MCD es un aspecto que no se ha estudiado suficientemente. En un análisis, encontramos alteraciones similares a las previamente reportadas en enfermedades arritmogénicas hereditarias causantes de muerte súbita englobadas bajo el término de canalopatías. Se conoce que las canalopatías son causadas por mutaciones en los genes de los canales iónicos, pero ningún grupo de investigación ha buscado mutaciones en estos genes en pacientes con MCD como tampoco se ha analizado su posible asociación con las anomalías en la repolarización ni con la respuesta a las terapias hasta ahora disponibles.

## **6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existen mutaciones en genes de los canales iónicos que causen la miocardiopatía dilatada y ocasionen anomalías en la repolarización eléctrica?

## 7. JUSTIFICACIÓN

La miocardiopatía dilatada es la principal causa de muerte por insuficiencia cardiaca refractaria en niños y jóvenes. Las opciones de tratamiento actualmente disponibles no han mostrado mejoría substancial en la supervivencia. Si logramos identificar mutaciones en los canales iónicos como causantes de esta enfermedad basados en la identificación de anomalías eléctricas que hemos documentado, podríamos estar en condiciones de hacer estudios experimentales que analicen el comportamiento funcional de los canales iónicos en respuesta a fármacos y de proponer otras opciones de tratamiento para esta enfermedad.

## **8. OBJETIVOS**

### **8.1 Objetivo principal**

Fundamentar si hay asociación directa entre las mutaciones en genes que codifican componentes cardíacos funcionales como los canales iónicos y la presencia de anomalías específicas de la repolarización eléctrica en niños con diagnóstico de miocardiopatía dilatada.

### **8.2 Objetivos secundarios**

**8.2.1** Realizar una amplificación de un panel predeterminado de 145 genes (87 funcionales y 58 estructurales) por medio de secuenciación masiva de última generación, con búsqueda de las mutaciones correspondientes en estos genes, así como en genes no reportados en la literatura causantes de miocardiopatía dilatada en niños.

**8.2.2** Confirmar las variaciones de los genes mutados mediante secuenciación Sanger.

**8.2.3** Identificar las mutaciones en genes funcionales causantes de miocardiopatía dilatada.

**8.2.4** Analizar el electrocardiograma de superficie de 12 derivaciones con búsqueda intencionada de alteraciones en la repolarización ventricular en niños con miocardiopatía dilatada.

## **9. HIPÓTESIS**

### **9.1 Hipótesis alterna**

Mutaciones en los canales iónicos cardiacos no sólo causan enfermedades arritmogénicas hereditarias sino también afectación estructural en la fibra miocárdica con Miocardiopatía Dilatada y anomalías electrocardiográficas en la repolarización, lo que explica, al menos en parte, la mala respuesta a las terapias hasta ahora disponibles.

### **9.2 Hipótesis nula**

Mutaciones en los canales iónicos no causan afectación estructural de la fibra miocárdica y no se relaciona con las anomalías electrocardiográficas en la repolarización.



## **10. METODOLOGÍA**

### **10.1 Diseño del estudio.**

Se trata de un estudio observacional, analítico, ambispectivo.

### **10.2 Población de estudio**

Los sujetos que participan en el estudio son niños del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) con diagnóstico de MCD, los cuales cumplen con lo siguiente:

### **10.3 Criterios de inclusión.**

**10.3.1** Pacientes menores de 18 años de edad.

**10.3.2** Diagnóstico de miocardiopatía dilatada demostrado con al menos un estudio de ecocardiograma.

**10.3.3** Carta firmada de consentimiento informado según las recomendaciones del comité de ética del HIMFG, firmada por uno o ambos padres o tutores.

**10.3.4** Carta firmada de asentimiento informado para los pacientes mayores de 7 años según las recomendaciones del comité de ética del HIMFG.

### **10.4 Criterios de exclusión.**

**10.4.1** Pacientes con MCD asociada a un síndrome genético (Carbajal, Alström, Barth, etc).

**10.4.2** Pacientes con expediente incompleto o falta de algún dato que impide la recolección de datos.

### **10.5 Criterios de eliminación**

**10.5.1** Pacientes que por cualquier razón decidan no continuar con el estudio o muerte antes de obtener una muestra de ADN o algún otro estudio necesario para el protocolo.

## **10.6 Tamaño de la muestra**

Se incluirán todos los niños con diagnóstico de miocardiopatía dilatada del Hospital Infantil de México Federico Gómez que acepten participar en el estudio.

## **10.7 Metodología**

A cada participante se le realizará:

### **10.7.1 Valoración clínica**

Se hizo un interrogatorio dirigido en búsqueda de síntomas principales característicos para determinar la clase funcional de cada paciente. Se realizó la exploración física general enfocada al área cardiológica, con inspección general y del tórax, auscultación dirigida principalmente al precordio en busca de calidad, frecuencia cardíaca presencia de ruidos agregados, ritmo, soplos o algún otro dato, palpación del área precordial, pulsos, etc. Se obtendrán valores de: sexo, edad, peso y talla.

### **10.7.2 Electrocardiograma de superficie de 12 derivaciones (ECG)**

Con un electrocardiógrafo marca Phillips modelo Page Writer Trim II se realiza este estudio, es necesario que la persona esté relajada en decúbito supino, sin ropa desde la cintura hacia arriba, sin portar objetos de metal para evitar interferencia con la máquina; se colocan 10 electrodos autoadheribles: 6 en el pecho denominadas derivaciones precordiales y los otros 4 en las extremidades denominadas derivaciones monopolares y bipolares de acuerdo a lo que se analice, estos van conectados a unos cables que transmiten el impulso eléctrico del corazón de acuerdo a la posición en el que se encuentra al electrocardiógrafo, donde una vez captada la señal lo muestra en la pantalla del aparato y se imprime en papel milimétrico para su análisis.

El ECG permite analizar la actividad eléctrica del corazón y conocer los tiempos de conducción; mediremos la duración de PR, QRS, QT, QTc, Frecuencia cardiaca (FC),  $T_{p-e}$  y  $T_{p-eC}$  en milisegundos; analizaremos la morfología de la onda P, onda T, complejo QRS, intervalo QT y la relación  $T_{p-e}/QT$ , así como la presencia de supradesnivel o infradesnivel del segmento ST, presencia de onda J, onda Delta, bloqueos o algún patrón sugestivo de anormalidad.

### **10.7.3 Monitoreo electrocardiográfico tipo holter de 24 horas.**

Es un estudio que se realiza de manera ambulatoria, se utilizará un Holter Digi Trak- Plus de 3 canales marca Phillips, su función principal es registrar la actividad eléctrica del corazón durante 24 horas; es necesario colocar 5 electrodos autoadheribles en el pecho que van conectados a cables que transmiten el impulso eléctrico al Holter y éste va guardando la información.

Una vez finalizado el estudio se descarga en una computadora y con un software especial se analizó de manera intencionada la presencia de extrasístoles, taquicardias, pausas o algún otro dato de anormalidad en la conducción eléctrica.

### **10.7.4 Ecocardiograma bidimensional**

Se utilizará un ecocardiógrafo marca Phillips modelo IE33xMATRIX Echocardiography System; el paciente en decúbito supino sin ropa de la cintura para arriba se le coloca un transductor en el área cardiaca y se obtienen las imágenes necesarias para la evaluación de la estructura y función miocárdica. Evaluaremos la FEVI, el volumen telediastólico y telesistólico del VI, así como los diámetros sistólicos y diastólicos del VI utilizando el método de Simpson o biplanar; utilizando el Modo M en eje largo se medirá el grosor de la pared libre y septum del VI.

#### **10.7.5 Toma de muestra de sangre periférica para extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN).**

A cada paciente se realizará una extracción de sangre periférica de 10 ml en niños >10 años, 5 ml de 3-10 años y 3 ml en <3 años, se almacenarán en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) a 4°C, para el aislamiento del ADN genómico. La extracción sanguínea y del ADN se llevará a cabo en el laboratorio de investigación en cardiopatías congénitas a partir de linfocitos sanguíneos por medio del método estándar de extracción de ADN genómico con el Kit Gentra System, Puregene. El ADN liofilizado se almacenará en ultracongelador a -80°C hasta obtener un grupo adecuado de muestras para su análisis.

#### **10.7.6 Identificación genética molecular**

Para el análisis del ADN se colaborará con el Dr. Héctor Manuel Barajas Martínez, director del departamento de genética molecular del Masonic Medical Research Laboratory (MMRL) en Utica, New York. El MMRL es un laboratorio de nivel internacional y líder en estudios de genética molecular y búsqueda de mutaciones en genes asociados a MSC. El MMRL está equipado al 100% con equipo de NGS para identificar nuevos genes. Se obtendrá la carta de consentimiento informado de cada paciente para estudio de especímenes humanos aprobado por los comités de investigación, ética y bioseguridad del HIMFG y los avalados por el instituto Americano de salud (NIH-USA). A cada paciente se le asignará un número de identificación (MMRL#ID).

