



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Aplicación de nuevas tecnologías de
secuenciación masiva al diagnóstico de
enfermedades genéticas cardíacas
heterogéneas

Sonia Santillán Garzón



Tesis

Doctorales

www.eltallerdigital.com

UNIVERSIDAD de ALICANTE

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA

***APLICACIÓN DE NUEVAS TECNOLOGÍAS DE
SECUENCIACIÓN MASIVA AL DIAGNÓSTICO DE
ENFERMEDADES GENÉTICAS CARDÍACAS
HETEROGÉNEAS***

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR:

D^a. SONIA SANTILLÁN GARZÓN, MD.

ALICANTE, ENERO DE 2015

Título de Tesis Doctoral

Aplicación de Nuevas Tecnologías de Secuenciación Masiva al Diagnóstico de Enfermedades Genéticas Cardíacas Heterogéneas

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. JAVIER BENÍTEZ ORTIZ

TUTOR:

Dr. JOAQUÍN DE JUAN HERRERO

PROGRAMA DE DOCTORADO

PLAN 4699.

BIOTECNOLOGÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

(BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA)

AGRADECIMIENTOS

La Tesis Doctoral que ahora presento, no habría sido posible ejecutarla sin la ayuda y el apoyo de muchas personas a quienes agradezco a continuación.

En primer lugar quiero agradecer a Dña. Lorena Saus, Gerente de la empresa Sistemas Genómicos, quien con su continuo esfuerzo e inversiones ha hecho posible aplicar la mejor tecnología al diagnóstico y a la investigación en Genética Humana y, por su confianza al haberme nombrado como Responsable de la Unidad de Genética Médica desde 2010, año en el que iniciamos este nuevo reto tecnológico de aplicar la Secuenciación Masiva al diagnóstico de las enfermedades genéticas heterogéneas. Este cargo que ocupó hasta la actualidad ha permitido el diseño y desarrollo del estudio de más de 2000 genes en las diferentes especialidades médicas.

En este mismo contexto, quiero agradecer al Director de esta Tesis Doctoral, Dr. Javier Benítez Ortiz, Director del Programa de Genética del Cáncer Humano del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO, Madrid) y Director del Centro Español de Genotipado (CEGEN, Madrid), quien con su ejemplo, su amplio conocimiento de la Genética y constante apoyo ha dirigido este trabajo hasta la presentación de esta tesis en este tribunal.

Igualmente, agradecer al Dr. Joaquín de Juan Herrero, tutor de esta tesis, Catedrático del Departamento de Biotecnología de la Universidad de Alicante, quien con su apertura y apoyo desinteresado ha facilitado la presentación de esta tesis en la Universidad de Alicante en donde realicé mi formación preparatoria para conseguir este objetivo.

A todos los profesionales de la Unidad de Genética Médica de Sistemas Genómicos: Dres. Celia Buades, Lucía Pérez-Cabornero, Alejandro Romera, Diego Cantalapiedra, Diana Valero, Dan Diego, quienes con su conocimiento, esfuerzo y dedicación han facilitado el desarrollo de este modelo de estudio.

Igualmente a todo el personal del Laboratorio de Biología Molecular por su capacidad de trabajo.

No puedo dejar de agradecer a las Unidades de Nuevas Tecnologías, representada por la Dra. Victoria Fernández Pedrosa, quienes se encargan de la aplicación de las técnicas de secuenciación masiva; a la Unidad de Bioinformática, que realizan el diseño y el estudio bioinformático de las muestras con el desarrollo de pipelines actualizados, especialmente a la Dra. Sheila Zúñiga quien, con su conocimiento me ha ayudado en este esfuerzo; al Departamento de Calidad representado por Raquel Carrero, quien me ha apoyado con su conocimiento.

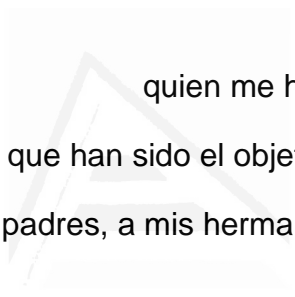
Merecen especial mención todos los departamentos de Sistemas Genómicos: Proyectos de Investigación, Departamento Comercial, sin su trabajo no sería posible la ejecución de este trabajo así como a Administración, Informática, Gestión de muestras por su dedicación y apertura en todo momento.

A todos los médicos españoles y de diversos países del mundo que han confiado en nuestro trabajo enviando los estudios de sus pacientes.

Gracias a todos los amigos que me han estimulado a no desmayar en este esfuerzo, especialmente a Luz Buelga.

Igualmente, agradecer a Andrea Silva por su colaboración con el formato de tesis.

Por último, me gustaría dar las gracias a mi esposo Dr. Ramiro Montenegro Montenegro, Cirujano Cardiovascular, quien con su conocimiento y formación participó en el diseño de las enfermedades cardiovasculares y especialmente con su cariño, comprensión y apoyo incondicional durante toda la vida que llevamos juntos.



A Ramiro Montenegro,
quien me ha impulsado a seguir adelante.
A mis hijos Ramiro y Paul que han sido el objetivo más importante de mi vida.
A mis padres, a mis hermanos, a Faby y a toda mi familia.

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant **RESUMEN**
Universidad de Alicante

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte en el mundo. La mayoría de las miocardiopatías y canalopatías son de origen genético y se caracterizan por el riesgo de muerte súbita y morbilidad crónica. La detección de mutaciones en los pacientes, permite establecer el diagnóstico molecular y en algunos casos definir su pronóstico o medidas terapéuticas o preventivas, así como asesorar a las familias del afecto. Sin embargo, el gran número de genes implicados, hace que sea difícil su análisis utilizando técnicas convencionales de secuenciación.

OBJETIVOS

Con este trabajo se pretende caracterizar, desde el punto de vista molecular, a un grupo de pacientes afectados de patología cardiovascular de origen heterogéneo, mediante la utilización de paneles de resecuenciación dirigida de 72 genes.

Los objetivos propuestos fueron:

1. Diseñar y validar un panel de resecuenciación dirigida a enfermedades cardiovasculares genéticas heterogéneas con riesgo de muerte súbita.
2. Desarrollar una estrategia de estudio de alta sensibilidad y especificidad para aplicar al diagnóstico de enfermedades cardiogenéticas con riesgo de muerte súbita mediante secuenciación masiva.
3. Trasladar a la práctica clínica las nuevas técnicas de secuenciación masiva. Para ello se va a utilizar un modelo de enfermedades con gran heterogeneidad genética y un panel de genes asociado al desarrollo de diferentes patologías cardiovasculares para confirmar su diagnóstico.

PACIENTES Y MÉTODOS

El diseño del panel para enfermedades cardiovasculares con riesgo de muerte súbita fue de 72 genes y se realizó mediante la búsqueda de información clínica y genética en las diferentes fuentes de información biomédica. Este diseño incluyó genes asociados a miocardiopatías, trastornos del ritmo cardíaco y aneurismas de aorta de tipo genético, monogénico y heterogéneo. El diseño bioinformático se realizó en la Unidad de Bioinformática de Sistemas Genómicos e incluyó 1.4 Mb de exones de los que 100 nucleótidos/gen correspondían a las zonas de *splicing*. Las regiones no traducidas 5' y 3' de los 72 genes se diseñaron con 1000 y 200 nucleótidos, respectivamente, mediante la herramienta eArray, proporcionado por Agilent.

La validación bioinformática se llevó a cabo con la línea celular HapMap12144 y la validación clínica se realizó con 10 muestras de pacientes previamente diagnosticados de enfermedades cardiovasculares con riesgo de muerte súbita.

El desarrollo de un pipeline de diagnóstico incluyó la aplicación de un sistema de filtrados para categorizar a las diferentes variantes encontradas, consulta de bases de datos, estudios de predicción *in silico*, clasificación de las variantes, validación por secuenciación Sanger de todas las variantes potencialmente patogénicas y de las variantes de significado desconocido y elaboración del informe clínico biológico.

Este modelo de trabajo se aplicó sobre un grupo de 163 pacientes afectados de diferentes patologías cardiovasculares de tipo monogénico, analizados durante dos años en la Unidad de Genética Médica de Sistemas Genómicos.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en 163 pacientes con diferentes enfermedades cardiovasculares y riesgo de muerte súbita, mediante el análisis de 4795 genes, fueron: detección de 45 mutaciones, 26 de ellas previamente descritas, 14 nuevas mutaciones y 178 variantes de significado desconocido que fueron evaluadas a través de predicciones *in silico* y validadas por secuenciación Sanger. En resumen, un 27.6% de los pacientes afectados de diferentes patologías susceptibles de producir muerte súbita, pudieron ser genéticamente diagnosticados y establecer el diagnóstico precoz y medidas preventivas en los familiares en riesgo.

La sensibilidad bioinformática del panel de 72 genes fue de 96.68% para SNPs y 70.85% para Indels en la plataforma SOLID v.4, mientras que la validación diagnóstica fue del 100% para SNPs y del 90% para Indels.

CONCLUSIÓN

La resecuenciación dirigida del panel de 72 genes asociado a patología cardiovascular de origen genético heterogéneo permite un análisis rápido, eficiente, de alto rendimiento y coste efectivo para la detección de mutaciones en todos los genes descritos, implicados en una patología, mejorando los registros de mutaciones. Estos resultados son importantes para establecer el diagnóstico molecular del paciente, explicar la variabilidad fenotípica de la enfermedad cardíaca y asesorar a la familia del afecto sobre la necesidad de políticas preventivas si son portadores de mutaciones.



Universitat d'Alacant **ABSTRACT**
Universidad de Alicante

INTRODUCTION

Cardiovascular disease is the main cause of death all over the world. Most of cardiomyopathies and channelopathies have genetic origin and they are characterized by the high risk of sudden death and chronic morbidity. Mutation detection among the patients allows making molecular diagnosis and in some cases to make decisions concerning prognosis, therapeutic or preventive measures and to advise affected families. However, the large number of genes involved, makes it difficult to analyse using conventional sequencing techniques.

AIM

The aim of this work is to characterize from the molecular point of view a group of patients with cardiovascular disease of heterogeneous origin, using resequencing panels of 72 genes.

The objectives established in the work were:

1. To design and to validate a resequencing panel aimed at heterogeneous genetic cardiovascular diseases characterized by a risk of sudden death.
2. To develop an analytic strategy characterized by high sensitivity and specificity with the aim of amplification of diagnosis of cardiogenetic diseases with the risk of sudden death by means of massive sequencing.
3. To implement into clinical practice new techniques of next generation sequencing. For this aim there will be an established model for the diseases with genetic heterogeneity and there will be a panel of genes associated with the development of various cardiovascular pathologies to verify the diagnosis.

PATIENTS AND METHODS

The panel designed for cardiovascular diseases characterized by the risk of sudden death was the one represented by 72 genes and it was found in the course of investigation of clinical and genetic information from different sources of biomedical data. This design included cardiomyopathy, heart rhythm disorders and genetic aortic aneurysms of monogenic and heterogeneous types.

Bioinformatics design was established in the Bioinformatics Department in Sistemas Genómicos and it included 1.4 Mb of exons, of which 100 nucleotides / gene corresponded to areas of *splicing*. Untranslated regions 5' and 3' of the 72 genes were designed in 1000 and 200 nucleotides, respectively by means of eArray tool, provided by Agilent.

Bioinformatics validation was performed with the cell line HapMap12144, while clinical validation took place with 10 previously diagnosed samples of cardiovascular diseases characterized by the sudden death of patients.

The development of a pipeline of diagnosis included the implementation of a filtered system to categorize different variants found in the analysis, the access and investigation of databases, *in-silico* studies, classification of the variants, validation of all potentially pathogenic variants and the variants of unknown significance through Sanger sequencing and the preparation of biological clinical report.

This model was applied to a group of 163 patients with different pathologies who were under analysis during two years in the Medical Genetics Unit of Sistemas Genómicos.

RESULTS

The results obtained in samples of 163 patients with various cardiovascular diseases characterized by the risk of sudden death by means of analyzing 4795 genes were: the detection of 45 mutations, 26 of which were previously described, the detection of 14 new mutations and 178 variants of unknown significance, which were evaluated by means of *in-silico* prediction and validated through Sanger

sequencing. In summary, 27.6% of patients with different pathologies which may cause sudden death, could be genetically diagnosed and establish early diagnosis and preventive measures in risk members of families.

Bioinformatics sensitivity of the panel of 72 genes was 96.68% for SNPs and 70.85% for Indels in SOLID v.4 platform, while diagnostic validation was 100% for SNPs and 90% for Indels.

CONCLUSIONS

Resequencing of 72 genes of one panel related to a cardiovascular pathology of heterogeneous genetic origin permits to carry out a fast, efficient analysis, characterized by high performance and relatively low cost, for the detection of mutations in all genes involved in a disease and to improve mutations records. These results are important to make molecular diagnosis of the patient, to explain phenotypic variability of heart disease and to advise affected family on the issues of preventive policies if its members are carriers of mutations.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.	GENERALIDADES.....	3
1.1.	<i>Enfermedades cardiovasculares asociadas a Muerte Súbita.</i>	5
1.2.	<i>Bases genéticas de las Enfermedades Cardiovasculares: Heterogeneidad genética.</i>	7
2.	ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES DE ORIGEN GENÉTICO HETEROGÉNEO.	9
2.1.	<i>Miocardiopatías asociadas a Muerte súbita.</i>	9
2.1.1.	Miocardiopatía Hipertrófica (MCH)	10
2.1.2.	Displasia o Miocardiopatía Arritmogénica de Ventrículo Derecho (DAVD).	11
2.1.3.	Miocardiopatía Dilatada (MCD)	12
2.1.4.	Miocardiopatía Restrictiva (MCR).....	13
2.1.5.	Miocardiopatía No Compactada de Ventrículo Izquierdo (LVNC)	14
2.2.	<i>Trastornos del ritmo cardíaco</i>	15
2.2.1.	Síndrome de Brugada (SB)	16
2.2.2.	Síndrome QT Largo (SQTL).....	17
2.2.3.	Síndrome QT Corto (SQTC)	19
2.2.4.	Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica (TVPC)	20
2.2.5.	Fibrilación Auricular Familiar (FAF).....	20
2.3.	<i>Trastornos genéticos asociados a Aneurismas de Aorta torácica familiar (TAAD)</i>	22
2.4.	<i>Anomalías congénitas de las arterias coronarias.</i>	25
3.	APORTACIÓN DE LAS NUEVAS TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA AL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS.	26
3.1.	<i>Técnicas actuales de estudio</i>	26
3.2.	<i>Next-Generation Sequencing</i>	28
3.2.1.	Secuenciador 454-Roche	30
3.2.2.	Secuenciador SOLID.....	30
3.2.3.	Secuenciadores de Illumina	31
3.2.4.	Desarrollo de nuevas plataformas.....	32
3.3.	<i>Desde la investigación científica hacia el diagnóstico clínico mediante la secuenciación masiva</i>	33
3.4.	<i>El Diagnóstico Genético mediante NGS: Resecuenciación dirigida. Ventajas e inconvenientes.</i>	36
II.	HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN	43
1.	HIPÓTESIS	45
2.	JUSTIFICACIÓN.....	45

III. OBJETIVOS.....	47
OBJETIVO 1: DISEÑAR Y VALIDAR PANELES DE RESECUENCIACIÓN DIRIGIDA A ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS CON RIESGO DE MUERTE SÚBITA.....	51
IV. OBJETIVO 1: MATERIALES Y MÉTODOS	53
1. DISEÑO PANEL DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA. MÉTODO UTILIZADO	55
1.1. <i>Búsqueda de información de Enfermedades Cardiovasculares.....</i>	55
1.2. <i>Elaboración del listado de enfermedades y genes asociados.....</i>	56
1.3. <i>Información Genética.....</i>	60
2. DISEÑO BIOINFORMÁTICO DEL PANEL DE 72 GENES DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.	64
3. VALIDACIÓN DEL PANEL DE 72 GENES DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.	66
3.1. <i>Muestras utilizadas para la validación del panel.....</i>	66
3.2. <i>Métodos.....</i>	66
V. OBJETIVO 1: RESULTADOS.....	69
1. VALIDACIÓN BIOINFORMÁTICA DEL PANEL DE 72 GENES.	71
2. VALIDACIÓN DIAGNÓSTICA CON MUESTRAS CONOCIDAS.	72
OBJETIVO 2: DESARROLLAR UNA ESTRATEGIA DE ESTUDIO DE ALTA ESPECIFICIDAD PARA APLICAR AL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CARDIOGENÉTICAS CON RIESGO DE MUERTE SÚBITA MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA.....	75
VI. OBJETIVO 2: MATERIALES Y MÉTODOS	77
1. DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN SECUENCIACIÓN MASIVA.	79
VII. OBJETIVO 2: RESULTADOS.....	81
1. SISTEMA DE FILTRADOS.....	83
2. CONSULTA DE BASES DE DATOS.	84
3. ESTUDIOS DE PREDICCIÓN <i>IN SILICO</i>	86
4. CLASIFICACIÓN DE VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO.....	88
5. INTERPRETACIÓN BIOLÓGICA DE VARIANTES NUCLEOTÍDICAS.....	88
6. VALIDACIÓN DE VARIANTES A TRAVÉS DE SECUENCIACIÓN SANGER.....	90
7. INFORME CÍNICO-BIOLÓGICO DE RESULTADOS OBTENIDOS POR SECUENCIACIÓN MASIVA.....	90
OBJETIVO 3: TRASLADAR LA TECNOLOGÍA A LA PRÁCTICA CLÍNICA ANALIZANDO UN AMPLIO GRUPO DE PACIENTES CON PATOLOGÍA CARDIOVASCULAR PARA CONFIRMAR SU DIAGNÓSTICO GENÉTICO.....	93