#### **10.7.7 Secuencia masiva de última generación de ADN de genes estructurales y de los canales iónicos (total 145 genes).**

La secuenciación del ADN consiste en determinar el orden de las bases A, C, G y T en un fragmento de ADN. La secuenciación

utilizada hasta la fecha de manera más rutinaria es la secuenciación por el método descrito por Sanger et al en 1977, que permite obtener la secuencia de un fragmento determinado de ADN, un gen o parte de éste, como por ejemplo, uno o varios exones. Con esta técnica se obtienen secuencias de hasta 500 bases aproximadamente. Sin embargo, la alta demanda de secuenciación ha llevado al desarrollo de tecnologías de secuenciación masiva basadas en realizar múltiples secuencias cortas (de alrededor de 100 pares de bases) de un modo paralelo, produciendo millones de secuencias al mismo tiempo y a un coste bajo. Una vez ensambladas estas secuencias a un genoma de referencia, se puede secuenciar, en lugar de un gen, múltiples genes o incluso un genoma completo. Se permite a conocer con exactitud la secuencia de millones de pares de bases, esta es la llamada NGS, que establece un salto de varias órdenes de magnitud en cuanto a la longitud de los fragmentos secuenciados y a la rapidez en su secuenciación. Mediante la NGS es posible la secuenciación del genoma humano completo de un individuo en el mismo tiempo y coste económico que la secuenciación de dos o tres genes grandes con la técnica de Sanger.

Mediante PCR se amplificarán todos los exones e intrones de 145 genes candidatos entre los cuales se encuentran: KCNA5, KCND3, DPP10, SCN7A, ANK2, CAV1.2, RYR2, SCN11A, CACNG7, CAV1, CACNA1C, SCN11A, SCN9A, SEMA3A, AKAP9, SCN5A, RANGRF, TRPM4, SCN7A, SCN10A, SCN1A, TRDN, SCN8A, CACNG8, NAS, CACNB1, DLG1, PRKAG2, DPP6, CACNA1C, SEA3A, PKP2, SCN8A, SNTA1, PXDNL, ABCC8, SCN2B, HCN2, CAV3, SCN1-4B, KCNQ1, KCNH2, KCNE1-5, SUR1A, SUR2A, KCNJ8, KCNJ11, KCNJ2, CACNA1C, CACNB2B, CACNA2D1, GPD1L, KCND3, KCNIP2, DPP10, KCNJ3 y KCNJ5. Se utilizarán secuenciadores Ion Proton TM System for Next- Generation Sequencing y el Ion PGM TM System para la NGS, ambos de Thermo Fisher Scientific.

#### **10.7.8 Comprobación de las mutaciones encontradas por secuenciación con el método de Sanger.**

Por medio de secuenciación directa mediante la técnica de Sanger en ambas direcciones con el uso del secuenciador de ADN automático ABI PRISM 3100-Avant (Automatic DNA sequencer) se corroborarán las mutaciones encontradas con NGS. Para determinar la prevalencia de las variaciones genéticas, se contrastarán con 200 sujetos de manera aleatoria de un banco de ADN existente del proyecto 1000 genomes, la población control de sujetos será de la misma etnia, anónimos y sin problemas cardiovasculares, se presume que el 100% de ellos no presentarán mutaciones en los genes seleccionados o candidatos y ningún síntoma de las enfermedades y síndromes estudiados. Se determinará si las variaciones genéticas (mutaciones) identificadas son causantes de la enfermedad mediante el cálculo de frecuencia alélica en la población control. También se obtendrá el grado de patogenicidad funcional y genética sobre el cambio de aminoácido mutante en base al sitio de conservación en diferentes especies y el grado de co-segregación de la mutante en la familia. Se realizará análisis de la relación genotipo-fenotipo en la población de estudio. El MMRL tiene una experiencia extensa en este tipo de técnicas.

#### **10.7.9 Estudios a familiares de primer grado del caso índice**

Una vez realizada la evaluación a los casos índices; se procederá a estudiar a la familia directa (padres y hermanos) con una valoración clínica, estudios cardiológicos (ECG, ecocardiograma bidimensional y holter de 24 horas en caso necesario) y toma de muestra sanguínea para extracción y análisis de ADN, con búsqueda intencionada de las mutaciones encontradas en el caso índice.

## **11. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente estudio se diseñó como estudio transversal prospectivo con riesgo mínimo. Se seguirán los principios éticos emitidos en la declaración de Helsinki y las pautas normadas por la Organización Mundial de la Salud.

Por tratarse de un estudio con riesgo mínimo y de acuerdo al artículo 17 título segundo de la Ley General de Salud en materia de investigación en salud se requiere carta de consentimiento informado por parte de los padres y/o tutores y dado que participan niños mayores de 7 años carta de asentimiento informado (se incluyen como anexos al protocolo de investigación).

Las cartas de asentimiento y de consentimiento informado reúnen todos los requisitos condiciones impuestos por la comisión de ética del HIMGF. El protocolo se someterá a revisión de las comisiones de investigación, ética y bioseguridad del Hospital Infantil de México Federico Gómez y no se iniciará hasta obtener su aprobación por escrito.

## **12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se identificaron a los participantes del estudio desde una gran base de datos con los pacientes de miocardiopatía dilatada en el Laboratorio de Investigación en Cardiopatías Congénitas y Arritmias. Se revisaron los expedientes clínicos estos pacientes en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, en búsqueda de que cumplieran los criterios de inclusión para el estudio.

Se realizó la valoración clínica y paraclínica de los estudios de gabinete solicitados y, mediante un análisis bivariante, se describió la relación existente entre las dos variables del estudio.



## 13. VARIABLES

### 13.1 Variables demográficas

#### 13.1.1 Edad

Definición operacional: el tiempo transcurrido de la fecha de nacimiento al momento de la inclusión al estudio.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.1.2 Sexo

Definición operacional: hombre o mujer.

Escala de medición: nominal, dicotómica.

#### 13.1.3 Peso

Definición operacional: se determina mediante báscula de pie (precisión de 100gr, el paciente vestido con bata clínica y se registrará la décima de kilogramo más próxima).

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.1.4 Talla

Definición operacional: distancia entre el vértex y el plano de sustentación; el paciente se coloca de pie completamente erguido, con los talones juntos. Se coloca la cabeza del paciente en el plano Frankfurt y se realiza una tracción de la cabeza nivel de la apófisis mastoides. Se desciende lentamente la plataforma horizontal del estadímetro hasta contactar con la cabeza del paciente, se obtendrá la talla máxima y se ajustará al centímetro más próximo.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

## **13.2 Variables clínicas**

### **13.2.1 Clase funcional (CF)**

Definición operacional: estado de gravedad de la enfermedad manifestada en el paciente de acuerdo a las condiciones clínicas que presenta, que va de menor a mayor intensidad. En los niños siguiendo las recomendaciones de Ross, se clasifica en 4 grados que va de la CF I a la CF IV.

Escala de medición: categórica (clase funcional)

Escala de medición: cuantitativa, continua (si se analiza de acuerdo al puntaje obtenido siguiendo clasificación de Ross).

## **13.3 Variables ecocardiográficas**

### **13.3.1 Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI)**

Definición operacional: el porcentaje de sangre expulsado por el VI durante la sístole obtenido por el método de Simpson.

Escala de medición: cuantitativa, continua, expresada en porcentaje.

### **13.3.2 Fracción de acortamiento del ventrículo izquierdo (FA)**

Definición operacional: es el cambio porcentual en las dimensiones del VI con la contracción sistólica comparándola con la diastólica.

Escala de medición: cuantitativa, continua, expresada en porcentaje.

## **13.4 Variables electrocardiográficas**

### **13.4.1 Frecuencia cardiaca (FC)**

Definición operacional: el número de latidos en un

periodo de 1 minuto.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.4.2 Intervalo PR (PR)

Definición operacional: es el periodo de tiempo comprendido entre el inicio de P hasta el inicio de QRS, representa el tiempo en que el estímulo tarda en recorrer las aurículas hasta llegar al nodo AV justo antes de la despolarización cardíaca, expresado en ms.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.4.3 Duración del complejo QRS (QRS)

Definición operacional: es el periodo de tiempo que comprende desde el inicio de Q hasta el final de S, representa la despolarización ventricular, expresado en ms.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.4.4 Intervalo QT medido (QT)

Definición operacional: representa la duración de la sístole por completo que comprende desde el inicio de la onda Q hasta el término de la onda T, que es la despolarización y repolarización ventricular, expresado en ms.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.4.5 Intervalo QT corregido (QTc)

Definición operacional: la medición del intervalo QT ajustado a la frecuencia cardíaca. Esta corrección sirve para independizarlo de la frecuencia cardíaca de cada individuo y transformarlo en una medida de la actividad

eléctrica comparable entre pacientes sanos y enfermos.  
Es expresado en milisegundos.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.4.6 Duración $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}$ ( $T_{\text{p-e}}$ )

Definición operacional: es la diferencia del tiempo en que ocurre la repolarización ventricular en las paredes del musculo cardiaco, expresado en milisegundos. Se mide desde el pico máximo de la onda T hasta el final de la misma en derivaciones precordiales.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.4.7 Intervalo $T_{\text{peak}}-T_{\text{end}}$ corregido ( $T_{\text{p-eC}}$ )

Definición operacional: la medición del intervalo  $T_{\text{p-e}}$  ajustado a la frecuencia cardíaca. Esta corrección sirve para independizarlo de la frecuencia cardíaca de cada individuo y transformarlo en una medida de la actividad eléctrica comparable entre pacientes sanos y enfermos. Es expresado en milisegundos. Rango normal: 51.5-118.3ms

Escala de medición: cuantitativa, continua.