VIII. OBJETIVO 3: MATERIALES Y MÉTODOS	95
1. PACIENTES	97
1.1. Selección del panel de genes según el diagnóstico cardiológico	105
2. METODOLOGÍA UTILIZADA.....	108
IX. OBJETIVO 3: RESULTADOS.....	111
1. MUTACIONES DETECTADAS.....	113
2. CLASIFICACIÓN DE MUTACIONES	115
3. VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO DETECTADAS	117
4. AUSENCIA DE VARIANTES	118
5. RESULTADOS DE MUTACIONES POR PATOLOGÍAS ESTUDIADAS.....	119
5.1. Mutaciones en Miocardiopatías.....	119
5.1.1. Miocardiopatía Hipertrófica	119
5.1.2. Miocardiopatía Dilatada	122
5.1.3. Ventrículo izquierdo no compactado (LVCN) y Displasia/miocardiopatía arritmogénica de ventrículo derecho (DAVD).....	124
5.2. Mutaciones en Trastornos del ritmo cardíaco.....	125
5.3. Mutaciones en Aneurisma de Aorta primario y asociado a síndromes	126
5.4. Mutaciones en otros genes	126
X. DISCUSIÓN	129
1. MUERTE SÚBITA CARDIOVASCULAR	133
2. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA	134
3. MIOCARDIOPATÍA DILATADA.....	136
4. DISPLASIA ARRITMOGENICA DE VENTRICULO DERECHO.....	138
5. TRASTORNOS DEL RITMO CARDÍACO	139
6. ANEURISMA DE AORTA TORÁCICA FAMILIAR.....	140
8. VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO.....	144
9. AUSENCIA DE MUTACIONES	146
XI. CONCLUSIONES	149
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	153
XIII. ANEXOS	187
ANEXO I: ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS Y GENES ASOCIADOS.....	189
ANEXO II: VARIANTES DETECTADAS EN LÍNEA HAPMAP NA12144	198

ANEXO III: MUESTRAS PATOGENICAS ANONIMIZADAS UTILIZADAS PARA VALIDACION DEL PANEL DE 72 GENES RELACIONADOS CON ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SUBITA...	199
ANEXO IV: MODELO DE DATOS DE ANALISIS BIOINFORMATICO EN MUESTRAS DE ADN SOMETIDAS A SECUENCIACION MASIVA.....	200
ANEXO V: FORMULARIO DE PETICION, CONSENTIMIENTO INFORMADO, MODELO INFORME MCH, MODELO INFORME MUERTE SUBITA	211
ANEXO VI: LISTA DE PACIENTES ESTUDIADOS CON DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES GENETICAS HETEROGENEAS	247
ANEXO VII: RESULTADOS MOLECULARES DE 163 PACIENTES ESTUDIADOS	252
ANEXO VIII: VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO VALIDADAS POR SECUENCIACION SANGER.....	258
ANEXO IX: VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO CON PREDICCION IN SILICO DE TIPO INCIERTO Y PROBABLEMENTE NO PATOGENICAS.	263
ANEXO X: ACTIVIDAD CIENTIFICA EN SECUENCIACION MASIVA DESARROLLADA POR SONIA SANTILLAN GARZON.	268



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. RESUMEN DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES Y NÚMERO DE GENES ASOCIADOS ^{138,139,140}	26
TABLA 2. PLATAFORMAS MÁS UTILIZADAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA	32
TABLA 3. DISEÑOS DE ENFERMEDADES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS SISTEMAS GENÓMICOS.	42
TABLA 4. DISEÑO DE ENFERMEDADES CARDIOGENÉTICAS ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA. PANEL DE 72 GENES. 56	
TABLA 5. DATOS GENÉTICOS DE PANEL DE 72 GENES ASOCIADOS A MUERTE SÚBITA.	61
TABLA 6. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA Y 72 GENES CONTENIDOS EN EL PANEL DE SECUENCIACIÓN MASIVA.	65
TABLA 7. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA. N=49	99
TABLA 8. MIOCARDIOPATÍA DILATADA. N=14	100
TABLA 9. DISPLASIA ARRITMOGÉNICA VENTRÍCULO DERECHO. N=14	101
TABLA 10. VENTRÍCULO IZQUIERDO NO COMPACTADO. N=4	101
TABLA 11. MIOCARDIOPATÍA FAMILIAR Y MIOCARDIOPATÍA RESTRICTIVA. N=5	101
TABLA 12. SÍNDROME DE BRUGADA. N=5	102
TABLA 13. SÍNDROME QT LARGO. N=13	102
TABLA 14. SÍNDROME QT CORTO Y T. VENTRICULAR CATECOLAMINÉRGICA. N=3	102
TABLA 15. ARRITMIAS. N=7	103
TABLA 16. ANEURISMA DE AORTA Y SÍNDROME DE MARFAN. N=34	103
TABLA 17. MUERTE SÚBITA. N=15	104
TABLA 18. CORRELACIÓN DE NÚMERO DE PACIENTES ESTUDIADOS CON PANEL ESPECÍFICO PARA LA PATOLOGÍA Y NÚMERO DE GENES ANALIZADOS.	106
TABLA 19. CORRELACIÓN DE NÚMERO DE PACIENTES ESTUDIADOS CON PANEL NO ESPECÍFICO PARA LA PATOLOGÍA Y NÚMERO DE GENES ANALIZADOS.	107
TABLA 20. MUTACIONES DETECTADAS EN 163 PACIENTES.	114
TABLA 21. CLASIFICACIÓN DE MUTACIONES DETECTADAS.	116
TABLA 22. VARIANTES SIGNIFICADO DESCONOCIDO PROBABLEMENTE PATOGENICAS	117
TABLA 23. CASOS DE AUSENCIA DE MUTACIONES Y VARIANTES SIGNIFICADO DESCONOCIDO.	118
TABLA 24. MUTACIONES EN MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA.	122
TABLA 25. MUTACIONES EN MIOCARDIOPATÍA DILATADA.	123
TABLA 26. MUTACIONES EN OTRAS MIOCARDIOPATÍAS.	125
TABLA 27. MUTACIONES EN TRASTORNOS DEL RITMO.	125
TABLA 28. MUTACIONES EN ANEURISMAS DE AORTA.	126
TABLA 29. MUTACIONES EN OTROS GENES.	128
TABLA 1.A. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA Y GENES ASOCIADOS.	189
TABLA 1.B. DISPLASIA ARRITMOGÉNICA VENTRÍCULO DERECHO Y GENES ASOCIADOS.	190

TABLA 1.C. MIOCARDIOPATÍA RESTRICTIVA FAMILIAR Y GENES ASOCIADOS.	191
TABLA 1.D. MIOCARDIOPATÍA DILATADA Y GENES ASOCIADOS.....	191
TABLA 1.E. MIOCARDIOPATÍA NO COMPACTADA DE VENTRÍCULO IZQUIERDO Y GENES ASOCIADOS	192
TABLA 1.F. RASOPATÍAS.	193
TABLA 1.G. ANEURISMA DE AORTA TORÁCICA FAMILIAR AISLADA Y SINDRÓMICA Y GENES ASOCIADOS.....	193
TABLA 1.H. SÍNDROME DE BRUGADA Y GENES ASOCIADOS.	194
TABLA 1.I. SÍNDROME QT LARGO AISLADO Y SINDRÓMICO Y GENES ASOCIADOS.....	194
TABLA 1.J. SÍNDROME QT CORTO Y GENES ASOCIADOS.....	195
TABLA 1.K. TAQUICARDIA VENTRICULAR POLIMÓRFICA CATECOLAMINÉRGICA Y GENES ASOCIADOS	195
TABLA 1.L. FIBRILACIÓN AURICULAR FAMILIAR Y GENES ASOCIADOS	195
TABLA 1.M. FIBRILACIÓN VENTRICULAR FAMILIAR Y GENES ASOCIADOS.....	196
TABLA 1.N. TRASTORNOS GENÉTICOS DEL SISTEMA DE CONDUCCIÓN CARDÍACO Y GENES ASOCIADOS.	196
TABLA 1.O. CARDIOPATÍAS CONGÉNITAS Y GENES ASOCIADOS.	197
TABLA 1.P. ENFERMEDAD CORONARIA MONOGENICA Y GENES ASOCIADOS.	198
TABLA 3.A. MUESTRAS PATOGENICAS ANONIMIZADAS.....	199
TABLA 4.A. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO EN MUESTRAS DE ADN SOMETIDAS A SECUENCIACIÓN MASIVA.....	200
TABLA 6.A. LISTA DE PACIENTES ESTUDIADOS CON DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS Y NÚMERO DE GENES ANALIZADOS.	247
TABLA 7.A. RESULTADOS MOLECULARES DE 163 PACIENTES ESTUDIADOS.....	252
TABLA 8.A. VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO VALIDADAS POR SECUENCIACIÓN SANGER DETECTADAS EN 78 PACIENTES.	258
TABLA 9.A. 161 VARIANTES SIGNIFICADO DESCONOCIDO CON PREDICCIÓN IN SILICO INCIERTAS.	263
TABLA 9.B. VARIANTES SIGNIFICADO DESCONOCIDO CON PREDICCIÓN IN SILICO PROBABLEMENTE NO PATOGENICAS.	267

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. CAUSAS DE MUERTE SÚBITA EN MENORES DE 35 AÑOS.....	6
FIGURA 2. CAUSAS DE MUERTE SÚBITA EN MAYORES DE 35 AÑOS.....	6
FIGURA 3. FLUJOGRAMA DE ASESORAMIENTO GENÉTICO PREANALÍTICO Y POSTANALÍTICO.....	8
FIGURA 4. GENES IMPLICADOS EN MIOCARDIOPATÍAS.....	15
FIGURA 5. HETEROGENEIDAD GENÉTICA DE CANALOPATÍAS.....	21
FIGURA 6. ANEURISMAS DE AORTA TORÁCICA.....	25
FIGURA 7. EVOLUCIÓN DE LA SECUENCIACIÓN SANGER MANUAL A LA SECUENCIACIÓN MASIVA.....	28
FIGURA 8. CRECIMIENTO DE LA BASE DE DATOS dbSNP A LO LARGO DE LOS ÚLTIMOS 7 AÑOS.....	35
FIGURA 9. NÚMERO DE PUBLICACIONES APLICANDO <i>NEXT GENERATION SEQUENCING</i>	36
FIGURA 10. <i>NEXT GENERATION SEQUENCING</i> EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES MONOGENÉTICAS.....	39
FIGURA 11. EVALUACIÓN DEL DISEÑO DE SONDAS DEL PANEL 72 GENES DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.....	71
FIGURA 12. PROCEDIMIENTO DE DISEÑO Y VALIDACIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES DE ORIGEN HETEROGÉNEO A TRAVÉS DEL PANEL DE SECUENCIACIÓN MASIVA DE 72 GENES.....	73
FIGURA 13. FLUJOGRAMA DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES DE ORIGEN HETEROGÉNEO MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA EN PANEL DE 72 GENES.....	92
FIGURA 14. DISTRIBUCIÓN DE PATOLOGÍAS ESTUDIADAS, EXPRESADA EN PORCENTAJE.....	98
FIGURA 15. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES POR PATOLOGÍA Y GRUPOS DE EDAD MENOR O MAYOR A 35 AÑOS..	105
FIGURA 16. NÚMERO TOTAL DE GENES ANALIZADOS POR ENFERMEDAD EN 163 PACIENTES.....	108
FIGURA 17. RESUMEN DE VARIANTES DETECTADAS EN 163 PACIENTES.....	119
FIGURA 18. CASO 103: ÁRBOL GENEALÓGICO, RESULTADOS Y VALIDACIÓN POR SECUENCIACIÓN SANGER DE MUTACIÓN EN EL GEN <i>TTN</i>	124

ABREVIATURAS

ACV: Accidente cerebrovascular
ADN: Ácido desoxirribonucleico
ATS: Síndrome de Andersen-Tawil
CCA: Contractura congénita con aracnodactilia
ChIP-seq: Método de análisis de interacción de ADN con proteínas.
DAVD: Displasia arritmogénica de ventrículo derecho
ddNTPs: Didesoxinucleótidostrifosfato
DS: Desviación estándar
ECG: Electrocardiograma
ECV: Enfermedades cardiovasculares
ED IV: Síndrome de Ehlers-Danlos tipo IV
ENCODE: *Encyclopedia of DNA elements*
FAF: Fibrilación auricular familiar
F-TAAD: Aneurisma de aorta torácica familiar
HGMD: *Human Gene Mutation Database*
HGNC: *The HUGO Gene Nomenclature Committee*
HGP: *Human Genome Project*
ICGC: *International Cancer Genome Consortium*
IRAD: Registro internacional de disecciones aórticas
JLNS: Síndrome de Jervell y Lange-Nielsen
LDS: Síndrome de Loeys-Dietz
LOVD: *Leiden Open Variation Database*
LVNC: Miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo
MAF: Frecuencia de alelo minoritario
MCD: Miocardiopatía dilatada
MCF: Miocardiopatía familiar
MCH: Miocardiopatía hipertrófica
MCR: Miocardiopatía restrictiva
MS: Muerte súbita

MSF: Muerte súbita familiar
NGS: *Next-Generation Sequencing*
OMIM: *Online Mendelian Inheritance of Man*
PCR: Reacción en cadena de polimerasa
Polyphen: Polymorphism Phenotyping
RNA-Seq: Secuenciación de transcriptoma completo
SB: Síndrome de Brugada
SIFT: Sorting Intolerant From Tolerant
SM: Síndrome de Marfan
SNP: Polimorfismo de un nucleótido
SQTC: Síndrome QT corto
SQTL: Síndrome QT largo
TdP: Taquicardia ventricular *torsades de pointes*
TCGA: *The Cancer Genome Atlas*
TS: Síndrome de Timothy
TVPC: Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica
UKNEQAS: *United Kingdom National External Quality Assessment Service*
UTR: *Untranslated región*

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



I. INTRODUCCIÓN

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

1. GENERALIDADES

Las Enfermedades Cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en todo el mundo. Se calcula que en 2008 murieron por esta causa 17,3 millones de personas, que representa un 30% de todas las muertes registradas en el mundo; 7,3 millones de estas muertes se debieron a la cardiopatía isquémica coronaria y 6,2 millones de fallecimientos, se asociaron a accidentes cerebrovasculares (ACV). Se calcula que en el año 2030 morirán cerca de 25 millones de personas por ECV, especialmente por cardiopatías y ACV y seguirán siendo las principales causas de muerte¹⁵¹.

La mayoría de las ECV pueden prevenirse actuando sobre los factores de riesgo tanto de origen genético como ambiental. Siete millones y medio de muertes, es decir, el 13% de las muertes anuales, son atribuibles a hipertensión arterial. Esto incluye el 51% de las muertes por AVC y el 45% de las muertes por cardiopatía isquémica coronaria¹⁵¹.

En España, se produjeron 387.911 fallecimientos en el año 2011, con una tasa de mortalidad de 841/100.000 habitantes, con un incremento del 1.4% respecto del año anterior, según el Instituto Nacional de Estadística⁸⁸. Las enfermedades cardiovasculares continúan siendo la primera causa de muerte (30.5%), seguido de la patología tumoral (28.2%) y enfermedades del sistema respiratorio (10.9%). Además, hubo un incremento de mortalidad de las enfermedades del sistema nervioso al 5%, siendo la principal causa de muerte la enfermedad de Alzheimer con 11.907 defunciones⁸⁸.

En la Unión Europea estas enfermedades producen un coste superior a los 192 billones de euros al año. De ese coste, el 57% corresponde al gasto del sistema sanitario, el 21% por pérdidas productivas y el 22% al cuidado no reglado de las personas con enfermedades cardiovasculares^{48, 49}.

En este contexto sanitario, diversas sociedades científicas mundiales tales como *American Heart Association*, *European Society of Cardiology*, *American*

Association for Thoracic Surgery, Society of Thoracic Surgeons, entre otras, han desarrollado guías para establecer un diagnóstico temprano que permita definir políticas de prevención y pautas terapéuticas que disminuyan la mortalidad y morbilidad de las enfermedades cardiovasculares.

En el año 2011, un grupo de expertos de *Heart Rhythm Society* y *European Heart Rhythm Association* publicaron las guías sobre el estado actual del diagnóstico molecular en Canalopatías y Miocardiopatías, tomando en cuenta únicamente a aquellas patologías en las que se haya demostrado una frecuencia de mutaciones mayor al 5% y, la necesidad de que este tipo de estudios se manejen con asesoramiento genético pre analítico y postanalítico, dada la implicación familiar existente, iniciando los estudios genéticos con pacientes diagnosticados de patología cardiovascular².

Gracias a la revolución tecnológica de la secuenciación masiva y de la bioinformática y, la vertiginosa rapidez del conocimiento científico, se ha demostrado un número creciente de genes relacionados con patología cardiovascular que empiezan a explicar la variabilidad fenotípica intrafamiliar e interfamiliar de estas enfermedades dentro del proceso de diagnóstico y pronóstico del afecto. Igualmente, este nuevo conocimiento influye en el asesoramiento genético familiar sobre bases moleculares definidas.

Estas razones han influenciado en el desarrollo de una estrategia de estudio mediante nuevas tecnologías genómicas que permitan alcanzar objetivos sanitarios de disminución de mortalidad de personas en riesgo y de mejor utilización de recursos en políticas preventivas.

1.1. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.

Muerte Súbita (MS) se define como la muerte inesperada, no violenta ni traumática, que se presenta instantáneamente y hasta la primera a sexta hora de haberse iniciado los síntomas¹⁸¹.

El 40 a 50% de todos los casos de MS tienen un paro cardíaco sin síntomas previos por lo que sigue siendo un problema de salud pública en el mundo. En Estados Unidos se producen entre 200.000 a 250.000 muertes por año y, a nivel mundial no se puede hacer una estimación global; sin embargo, se considera que se encuentra entre 4 a 5 millones de fallecimientos por año, con una incidencia de 1.3 a 8.5/100.000 personas³⁰. Entre el 3 y 53% de las muertes súbitas afectan a niños, adolescentes y adultos jóvenes, previamente sanos y sin anomalías morfológicas identificables en la autopsia¹⁹³.

Alrededor del 90% de casos de MS se producen por cardiopatías siendo la primera causa de MS. De estas cardiopatías, entre el 25 al 50% tienen base genética o agregación familiar. Según la edad de presentación, la MS se clasifica en menores o mayores de 35 años debido a que la frecuencia de las patologías que originan MS es distinta. En el grupo de menores de 35 años, las enfermedades cardíacas genéticas, tales como miocardiopatía hipertrófica y anomalías congénitas de arterias coronarias constituyen el 62% de las causas de muerte. Otras causas de interés genético en este grupo de edad, constituyen diversos trastornos del ritmo cardíaco, rotura de aorta, displasia arritmogénica de ventrículo derecho y miocardiopatía dilatada¹⁸⁷ (Figura 1).

En el segundo grupo correspondiente a MS en mayores de 35 años, la enfermedad coronaria aterosclerótica es la principal causa de muerte con una frecuencia del 65%, mientras que la miocardiopatía hipertrófica desciende al 15%. La frecuencia de arritmias se mantiene en el 5% y en el grupo de "otras" se incluyen la displasia/miocardiopatía arritmogénica de ventrículo derecho y varias causas de origen multifactorial como accidentes cerebrovasculares, sarcoidosis,

enfermedad de Kawasaki, tumores intracardíacos, enfermedades pulmonares o abuso de drogas, particularmente cocaína¹⁹⁴ (Figura 2).

Una de las principales causas de MS constituye los aneurismas de la aorta torácica (F-TAAD) con una incidencia de 10,4 por cada 100.000 personas por año. Su riesgo de disección produce alrededor de 15.000 muertes por año, siendo la décimo quinta causa de muerte a nivel mundial, así como los síndromes de Marfan, Loeys-Dietz, Ehlers-Danlos tipo IV y Beals que cursan con aneurisma de aorta torácica¹²².

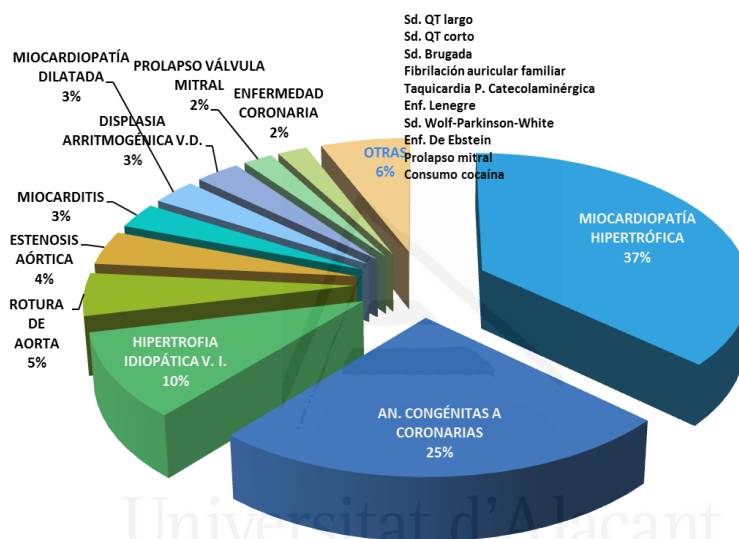


Figura 1. Causas de muerte súbita en menores de 35 años, modificada de diversas fuentes^{30, 193, 195}.

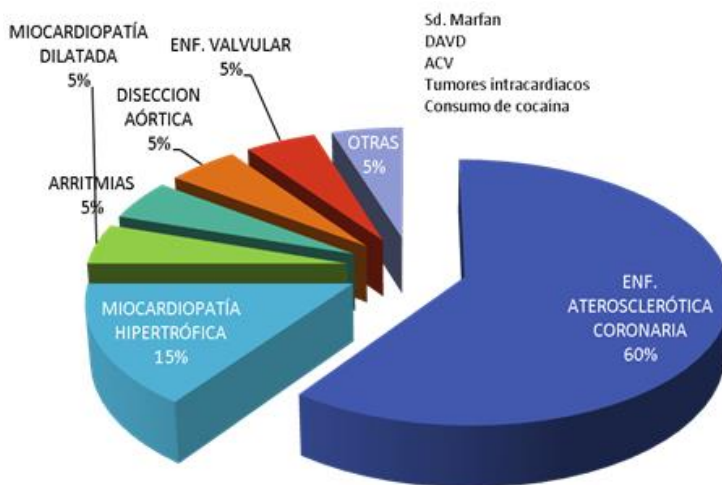


Figura 2. Causas de muerte súbita en mayores de 35 años, modificada de diversas fuentes^{30, 193, 195}.

1.2. BASES GENÉTICAS DE LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES: HETEROGENEIDAD GENÉTICA.

Se conoce como heterogeneidad genética cuando un mismo fenotipo o cuadro clínico, se produce por mutaciones en diferentes genes, siguiendo modelos de transmisión monogénico.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte en el mundo. La mayoría de las miocardiopatías, trastornos del ritmo y aneurismas de aorta son de origen genético y se caracterizan por el riesgo de muerte súbita y morbilidad crónica. La mayoría de estas enfermedades se heredan por un modelo autosómico dominante, con un riesgo de recurrencia del 50% en sus familiares de primer grado y con amplia variabilidad fenotípica intrafamiliar e interfamiliar. La detección de mutaciones en los pacientes, permite establecer el diagnóstico molecular y en algunos casos definir su pronóstico o medidas terapéuticas o preventivas, así como asesorar a las familias del afecto.

En la práctica clínica, el diagnóstico molecular ha sido limitado al estudio de los genes más frecuentes, que en el caso de miocardiopatías han sido los genes sarcoméricos, mientras que en las arritmias, se han estudiado los genes más frecuentes de los canales de sodio y potasio.

Sin embargo, estos trastornos cardíacos hereditarios se caracterizan por gran heterogeneidad genética y se han descrito más de 200 genes implicados en la etiología de estas enfermedades. El gran número de genes descritos y el descubrimiento creciente de nuevos genes involucrados en estas enfermedades, hace que sea difícil su análisis utilizando técnicas convencionales de secuenciación, ya que la estrategia de estudio gen a gen consume mucho tiempo, es laboriosa y costosa. Por tanto, no es posible la detección eficiente de mutaciones causantes de la enfermedad en un laboratorio de diagnóstico molecular de rutina, impidiendo su diagnóstico molecular, pronóstico y asesoramiento genético para el afecto y su familia.

Estas características genéticas complican extraordinariamente el diagnóstico molecular de estas patologías, impide definir su pronóstico según los genes mutados y las características moleculares de las mutaciones detectadas así como el establecimiento de medidas preventivas y de seguimiento en el manejo cardiovascular del paciente y de familiares en riesgo, en quienes se haya detectado mutaciones dentro del proceso de asesoramiento genético².

El asesoramiento genético incluye la valoración genética preanalítica del afecto y su familia antes de la realización de las pruebas, así como el asesoramiento genético postanalítico en la emisión de resultados para transmitir la información de los hallazgos moleculares y la repercusión genética en el afecto. Con estos datos el paciente continúa con su seguimiento en Cardiología. El asesoramiento genético postanalítico también ayuda a definir a los familiares en riesgo que deben ser estudiados, así como sus opciones reproductivas, tal como se expresa en la Figura 3.

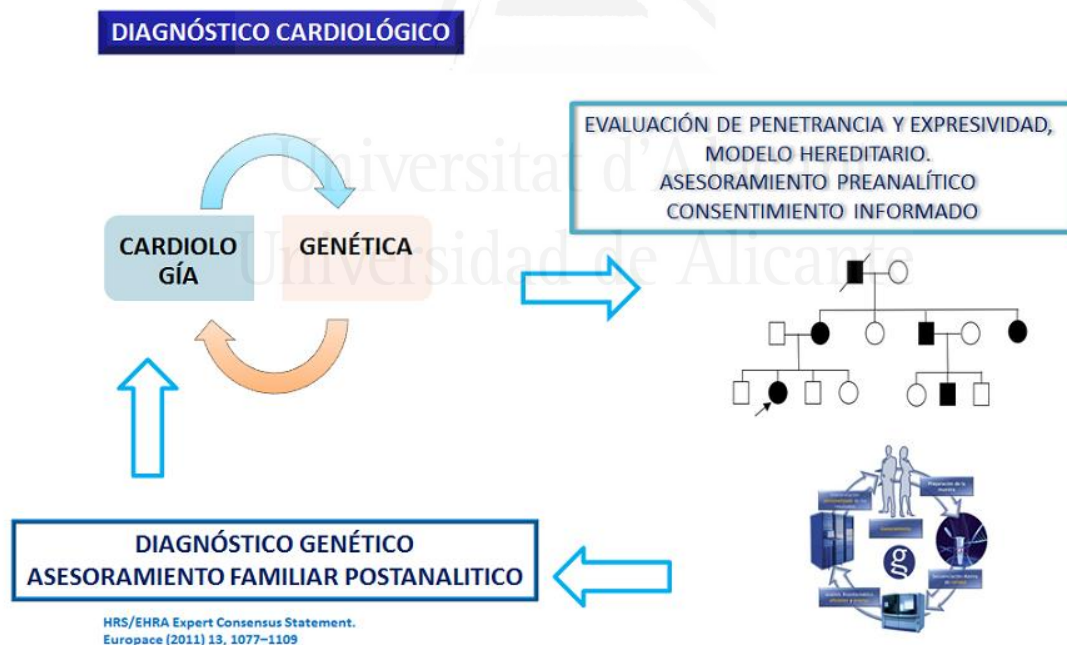


Figura 3. Flujograma de asesoramiento genético preanalítico y postanalítico, siguiendo recomendaciones de HRS/EHRA modificadas².

Por otro lado, la identificación de familiares no portadores de mutaciones en los genes involucrados en la enfermedad, ejerce un efecto tranquilizador en sus vidas, dejando de realizar estudios preventivos no necesarios. Bajo este nuevo enfoque genético, es posible la optimización de los recursos sanitarios aplicando las medidas preventivas en la verdadera población en riesgo y dejando de utilizar estas medidas en quienes se haya detectado la ausencia de riesgo al no ser portadores de mutaciones y como consecuencia, la disminución de costes sanitarios¹⁷⁴.

A pesar de la utilización de equipos automáticos, la secuenciación Sanger sigue siendo laboriosa, por lo que se requiere grupos de trabajo numerosos para poder realizar estudios de secuenciación de genes grandes, de alta complejidad y con dedicación exclusiva. Las nuevas metodologías de secuenciación masiva utilizadas en estos últimos años, permiten un abordaje de estudio simultáneo de paneles de genes asociados a las diferentes patologías, incluidas las enfermedades cardiovasculares.

Estas enfermedades y los genes asociados se encuentran recogidos en el Anexo I y forman parte del panel CardioGeneprofile v.3 desarrollado por Sistemas Genómicos.

2. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES DE ORIGEN GENÉTICO HETEROGÉNEO.

2.1. MIOCARDIOPATÍAS ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.

Desde el descubrimiento del primer gen asociado a una miocardiopatía en 1990¹⁸⁵ y de los primeros genes asociados a canalopatías en 1998³, se han descrito más de 200 genes asociados a estas enfermedades, responsables de Muerte súbita.

2.1.1. Miocardiopatía Hipertrófica (MCH)

La miocardiopatía hipertrófica (MCH) es la causa más frecuente de muerte súbita de origen cardíaco en pacientes menores de 35 años en los países occidentales. Aunque su prevalencia es baja en la población general (0.2%)¹¹⁶, se estima que MCH produce el 36% de las muertes súbitas en atletas, pero podría llegar a causar el 50% en atletas jóvenes.

Esta patología se caracteriza por hipertrofia ventricular izquierda, desorganización de miocitos y miofibrillas, aumento de la matriz colágena intersticial y alteraciones de las arterias coronarias intramiocárdicas. Clínicamente puede cursar con un amplio rango de síntomas, desde las formas asintomáticas hasta formas clínicas con disnea, síncope, angina, insuficiencia cardíaca o muerte súbita, que en ocasiones puede ser la primera manifestación de la enfermedad¹⁷⁵. Existe una amplia correlación entre la actividad física y la muerte súbita en sujetos que padecen MCH, ya que el ejercicio actúa como factor desencadenante. Se han descrito diferentes mecanismos de acción tales como: aumento del tono adrenérgico, taquicardia, vasodilatación periférica, inestabilidad eléctrica e isquemia. De hecho, la muerte súbita representa el 50% de la mortalidad de estos pacientes, con una incidencia anual del 2-4% en adultos y del 4-6% en niños y adolescentes⁶⁰.

Desde el punto de vista genético se ha demostrado que la MCH es un trastorno autosómico dominante, con alta heterogeneidad alélica y genética, producida por al menos 30 genes nucleares, algunos de los cuales codifican para proteínas sarcoméricas con más de 600 mutaciones identificadas en el 40-60% de pacientes⁹⁷ (Figura 4).

Los genes más frecuentemente alterados son: *MYH7* y *MYBPC3* y representan el 60% de casos de MCH. Mutaciones en los genes *TNNT2*, *TNNI3* y *TPM1* representan del 10 al 15% de afectos. Mutaciones en el gen *TPM1* se encuentra en el 5% de pacientes y se incrementa al 25% en población finlandesa²¹⁹. Por otra parte, se han identificado dobles heterocigotos en el 2 al 5%

de pacientes con hipertrofia severa y se ha propuesto que un segundo gen actuaría como modificador del fenotipo²¹⁷.

Las mutaciones en *MYH7* se asocian con un fenotipo severo, de inicio temprano, penetrancia del 100% en adultos y alta incidencia de muerte súbita prematura²²², mientras que mutaciones en *MYBPC3* se asocian con inicio tardío, hipertrofia menos severa, baja penetrancia y mejor pronóstico. Algunas mutaciones de *MYBPC3* producen proteínas truncadas que actúan bajo un mecanismo de haploinsuficiencia que interfieren en la formación y mantenimiento del sarcómero³⁶. Las mutaciones en los genes *TNNT2*, *TNNI3*, *TNNC1* que regulan las troponinas producen desorganización de los miocitos, hipertrofia miocárdica moderada y alteraciones de la sensibilidad al Ca^{2+} de los miofilamentos¹⁰⁵. Mutaciones en el gen *TTN* alteran la rigidez pasiva del músculo cardíaco¹³².

2.1.2. Displasia o Miocardiopatía Arritmogénica de Ventrículo Derecho (DAVD).

Se trata de una enfermedad del músculo cardíaco caracterizada por inestabilidad eléctrica secundaria a atrofia muscular y reemplazo del miocardio derecho o biventricular, por tejido adiposo o fibroadiposo. DAVD es una importante causa de muerte súbita a nivel mundial, sobre todo en Europa y especialmente en Italia, en donde representa más del 20% de las muertes súbitas en menores de 35 años. En España, se estima que representa el 6-8% de muerte súbita en ese grupo de edad¹¹³. Clínicamente se caracteriza por palpitaciones, mareos y síncope post esfuerzo. El ejercicio físico intenso puede desencadenar episodios de taquicardia ventricular, fibrilación ventricular y muerte súbita⁸⁶.

Desde el punto de vista genético se hereda por modelo autosómico dominante con expresividad variable. Su etiología está asociada a mutaciones en los genes que codifican para los desmosomas, estructuras que se encargan de mantener unidos a los miocitos entre sí y que actúan como sitios de anclaje para

los filamentos intermedios; están formados por desmina, desmoplaquina, placoglobina y placofilina codificados por los genes *DES*, *DSP*, *PKP2* y *JUP*^{73, 13}. Esta unión está mediada por la desmogleína y desmocolina codificadas por los genes *DSG2* y *DSC2*¹⁷⁶. Se han descrito 8 genes asociados a DAVD y se detectan mutaciones entre el 50y 80% de pacientes afectados. Los genes más frecuentemente mutados son *PKP2* y *DSG2* con una frecuencia del 11 al 22% y del 12 al 19% respectivamente. Se han descrito formas autosómicas recesivas en los síndromes cardiocutáneos de Naxos y Carvajal producidos por mutaciones en los genes *JUP* y *DSP*¹³³.

Se han identificado mutaciones en otros genes no relacionados con los desmosomas, tales como *TGFB3*, cuya sobreexpresión produce fibrosis miocárdica; *RyR2* asociado a taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica y riesgo de muerte súbita, *TMEM43* que provoca infiltración fibroadiposa en el miocardio⁵³. Otros genes implicados son *PKP4*, *PNN* y *TTN*. Titina es la proteína más grande en los mamíferos, se expresa en los músculos cardíaco y esquelético, tiene varias isoformas que varían en tamaño desde 2970 a 3900 kDa y está codificada por el gen *TTN*¹⁸⁹. Se han descrito formas bialélicas o digénicas en el 10% de casos, contribuyendo a la complejidad y penetrancia variable.

2.1.3. Miocardiopatía Dilatada (MCD)

La MCD se caracteriza por dilatación y disfunción sistólica global del ventrículo izquierdo y en ocasiones del derecho con reducción en la fuerza de contracción del miocardio, produciendo insuficiencia cardíaca, con síntomas de congestión y/o disminución del gasto cardíaco, arritmias o enfermedad del sistema de conducción, enfermedad tromboembólica y accidente cerebrovascular. Esta patología puede cursar asintomática durante mucho tiempo y tiene manifestaciones clínicas cuando la afectación es severa. En fases avanzadas de la enfermedad, las arritmias ventriculares son frecuentes y pueden ser causa de muerte súbita en el 3% de jóvenes y 5% de mayores de 35 años, aunque es una

causa poco frecuente en el deportista. MCD puede ser de origen adquirido en la mayor parte de casos o de origen hereditario o familiar en el 20-50% de casos⁷⁶.

Desde el punto de vista genético, se hereda por diversos modelos hereditarios. El modelo más frecuente es el autosómico dominante, seguido de autosómico recesivo y ligado al cromosoma X. Se ha sugerido que la penetrancia corresponde al 10% para menores de 20 años, 34% entre 20 y 30 años, 60% entre 30 y 40 años y 90% a la edad de 40 años⁷⁷.

Siguiendo el modelo hereditario, la MCD puede clasificarse en dos tipos: ya sea como enfermedad monogénica, causada por una mutación en algunos genes descritos, o como una enfermedad multifactorial asociada a polimorfismos que incrementan la susceptibilidad entre un 20 a 30% produciendo agregación familiar. En la enfermedad monogénica, la mayor parte de la disfunción es causada por una mutación, aunque se han descrito genes modificadores y polimorfismos que pueden contribuir a la patogenia (alrededor del 60 al 100%), así como factores ambientales, incluyendo el género, edad y el estilo de vida¹⁵⁶. Actualmente se han identificado más de 40 genes como causa de MCD, representando heterogeneidad de loci y de alelos. La mayoría de genes codifican para componentes estructurales del miocardio, alterando la generación de la fuerza del miocardio. Los genes más frecuentemente mutados son: *TTN* (25% de casos familiares y 18% de esporádicos)⁷⁵, *LMNA* que codifica para la proteína lámina y se asocia con trastornos de la conducción auriculoventricular⁷⁸, está mutada en el 6% y hasta 33% en población finlandesa, *PLN* (15% en población alemana), *MYH7* (4 a 5%) y *TNNT2* (3%). Se han descrito genes modificadores como *FKTN*, *DOLK*, *GATAD*, *TAZ*, *SDHA*¹³¹.