#### 13.4.8 Cociente $T_{\text{p-e}}/QT$

Definición operacional: medición del intervalo  $T_{\text{p-e}}$  ajustado a la masa corporal. Muestra la relación del periodo final de la repolarización respecto a la duración total de la misma. Es expresado como resultado de un cociente, sin unidades de medición. Rango normal: 0.1256-0.2864.

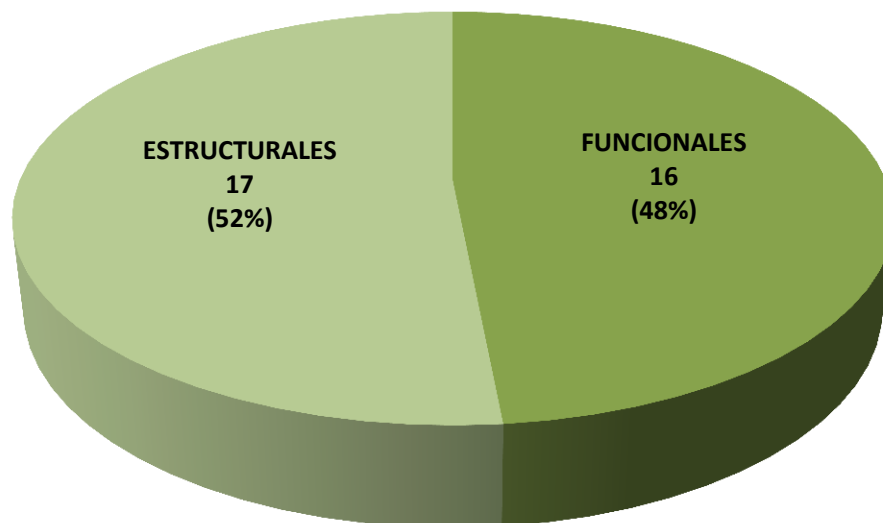
Escala de medición: cuantitativa, continua.

## 14. RESULTADOS

En el HIMFG se cuenta con pacientes pediátricos con diagnóstico de MCD, de los cuales se incluyeron a 27 pacientes con el diagnóstico confirmado por ecocardiografía bidimensional, todos cumpliendo con el resto de los criterios de inclusión del estudio. Ningún paciente se excluyó o se eliminó del estudio.

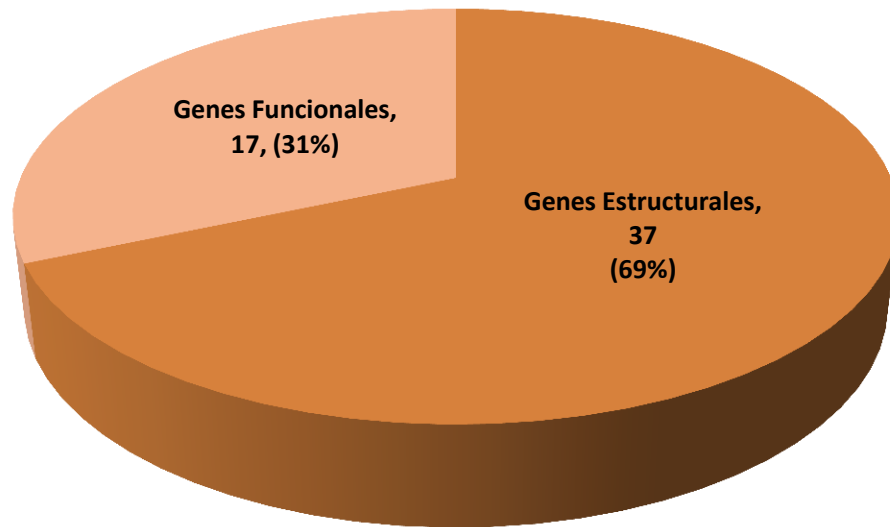
Nuestra población de estudio estuvo conformada por 9 pacientes del sexo masculino (33.3%) y 18 del sexo femenino (66.6%). En cada uno de los 27 pacientes se analizó el material genético (ADN), en donde se encontraron 54 mutaciones en 33 genes diferentes afectados. Se encontraron 2 tipos de genes

**Gráfico 1. Distribución de los 33 genes afectados en pacientes con miocardiopatía dilatada en el HIMFG de acuerdo al tipo de componente cardíaco que codifican.**



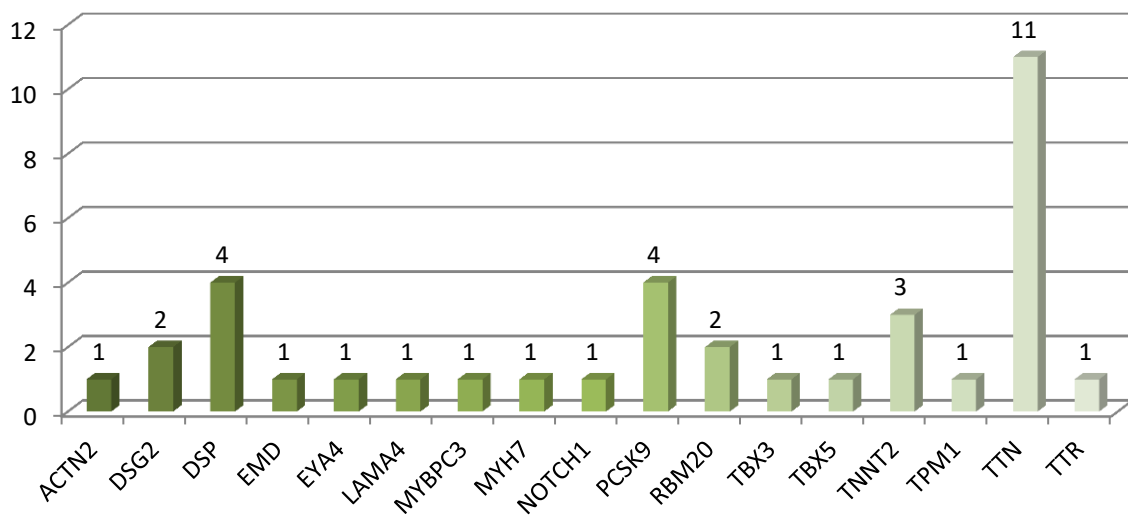
afectados, los que codifican para un componente estructural cardíaco (proteína como la miosina, actina, etc.) y aquellos que codifican para un componente funcional del tejido cardíaco, por ejemplo, los canales iónicos. Los más afectados y su distribución se muestran en el gráfico 1.