2.1.4. Miocardiopatía Restrictiva (MCR)

La MCR familiar es una forma rara de miocardiopatía que puede asociarse muerte súbita. Se caracteriza por rigidez del músculo cardíaco que impide su

relajación completa después de cada contracción. Este defecto de relajación ventricular produce retroceso de la sangre hacia las aurículas y los pulmones provocando reducción del volumen final de sangre ventricular. Esta patología constituye una enfermedad del miocardio y/o endocardio que provoca disfunción diastólica severa, con aumento de la rigidez ventricular, volúmenes diastólicos normales o disminuidos en uno o ambos ventrículos, dilatación biauricular y engrosamiento de la pared ventricular. Las arritmias auriculares son frecuentes en las formas idiopática y secundaria a amiloidosis¹⁷³ y un porcentaje significativo de pacientes pueden presentar tromboembolismo. La MCR familiar puede aparecer en cualquier momento de la vida desde la infancia hasta la vida adulta, puede ser asintomática y su primer signo puede ser muerte súbita. Se desconoce la prevalencia de esta enfermedad, sin embargo, se considera una enfermedad rara con una frecuencia menor al 5% de todas las miocardiopatías¹²⁷.

Desde el punto de vista genético, la MCR se hereda por un modelo autosómico dominante y se produce por mutaciones en el gen *TNNI3* en el 8% de casos²⁰². Otros genes implicados en esta patología son *ACTC1*, *TNNC1* y *TTR* cuando se trata de amiloidosis familiar como causa de miocardiopatía restrictiva³⁸.

2.1.5. Miocardiopatía No Compactada de Ventrículo Izquierdo (LVNC)

Se conoce como LVNC a una miocardiopatía caracterizada por trabeculaciones profundas en la pared ventricular. Las manifestaciones clínicas incluyen disfunción sistólica y diastólica, asociada en ocasiones con arritmias y trastornos tromboembólicos sistémicos. La incidencia y la prevalencia no han sido bien establecidas y se considera que puede estar alrededor de 0,12 por 100.000 personas. Parece ser que existe una interrupción del proceso de compactación del miocardio que ocurre entre la quinta y octava semana de embarazo y genera que el miocardio tenga un aspecto hipertrabeculado con dos capas, una externa epicárdica compactada y una interna endocárdica no compactada, con recesos intertrabeculares profundos en comunicación con la cavidad ventricular^{157, 147}.

Desde el punto de vista genético, LVNC se asocia a mutaciones en genes que codifican para las proteínas del filamento delgado como *TNNT2*, *ACTC1*, *TPM1*¹¹² y aquellos que codifican para las proteínas del filamento grueso como *MYBPC3*, *MYH7*, *DTNA*, *LDB3* y *TAZ*^{81, 158}.

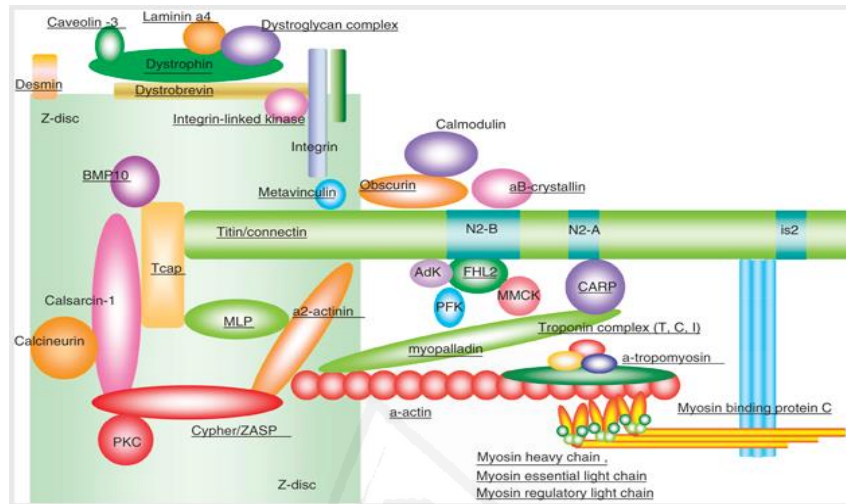


Figura 4. Genes implicados en Miocardiopatías. Imagen tomada de Kimura et al. J Hum Genet. 2010.¹⁰⁵

2.2. TRASTORNOS DEL RITMO CARDÍACO

Las arritmias cardíacas constituyen una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en la población. Las arritmias familiares pueden clasificarse en dos grandes grupos dependiendo de su asociación con otras enfermedades cardíacas:

- Arritmias primarias cuando se origina como un trastorno de la actividad eléctrica cardíaca.
- Arritmia secundaria cuando existe un trastorno estructural cardíaco previo como son las miocardiopatías de tipo hipertrófico, dilatado o infiltración fibroadiposa.

Existen múltiples afecciones cardíacas genéticamente determinadas, con o sin cardiopatía estructural acompañante, que pueden predisponer a la aparición de arritmias y de muerte súbita. Estas enfermedades se producen por alteraciones en tres grandes familias de proteínas:

1. Proteínas que codifican para canales iónicos, encargados de mantener el equilibrio iónico intracelular y extracelular.
2. Proteínas sarcoméricas, que se encargan de generar la fuerza en el miocito cardíaco.
3. Proteínas del citoesqueleto, que están encargadas de la transmisión de esa fuerza a las células colindantes ²⁶.

Las arritmias familiares se encuentran en el 0.15-0.20% de la población general con un riesgo de muerte súbita del 0.1%. Incluyen los síndromes de Brugada, QT largo, QT corto, taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, fibrilación auricular familiar^{130, 171, 2}.

2.2.1. Síndrome de Brugada (SB)

El SB se produce por anomalías funcionales de los canales iónicos y se caracteriza por elevación del segmento ST en ausencia de enfermedad estructural cardíaca, tiene alto riesgo de arritmia ventricular y muerte súbita. Este síndrome es responsable del 4 al 12% de casos de muerte súbita de origen desconocido y llega al 20% de todas las muertes súbitas en individuos con corazón aparentemente normal¹⁸. Su prevalencia varía entre 1/5.000 en Europa hasta 6/5.000 en el Sudeste asiático. Tiene una penetrancia variable. Es más frecuente en varones con una frecuencia del 80% y la edad media al diagnóstico es de 40 a 45 años, aunque puede diagnosticarse entre edades de dos días a 85 años⁸. El SB se hereda por un modelo autosómico dominante. Aproximadamente el 45% de pacientes tiene mutación en los genes *SCN5A*, *GPD1L*, *CACNA1C*, *CACNB2* o

SCN1B, que codifican para proteínas de los canales iónicos o interfieren en el transporte de los iones de sodio y calcio en su entrada y salida de la célula cardíaca como *GPD1L*. El gen *SCN5A* codifica la subunidad α -del canal de sodio y es responsable de la fase 0 del potencial de acción cardíaco. Mutaciones en este gen producen pérdida de función del canal de sodio cardíaco y afecta del 11 al 28% de pacientes¹⁰².

Mutaciones en los genes *CACNA1C*, *CACNB2* y *CACNA2D1* se han detectado en el 13% de pacientes disminuyendo la activación de la despolarización del miocito con interferencia en la liberación de calcio desde el retículo sarcoplásmico³⁴. Se han descrito mutaciones en el gen *KCNJ8* asociadas a trastornos de repolarización temprana y está implicado en el síndrome de onda J^{9, 211}.

2.2.2. Síndrome QT Largo (SQTL)

El SQTL se caracteriza por anomalías de la repolarización ventricular. Este proceso normalmente se produce por el equilibrio entre las corrientes de entrada de sodio y calcio, y las corrientes de salida de potasio (K⁺). Las principales corrientes de salida de K⁺ son dos: las “*corrientes hacia afuera*” que se encargan de la repolarización en la fase inicial del potencial de acción, y “*corrientes rectificadoras tardías*” que se encargan de las otras fases del proceso de repolarización y que se conocen como corrientes *I_{kr}*, *I_{ks}*, *I_{kur}*¹¹⁷. Se estima que al menos 1/2500 a 1/7000 personas en el mundo están afectadas del SQTL⁶⁵, es más frecuente en mujeres y se caracteriza por intervalo QT prolongado, anomalías de la onda T en el ECG y taquicardia ventricular *torsades de pointes* (TdP). El 50-70% de pacientes que es portador de una mutación en uno de los genes asociados a la enfermedad tiene sintomatología así como síncope asociados a ejercicio y emociones. *TdP* puede degenerar en fibrilación ventricular y paro cardíaco o muerte súbita⁶⁷.

Desde el punto de vista genético, se trata de una enfermedad autosómica dominante y se han identificado 13 genes cuyas mutaciones afectan a los canales

iónicos y con tres tipos de efectos: alteración de la permeabilidad del canal, trastorno de la activación del canal y disfunción en la inactivación del canal²³. La identificación molecular del tipo de SQTl tiene valor pronóstico y se ha demostrado a través del registro internacional de síndrome de QT largo, que el SQTl3 tiene un riesgo 5 a 8 veces mayor para muerte súbita, comparado con los tipos SQTl1 y SQTl2. El tipo SQTl2 tiene un riesgo intermedio aunque dependerá de la edad, sexo y origen de los datos comparados¹⁰⁸.

El SQTl1 es la forma más frecuente y se produce por mutaciones en el gen *KCNQ1* en el 46% de pacientes. Otros tipos del SQTl se producen por mutaciones en los genes *KCNH2* (35 a 40% de pacientes)¹⁶², *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*²²⁵, *CACNA1C* y *ANKK2*¹⁰⁶. La Figura 5 demuestra la heterogeneidad genética del síndrome de QT largo.

El síndrome de QT largo forma parte de diversos síndromes, entre ellos Andersen-Tawil, Timothy y Lange-Nielsen.

El síndrome de Andersen-Tawil (ATS) se caracteriza por debilidad muscular episódica, parálisis periódica, arritmias ventriculares y prolongación del intervalo QT junto a pabellones auriculares de implantación baja, hipertelorismo ocular, micrognatia, clinodactilia, sindactilia, talla baja, escoliosis, dificultades de aprendizaje y déficit cognitivo. Su prevalencia corresponde al 10% de todos los tipos de parálisis periódica¹⁹⁰. Desde el punto de vista genético, se hereda por un modelo autosómico dominante y se produce por mutaciones en el gen *KCNJ2* con su locus en 17q23.1-q24.2¹⁸⁰.

El síndrome de Jervell y Lange-Nielsen (JLNS) se caracteriza por hipoacusia neurosensorial bilateral y QT largo con taquicardia ventricular, episodios *torsades de pointes* y fibrilación ventricular, que puede terminar con síncope o muerte súbita. El curso clínico corresponde a niños con hipoacusia que tienen síncope episódicos durante períodos de stress, ejercicio o miedo y el 50% de afectados ha tenido un evento cardíaco antes de los tres años. Más de la mitad de los niños no tratados mueren antes de los 15 años. Su prevalencia es de

1/200.000. Desde el punto de vista genético, el JLNS se hereda por un modelo autosómico recesivo y se produce por mutaciones en los genes *KCNQ1* y/o *KCNE1*¹⁹⁵.

El síndrome de Timothy (TS) es un trastorno multisistémico caracterizado por cardiopatía congénita como ductus arterioso persistente, defecto ventricular septal, tetralogía de Fallot o miocardiopatía hipertrófica presente en el 61% de pacientes. Además se asocia a sindactilia de manos y pies, anomalías faciales y trastornos del neurodesarrollo como autismo, convulsiones, hipotonía, dificultad del aprendizaje. Desde el punto de vista genético se hereda por un modelo autosómico dominante y se produce por mutaciones en el gen *CACNA1C*⁶¹.

2.2.3. Síndrome QT Corto (SQTC)

El SQTC se caracteriza por acortamiento del intervalo QT asociado a fibrilación auricular paroxística, extrasístoles ventriculares, fibrilación ventricular, episodios de síncope, arritmia cardíaca con riesgo de muerte súbita y ausencia de cardiopatía estructural. En el momento actual, se desconoce la prevalencia del SQTC y suele afectar a personas jóvenes sin patología previa. La predisposición a arritmias se considera como un evento secundario a una dispersión espacial exagerada de la repolarización ventricular²³.

Desde el punto de vista genético, se transmite de forma autosómica dominante y se han descrito 7 genes asociados a esta patología. Se han detectado mutaciones en genes *KCNQ1*, *KCNH2* y *KCNJ2* en el 21% de pacientes⁶⁶ y se expresan con ganancia de función, provocando mayor flujo de salida de potasio desde la célula durante la fase de repolarización y acortamiento del potencial de acción. En este último tiempo se han descrito casos con hallazgos mixtos de síndrome de Brugada y SQTC, relacionados con mutaciones en los genes *CACNA1C* y *CACNB2B* que producen pérdida de función en las subunidades α y $\beta 2$ de los reguladores del canal del calcio¹⁹².

2.2.4. Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica (TVPC)

La TVPC se caracteriza por episodios de síncope que ocurren durante el ejercicio o la emoción aguda en individuos sin anomalías cardíacas estructurales. La causa subyacente de estos episodios es la aparición de taquicardia ventricular bidireccional o polimórfica que puede degenerar en fibrilación ventricular y muerte súbita. La edad media de inicio de la TVPC está entre los 7 y 9 años, la aparición tardía se ha reportado a los 40 años. Su prevalencia es de 1/10.000.

Desde el punto de vista genético se hereda por un modelo autosómico dominante cuando se relaciona con mutaciones en el gen *RyR2* (50 a 55% de casos), mientras que se hereda de forma autosómica recesiva si está producida por mutaciones en el gen *CASQ2* (1 a 2%)⁴.

El gen *RyR2* codifica para el receptor de rianodina cardíaca involucrado en la liberación del calcio desde el retículo endoplásmico hacia el citoplasma. Se considera que una fuga inapropiada transitoria de calcio a través del canal *RyR2* durante la diástole es responsable del retraso posterior a la despolarización que origina la TVPC.

El gen *CASQ2* codifica para la calsequestrina 2 relacionada con el almacenamiento del calcio en el retículo endoplásmico. Mutaciones en este gen producen pérdida de la polimerización de monómeros *CASQ*, pérdida de la capacidad amortiguadora de calcio y desestabilización directa del proceso de apertura del canal *RyR*^{137, 50}.

2.2.5. Fibrilación Auricular Familiar (FAF)

La FAF se caracteriza por alteración del ritmo cardíaco debido a una actividad eléctrica no coordinada a nivel auricular. Es la forma más común de arritmia y afecta a más de 3 millones de personas en los Estados Unidos. Tiene una prevalencia del 1% en la población general y es responsable de la tercera

parte de episodios tromboembólicos. Estudios recientes sugieren que hasta el 30% de todas las personas con fibrilación auricular puede tener historia familiar positiva^{46,111}. El cuadro clínico se asocia a mareos, dolor precordial, palpitaciones, dificultad para respirar, síncope, riesgo de accidente cerebrovascular y muerte súbita. Las complicaciones de la fibrilación auricular familiar pueden ocurrir a cualquier edad, aunque algunas personas pueden ser asintomáticas.

Desde el punto de vista genético, la FAF se hereda por un modelo autosómico dominante y se produce por mutaciones en 17 genes descritos a esta fecha. Mutaciones en los genes *KCNE2*, *KCNJ2* y *KCNQ1* producen ganancia de función en la regulación del canal de potasio, acortando el potencial de acción y aumentando el riesgo de síncope, accidente cerebrovascular y muerte súbita a diferencia de mutaciones en *KCNA5* que prolongan el potencial de acción cardíaca e inician el proceso de FA²⁷. Se han descrito mutaciones con pérdida de función en los genes del canal de sodio *SCN5A*, *SCN2B*, *SCNN1B*²¹⁶ asociadas a FAF así como en *GJA5* involucrado en el acoplamiento eléctrico²²³, *NPPA* que codifica para el péptido natriurético auricular siendo un sustrato potencial para arritmias auriculares⁸⁰, *NUP155* que codifica para la nucleoporina, sus mutaciones producen pérdida de función en el transporte proteico y se asocia con muerte súbita²²⁶.

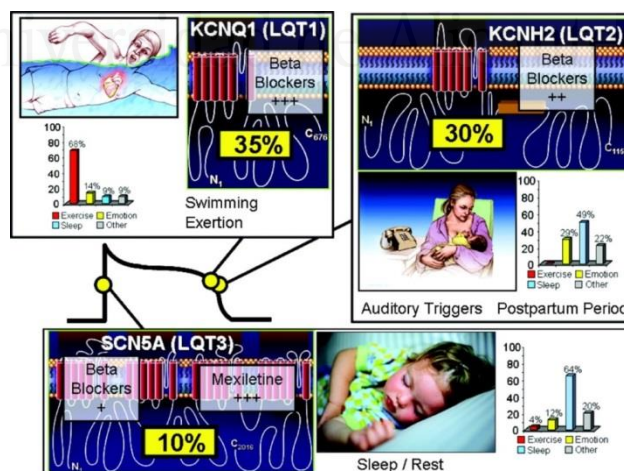


Figura 5. Heterogeneidad genética de canalopatías. Imagen tomada de: Tester DJ, Ackerman M J. Circulation 2011¹⁹⁴

2.3. TRASTORNOS GENÉTICOS ASOCIADOS A ANEURISMAS DE AORTA TORÁCICA FAMILIAR (TAAD)

Otra de las causas de muerte súbita de origen genético son los aneurismas de aorta torácica. Se caracterizan por la dilatación permanente y localizada de la aorta torácica, con un incremento del 50% de su diámetro normal. Generalmente están asociados a adelgazamiento de las paredes arteriales que puede conducir a disección y rotura. La disección de la aorta afecta 1 de cada 10.000 personas por año, con elevada mortalidad, que alcanza del 62 al 91%. Las disecciones y roturas de aneurisma de aorta torácica constituyen la décimo quinta causa de muerte en los Estados Unidos produciendo alrededor de 15.000 muertes por año y afectan a 6 de cada 100.000 individuos con un 20% de afectos en parientes de primer grado⁷.

Los aneurismas de aorta torácica suelen ser asintomáticos y se diagnostican cuando la disección aórtica aguda se presenta de forma catastrófica, se originan generalmente en la aorta ascendente, por encima de la válvula aórtica, conocida como disección tipo A de Stanford, o puede ocurrir en la aorta torácica descendente, distal al origen de la arteria subclavia izquierda, llamada disección tipo B de Stanford. Aunque el ensanchamiento de la aorta precede a la disección, los datos del registro internacional de disecciones aórticas (IRAD) indican que cerca del 60% de los aneurismas de aorta ascendente se disecan con diámetros aórticos menores a 5,5 cm. También puede ensancharse el anillo aórtico dando lugar a regurgitación aórtica secundaria²² (Figura 6).

El síntoma más común de una disección aórtica es el dolor torácico asociado a palidez, ausencia de pulso, parestesia, accidente cerebrovascular, infarto agudo de miocardio y parálisis. La edad de aparición y la tasa de progresión de la dilatación aórtica son muy variables, incluso dentro de las familias. La edad media de presentación de TAAD familiar es más temprana que en las formas no familiares y es rara en la infancia temprana. En la mayoría de los adultos, el riesgo de disección aórtica o rotura de aneurisma aumenta con una dimensión aórtica de alrededor de 5,5 cm⁷⁹. Sin embargo, se han reportado disecciones aórticas en individuos con mutaciones en *TGFBR2* con diámetros

aórticos menores de 5,0 cm. Mutaciones en *MYH11* o *ACTA2* tienen disección aórtica con un diámetro aórtico de menos de 5,5 cm y se han publicado familias con varios miembros que tuvieron disección aórtica con poca o ninguna dilatación aórtica previa. Los aneurismas de aorta familiar pueden asociarse a aneurismas en otras arterias, especialmente aneurismas de aorta abdominal en el 12% de familias, aneurisma de arterias cerebrales en el 9 a 14% y aneurismas de arterias periféricas como ilíaca o poplítea en el 5% y se asocian a mutaciones en *TGFBR2* o *TGFBR1*. Mutaciones en *SMAD3* se han descrito en aneurismas de arteriales cerebrales, ilíacas y aorta abdominal¹²³.

TAAD con persistencia del conducto arterioso se han asociado a mutaciones en *MYH11* y *ACTA2* así como a válvula aórtica bicúspide, *Livedo reticularis*, *iris flocculi*, enfermedad oclusiva vascular de inicio temprano y enfermedad cerebrovascular Moyamoya-like. Mutaciones en *MYLK* pueden causar disecciones aórticas sin dilatación previa. Se han descrito mutaciones en *SLC2A10* asociado a tortuosidad arterial como factor de riesgo de desarrollo de aneurismas, *NOTCH1* asociado a válvula aórtica bicúspide y aneurisma de raíz aórtica y, excepcionalmente cutis laxa con escasas manifestaciones en otros sistemas asociada a los genes *EFEMP2* y *FBLN5*⁹⁸.

Los síndromes más frecuentemente asociados a TAAD son: Marfan, Loeys-Dietz tipos 1, 2 y 3, Beals y Ehlers-Danlos tipo IV.

El síndrome de Marfan (SM) es una enfermedad sistémica del tejido conectivo con un alto grado de variabilidad clínica. Los síntomas principales afectan a los sistemas ocular, esquelético y cardiovascular. Las manifestaciones cardiovasculares incluyen la dilatación de la aorta a nivel de los senos de Valsalva, predisposición para disección y ruptura de aorta, prolapso de la válvula mitral con o sin regurgitación, prolapso de la válvula tricúspide y agrandamiento de la arteria pulmonar proximal. La prevalencia de este síndrome está entre 1/5.000 a 1/10.000. Desde el punto de vista genético, SM se produce por mutaciones en el gen *FBN1* localizado en 15q21.11⁵¹ que también producen el fenotipo MASS que se acompaña de prolapso de la válvula mitral, miopía, dilatación aórtica limítrofeno

progresiva y trastornos del esqueleto que se superponen con el cuadro clínico de síndrome de Marfan⁹⁹.

El síndrome de Loeys-Dietz (LDS) se caracteriza por aneurisma de aorta torácica o abdominal, con riesgo de mortalidad a edades tempranas y en mujeres embarazadas por ruptura uterina, aneurismas cerebrales, anomalías esqueléticas. Se distinguen tres tipos de LDS siendo más frecuente el tipo I (75%). Además de los signos vasculares, LDS tipo I tiene preferentemente signos craneofaciales, mientras que LDS tipo II, se encuentran los signos cutáneos como piel translúcida, hematomas y cicatrices distróficas. Desde el punto de vista genético, LDS tipos I y II se heredan por un patrón de herencia autosómico dominante y se producen por mutaciones en los genes *TGFBR2* y *TGFBR1*. El gen *TGFBR2* se encuentran mutado en el 75% de pacientes con LDSI y el gen *TGFBR1* está mutado en el 25% de pacientes con LDSII²⁰⁶. Se han descrito mutaciones en los genes *SMAD3* asociadas LDS tipo III y LDS tipo IV con mutaciones en el gen *TGFB2*^{107,201}.

El síndrome de Contractura Congénita con Aracnodactilia (CCA) o síndrome de Beals se caracteriza por fenotipo óseo similar al síndrome de Marfan asociado a hipoplasia muscular, aracnodactilia, pabellones auriculares arrugados, contracturas de las grandes articulaciones desde el nacimiento, cifosis y/o escoliosis y dilatación de aorta. Las mutaciones en el gen *FBN2* producen alteraciones de las microfibrillas de la matriz extracelular y se encuentran en el 27 al 75% de afectados⁶⁴.

El síndrome de Ehlers-Danlos tipo IV (ED IV) se caracteriza por piel translúcida y delgada, rotura o disecciones vasculares, perforación gastrointestinal, fragilidad uterina. Las roturas arteriales pueden preceder a la formación de aneurismas, fístulas arteriovenosas o disecciones, aunque también pueden ocurrir espontáneamente. Los neonatos pueden tener luxación de cadera, dislocación de tobillo y en niños es frecuente encontrar hernias inguinales, neumotórax y luxaciones o subluxaciones articulares. Los embarazos en mujeres afectas incrementa el riesgo de mortalidad por rotura arterial peripartum o rotura

uterina en el 12%. Desde el punto de vista genético, esta enfermedad se hereda por un modelo autosómico dominante y se produce por mutaciones en el gen *COL3A1* que se detecta en el 95% de pacientes afectados⁴³.

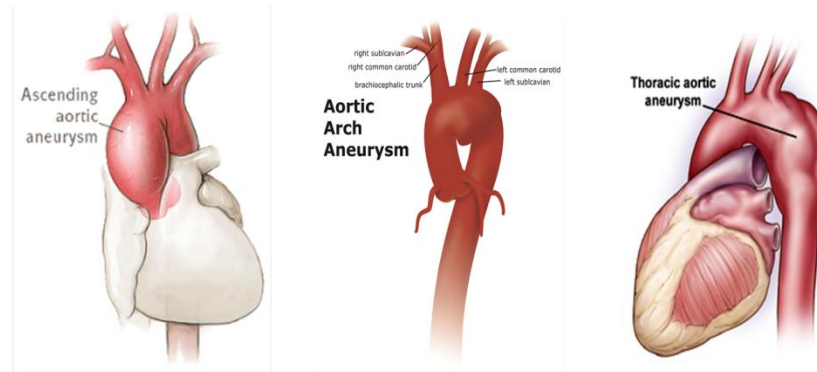


Figura 6. Aneurismas de aorta torácica. Imágenes diversas fuentes^{7,98}

2.4. ANOMALÍAS CONGÉNITAS DE LAS ARTERIAS CORONARIAS.

Las anomalías de las arterias coronarias se consideran como la segunda causa de muerte súbita en atletas menores de 35 años. Estas anomalías pueden darse en el origen de las coronarias o en su trayecto. Su frecuencia de aparición se ha calculado del 0,2 al 1,4% en la población sometida a coronariografía, pero en estudios de necropsia se ha observado una frecuencia de hasta el 2,2% de los decesos, siendo mucho más frecuente en varones (81% de los casos). La anomalía más observada y más grave se encuentra en el origen de la coronaria izquierda en la arteria pulmonar. Esta anomalía se ha detectado como causa de muerte súbita en un porcentaje variable de los casos, entre el 12 y el 19%, fundamentalmente por anomalías de la coronaria izquierda. El mecanismo de muerte podría corresponder a compresión de la coronaria entre la aorta y la arteria pulmonar, a acodamiento de la coronaria o a espasmo arterial, con la producción de arritmias ventriculares secundarias e isquemia aguda. Desde el punto de vista genético, se ha relacionado con mutaciones en los genes *MEF2A*¹¹⁴ y *LRP6*¹⁸⁴.

Todos los genes conocidos actualmente, asociados a las enfermedades cardiovasculares, así como genes asociados a otras enfermedades no abordadas

en este estudio, pero que son parte de nuestra actividad, se encuentran en el Anexo I. En la Tabla 1 se resume el número de genes asociados a enfermedades cardiovasculares.

Tabla 1. Resumen de enfermedades cardiovasculares y número de genes asociados^{138,139,140}.

ENFERMEDADES	Nº GENES
Miocardiopatía Hipertrófica	40
Displasia Arritmogénica Ventricular	13
Miocardiopatía Dilatada	48
Miocardiopatía Restrictiva	8
Miocardiopatía No Compactada de Ventrículo Izquierdo	8
Síndrome de Brugada	16
Síndrome QT Largo	14
Síndrome QT Corto	8
Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica	4
Fibrilación Auricular Familiar	20
Fibrilación Ventricular Familiar	9
Trastornos del Sistema de Conducción Cardíaca	10
Aneurisma de Aorta Torácica	14
Anomalías congénitas de las arterias coronarias.	11
RASopatías	13
Cardiopatías Congénitas	18

3. APORTACIÓN DE LAS NUEVAS TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA AL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS.

3.1. TÉCNICAS ACTUALES DE ESTUDIO

Según el catálogo OMIM, en la actualidad se conoce la base genética de 4247 enfermedades que se heredan de forma mendeliana, siguiendo diversos patrones hereditarios: autosómico dominante, autosómico recesivo, dominante ligado al X, recesivo ligado a X, disomía uniparental, trastornos de imprinting¹⁵⁰. La mayoría de las enfermedades monogénicas están causadas por mutaciones en las

regiones codificantes e intrónicas adyacentes de genes que codifican una proteína, alterando su función y provocando el fenotipo patológico. El diagnóstico genético se basa en la localización de dichas mutaciones previamente descritas en los genes asociados a la enfermedad.

La estrategia actual de diagnóstico de enfermedades heterogéneas consiste en iniciar con la secuenciación Sanger del gen más frecuentemente mutado asociado a la enfermedad. Si se detecta una mutación, se confirma el diagnóstico molecular. De otra forma se continúa con algunos genes que le siguen en frecuencia y se puede o no detectar la mutación causante de la enfermedad.

En 1977 Fred Sanger y sus colaboradores publicaron dos artículos en los que describieron este nuevo método de secuenciación del ADN que ha transformado la biología de nuestros días; se basa en la incorporación de didesoxinucleótidos trifosfato (ddNTPs) como terminadores de la cadena de ADN y sigue siendo la tecnología de referencia^{177, 178}. Para llevar a cabo este proceso, se requiere ADN de cadena sencilla, un cebador de ADN, ADN polimerasa y ddNTPs con nucleótidos marcados con fluorescencia. Estos ddNTPs terminan la elongación de la cadena al carecer del grupo 3'-OH produciendo varios fragmentos de ADN de longitud variable¹⁷⁹.

Desde su publicación, la secuenciación Sanger ha evolucionado de forma asombrosa permitiendo alcanzar hitos tan relevantes para la Genética Humana como la secuenciación primer genoma humano en el año 2001²¹³, o la caracterización del primer haplotipo humano por el consorcio HapMap⁹⁴. Sin embargo, la inversión económica así como el tiempo invertido obligaron a desarrollar nuevas tecnologías de secuenciación más baratas y eficientes. De esta forma, surgieron las primeras plataformas de secuenciación masiva abriendo una nueva era en las tecnologías de secuenciación y planteando un nuevo paradigma que se ha convertido en la consigna de este nuevo período de la secuenciación en el que actualmente nos encontramos inmersos, la secuenciación de un genoma por \$1000¹⁷ (Figura 7).

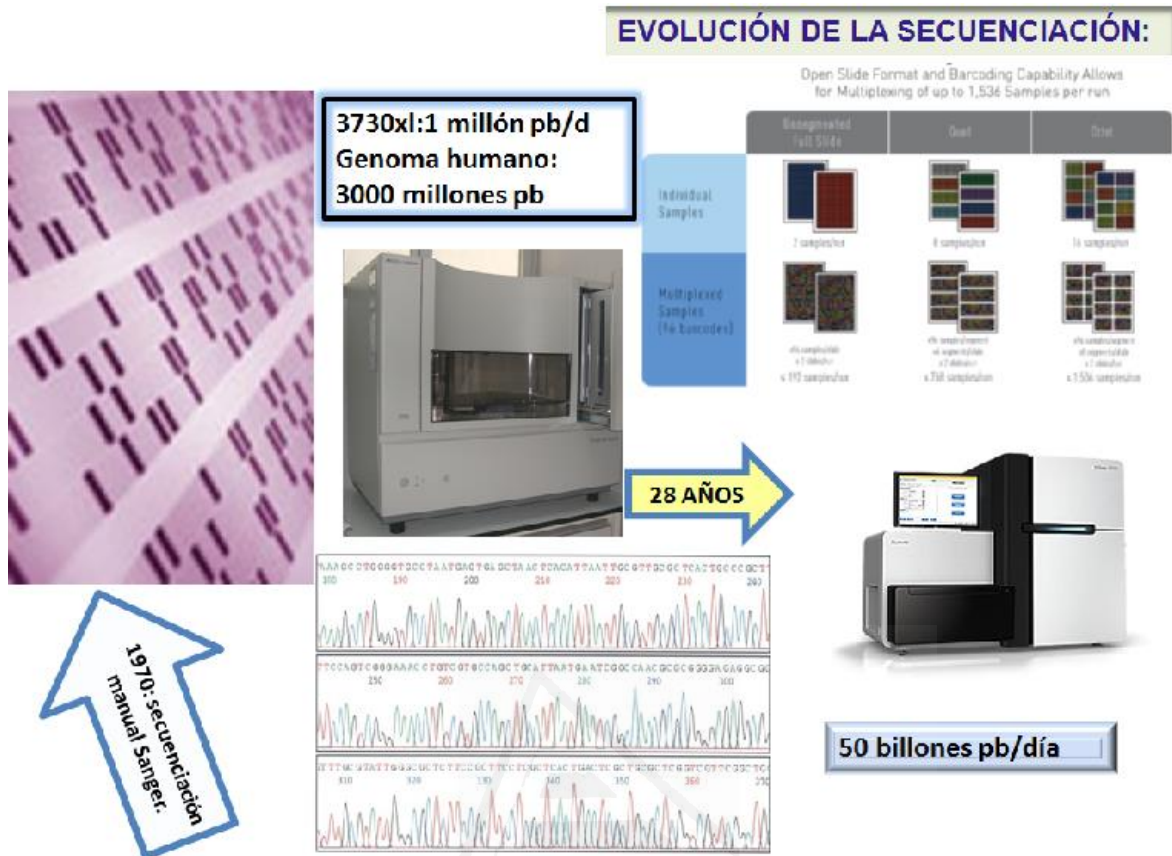


Figura 7. Evolución de la Secuenciación Sanger manual a la Secuenciación Masiva.

3.2. NEXT-GENERATION SEQUENCING

La nueva generación de plataformas de secuenciación masiva o ‘*Next-Generation Sequencing*’ (NGS), inician su actividad comercial en el año 2005 provocando una auténtica revolución en la investigación biológica. Si bien es cierto que la secuenciación tradicional mediante la tecnología Sanger ha dominado el mercado durante al menos dos décadas, la vertiginosa evolución de estos nuevos secuenciadores, tanto en precisión como en rendimiento, así como el abaratamiento del coste por base han permitido la rápida expansión de su uso en la comunidad científica ofreciendo nuevas alternativas para la secuenciación de genomas completos¹⁶⁴, resecuenciación dirigida de zonas concretas del genoma, secuenciación de transcriptomas completo (RNA-Seq)¹³⁴, identificación de

microRNAs¹²⁵, estudios de interacción proteína-DNA (ChIP-seq) o estudios de metilación entre otros¹¹⁸.

A diferencia de la secuenciación Sanger, las plataformas de NGS permiten la obtención de miles o millones de fragmentos de ADN en un único proceso haciendo posible el desarrollo de proyectos de secuenciación en corto plazo. A pesar de las diferencias en su química, todas estas plataformas de secuenciación masiva comparten las siguientes características:

- El ADN se fragmenta al azar y se unen adaptadores específicos a ambos lados de cada molécula directamente sin necesidad de clonar.
- La amplificación de la librería se produce mediante el anclaje del fragmento de ADN, a través de sus adaptadores, a una superficie sólida como son las microesferas o directamente a la placa de secuenciación.
- La secuenciación y detección de las bases ocurren al mismo tiempo en todas las moléculas de ADN (secuenciación masiva y paralela).
- Las lecturas generadas son cortas. El ruido producido por estas tecnologías en relación con la señal que generan limita la obtención de lecturas de mayor longitud.
- Las plataformas NGS permiten realizar secuenciación de tipo “*paired-end*” mediante la cual es posible leer los extremos del mismo fragmento de ADN. Esta estrategia de secuenciación facilita no solo el posicionamiento de aquellas lecturas que pueden mapear en múltiples sitios sino que también posibilita la identificación de variantes estructurales.

A pesar de todas estas particularidades comunes, cada plataforma de secuenciación masiva se basa en principios químicos distintos que generan diferencias cualitativas y cuantitativas.

3.2.1. Secuenciador 454-Roche

Fue la primera empresa en lanzar al mercado una plataforma de secuenciación masiva, cuya química está basada en la pirosecuenciación. Esta tecnología consiste en la detección de señales luminosas generadas a partir de grupos pirofosfato liberados tras la polimerización de un nuevo nucleótido complementario a una hebra de ADN molde. En sus inicios, este primer secuenciador despertó muchas dudas en la comunidad científica pese a presentar grandes ventajas respecto a la secuenciación Sanger, tales como el gran abaratamiento del coste de secuenciación por base (1/6 de lo que suponía en aquel entonces la secuenciación Sanger) y el gran aumento en la cantidad de información generada, equivalente a 50 secuenciadores Sanger (~25Mb). Por otro lado, el secuenciador 454 generó dudas respecto a la fiabilidad de las bases generadas, los problemas del análisis derivados de su corta longitud de lectura, (en aquel momento ~100nt) y la dificultad que implicaba el manejo de un volumen de datos tan grande. Más tarde, estos secuenciadores han evolucionado muy deprisa y actualmente la cantidad de información que generan es muy superior a su primera versión llegando a alcanzar 2Gb y una longitud de lectura de 200-700 nucleótidos dependiendo de la versión³⁵.