**Gráfico 2. Distribución de las 54 mutaciones de acuerdo al tipo de componente cardiaco que codifican encontradas en 27 niños con miocardiopatía dilatada en el HIMFG.**



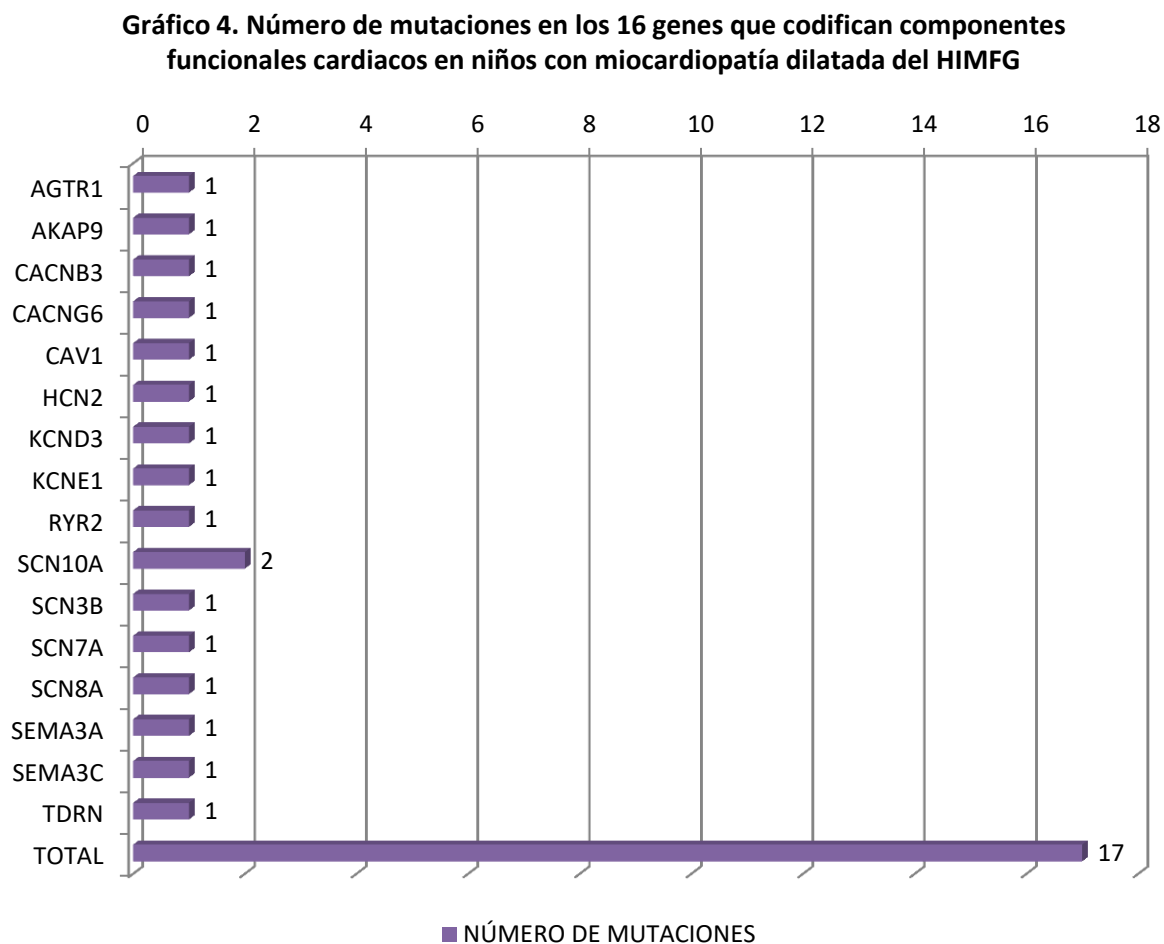
Dentro de las mutaciones encontradas en los genes mencionados, la mayoría se presentó en los genes estructurales, con la distribución como lo muestra el gráfico 2. La lista de los genes estructurales afectados y su frecuencia se presenta en el gráfico 3, en donde se logra identificar claramente a TTN como el gen estructural

**Gráfico 3. Número de mutaciones en los 17 genes que codifican componentes estructurales en niños con miocardiopatía dilatada del HIMFG.**



más frecuentemente afectado con 11 mutaciones.

En cuanto al número de mutaciones en los genes afectados que codifican para componentes cardíacos funcionales, fueron menos frecuentes que las de los estructurales, y su distribución fue muy similar entre ellos (Gráfico 4).



En cuanto a los hallazgos electrocardiográficos se encontró que el 100% de los pacientes con diagnóstico de miocardiopatía dilatada en el HIMFG presentaron alteraciones de la repolarización eléctrica. En la gran parte de los pacientes, 10/27 (37.03%), sólo estaba alterado un parámetro. En 29.62% (8/27) se encontraron dos variables alteradas. En 7 pacientes (25.92%) se hallaron 3 anomalías de

la repolarización y sólo 3 pacientes (11.11%) presentaron 4/5 parámetros alterados de los buscados intencionadamente: QTc, Tp-ec, Tp-e/QT, onda T, segmento ST. Ninguno tuvo alteración en los 5 antes mencionados.

**Tabla 2. Parámetros electrocardiográficos analizados en pacientes pediátricos del HIMFG con diagnóstico de miocardiopatía dilatada.**

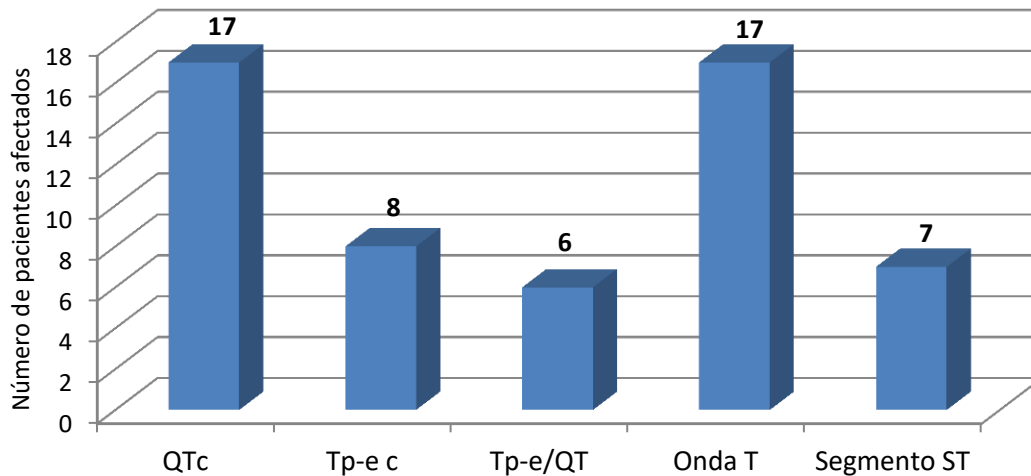
CASO	PR (ms*)	QRS (ms*)	QT en DII (ms*)	QTc en DII (ms*)	FC (lpm**)	T <sub>p-e</sub> V4 (ms*)	T <sub>p-e</sub> C V4 (ms*)	T <sub>p-e</sub> /QT	Onda T anormal	ST anormal
1	80	120	520	542	75	40	44	0.077	1	2
2	132	100	360	519	94	80	90	0.222	2	1
3	120	80	589	500	83	160	195	0.272	1	1
4	80	160	560	603	75	40	47	0.071	1	1
5	192	80	340	512	130	40	63	0.118	2	2
6	160	78	440	480	75	120	130	0.273	1	2
7	100	90	420	571	78	80	107	0.19	1	2
8	160	80	340	490	135	80	115	0.235	2	1
9	168	80	320	471	125	40	63	0.125	2	2
10	120	60	360	499	120	80	107	0.222	1	2
11	120	60	280	359	115	40	63	0.143	1	2
12	120	120	320	460	142	100	144	0.312	2	2
13	162	82	340	480	125	40	58	0.118	2	2
14	158	80	360	499	122	40	58	0.111	2	2
15	163	83	340	421	93	40	91	0.118	1	2
16	158	67	280	422	136	40	66	0.143	1	2
17	133	120	400	464	75	120	134	0.3	2	1
18	156	83	480	500	65	100	111	0.208	2	1
19	160	84	332	400	88	80	100	0.241	1	2
20	80	80	360	390	75	80	91	0.222	1	2
21	140	80	440	450	62	140	142	0.318	1	2
22	140	80	320	435	90	120	141	0.375	1	2
23	140	60	280	412	130	40	56	0.143	1	2
24	110	90	308	465	130	80	116	0.26	1	2
25	110	90	308	465	130	40	43	0.13	1	2
26	140	80	320	415	100	100	127	0.312	1	2
27	140	60	280	442	150	80	126	0.286	2	1
<b>Máximo</b>	192	160	589	603	150	160	195	0.375	1 = Sí	1 = Sí
<b>Mínimo</b>	80	60	280	359	62	40	43	0.071	2 = No	2 = No
<b>Promedio</b>	134.9	86.2	370.3	469.1	104.4	75.6	97.3	0.2		
<b>DE</b>	29.0	22.1	84.9	55.0	27.1	35.7	38.5	0.1		

\* ms, milisegundos. \*\* lpm, latidos por minuto.



Los parámetros más frecuentemente alterados fueron el QTc y la onda T. En el gráfico 5 se muestran los cinco parámetros analizados y su frecuencia de alteración en los pacientes con miocardiopatía dilatada.

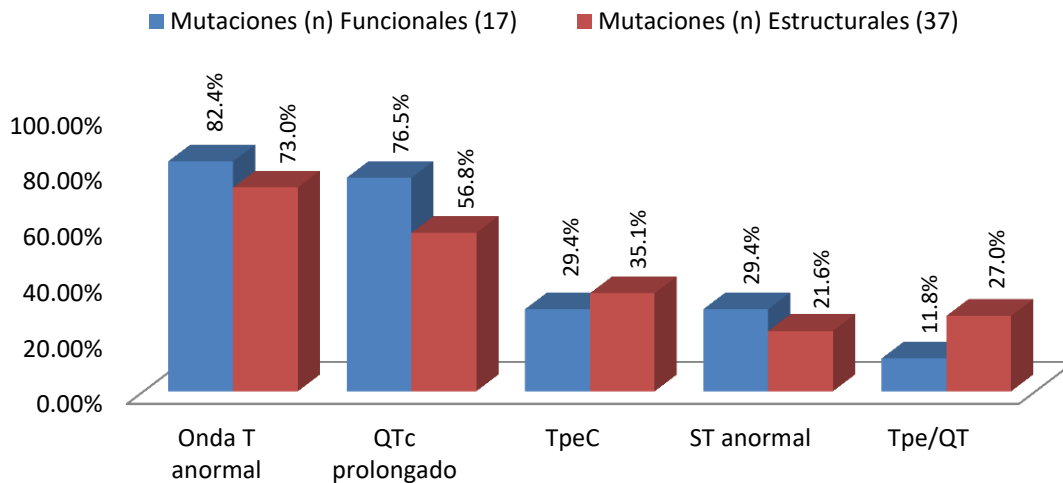
**Gráfico 5. Frecuencia de alteración en los parámetros de repolarización ventricular en 27 niños con miocardiopatía dilatada en el HIMFG.**



Una vez hecha la asociación entre los hallazgos genéticos y electrocardiográficos se encontró que la onda T anormal se asoció con el mayor número de mutaciones con un total de 41 de las 54 mutaciones totales, de las cuales, 14 mutaciones se encontraron en genes funcionales (14/17) y 27 mutaciones en los genes estructurales (27/37). El QT corregido (QTc) prolongado fue el segundo parámetro con más mutaciones relacionadas con un total de 34 de las 54 encontradas en el estudio, 13 de ellas en genes funcionales (13/17) y 21 en los estructurales (21/37). El valor Tpeak–Tend corregido ( $T_{p-e}c$ ) más allá de su normalidad mostró asociación con 18 mutaciones, 13 de ellas en los genes estructurales (13/37) y solamente 5 en los genes funcionales (5/17). Las anomalías del segmento ST ya sea infra o supradesnivel de éste, se relacionó con la presencia de 13

mutaciones con similar proporción entre genes estructurales (8/37) y los funcionales (5/17). La relación  $T_{p-e}/QT$  mayor de 0.2864 estuvo ligada mayormente a mutaciones en genes estructurales en 27.02% (10/37) que a las observadas en genes funcionales con sólo 2 mutaciones (11.76%).

**Gráfico 6. Proporción de las mutaciones encontradas tanto en genes funcionales y estructurales con respecto a los parámetros electrocardiográficos**



Por otra parte, hablando ahora exclusivamente de las mutaciones en genes que codifican para un componente cardíaco funcional, se observaron sólo en 14 de los 27 pacientes con miocardiopatía dilatada, encontrando repetición de una sola mutación en el gen SCN10A (canal de sodio) en dos diferentes pacientes, y en ambos asociándose a alteración en la onda T, en uno de ellos con asociación exclusiva, es decir, no había aunadas otras mutaciones ni otras manifestaciones electrocardiográficas. En el otro paciente, la mutación en SCN10A se encontraba en conjunto con 2 mutaciones más, en los genes estructurales EYA4 y DSG2, quien presentaba QTc y  $T_{p-eC}$  prolongados además de la alteración de la onda T.

El resto de las mutaciones mencionadas en genes funcionales sólo se observaron de manera única, aunque en tres casos se encontraron 2 mutaciones diferentes en el mismo paciente: el caso 3 con mutación en KCND3 y RYR2, caso 5 con SEMA3A y AKAP9 alterados y el caso 25 con mutación en AGTR1 y SCN3B.

## 15. DISCUSIÓN

En la actualidad no hay estudios de investigación reportados que traten sobre la asociación que buscamos establecer entre nuestras variables, por lo que no es posible hacer una comparación con los resultados de la literatura internacional. De tal manera que nos encontramos ante un trabajo inédito que arroja conocimiento *de novo*.

Los descubrimientos realizados durante los últimos 20 años han revelado un origen genético en muchos casos de miocardiopatía dilatada (MCD). Actualmente, más de 40 genes se han asociado con la enfermedad. Las mutaciones en los genes que causan DCM inducen la enfermedad a través de una variedad de vías patológicas diferentes con mecanismos complejos y no completamente comprendidos. Los genes que codifican para proteínas sarcoméricas, del citoesqueleto, de membrana nuclear, complejo de glicoproteína asociada a distrofina y proteínas desmosómicas son los principales genes implicados<sup>31</sup>. En todos los casos, las mutaciones resultan en consecuencias estructurales y funcionales que perjudican la generación del impulso miocárdico, la transmisión del impulso y la supervivencia celular<sup>10</sup>.

La MCD es la causa más común de insuficiencia cardíaca en niños con corazones estructuralmente normales. Los eventos de arritmia potencialmente mortales ocurren en hasta el 5% de los niños con MCD. Algunos hallazgos electrocardiográficos, específicamente el intervalo JTc prolongado, intervalo QTc prolongado, onda T anormalmente invertida, y depresión del segmento ST se asociaron con un mayor riesgo de eventos potencialmente mortales en niños con MCD<sup>38</sup>.

En nuestra Institución, el HIMFG, tratamos y manejamos a pacientes con diagnóstico de miocardiopatía dilatada y durante el seguimiento de la evolución de la enfermedad hemos identificado que estos pacientes presentan arritmias malignas condicionado eventos de muerte súbita, por lo que al hacer un análisis minucioso del electrocardiograma se han encontrado alteraciones específicas que

recuerdan los síndromes genéticos causantes de arritmias ventriculares como el síndrome de QT largo, síndrome de Brugada, síndrome de QT corto, entre otros, cuya fisiopatología se encuentra bien estudiada en la literatura y se encuentra bien establecida la etiología, que son las mutaciones en los distintos genes que codifican los canales iónicos de sodio, potasio y calcio.

Ante esta situación, nos dimos a la tarea de investigar las mutaciones ya documentadas en la literatura para MCD, sobre todo las de tipo funcional, así como rastrear nuevas mutaciones causantes no reportadas, y su asociación a la presencia de anomalías en la repolarización ventricular que condicionen el desarrollo de arritmias ventriculares malignas y por tanto, muerte súbita. Esto con el fin de definir un pronóstico y meditar sobre nuevas alternativas terapéuticas para estos pacientes a parte del trasplante cardiaco.

Por tanto se buscaron de manera intencionada los hallazgos electrocardiográficos relacionados con desarrollo de arritmias o eventos potencialmente mortales en 27 pacientes pediátricos con miocardiopatía dilatada encontrando que el 100% de los pacientes muestran al menos un parámetro alterado y que casi dos terceras partes (62.9%) presenta al menos 2 variables anormales. Las alteraciones más frecuentes fueron la onda T anormal y el intervalo QT corregido prolongado ( $\geq 450 - 460$ ms), que de hecho son unas de las anomalías reportadas como de mayor asociación a esta patología.

A estos pacientes se les analizó el material genético encontrando 54 mutaciones en 33 genes afectados, los cuales los clasificamos en funcionales o estructurales dependiente del tipo de componente cardiaco para el cual codifican. Los genes estructurales mutados fueron los más prevalentes, tal como está establecido en la literatura internacional, específicamente TTN, que codifica a una proteína llamada titina, que forma parte de la sarcómera cardiaca, y cuya frecuencia de aparición fue mayor que cualquier otro gen, 20.3% del total de mutaciones. La menor proporción de mutaciones fue en los genes funcionales con 39% del total. De estos sólo hubo un gen, SCN10A, con 2 mutaciones, el resto sólo presentó una mutación por gen afectado.

De acuerdo a la alteración electrocardiográfica encontrada se relacionaron las mutaciones reportadas, encontramos que en los pacientes con miocardiopatía dilatada la alteración de la onda T, ya sea invertida o bifásica, se asoció a 41 mutaciones, 27 de ellas en genes estructurales y 14 en los funcionales, sin embargo aunque aparentemente es más frecuente este hallazgo en el sub grupo de los genes estructurales, en proporción a las mutaciones totales de cada subgrupo, está más afectado el apartado de los genes funcionales con porcentaje de 82.35% (14/17), vs en el subgrupo de los genes estructurales con 72.97% (27/37). En cuanto al QTc se encontró prolongado en 33 mutaciones, de las cuales 21 fueron en los genes estructurales y las 13 restantes en los funcionales. De igual manera, la proporción de porcentajes mostró más afectación de QTc en las mutaciones de los genes funcionales con 76.47%(13/17) que en los estructurales con 56.75% (21/37).

Otro de las variables electrocardiográficas reportadas como anormales en los pacientes con MCD y cuya alteración aumenta el riesgo de eventos potencialmente mortales en los pacientes, es el segmento ST. Que fue otro parámetro que se evidenció anormal más frecuentemente con las mutaciones en genes funcionales (29.41%) que con las mutaciones en los genes estructurales (21.62%).