3.2.2. Secuenciador SOLiD

El secuenciador SOLiD emplea una tecnología de ligación de oligonucleótidos marcados capaz de interrogar dos bases al mismo tiempo de manera que tras varias rondas de ligación y detección del fluoróforos, cada nucleótido es leído dos veces dando lugar a un nuevo tipo de codificación, que se denomina “*double-encode*” o “código de colores”, en el que cada color identifica dos bases consecutivas. Este proceso no se realiza con el primero y el último nucleótido. La longitud de las lecturas en la plataforma SOLiD alcanza los 75nt y puede llegar a generar hasta 200Gb de datos¹⁰.

3.2.3. Secuenciadores de Illumina

La plataforma Illumina se basa en la incorporación de nucleótidos marcados con terminadores reversibles de manera que en cada ciclo de ligación solamente uno de los cuatro nucleótidos posibles se une de forma complementaria al ADN molde emitiendo una señal luminosa que es captada por un sistema óptico altamente sensible. Posteriormente, el terminador se elimina para permitir la incorporación del siguiente nucleótido en ciclos sucesivos de secuenciación. La química empleada por Illumina permite generar lecturas de hasta 150nt llegando a producir hasta 600Gb en datos⁸⁷.

Por otro lado, la dificultad de reunir un número mínimo de muestras que justifiquen económicamente la puesta en marcha de un proceso completo unido al alto coste de adquisición de estos equipos impulsaron el desarrollo de una nueva serie de secuenciadores más económicos, capaces de generar una menor cantidad de datos con la misma precisión que las plataformas grandes de secuenciación masiva. En este contexto, se han desarrollado las siguientes plataformas:

- Secuenciador GS Junior de Roche: su lanzamiento fue en 2010.
- Secuenciador MiSeq, de Illumina: su lanzamiento fue en 2011.

Estas plataformas se han extendido rápidamente dotando a pequeños laboratorios de la tecnología de secuenciación más avanzada. En la Tabla 2 se expresa las principales características de cada plataforma.

Tabla 2. Plataformas más utilizadas de Secuenciación masiva

Proveedor	Plataforma y versión	Longitud de lectura máxima (nt)	Cantidad total de datos (Gb)	Tiempo de secuenciación	Tipos de librerías	Amplificación	Secuenciación	Modelo de error
Roche	454 - GS FLX+	700	1	18-20h	Fragmentos, paired-end y mate-pair	PCR en emulsión	Piro-secuenciación	Error aumenta en zonas de homopolímero y hacia el final de la lectura
	454 - GS FLX Titanium	400	0.5	10h				
	454 - GS Junior	400	0.05	10h				
LifeTech	SOLiD - 5500	75	200	8 días	Fragmentos, paired-end y mate-pair	PCR en emulsión	Ligación de oligonucleótidos marcados	Mayor error en zonas ricas en GC y hacia el final de las lecturas
	SOLiD - 4	50	100	12 días				
Illumina	Illumina - HiSeq2000	100	600	11 días	Fragmentos, paired-end y mate-pair	PCR en puente	Nucleótidos marcados con fluoróforos y con terminadores reversibles	Mayor error en zonas ricas en GC y hacia el final de las lecturas
	Illumina - HiSeq1000	100	300	8.5 días				
	Illumina - MiSeq	150	2	1 día				

3.2.4. Desarrollo de nuevas plataformas

Las nuevas plataformas que se encuentran en desarrollo que algunos grupos las denominan como secuenciadores de tercera generación, permiten la secuenciación de una única molécula de ADN (single-molecule sequencing) evitando la amplificación de los fragmentos de ADN mediante PCR. De esta forma, se evitarían las desviaciones generadas durante el proceso de amplificación y, al mismo tiempo, se reduciría el tiempo de trabajo y el precio global de secuenciación. Algunas de estas plataformas son:

- Secuenciador SMRT de la empresa Pacific Biosciences, disponible comercialmente desde abril de 2011, basado en el uso de chips (tecnología Single Molecule, Real Time o SMRT) que contienen miles de pocillos en cuyo fondo se

encuentra anclada una única proteína polimerasa que permite llevar a cabo la incorporación de nucleótidos marcados en tiempo real (750nt/sec)¹⁵⁴.

- Oxford Nanopores capaz de detectar nucleótidos individuales a su paso a través de un nanoporo¹⁵³.

Esta última generación de secuenciadores promete nuevas alternativas aún más baratas y con la posibilidad de resolver algunos problemas asociados a los secuenciadores actuales, tales como el estudio de expansiones, detección de variantes de número de copia o trastornos de metilación.

3.3. DESDE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA HACIA EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO MEDIANTE LA SECUENCIACIÓN MASIVA.

Tras la secuenciación del genoma humano los avances en la investigación y el desarrollo tecnológico han producido un profundo impacto en el progreso científico. El éxito del proyecto original dio lugar al lanzamiento de muchos otros esfuerzos internacionales cuyo objetivo común ha sido el profundizar en el conocimiento de la variabilidad genética entre individuos de la especie humana. Uno de los proyectos más importantes de la última década ha sido el proyecto de HapMap iniciado en 2002⁹², mediante un consorcio entre Japón, Reino Unido, Canadá, China, Nigeria y Estados Unidos. El objetivo de este proyecto es identificar y catalogar las similitudes y diferencias de diferentes individuos de origen africano, asiático y de ascendencia europea, mediante comparación de sus secuencias genéticas. La identificación de regiones cromosómicas donde se comparten variantes genéticas permitiría encontrar genes implicados en enfermedades y variantes asociadas a respuesta a los diferentes fármacos. El proyecto de HapMap finalizó con la identificación de más de 8 millones de variantes comunes a lo largo del genoma, la mayoría de ellas localizadas mediante secuenciación Sanger^{93,95} y ha permitido la comparación de estas variantes con otros proyectos como 1000 genomas²⁴.

La llegada de las nuevas tecnologías de secuenciación ha aumentado generosamente la cantidad de datos y la velocidad de producción de los mismos. El proyecto “1000 genomes” fue pionero en emplear la secuenciación masiva de miles de individuos mediante tecnología NGS¹²⁶. Desde su inicio en 2007, este proyecto ha logrado determinar la localización y frecuencias alélicas de más de 15 millones de SNVs, 1 millón de inserciones y deleciones y 20.000 variantes estructurales, la mayoría de ellas no descritas previamente. Los resultados de este consorcio estiman que el 95% de la variabilidad de un individuo se encuentra presente en su base de datos y que cada persona lleva en su genoma entre 250-300 variantes de pérdida de función en genes anotados y de las cuales, entre 50 a 100 variantes, se han asociado previamente a enfermedades hereditarias²²¹.

Durante los últimos años, han surgido otras iniciativas internacionales que hacen uso de las nuevas plataformas de secuenciación como el “*International Cancer Genome Consortium*” (ICGC)⁹¹, el proyecto “*Cancer Genome Atlas*” (TCGA)²⁸ o el proyecto de ENCODE. Este último proyecto ha sido capaz de dar una imagen muy detallada de todos los transcritos primarios y maduros, así como la localización de las principales modificaciones de histonas, sitios de inicio y unión de factores de transcripción, sitios hipersensibles a DNAsa, descripción de más de 20.000 pseudogenes, modificando el concepto de gen como la región genómica que codifica un conjunto de transcritos alternativos solapantes¹⁴².

La gran cantidad de información generada por estos y otros consorcios de investigación ha sido depositada de forma paulatina en bases de datos públicas como dbSNP, que han visto cómo el número de variantes reportadas durante los últimos años se incrementaba de forma exponencial con la llegada de las nuevas tecnologías de secuenciación³⁹ (Figura 8).

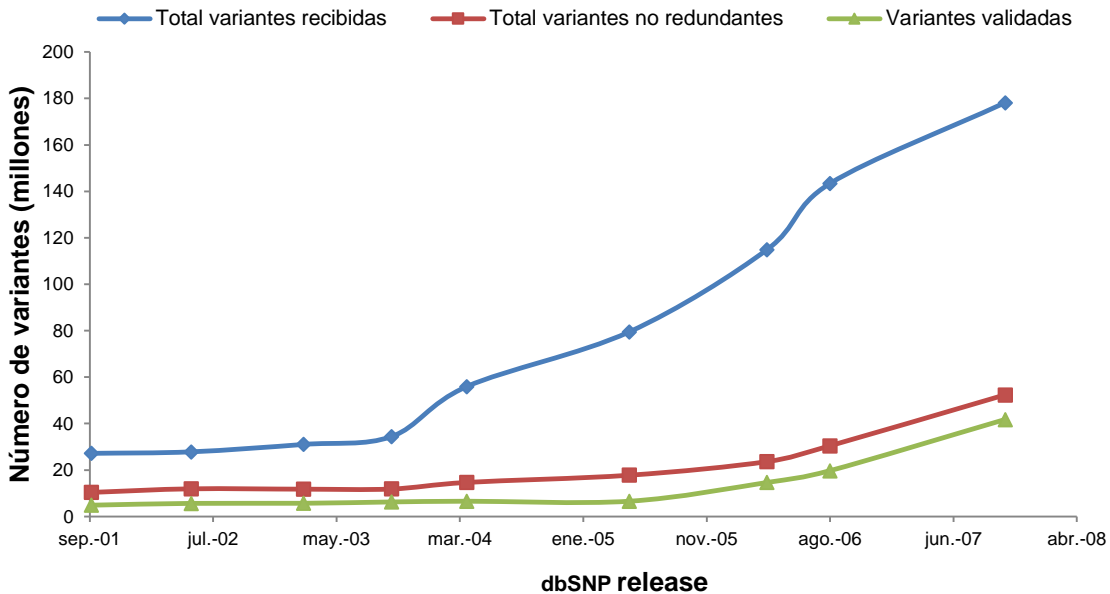


Figura 8. Crecimiento de la base de datos dbSNP a lo largo de los últimos 7 años³⁹. Desde el inicio de la secuenciación masiva en 2005, el número de variantes remitidas a la base de datos ha crecido de forma extraordinaria (línea azul). Del mismo modo, el número de variantes no redundantes depositadas hasta 2005 (línea roja) se ha multiplicado por 5 órdenes de magnitud. Figura cedida por Sheila Zuñiga (2014).

El gran impacto provocado por la disponibilidad de esta valiosa información en bases de datos públicas así como la expansión del uso de estas plataformas, gracias a la caída en el precio de secuenciación por base, se ve claramente reflejado en el incremento exponencial del número de publicaciones de diversa índole basadas en el uso de NGS durante los últimos años (Figura 9).

El estudio y la integración de los datos disponibles provenientes de las tecnologías ómicas en diferentes bases de datos de dominio público han servido para la identificación de patrones genéticos comunes implicados en el desarrollo de enfermedades frecuentes en la población así como en la respuesta diferencial a fármacos o a determinados factores ambientales²²⁸. La disponibilidad de la información generada por la comunidad científica de una forma organizada y estandarizada, es y será de vital importancia para poder realizar un diagnóstico más preciso, establecer un pronóstico precoz o inclusive, un tratamiento personalizado, si bien antes será necesaria la secuenciación de un mayor número de individuos que abarquen un abanico poblacional más amplio y el desarrollo de

nuevos métodos de análisis que permitan explotar la información obtenida de forma exitosa.



Figura 9. Número de publicaciones aplicando *Next Generation Sequencing*. Fuente: Pubmed¹⁴⁰. Acceso: 9 de octubre 2014.

3.4. EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO MEDIANTE NGS: RESECUENCIACIÓN DIRIGIDA. VENTAJAS E INCONVENIENTES.

Actualmente, el diagnóstico molecular en enfermedades monogénicas de origen conocido se realiza mediante la secuenciación bidireccional de exones y zonas de *splicing* mediante el método Sanger. Sin embargo, este procedimiento, ampliamente aceptado tanto por clínicos como por investigadores en genética, conlleva una serie de limitaciones en relación coste-eficiencia cuando se aplica a enfermedades de heterogeneidad genética donde no existe un único gen candidato sino un grupo de genes potencialmente candidatos¹⁸³. La posibilidad de diseñar sistemas de captura “a medida” dirigidos a la selección de regiones específicas del genoma ha abierto una nueva perspectiva en el diagnóstico genético en este tipo de enfermedades. La mejora continua de la química de secuenciación así como de los protocolos de trabajo y la automatización de los

mismos han permitido perfeccionar la precisión y el rendimiento de las plataformas de secuenciación masiva dando lugar a un aumento en la cantidad de datos generados y a un descenso vertiginoso del coste de secuenciación por base. Sin embargo, pese a que actualmente el precio de secuenciar un genoma humano completo sea una ínfima parte de lo que costó la obtención del primer borrador en 2001, la secuenciación de rutina de genomas completos todavía sigue siendo económicamente inabordable para la mayoría de las instituciones.

Uno de los desarrollos que mayor impacto ha tenido en el estudio de genomas a gran escala mediante secuenciación masiva, es la posibilidad de capturar zonas concretas del genoma, técnica conocida como resecuenciación dirigida, secuenciación masiva paralela o *TargetSeq*. Durante los últimos años se han desarrollado distintas técnicas de captura de ADN basadas en la hibridación de sondas o en sistemas de PCR multiplex^{74,219} que permiten abarcar desde pocas kilobases hasta la captura del exoma completo, y que, combinados con la secuenciación masiva hacen posible realizar un screening mutacional en cientos de genes a la vez, proporcionando una cantidad de información muy extensa sobre la genética de un individuo.

La resecuenciación dirigida de un pequeño número de genes implica una reducción significativa en la cantidad de lecturas necesarias para la identificación de las variantes presentes con el consecuente abaratamiento en el coste por muestra. La llegada de los mini-secuenciadores con tecnología NGS así como el abaratamiento de los costes de secuenciación por base forman la combinación ideal para la adopción de esta tecnología como método de preferencia en el diagnóstico genético de rutina en un futuro cercano⁵.

La descripción de enfermedades genéticas heterogéneas se encuentran en todas las especialidades médicas y están asociadas a mutaciones en múltiples genes, lo que ha puesto sobre la mesa la dificultad tecnológica de estudiar de forma eficiente, todos los genes implicados en una patología. La mayoría de estudios moleculares se realizan de acuerdo a la frecuencia descrita de

mutaciones, produciendo un registro incrementado de mutaciones sobre los genes estudiados y un subregistro de mutaciones en genes no estudiados, provocando una disminución de frecuencias de asociación de estas enfermedades a dichos genes. Además, debido al tamaño y complejidad de ciertos genes, no ha sido posible su estudio por secuenciación Sanger, lo que ha determinado la imposibilidad de conocer su verdadera implicación en las enfermedades heterogéneas, tal es el caso del gen *TTN* cuyas mutaciones pueden producir Miocardiopatía dilatada, Displasia arritmogénica ventricular y diversos tipos de miopatías y distrofias musculares con diversos grados de severidad y modelo hereditario.

Uno de los mayores avances en estos últimos años, ha sido definir la base genética de enfermedades cardiovasculares, particularmente asociadas a muerte súbita. Hoy se conocen más de 40 enfermedades cardiovasculares en las cuales se han identificado una causa genética, entre ellas, miocardiopatías de diferentes tipos, diversos trastornos del ritmo cardíaco incluyendo varias canalopatías y un grupo de trastornos asociados a aneurismas de aorta torácica, con la identificación de más de 200 genes para los que se han desarrollado paneles de estudio por resecuenciación dirigida.

Actualmente, este tipo de paneles se aplican en enfermedades neurogenéticas como Charcot-Marie-Tooth, Ataxias, Paraplejias, Miastenia, Miopatías, Distrofias musculares. Igualmente se han desarrollado paneles para Hipoacusias, Cáncer familiar incluyendo genes de alta y moderada penetrancia, trastornos visuales, epilepsia, discapacidad intelectual, enfermedades mitocondriales y enfermedades metabólicas, incrementando la tasa de pacientes diagnosticados desde el punto de vista molecular, como se expresa en la Figura 10.

NGS utiliza una combinación de nuevas estrategias en la preparación de muestras de ácidos nucleicos, nuevos métodos de secuenciación de ADN y nuevos enfoques para la alineación y el montaje del genoma, siendo posible un

análisis genético de todos los genes descritos en pocas semanas, disminuyendo su tiempo de estudio que previamente era de meses o años, mejorando la efectividad y eficiencia en el diagnóstico, al identificar un alto número de variantes de ADN que pueden actuar como mutaciones patogénicas responsables de la enfermedad o como modificadores de la expresividad fenotípica¹¹⁹. Estos avances tienen mayores implicaciones para la práctica clínica ya que se necesita integrar estos hallazgos genéticos en el manejo clínico de los pacientes como herramienta diagnóstica y, en el futuro, establecer el pronóstico y posibles tratamientos personalizados.

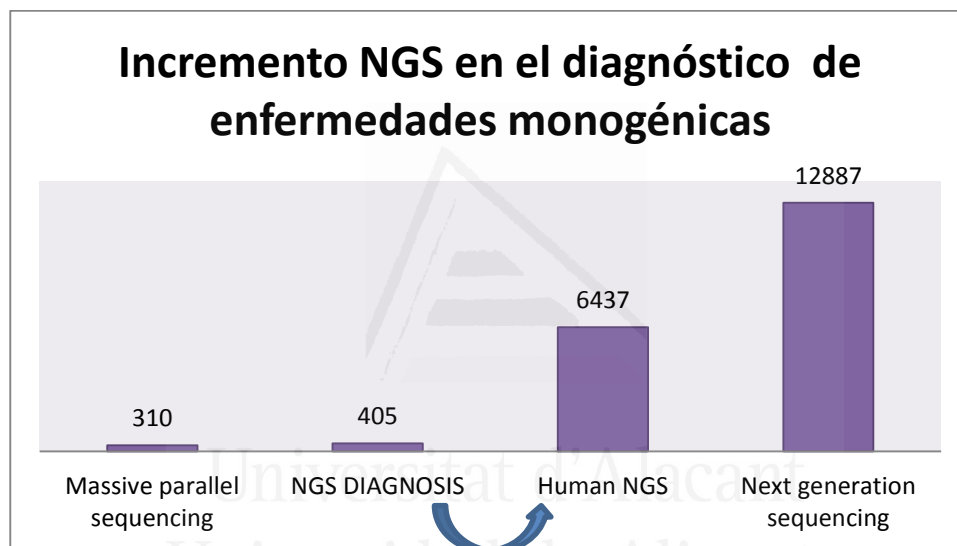


Figura 10. *Next Generation Sequencing* en el diagnóstico de enfermedades monogénicas.

Fuente: Pubmed¹⁴⁰. Acceso: 9 de octubre 2014.