En el resto de los parámetros electrocardiográficos que se estudiaron los porcentajes de alteración se invirtieron, dando lugar a las mutaciones en los genes estructurales como la causa más importante de estos hallazgos anómalos, como el  $T_{p-e}$  y el  $T_{p-e}/QT$  (gráfico 6), de los cuales hay menor información hasta el momento y se continúa estudiando su rol en el desarrollo de arritmias ventriculares malignas en pacientes con miocardiopatía dilatada al aumentar la dispersión transmural de la repolarización.

## 16. CONCLUSIÓN

La miocardiopatía dilatada es una patología que condiciona un pronóstico sombrío para la función y la vida. Los pacientes cursan con cuadros de falla cardíaca y de arritmias malignas en los primeros años después del diagnóstico, lo que aunado a la falta de cultura de donación de órganos en México, sobrellevan a términos fatales antes de la obtención de un trasplante cardíaco.

Todos los pacientes con miocardiopatía dilatada muestran alteraciones en la repolarización ventricular en el trazo del ECG, siendo los hallazgos más consistentes por orden de frecuencia: la onda T invertida o bifásica, la prolongación del intervalo QT corregido,  $T_{p-e}$  prolongado, el infradesnivel o supradesnivel del segmento ST y la relación  $T_{p-e}/QT$  mayor al valor normal.

Las mutaciones más frecuentemente encontradas en los pacientes con MCD son las que afectan a genes que codifican componentes estructurales cardíacos, siendo el gen más afectado, TTN. Las mutaciones en los genes de los canales iónicos o funcionales son menos frecuentes y están más relacionados, como subgrupo, con algunas alteraciones en la repolarización ventricular, como la onda T invertida o bifásica, el intervalo QT corregido prolongado y el infra o supradesnivel del segmento ST.

En este estudio no se encontró una mutación específica, tanto estructural como funcional, que se relacione de manera causal con una alteración electrocardiográfica determinada. Sin embargo se requieren de estudios posteriores con mayor número de pacientes para definir si existe o no esta relación causal.

Se encontraron además mutaciones similares en los familiares de primer grado de los pacientes con miocardiopatía dilatada, no todos expresando el fenotipo patológico, lo que nos habla de una penetrancia variable.

Ante esta situación podemos concluir que este trabajo sentará las bases para continuar líneas similares de investigación con el objetivo de emitir consejo

genético a las familias cuyos integrantes presenten este diagnóstico, así como el desarrollo de nuevas las técnicas enfocadas a la manipulación genética como futuras alternativas terapéuticas al trasplante cardiaco.



## **17. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO**

Una de las limitaciones más importantes de este estudio es la relativa poca muestra de pacientes para el análisis, además de la medición de los parámetros electrocardiográficos en un solo momento, pudiendo presentarse cambios en éstos de forma posterior a la evaluación del paciente.

## 18. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	Jun 2016	Sep 2016	Oct 2016	Nov 2016	Dic 16 - Abr 17	May 2017
Revisión de expedientes y selección de pacientes	X	X	X	X		
Evaluación clínica, electrocardiográfica, ecocardiográfica y obtención de muestra sanguínea	X	X	X	X		
Extracción de ADN		X	X	X		
Análisis de ADN con NGS					X	
Validación de resultados con método Sanger					X	
Análisis de resultados, elaboración de manuscrito y envío a publicación						X

## 19. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, et al. *Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in children*. JAMA, 2006; 296: 1867–76.
2. Wilkinson JD, Sleeper LA, Alvarez JA, et al. *The Pediatric Cardiomyopathy Registry: 1995–2007*. Prog Pediatr Cardiol, 2008; 25(1): 31–36.
3. Pahl E, Sleeper LA, Canter CE, et al. *Incidence of and risk Factors for Sudden Cardiac Death in Children with Dilated Cardiomyopathy: A Report from the Pediatric Cardiomyopathy Registry*. J Am Coll Cardiol, 2012; 59 (6): 607-615.
4. Wilkinson JD, Landy DC, Towbin JA, et al. *The Pediatric Cardiomyopathy Registry and Heart Failure: Key Results from the First 15 Years*. Heart Fail Clin, 2010; 6(4): 401-13.
5. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. *Recommendations for Chamber Quantification: A Report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, Developed in Conjunction with the European Association of Echocardiography, a Branch of the European Society of Cardiology*. J Am Soc Echocardiogr, 2005; 18(12):1440-63.
6. Tahara T, Sogou T, Suezawa C, et al. *Filtered QRS duration on signal-averaged electrocardiography correlates with ventricular dyssynchrony assessed by tissue Doppler imaging in patients with reduced ventricular ejection fraction*. J Electrocardiol, 2010; 43(1): 48-53.
7. Zhu TG, et al. *Ventricular transmural repolarization sequence: its relationship with ventricular relaxation and role in ventricular diastolic function*. Eur Heart J, 2009; 30(3): 372-80.
8. Guo D, et al. *L-type calcium current recovery versus ventricular repolarization: preserved membrane-stabilizing mechanism for different QT intervals across species*. Heart Rhythm, 2008; 5(2): 271-9.
9. Sicouri S, Antzelevitch C. *A subpopulation of cells with unique electrophysiological properties in the deep subepicardium of the canine ventricle. The M cell*. Circ Res, 1991; 68(6): 1729-41.
10. Antzelevitch, C. *Cellular basis for the repolarization waves of the ECG*. Ann N Y Acad Sci, 2006; 1080: 268-81.
11. Antzelevitch, C, et al. *Cellular basis for QT dispersion*. J Electrocardiol, 1998; 30

Suppl: 168-75.

12. Emori T, Antzelevitch C. *Cellular basis for complex T waves and arrhythmic activity following combined I(Kr) and I(Ks) block.* J Cardiovasc Electrophysiol, 2001; 12(12): 1369-78.
13. Antzelevitch C. *T peak-Tend interval as an index of transmural dispersion of repolarization.* Eur J Clin Invest, 2001; 31(7): 555-7.
14. Castro Hevia J, et al. *Tpeak-Tend and Tpeak-Tend dispersion as risk factors for ventricular tachycardia/ventricular fibrillation in patients with the Brugada syndrome.* J Am Coll Cardiol, 2006; 47(9): 1828-34.
15. Watanabe N, et al. *Transmural dispersion of repolarization and ventricular tachyarrhythmias.* J Electrocardiol, 2004; 37(3): 191-200.
16. Gupta P, et al. *T(p-e)/QT ratio as an index of arrhythmogenesis.* J Electrocardiol, 2008; 41(6): 567-74.
17. Antzelevitch C, Viskin S, Shimizu W, et al. *Does Tpeak-Tend Provide an Index of Transmural Dispersion of Repolarization?* Heart Rhythm, 2007; 4(8): 1114–1119.
18. Benatar A, Carbonez K. *Behavior of the Electrocardiographic T Peak to End Interval in Childhood.* Ann Noninvasive Electrocardiol, 2010; 15(1):11-16.
19. Panikkath R, et al. *Prolonged Tpeak-to-tend interval on the resting ECG is associated with increased risk of sudden cardiac death.* Circ Arrhythm Electrophysiol, 2011; 4(4): 441-7.
20. Bieganowska K, Sawicka-Parobczyk M, Bieganowski M, et al. *Tpeak-Tend Interval in 12-Lead Electrocardiogram of Healthy Children and Adolescents Tpeak-Tend Interval in Childhood.* Ann Noninvasive Electrocardiol, 2013; 18(4): 344–351.
21. Sanatani S, Whyte S. *Normal Tp-e values in children.* Anesth Analg, 2012; 114:240.
22. Antzelevitch C, Yan GX, Shimizu W. *Transmural dispersion of repolarization and arrhythmogenicity: the Brugada syndrome versus the long QT syndrome.* J Electrocardiol, 1999; 32 Suppl: 158-65.
23. Shimizu W, Antzelevitch C. *Cellular basis for long QT, transmural dispersion of repolarization, and torsade de pointes in the long QT syndrome.* J Electrocardiol, 1999; 32 Suppl: 177-84.
24. Haraguchi Y, et al. *Interval representative of transmural dispersion of repolarization in children and young adolescents with congenital long QT syndrome.* Circ J, 2005; 69(1): 78-82.

25. Extramiana F, Antzelevitch C. *Amplified transmural dispersion of repolarization as the basis for arrhythmogenesis in a canine ventricular-wedge model of short-QT syndrome*. *Circulation*, 2004; 110(24): 3661-6.
26. Nam GB, Burashnikov A, Antzelevitch C. *Cellular mechanisms underlying the development of catecholaminergic ventricular tachycardia*. *Circulation*, 2005; 111(21): 2727-33.
27. Shimizu M, et al. *T-peak to T-end interval may be a better predictor of high-risk patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with a cardiac troponin I mutation than QT dispersion*. *Clin Cardiol*, 2002; 25(7): 335-9.
28. Fish JM, Brugada J, Antzelevitch C. *Potential proarrhythmic effects of biventricular pacing*. *J Am Coll Cardiol*, 2005; 46(12): 2340-7.
29. Barbhaiya C, et al. *Tpeak - Tend and Tpeak - Tend /QT ratio as markers of ventricular arrhythmia risk in cardiac resynchronization therapy patients*. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2013; 36(1): 103-8.
30. Hershberger RE, Siegfried JD. *Update 2011: clinical and genetics in dilated cardiomyopathy*. *J Am Coll Cardiol*, 2011; 57(16): 1641-1649.
31. Garcia-Pavia P, Cobo-Marcos M, Guzzo-Merello G, et al. *Genetics in dilated cardiomyopathy*. *Biomarkers in Medicine*, 2013; 7(4): 517-533.
32. Yang J, Xu WW, Hu SJ. *Heart failure: advanced development in genetics and epigenetics*. *Biomed Res Int*, 2015; Volume 2015, Article ID 352734, 11 pages.
33. Kimura A. *Molecular genetics and pathogenesis of cardiomyopathy*. *J Hum Genet*, 2016; 61: 41-50.
34. Haas J, Katus HA, Meder B, et al. *Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy*. *Eur Heart J*, 2015; 36(18): 1123–1135.
35. Meder B, Ruhle F, Weis T, et al. *A genome wide association study identifies 6p21 as novel risk locus for dilated cardiomyopathy*. *Eur Heart J*, 2014; 35: 1069–1077.
36. Meder B, Haas J, Keller A, et al. *Targeted next-generation sequencing for the molecular genetic diagnostics of cardiomyopathies*. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011; 4: 110–122.
37. Blue GM, Kirk EP, Giannoulatou E, et al. *Targeted next-generation sequencing identifies pathogenic variants in familial congenital heart disease*. *J Am Coll Cardiol*, 2014; 64(23): 2498-506.

38. S. Chen KS, Motonaga SA, Hollander, et al. *Prolonged JTc Interval Increases Risk of Life-Threatening Arrhythmias in Children With Dilated Cardiomyopathy*. The Journal of Heart and Lung Transplantation, 2015; 34 (4): 330.
39. Ken W, Chu L, Shi H, et al. *Idiopathic Dilated Cardiomyopathy in Children: A Single Medical Center's Experience*. J Chin Med Assoc, 2005; 68(8): 368-372.
40. Unverferth DV, Magorien RD, Moeschberger ML, et al. *Factors influencing the one-year mortality of dilated cardiomyopathy*. Am J Cardiol, 1984; 54: 147–52.
41. Meinertz T, Hofmann T, Kasper W, et al. *Significance of ventricular arrhythmias in idiopathic dilated cardiomyopathy*. Am J Cardiol, 1984; 53: 902–7.

## 20. ANEXOS

### 20.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO



2150 Bleecker Street, Utica, NY 13501-1387, Voice 315.735.2217, Fax 315.735.5648

---

## Informed Consent Forms

Attached are two Informed Consent Forms

The first form titled "Informed Consent Genetic Test for Inherited Cardiac Arrhythmias" is the consent to perform genetic screening under our CLIA protocols.

The second form titled "Consent Form for Human Subject Research" is the consent to perform genetic screening under our research protocols.

All blood samples will be initially screened under CLIA-approved protocols that are performed on genes that have been previously identified for the disease. The patient's signature on the first form titled "Informed Consent Genetic Test for Inherited Cardiac Arrhythmias" will permit us to conduct this clinical test.

If a mutation is not detected in previously identified genes or the results are not consistent with the disease, we will need a separate consent from the patient to proceed with the genetic screening of additional candidate genes under our research protocols. The patient's signature on the second form titled "Consent Form for Human Subject Research" will permit us to conduct this research protocol.

The patient's signature on both forms at this time will avoid any delays. Any screening results obtained from the screening of a candidate gene will not be available until approval from the NY State Department of Health is obtained for that gene.

Should you have questions regarding these forms, please contact us at [genetics@mmrl.edu](mailto:genetics@mmrl.edu) or by phone at 315-735-2217 ext. 119.

---



## Informed Consent Genetic Test for Inherited Cardiac Arrhythmias

### Background

Some diseases are inherited, or passed from parent to child. The genetic material that is transmitted from parents to children is in the form of DNA. The DNA contains some segments, called genes, which, when damaged, can cause disease. It is now possible to identify gene mutations and evaluate them for abnormal function. Identification of these altered genes can help us understand the basis of the disease and how to design new treatments and cures. In some cases, identification of a faulty gene requires study of multiple members of a family affected with the disease.

1. The purpose of this test is the identification of gene mutation associated with familial inherited cardiac diseases like Brugada syndrome, Long QT syndrome, Short QT syndrome, atrial fibrillation or idiopathic ventricular fibrillation. The results of the test may assist your physician with diagnosis of the disease, its medical management and identification of affected family members.
2. By signing this consent, you authorize your doctor's office to draw and forward your/your child's blood, DNA or tissue samples, electrocardiogram and related clinical information to the Masonic Medical Research Laboratory. A blood sample of 3 tubes (approximately 1 teaspoon each) would be required for adults and a maximum of 1-2 tubes (1-2 teaspoon total) will be required for children under 14. Clinical information may be necessary for test interpretation and is often helpful in guiding the search for the genetic defect. The clinical information and result of this test will be treated in the standard medically confidential manner, and will be released only to the physician(s) ordering the test or other persons authorized by you, in writing, unless otherwise required by federal and state laws. In rare cases in which we experience difficulty in analyzing your sample, a second sample may be requested.
3. The only physical risk present in this test involves drawing blood from a vein, usually from the arm. Rarely bleeding (usually a very small amount) or infection, just like any other small scratch may occur. If any other procedure that requires drawing blood is already being performed, no added risk will occur due to this study. There is a potential risk in genetic testing for uncovering and conveying unwanted information regarding parentage or specific risk for disease.
4. Your/your child's blood or tissue sample and any DNA will be destroyed no more than 60 days after your results are finalized, unless family member testing is requested; in which case all samples will be destroyed no more than 60 days after last family member testing is complete. No tests other than those authorized shall be performed on the sample. If you choose not to proceed with the test after Masonic Medical Research Laboratory receives your sample, it will be destroyed once we have written confirmation

Page 1 of 2



of your wishes. If Masonic Medical Research Laboratory is unable to confirm that you wish to proceed with testing, your sample will be destroyed no less than 60 days after Masonic Medical Research Laboratory's last contact with you.

5. The test will involve direct sequencing of DNA to detect the presence of a genetic variation that may be responsible for the disease. The results of this test are not intended to be used as the sole means for diagnosis or patient management decisions. The performance characteristics of this test were validated by Masonic Medical Research Laboratory and it is specific only for variants in genes that are associated with cardiac ion channel mutations. The U.S. Food and Drug Administration (FDA) has not approved this test; however, FDA approval is not currently required for clinical use of this test. This test was completed in a CLIA/CLEP approved laboratory.
6. By signing this consent, you give Masonic Medical Research Laboratory permission to retain your/your child's genetic information generated by this test and to contact you if Masonic Medical Research Laboratory learns new information about the genetic variants detected by this test that affects your current test results.
7. In the interest of science, summary results from this test may be presented, for example at meetings, in publications, or on the Internet; however, no information that can identify you will ever be disclosed, unless authorized in writing by you or required by law.

**I have read this form completely and understand its contents. I have had the opportunity to ask questions about this form and have had any questions answered. I will receive a copy of this consent form.**

**NAME OF PHYSICIAN:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Signature of Patient or Legal Guardian:

\_\_\_\_\_  
Signature of Witness

\_\_\_\_\_  
Date (DD/MM/YYYY)

\_\_\_\_\_  
Date (DD/MM/YYYY)

\_\_\_\_\_  
Print Name

\_\_\_\_\_  
Print Name

**If this consent is signed by a Legal Guardian, state the relationship to the Patient:** \_\_\_\_\_

**NOTE:** Genetic testing on children less than 18 years of age requires that the ordering physician obtain an informed consent from a parent or legal guardian.

Consent Form for Human Subject Research  
Conducted at the Masonic Medical Research Laboratory  
Molecular Genetics Laboratory  
Molecular Genetic Basis for Inherited Cardiac Arrhythmias  
IRB Re-approval 11/13/2014  
Amendment 1

**Background**

Some diseases are inherited, or passed from parent to child in some families. The material that is transmitted from parents to children is called DNA. The DNA contains some segments, called genes, which, when damaged, can cause disease to the patient. It is now possible to locate these genes in the DNA and analyze them for abnormal function. Identification of these altered genes in the individuals can help understand how the abnormal gene causes the disease. Identification of these genes requires the study of multiple individuals in families affected with the disease. Stem cells created from donated tissues may be used to create cellular models of the disease, which can be used to develop new therapies for the disease. Various aspects of this research study supported by the American Heart Association and National Institutes of Health.