Sin embargo, es indispensable que la tecnología de resecuenciación dirigida sea validada previamente, estableciendo los parámetros de calidad mediante la evaluación de reproducibilidad, cobertura media, detección de deleciones e indels y confirmación de las variantes por secuenciación Sanger, previa a su aplicación en diagnóstico de enfermedades genéticas. Esta misma validación se requiere en otros ámbitos de diagnóstico que utilice esta tecnología^{183, 184}.

Aunque estos avances han aportado un nuevo conocimiento, es necesario implementar guías consensuadas para el manejo de la enorme cantidad de información genética generada para el análisis, la interpretación biológica y clínica y la información al paciente y su familia. Igualmente, son indispensables nuevos desarrollos y actualizaciones de bioinformática, estudios de cosegregación familiar, demostración de ausencia de la variante en la población normal y estudios funcionales que permitan determinar el significado biológico y la patogenicidad de las variantes identificadas, así como su integración en bases de datos que permitan la correlación genotipo-fenotipo.

Además, es necesario definir los aspectos bioéticos respecto del derecho a conocer nueva información sobre genes que no se encuentran en el panel de estudio, pero que a la vez, puede ayudar en un nuevo diagnóstico de la enfermedad, ya sea por fenotipos solapantes o por ausencia de signos a la fecha de estudio, por lo que es indispensable el abordaje multidisciplinario para establecer la correlación genotipo-fenotipo del afecto así como el manejo de familias con enfermedades cardíacas¹⁴.

La gran trascendencia de los resultados en el ámbito familiar permite asesorar con alta precisión a aquellos familiares en riesgo, estableciendo medidas de prevención dirigidas, así como disminuir la angustia en aquellos familiares con un riesgo bajo. La detección de los factores de riesgo también va a influir en el asesoramiento reproductivo y en las recomendaciones de diagnóstico prenatal, diagnóstico preimplantación u otras opciones reproductivas.

Por otro lado, la transición desde la secuenciación tradicional automatizada de Sanger a plataformas con una mayor capacidad de producción de datos ha forzado el desarrollo de nuevos algoritmos bioinformáticos y métodos de análisis necesarios para la correcta manipulación e interpretación de una nueva generación de datos. Los continuos aumentos en la capacidad de generación de datos que se duplica aproximadamente cada 5 meses, ha sobrepasado con creces

los recursos bioinformáticos disponibles hasta la fecha, suceso que algunos autores han denominado como “*Next-Generation gap*”⁸².

Sin lugar a dudas, el desarrollo de las plataformas de *Next-Generation Sequencing* ha desencadenado el desarrollo de “Next-Generation Bioinformatics” que se enfrenta no solo a un gran reto a nivel computacional sino también biológico ya que por primera vez es posible disponer de la información total de un individuo. El desarrollo de herramientas bioinformáticas es crítico para la aplicación con éxito de la secuenciación masiva al diagnóstico genético.

Del mismo modo que la generación de datos es un proceso protocolizado y moderadamente estable para cada plataforma, el análisis de los datos no sigue un modelo “*gold-standard*” y la combinación de diferentes piezas de software así como su integración con diferentes bases de datos proporcionan resultados muy distintos. La correcta identificación y caracterización del conjunto de variantes presentes en una muestra es uno de los procesos clave y más sensible para la correcta aplicación de la secuenciación masiva en el diagnóstico genético no solo debido a la enorme cantidad de datos que han de manipularse al mismo tiempo sino también por la gran complejidad biológica que plantea⁶⁹. El desarrollo y establecimiento de protocolos de trabajo eficientes, precisos y validados que permitan garantizar unos estándares de calidad es una tarea larga y compleja, debido a la necesidad de un exhaustivo conocimiento del funcionamiento de las plataformas de NGS así como de la biología del sistema en estudio para avanzar en el conocimiento sobre la complejidad del genoma humano y progresar así hacia un diagnóstico más preciso, un pronóstico más precoz, y un tratamiento personalizado. Las primeras aplicaciones ya están dando resultados en muchos aspectos de nuestra vida cotidiana, que fundamentalmente van a afectar de forma directa en tres áreas: las políticas sanitarias, el diagnóstico médico y el tratamiento⁷¹.

Los datos utilizados en esta tesis provienen de muestras de pacientes con patología cardiovascular analizadas en la empresa Sistemas Genómicos, de la

cual esta autora es responsable de la Unidad de Genética Médica y ha liderado el proceso de diseños de paneles de resecuenciación dirigida a partir de diversas enfermedades genéticas heterogéneas de diferentes especialidades médicas hacia los genes asociados que se presentan en la Tabla 3.

Igualmente, se ha llevado a cabo el diseño del modelo de diagnóstico a seguir así como la interpretación clínica de los resultados biológicos obtenidos.

Estos diseños que abordan 2620 genes, registrados por Sistemas Genómicos con la marca *GeneProfile* recibieron el premio de *European Life Sciences* al “*Producto más innovador*” el 13 de mayo 2014.

Tabla 3. Diseños de enfermedades genéticas heterogéneas Sistemas Genómicos.			
	Versión /año	Nº genes	Centros participantes en diseño:
Enfermedades Cardiovasculares	v.1: 2010	72	
	v.2: 2011	90	
	v.3: 2013	227	
Oncogenética familiar	v.1: 2010	22	Centro Nacional de Investigaciones oncológicas Cnio
	v.2: 2013	80	Centro Nacional de Investigaciones oncológicas Cnio
Hipoacusias	v.1: 2011	69	Unidad de Genética de Hipoacusias. Hospital Ramón y Cajal
	v.2: 2013	80	Unidad de Genética de Hipoacusias. Hospital Ramón y Cajal
Displasias esqueléticas y Colagenopatías	v.1: 2012	227	
	v.2: 2014	241	
Neurogenética	v.1: 2012	201	Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge IDIBELL e Instituto Germans Trias y Pujol IGPT
	v.2: 2014	326	Instituto Germans Trias y Pujol IGPT
Discapacidad Intelectual	v.1:2014	505	
Epilepsias	v.1: 2014	352	
Enfermedades Mitocondriales	v.1: 2014	219	



Universitat d'Alicante
II. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN
Universidad de Alicante

1. HIPÓTESIS

La detección de mutaciones en enfermedades con heterogeneidad genética es costosa, laboriosa y en la mayor parte de los casos incompleta al no poder estudiar todos los genes conocidos responsables de la enfermedad. Es por ello que se requiere de una metodología eficiente que permita analizar todos los genes a la vez y realizar un diagnóstico molecular fiable.

Las enfermedades cardiovasculares presentan una gran heterogeneidad genética y están causadas por al menos 200 genes conocidos.

El método de estudio más eficiente y de menor coste podría ser la secuenciación masiva de paneles de genes específicos.

2. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte en el mundo. La mayoría de las miocardiopatías y canalopatías son de origen genético y se caracterizan por el riesgo de muerte súbita y morbilidad crónica. La mayoría de estas enfermedades se heredan por un modelo autosómico dominante, con un riesgo de recurrencia del 50% en sus familiares de primer grado y con amplia variabilidad fenotípica intrafamiliar e interfamiliar.

La detección de mutaciones en los pacientes, permite establecer el diagnóstico molecular y en algunos casos definir su pronóstico o medidas terapéuticas o preventivas, así como asesorar a las familias del afecto.

En la práctica clínica, el diagnóstico molecular ha sido limitado al estudio de los genes más frecuentemente mutados, que en el caso de miocardiopatías han sido los genes sarcoméricos, mientras que en las arritmias, se han estudiado los genes de los canales de sodio y potasio.

Sin embargo, estos trastornos cardíacos hereditarios se caracterizan por gran heterogeneidad genética y se han descrito más de 200 genes implicados en la etiología de estas enfermedades. El gran número de genes descritos, hace que sea difícil su análisis utilizando técnicas convencionales de secuenciación, ya que la estrategia de estudio gen a gen consume mucho tiempo, es laboriosa y costosa e impide detectar con rapidez la mutación causante de la enfermedad en un laboratorio de diagnóstico molecular de rutina.

La secuenciación masiva permite la obtención de miles o millones de fragmentos de ADN de paneles de genes o del exoma completo en un único proceso ya que utiliza una combinación de nuevas estrategias en la preparación de muestras de ácidos nucleicos, nuevos métodos de secuenciación de ADN y nuevos enfoques para la alineación y el montaje del genoma, siendo posible un análisis genético de todos los genes descritos en pocas semanas, disminuyendo su tiempo de estudio, mejorando la efectividad y eficiencia en el diagnóstico, al identificar un alto número de variantes de ADN que pueden actuar como mutaciones patogénicas responsables de la enfermedad o como modificadores de la expresividad fenotípica.

Estos avances tienen mayores implicaciones para la práctica clínica ya que se necesita integrar estos hallazgos genéticos en el manejo clínico de los pacientes como herramienta diagnóstica y, en el futuro, establecer el pronóstico y posibles tratamientos personalizados. Sin embargo, es indispensable que la tecnología de resecuenciación dirigida sea validada previamente, estableciendo los parámetros de calidad mediante la evaluación de reproducibilidad, cobertura media, detección de deleciones e indels y confirmación de las variantes por secuenciación Sanger, previa a su aplicación en diagnóstico de enfermedades genéticas.



III. OBJETIVOS

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Con este trabajo se pretende caracterizar, desde el punto de vista molecular, a un grupo de pacientes afectados de patología cardiovascular de origen heterogéneo, mediante la utilización de paneles de resecuenciación dirigida de 72 genes.

Para ello, es necesario el desarrollo secuencial de los siguientes objetivos:

1. Diseñar y validar un panel de resecuenciación dirigida a enfermedades cardiovasculares genéticas heterogéneas con riesgo de muerte súbita.
2. Desarrollar una estrategia de estudio de alta sensibilidad y especificidad para aplicar al diagnóstico de enfermedades cardiogenéticas con riesgo de muerte súbita mediante secuenciación masiva.
3. Trasladar a la práctica clínica las nuevas técnicas de secuenciación masiva. Para ello se va a utilizar un modelo de enfermedades con gran heterogeneidad genética y un panel de genes asociado al desarrollo de diferentes patologías cardiovasculares para confirmar su diagnóstico molecular.

OBJETIVO 1:

**DISEÑAR Y VALIDAR PANELES DE
RESECUENCIACIÓN DIRIGIDA A ENFERMEDADES
CARDIOVASCULARES GENÉTICAS
HETEROGÉNEAS CON RIESGO DE MUERTE
SÚBITA.**



IV. OBJETIVO 1: MATERIALES Y MÉTODOS

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Objetivo 1: Materiales y métodos

La aplicación de paneles de secuenciación masiva al diagnóstico genético de enfermedades cardiovasculares requiere de un proceso de diseño de los genes asociados a la patología cardiovascular genética heterogénea y de la validación del panel que permita evaluar los procesos bioinformáticos, la sensibilidad y la especificidad del panel.

El diseño del panel de enfermedades cardiovasculares fue de 72 genes que se realizó entre abril y julio de 2010 y corresponde a las descripciones 1a y 1b de la Figura 12.

El proceso de validación se realizó entre octubre y diciembre 2010 utilizando la línea celular HapMap NA12144 y muestras de ADN anonimizadas, previamente estudiadas en Sistemas Genómicos. Corresponde a las descripciones 1.c de la Figura 12. Dentro del proceso de actualización de los paneles de secuenciación masiva está vigente la versión 3 del panel de Enfermedades cardiovasculares e incluye 227 genes siguiendo diferentes normas de calidad, tal como ha sido publicado por el grupo de Gargis et al⁵⁶ en el año 2012.

1. DISEÑO PANEL DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA. MÉTODO UTILIZADO.

El método utilizado incluye búsqueda bibliográfica de enfermedades genéticas cardiovasculares, listado de enfermedades y genes y revisión de datos genéticos de cada uno de los genes.

1.1. BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

La metodología utilizada para crear el listado de las enfermedades cardiovasculares asociadas a muerte súbita, de origen hereditario, se realizó mediante el estudio de las enfermedades de interés en las siguientes fuentes de información:

Objetivo 1: Materiales y métodos

- *On Mendelian Inheritance in Man: OMIM*¹³⁸ base de datos utilizada para obtener la información de enfermedades y genes asociados.
- *GeneReviews*¹³⁹ base de datos que caracteriza las enfermedades, establece el diagnóstico diferencial y los genes asociados.
- *PubMed*¹⁴⁰ base de datos de bibliografía actualizada sobre información biomédica.

Estas fuentes de información han sido visitadas en múltiples ocasiones dependiendo de la evolución de este trabajo y de otros diseños que se han realizado.

1.2. ELABORACIÓN DEL LISTADO DE ENFERMEDADES Y GENES ASOCIADOS.

La información obtenida fue clasificada por Enfermedades, formas descritas de cada una de ellas, código OMIM de la enfermedad, genes asociados con sus loci y código *OMIM de los genes. Estos datos se recogen en el conjunto de Tablas 4 (A-J)

Tabla 4. Diseño de enfermedades cardiogenéticas asociadas a muerte súbita. Panel de 72 genes.

A. DISPLASIA ARRITMOGÉNICA VENTRÍCULO DERECHO (DAVD)				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
14q24.3	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 1	107970	TGFB3	190230
1q43	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 2	600996	RYR2	180902
3p25.1	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 5	604400	TMEM43	612048
6p24.3	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 8	607450	DSP	125647
12p11.21	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 9	609040	PKP2	602861
18q12.1	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 10	610193	DSG2	125671
18q12.1	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 11	610476	DSC2	125645
17q21.2	Displasia arritmogénica ventrículo derecho 12	611528	JUP	173325

Objetivo 1: Materiales y métodos

B. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA (MCH)				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
14q11.2	Miocardopatía Hipertrófica 1	192600	<i>MYH7</i>	160760
1q32.1	Miocardopatía Hipertrófica 2	115195	<i>TNNT2</i>	191045
15q22.2	Miocardopatía Hipertrófica 3	115196	<i>TPM1</i>	191010
11p11.2	Miocardopatía Hipertrófica 4	115197	<i>MYBPC3</i>	600958
7q36.1	Miocardopatía Hipertrófica 6	600858	<i>PRKAG2</i>	602743
19q13.42	Miocardopatía Hipertrófica 7	613690	<i>TNNI3</i>	191044
3p21.31	Miocardopatía Hipertrófica 8	608751	<i>MYL3</i>	160790
2q31.2	Miocardopatía Hipertrófica 9	613765	<i>TTN</i>	188840
12q24.11	Miocardopatía Hipertrófica 10	608758	<i>MYL2</i>	160781
15q14	Miocardopatía Hipertrófica 11	612098	<i>ACTC1</i>	102540
11p15.1	Miocardopatía Hipertrófica 12	612124	<i>CSRP3</i>	600824
3p21.1	Miocardopatía Hipertrófica 13	613243	<i>TNNC1</i>	191040
14q11.2	Miocardopatía Hipertrófica 14	613251	<i>MYH6</i>	160710
10q22.2	Miocardopatía Hipertrófica 15	613255	<i>VCL</i>	193065
4q26	Miocardopatía Hipertrófica 16	613838	<i>MYOZ2</i>	605602
20q13.12	Miocardopatía Hipertrófica 17	613873	<i>JPH2</i>	605267
6q22.31	Miocardopatía Hipertrófica 18	613874	<i>PLN</i>	172405
19p13.11	Miocardopatía Hipertrófica 19	613875	<i>CALR3</i>	611414
1p31.1	Miocardopatía Hipertrófica 20	613876	<i>NEXN</i>	613121
20q11.21	MCH de tabique interventricular	192600	<i>MYLK2</i>	606566
3p25.3	Miocardopatía Hipertrófica	192600	<i>CAV3</i>	601253
4q35.1	Miocardopatía Hipertrófica	192600	<i>SLC25A4</i>	103220
Xq24	Enfermedad de Danon	300257	<i>LAMP2</i>	309060
17q12	Miocardopatía Hipertrófica		<i>TCAP</i>	604488

C. MIOCARDIOPATÍA DILATADA				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
1q22	Miocardopatía Dilatada 1A	115200	<i>LMNA</i>	150330
1q43	Miocardopatía Dilatada 1AA	612158	<i>ACTN2</i>	102573
18q12.1	Miocardopatía Dilatada 1BB	612877	<i>DSG2</i>	125671
10q23.2	Miocardopatía Dilatada 1C	601493	<i>LDB3</i>	605906
1p31.1	Miocardopatía Dilatada 1CC	613122	<i>NEXN</i>	613121
1q32.1	Miocardopatía Dilatada 1D	601494	<i>TNNT2</i>	191045
10q25.2	Miocardopatía Dilatada 1DD	613172	<i>RBM20</i>	613171
3p22.2	Miocardopatía Dilatada 1E	601154	<i>SCN5A</i>	600163
14q11.2	Miocardopatía Dilatada 1EE	613252	<i>MYH6</i>	160710
19q13.42	Miocardopatía Dilatada 1FF	613286	<i>TNNI3</i>	191044
2q31.2	Miocardopatía Dilatada 1G	604145	<i>TTN</i>	188840

Objetivo 1: Materiales y métodos

Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
2q35	Miocardopatía Dilatada 1I	604765	<i>DES</i>	125660
6q23.2	Miocardopatía Dilatada 1J	605362	<i>EYA4</i>	603550
5q33.3	Miocardopatía Dilatada 1L	606685	<i>SGCD</i>	601411
11p15.1	Miocardopatía Dilatada 1M	607482	<i>CSRP3</i>	600824
17q12	Miocardopatía Dilatada 1N	607487	<i>TCAP</i>	604488
12p12.1	Miocardopatía Dilatada 1O	608569	<i>ABCC9</i>	601439
6q22.31	Miocardopatía Dilatada 1P	609909	<i>PLN</i>	172405
15q14	Miocardopatía Dilatada 1R	613424	<i>ACTC1</i>	102540
14q11.2	Miocardopatía Dilatada 1S	613426	<i>MYH7</i>	160760
12q23.1	Miocardopatía Dilatada 1T	613740	<i>TMPO</i>	188380
14q24.2	Miocardopatía Dilatada 1U	613694	<i>PSEN1</i>	104311
1q42.13	Miocardopatía Dilatada 1V	613697	<i>PSEN2</i>	600759
10q22.2	Miocardopatía Dilatada 1W	611407	<i>VCL</i>	193065
9q31.2	Miocardopatía Dilatada 1X	611615	<i>FKTN</i>	607440
15q22.2	Miocardopatía Dilatada 1Y	611878	<i>TPM1</i>	191010
3p21.1	Miocardopatía Dilatada 1Z	611879	<i>TNNC1</i>	191040
19q13.42	Miocardopatía Dilatada 2A	611880	<i>TNNI3</i>	191044
Xq28	Miocardopatía Dilatada 3A	300069	<i>TAZ</i>	300394
Xp21.2-p21.1	Miocardopatía Dilatada 3B	302045	<i>DMD</i>	300377
11p11.2	Miocardopatía Dilatada	115200	<i>MYBPC3</i>	600958