**Purpose**

The purpose of this study is the identification of abnormal genes responsible for familial inherited cardiac diseases like Brugada syndrome, Long QT syndrome, atrial fibrillation or familial bundle branch block. The information obtained will help advance the understanding of the disease being studied. The study will be recruiting individual for the next 10 years and enroll about 500 patents each year.

**Procedures**

You will be one of approximately 500 patients each year for the next 10 years to be asked to participate in this trial. Adult individuals will be asked to donate blood (1-3 teaspoons). Children under 14 will be required to donate a maximum of 1 teaspoon (5 ml). DNA obtained will be used to determine whether the markers follow the disease gene within their particular family. While the individual will have completed his or her role in this project after giving blood, the linkage (or mapping) studies may go on for years before significant results are obtained. On occasion, if DNA is used up, that person may be asked to donate a small sample of blood once again. In some cases you will be asked to donate a small sample of tissue from any part of the body. This may be in the form a skin biopsy. In this case a biopsy refers to the removal of a very small sample of tissue from a living person for laboratory examination. This tissue may be converted to stem cells in order to create models of the disease in which to examine new therapies for your disease.

The samples will be stored in the form of DNA or cell lines in the Molecular Genetics laboratory at the Masonic Medical Research Laboratory. As part of the genetic analysis different candidate genes will be analyzed over time. The DNA will only be used to identify genetic risk factors for cardiac arrhythmias. If the patient decides to withdraw from the study, or if the study is completed, the DNA will be discarded per patient indication. The DNA or cells will not be sold or transferred for commercial purposes. They may be shared with other laboratories for the purpose of research collaboration. Because there is worldwide recruitment, my primary physician will explain the consent and the procedure and answer any questions that I may have.

## Molecular Genetic Basis for Inherited Cardiac Arrhythmias

### Protected Health Information

I understand that my physician will be asked to send copies of protected health information related only to this research study to the Masonic Medical Research Laboratory for proper genetic classification. This health information will be secured in compliance to all HIPAA regulations and any information used for the study will not include any personal identification. I authorize the Masonic Medical Research Laboratory to obtain said protected health information from my physician and any medical facility providing care related to my cardiac condition. I understand that I have the right to revoke this authorization at any time. I understand that should I revoke this authorization I must do so in writing to the Masonic Medical Research Laboratory or to my physician in charge of this collaboration.

Due to the research aspect of this study, I understand that I will not be able to receive the results of the genetic screening until the study is approved by the NYS Department of Health for clinical diagnosis. I understand that the results of the genetic study will then only be released to the physician of record. I can request, in writing, that the results be sent to additional physicians for the purpose of continuity of care or the physician on record can be changed. Results obtained will not be given to the patient directly.

### Potential Risks and Discomforts

The only physical risk present in this study involves drawing blood from a vein, usually from the arm. Rarely bleeding (usually a very small amount) or infection, just like any other small scratch may occur. In the case of skin biopsies, the risk is mild local pain, slight bleeding, the chance of a small scar, and slight chance of infection. If any other procedure that requires drawing blood is already being performed, no added risk will occur due to this study.

There is a potential risk in genetic testing for uncovering and conveying unwanted information regarding parentage or specific risk for disease. This risk includes: Information that may compromise your insurability and you may learn information about yourself or your family that you did not really want to know, or may be uncomfortable knowing (such as that you not biologically related).

### Potential Benefits

You have been told that the benefits of participating in this study may be that the information obtained during this study might result in improved diagnosis and treatment of the disease. However, you may receive no benefit from participating in this study.

### Alternatives

The only alternative to this study is non-participation.

### Subject Costs and Payments

There are no costs to you subject to your participation in this research study. The only costs that you may encounter are the cost associated with obtaining and sending the sample to us. Additional treatment or genetic counseling may be warranted as determined by the course of treatment agreed upon by you and your physician.

### Subject's Rights

There may be unknown risks/discomforts involved. You will receive any new information discovered during the course of this study, concerning significant treatment findings that may

## Molecular Genetic Basis for Inherited Cardiac Arrhythmias

affect your willingness to continue participating in this research study.

Every effort will be made to maintain the confidentiality of your study records. The data from the study may be published; however, you will not be identified by name. The confidentiality of the data will be maintained within legal limits. In the event of injury resulting from this research, Masonic Medical Research Laboratory is not able to offer financial compensation nor to absorb the costs of medical treatment. However, necessary facilities, emergency treatment and professional services will be available to you, just as they are to the general community. Your signature below acknowledges your voluntary participation in this research project. Such participation does not release the investigator(s), institution(s), sponsor(s) or granting agency(ies) from their professional and ethical responsibility to you.

You may refuse to participate or may discontinue your participation AT ANY TIME, without penalty, loss of benefits, or change in present or future care. The investigator has the right to withdraw you from the study at any time. Your withdrawal from the study may be for reasons related solely to you (e.g. not following study-related directions from the Investigator, a serious adverse event reaction) or because the entire study is terminated. The Sponsor has the right to terminate the study or the Investigators participation in the study at any time.

The co-investigators, HECTOR BARAJAS-MARTINEZ, PHD; AND DAN HU, MD, PHD and/or his designee have attempted to answer all of your questions. If you have further questions or concerns, please address them with the study representative now. For questions about your rights as a research participant, you may contact the Faxton-St. Luke's Healthcare Institutional Review Board (a group of people who review the research to protect your rights) representative Karen Christensen at (315) 732-8953. If questions/concerns arise during the course of the study, you may speak with the principal investigators, DR. HECTOR BARAJAS-MARTINEZ, AND DR. DAN HU, at (315) 735-2217 or by e-mail at [genetics@mmrl.edu](mailto:genetics@mmrl.edu)

Signing this consent form indicates that you have read this consent form (or have had it read to you), that your questions have been answered to your satisfaction, and that you voluntarily agree to participate in this research study.

_____	_____	
Subject	Date	
_____	_____	_____
Legal Representative or Next of Kin	Date	Relationship to Subject
_____	_____	
Investigator or Designee Obtaining Consent	Date	
_____	_____	
Witness (if applicable)	Date	

## CHILDREN CONSENT

Your signature on this consent form attests to the fact that your child \_\_\_\_\_ has, within limits imposed by age, maturity, and psychological state, given his/her assent (affirmative agreement) to participate in this research project.

## 20.2 FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS



2150 Blackbar Street • Utica, NY 13501-1387 • Voice 315.735.2217 • Fax 315.735.5648

**CLINICAL INFORMATION FORM**

Patient's name: \_\_\_\_\_

Gender:  Male  Female Date of Birth: \_\_\_\_\_ Diagnosis: \_\_\_\_\_

Age at Diagnosis: \_\_\_\_\_ Ethnic Background \_\_\_\_\_

Race:  Caucasian/White  Black or African American  American Indian/ Alaska Native  
 Asian  More than one race  Other \_\_\_\_\_

Date of diagnosis (date of the first abnormal ECG recorded, in presence or absence of symptoms): \_\_\_\_\_

Family history: \_\_\_\_\_

**Medical History**

Symptoms at diagnosis (ie: Sudden or aborted sudden death, syncope of unknown origin, vasovagal syncope, atrial fibrillation, etc.) \_\_\_\_\_

Cardiac \_\_\_\_\_

Non-cardiac. \_\_\_\_\_

Infectious Disease  Yes  No  Unknown If Yes  HIV  Hepatitis C  Fungal Disease  
 Other \_\_\_\_\_**EPS**

	<b>EPS Basal</b>	<b>EPS Drug Challenge</b>
Not available		
Drug	None	
Inducible		
Not inducible		
N°Extras(1,2,3)		
HV Interval (msec)		

• Other cardiac tests: \_\_\_\_\_

• Treatment after diagnosis:  ICD  Beta Blockers  Amiodarone  Quinidine No treatment  Other \_\_\_\_\_Death:  Yes  No Date of death: \_\_\_\_\_ Cause of death: \_\_\_\_\_

Please include include copies of ECGs performed and all other relevant information and test results that you feel are important.

Thank you very much for you cooperation.



---

2150 Bleeker Street • Utica, NY 13501-1387 • Voice 315.735.2217 • Fax 315.735.5648

I, Dr....., authorize the Masonic Medical Research Laboratory to use the data concerning my patient (s) and to list my name and institution in the appendix of cooperative centers. Patient's name will remain confidential.

\_\_\_\_\_  
Signature

\_\_\_\_\_  
Insitution

\_\_\_\_\_  
Date