D. MIOCARDIOPATÍA NO COMPACTADA DE VENTRÍCULO IZQUIERDO (VLNC)				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
18q12.1	VLCN 1, con o sin defectos cardíacos congénitos.	604169	<i>DTNA</i>	601239
10q23.2	VLCN 3, con o sin miocardopatía dilatada.	601493	<i>LDB3</i>	605906
15q14	VLCN 4	613424	<i>ACTC1</i>	102540
14q11.2	VLCN 5	613426	<i>MYH7</i>	160760
1q32.1	VLCN 6	601494	<i>TNNT2</i>	191045
Xq28	VLCN ligado a X	300183	<i>TAZ</i>	300394

E. MIOCARDIOPATÍA RESTRICTIVA FAMILIAR				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
1q32.1	Miocardopatía familiar restrictiva tipo 3	612422	<i>TNNT2</i>	191045
19q13.42	Miocardopatía familiar restrictiva	115210	<i>TNNI3</i>	191044

Objetivo 1: Materiales y métodos

F. SÍNDROME DE BRUGADA				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
3p22.2	Síndrome de Brugada 1	601144	SCN5A	600163
3p22.3	Síndrome de Brugada 2	611777	GPD1L	611778
12p13.33	Síndrome de Brugada 3	611875	CACNA1C	114205
10p12.33-12.31	Síndrome de Brugada 4	611876	CACNB2	600003
19q13.12	Síndrome de Brugada 5	612838	SCN1B	600235
11q13.4	Síndrome de Brugada 6	613119	KCNE3	604433
11q24.1	Síndrome de Brugada 7	613120	SCN3B	608214

G. SÍNDROME QT LARGO				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
11p15.5-p15.4	Síndrome QT largo-1	192500	KCNQ1	607542
7q36.1	Síndrome QT largo -2	613688	KCNH2	152427
3p22.2	Síndrome QT largo -3	603830	SCN5A	600163
4q25-q26	Síndrome QT largo -4	600919	ANK2	106410
21q22.12	Síndrome QT largo -5	613695	KCNE1	176261
21q22.11	Síndrome QT largo -6	613693	KCNE2	603796
17q24.3	Síndrome QT largo -7	170390	KCNJ2	600681
3p25.3	Síndrome QT largo -9	611818	CAV3	601253
11q23.3	Síndrome QT largo -10	611819	SCN4B	608256
7q21.2	Síndrome QT largo -11	611820	AKAP9	604001
20q11.21	Síndrome QT largo 12	612955	SNTA1	601017
12p13.33	Síndrome Timothy	601005	CACNA1C	114205
17q24.3	Síndrome Andersen	170390	KCNJ2	600689
11p15.5-p15.4	Síndrome Jervell y Lange-Nielsen 1	220400	KCNQ1	607542
21q22.12	Síndrome Jervell y Lange-Nielsen 2	612347	KCNE1	176261

H. SÍNDROME QT CORTO				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
7q36.1	Síndrome QT corto 1	609620	KCNH2	152427
11p15.5-p15.4	Síndrome QT corto 2	609621	KCNQ1	607542
17q24.3	Síndrome QT corto 3	609622	KCNJ2	600681
12p13.33	Síndrome QT corto 4		CACNA1C	114205
10p12.33-12.31	Síndrome QT corto 5		CACNB2	600003
1q21.2	Fibrilación auricular 11	614049	GJA5	121013

I. TAQUICARDIA VENTRICULAR POLIMÓRFICA CATECOLAMINÉRGICA				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
1q43	Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica 1	604772	<i>RYR2</i>	180902
1p13.1	Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica 2	611938	<i>CASQ2</i>	114251

J. ANEURISMA FAMILIAR DE AORTA TORÁCICA				
Locus	Enfermedad	OMIM	Gen	*OMIM
3p24.1	Síndrome Loews-Dietz tipo 2B	610380	<i>TGFBR2</i>	190182
3p24.1	Síndrome Loews-Dietz tipo 1B	610168	<i>TGFBR2</i>	190182
15q21.1	Síndrome de Marfan	154700	<i>FBN1</i>	134797
5q23.3	Aracnodactilia contractural congénita	121050	<i>FBN2</i>	612570

1.3. INFORMACIÓN GENÉTICA

La información genética de los genes implicados en las diferentes patologías cardiovasculares se obtuvo mediante búsqueda de información en las siguientes bases de datos:

- National Center for Biotechnology Information: Gene¹⁴¹: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>.
- HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC)⁸⁴: <http://www.genenames.org/>
- Código de identificación Ensembl⁴⁷: <http://www.ensembl.org/index.html>
- Genecards⁵⁹: <http://www.genecards.org/>
- Uniprot¹⁹⁸: <http://www.uniprot.org/>
- Human Gene Mutation Database⁸⁵: <https://portal.biobase-international.com/cgi-bin/portal/login>.
- Genatlas Université Paris Descartes⁵⁸: <http://genatlas.medecine.univ-paris5.fr/>

Los datos obtenidos se especifican en la Tabla 5 donde constan:

Objetivo 1: Materiales y métodos

- Nombre oficial del gen según nomenclatura *The HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC)*
- Identificación *Ensembl*
- Posición genómica de acuerdo a nomenclatura *Human genome 18*
- Número de bases de regiones codificantes de cada gen.
- Proteína codificada por el gen en estudio.

Tabla 5. Datos genéticos de panel de 72 genes asociados a muerte súbita.

GENES	ENSEMBL ID	CROMOSOMA y POSICIÓN GENÓMICA	nº BASES EXONES	PROTEÍNA
<i>ABCC9</i>	ENSG00000069431	12:21950335-22094336:-1	4939	Casette de unión_ATP, subfamilia C miembro 9
<i>ACTC1</i>	ENSG00000159251	15:35080297-35088340:-1	1667	α Actina cardiaca 1
<i>ACTN2</i>	ENSG00000077522	1:236849754-236927931:1	3334	α Actinina 2
<i>AKAP9</i>	ENSG00000127914	7:91570181-91739987:1	16596	Proteína de anclaje de quinasa A-9
<i>ANK2</i>	ENSG00000145362	4:113739265-114304896:1	15035	Ankirina 2
<i>CACNA1C</i>	ENSG00000151067	12:2079952-2802108:1	8864	Subunidad α C del canal de calcio tipo L activado por voltaje
<i>CACNB2</i>	ENSG00000165995	10:18429606-18830798:1	3390	Subunidad β 2 de canal de calcio tipo L activado por voltaje
<i>CALR3</i>	ENSG00000269058	19:16589868-16607003:-1	1155	Calreticulina 3
<i>CASQ2</i>	ENSG00000118729	1:116242628-116311402:-1	1409	Precursor de Calsequestrina 2
<i>CAV3</i>	ENSG00000182533	3:8775486-8883492:1	1022	Caveolina 3
<i>CSRP3</i>	ENSG00000129170	11:19203578-19232120:-1	585	Proteína LIM cardiaca
<i>DES</i>	ENSG00000175084	2:220283099-220291461:1	1823	Desmina
<i>DMD</i>	ENSG00000198947	X:31137336-33357558:-1	11055	Distrofina
<i>DSC2</i>	ENSG00000134755	18:28645940-28682378:-1	2742	Desmocolina 2
<i>DSG2</i>	ENSG00000046604	18:29078006-29128971:1	3366	Desmogleína 2
<i>DSP</i>	ENSG00000096696	6:7541808-7586950:1	8913	Desmoplaquina
<i>DTNA</i>	ENSG00000134769	18:32073254-32471808:1	2416	α Distrobrevina
<i>EYA4</i>	ENSG00000112319	6:133561736-133853258:1	5344	Ausencia de ojos, homólogo 4
<i>FBN1</i>	ENSG00000166147	15:48700503-48938046:-1	9622	Precursor de fibrilina 1
<i>FBN2</i>	ENSG00000138829	5:127593601-127994878:-1	10107	Precursor de fibrilina 2
<i>FKTN</i>	ENSG00000106692	9:108320411-108403399:1	2040	Fukutina

Objetivo 1: Materiales y métodos

GENES	ENSEMBL ID	CROMOSOMA y POSICIÓN GENÓMICA	nº BASES EXONES	PROTEÍNA
<i>GJA5</i>	ENSG00000143140	1:147228332-147245484:-1	1077	Conexina 40
<i>GPD1L</i>	ENSG00000152642	3:32147181-32210205:1	4394	Glicerol 3 fosfato dehidrogenasa like 1
<i>JPH2</i>	ENSG00000149596	20:42740335-42816218:-1	2102	Juntofilina 2
<i>JUP</i>	ENSG00000173801	17:39775692-39943183:-1	3529	Placoglobina de unión
<i>KCNA5</i>	ENSG00000130037	12:5153085-5155949:1	1842	Subfamilia A miembro 5 de canal de potasio activado por voltaje
<i>KCNE1</i>	ENSG00000180509	21:35818988-35884573:-1	2431	Subfamilia E miembro 1 de canal de potasio activado por voltaje
<i>KCNE2</i>	ENSG00000159197	21:35736323-35743440:1	372	Subfamilia E miembro 2 de canal de potasio activado por voltaje
<i>KCNE3</i>	ENSG00000175538	11:74165886-74178774:-1	312	Subfamilia E miembro 3 de canal de potasio activado por voltaje
<i>KCNH2</i>	ENSG00000055118	7:150642049-150675403:-1	5235	Subfamilia H miembro 2 de canal de potasio activado por voltaje
<i>KCNJ2</i>	ENSG00000123700	17:68164814-68176189:1	1284	Rectificador de entrada 2 del canal de potasio
<i>KCNQ1</i>	ENSG00000053918	11:2465914-2870339:1	2982	Subfamilia KQT miembro 1 de canal de potasio activado por voltaje
<i>LAMP2</i>	ENSG00000005893	X:119561682-119603220:-1	1516	Proteína de membrana 2 asociada al lisosoma
<i>LDB3</i>	ENSG00000122367	10:88428206-88495825:1	2886	Dominio LIM de unión 3
<i>LMNA</i>	ENSG00000160789	1:156052364-156109880:1	5993	Lamina
<i>LRP6</i>	ENSG00000070018	12:12268959-12419946:-1	4959	Receptor de lipoproteínas de baja densidad relacionado con la proteína precursora 6
<i>MEF2A</i>	ENSG00000068305	15:100017370-100256671:1	2534	Factor 2A potenciador específico de miocitos.
<i>MYBPC3</i>	ENSG00000134571	11:47352957-47374253:-1	3828	Fracción cardíaca de proteína C de unión a miosina
<i>MYH6</i>	ENSG00000197616	14:23851199-23877486:-1	6418	Cadena pesada 6 de α miosina
<i>MYH7</i>	ENSG00000092054	ENSG00000092054	5808	Cadena pesada 7 de β miosina
<i>MYL2</i>	ENSG00000111245	12:111348623-111358526:-1	1104	Cadena ligera 2 de miosina cardíaca
<i>MYL3</i>	ENSG00000160808	3:46899362-46923659:-1	588	Cadena ligera 3 de miosina
<i>MYLK2</i>	ENSG00000101306	20:30407111-30422492:1	2703	Cadena ligera 2 miosinquinasa
<i>MYOZ2</i>	ENSG00000172399	4:120056939-120108944:1	795	Miozenina 2
<i>NEXN</i>	ENSG00000162614	1:78354198-78409580:1	3475	Nexilina

Objetivo 1: Materiales y métodos

GENES	ENSEMBL ID	CROMOSOMA y POSICIÓN GENÓMICA	nº BASES EXONES	PROTEÍNA
<i>NPPA</i>	ENSG00000175206	1:11905766-11908402:-1	456	Precursor de péptido natriurético A
<i>PKP2</i>	ENSG00000057294	12:32943679-33049774:-1	4762	Placofilina 2
<i>PLN</i>	ENSG00000198523	6:118869461-118881893:1	159	Fosfolamban
<i>PRKAG2</i>	ENSG00000106617	7:151253197-151574210:-1	4549	Subunidad no catalítica, $\gamma 2$, proteinquinasa, activada por AMP.
<i>PSEN1</i>	ENSG00000080815	14:73603126-73690399:1	2644	Presenilina 1
<i>PSEN2</i>	ENSG00000143801	1:227057885-227083806:1	2585	Presenilina 2
<i>RBM20</i>	ENSG00000203867	10:112404155-112599227:1	4893	Motivo de unión de proteína RNA 20
<i>RYR2</i>	ENSG00000198626	1:237205505-237997288:1	16124	Receptor 2 de rianodina
<i>SCN1B</i>	ENSG00000105711	19:35521588-35531352:1	1016	Precursor de la subunidad $\beta 1$ de canal de sodio
<i>SCN3B</i>	ENSG00000166257	11:123499895-123525952:-1	3734	Precursor de la subunidad $\beta 3$ de canal de sodio
<i>SCN4B</i>	ENSG00000177098	11:118004092-118023603:-1	5434	Precursor de la subunidad $\beta 4$ del canal de sodio
<i>SCN5A</i>	ENSG00000183873	3:38589548-38691164:-1	7664	Subunidad α de canal de sodio tipo 5
<i>SGCD</i>	ENSG00000170624	5:155297354-156194799:1	1002	δ Sarcoglicano
<i>SLC25A4</i>	ENSG00000151729	4:186064395-186068434:1	1666	Miembro 4 de la familia 25 de transportadores de solutos
<i>SNTA1</i>	ENSG00000101400	20:31995761-32031698:-1	1518	$\alpha 1$ sintrofina
<i>TAZ</i>	ENSG00000102125	X:153639854-153650065:1	4821	Tafazina
<i>TCAP</i>	ENSG00000173991	17:37820440-37822808:1	504	Teletonina
<i>TGFB3</i>	ENSG00000119699	14:76424442-76449334:-1	4553	Factor de crecimiento β transformante, 3
<i>TGFBR2</i>	ENSG00000163513	3:30647994-30735634:1	1779	Precursor de receptor β TGF tipo 2
<i>TMEM43</i>	ENSG00000170876	3:14166440-14185179:1	1392	Proteína transmembrana 43
<i>TMPO</i>	ENSG00000120802	12:98909290-98944157:1	4609	Timopoyetina
<i>TNNC1</i>	ENSG00000114854	3:52485118-52488086:-1	619	Troponina C, tipo 1
<i>TNNI3</i>	ENSG00000129991	19:55663137-55669141:-1	633	Troponina I tipo 3
<i>TNNT2</i>	ENSG00000118194	1:201328136-201346890:-1	7199	Troponina cardíaca T2
<i>TPM1</i>	ENSG00000140416	15:63334831-63364114:1	4746	Tropomiosina 1
<i>TTN</i>	ENSG00000155657	2:179390716-179695529:-1	112999	Titina
<i>VCL</i>	ENSG00000035403	10:75757872-75879918:1	3825	Vinculina

2. DISEÑO BIOINFORMÁTICO DEL PANEL DE 72 GENES DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.

El diseño bioinformático del panel de 72 genes asociados a enfermedades cardiovasculares con riesgo de muerte súbita se realizó en la Unidad de Bioinformática de Sistemas Genómicos. Incluyó 1.4 Mb de exones, 100 nucleótidos en las zonas de *splicing*. Las regiones no traducidas 5' y 3' de los 72 genes se diseñaron con 1000 y 200 nucleótidos, respectivamente. En cada gen se seleccionó la isoforma consenso utilizada en la base de datos *Human Gene Mutation Databases* de *BioBase*⁸⁵. La herramienta eArray, proporcionado por Agilent⁶, se utilizó para diseñar el panel genético personalizado.

La estrategia de diseño generó las sondas en todas las regiones definidas para que cada nucleótido fuera capturado al menos con dos sondas diferentes y se seleccionó la opción de enmascaramiento "moderadamente astringente" para evitar regiones repetitivas y de alta complejidad en donde no se pueden diseñar sondas de captura.

Las sondas fueron fabricadas por Agilent Technologies siguiendo las normas para el kit de ADN SureSelect personalizado y corresponden a sondas biotiniladas que capturan regiones genómicas de interés mediante hibridación en solución. En la Tabla 6 se encuentran las enfermedades y los genes asociados que fueron diseñados en el panel de 72 genes.

Objetivo 1: Materiales y métodos

Tabla 6. Enfermedades cardiovasculares asociadas a muerte súbita y 72 genes contenidos en el panel de secuenciación masiva.

ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES	GENES ASOCIADOS
Aneurisma de Aorta	<i>FBN1, FBN2, TGFB2.</i>
Arritmia Familiar	<i>AKAP9, ANK2, CACNA1C, CACNB2, CASQ2, CAV3, DSC2, DSG2, DSP, GJA5, GPD1L, JUP, KCNA5, KCNE1, KCNE2, KCNE3, KCNH2, KCNJ2, KCNQ1, NPPA, PKP2, RYR2, SCN1B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SNTA1, TGFB3, TMEM43.</i>
Síndrome de Brugada	<i>SCN5A, GPD1L, CACNA1C, CACNB2, SCN1B, KCNE3, SCN3B.</i>
Displasia Arritmogénica del Ventrículo Derecho	<i>TGFB3, RYR2, TMEM43, DSP, PKP2, DSG2, DSC2, JUP</i>
Fibrilación auricular familiar	<i>GJAS, KCNQ1, KCNE2, NPPA, KCNA5.</i>
Miocardiopatía Dilatada	<i>ABCC9, ACTC1, ACTN2, CSRP3, DES, DMD, DSG2, DTNA, EYA4, FKTN, LDB3, LMNA, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MIOZ2, NEXN, PLN, PSEN1, PSEN2, RBM20, SCN5A, SGCD, TAZ, TCAP, TPMO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN, VCL.</i>
Miocardiopatía Familiar	<i>ABCC9, ACTC1, ACTN2, CALR3, CAV3, CSRP3, DES, DMD, DSG2, DTNA, EYA4, FKTN, JPH2, LAMP2, LDB3, LMNA, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MIOZ2, NEXN, PLN, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, RBM20, SCN5A, SGCD, SLC25A4, TAZ, TCAP, TPMO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN, VCL.</i>
Miocardiopatía Hipertrófica	<i>ACTC1, ACTN2, CAV3, CALR3, CSRP3, JPH2, LAMP2, LDB3, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOZ2, PLN, PRKAG2, SLC25A4, TCAP, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN, VCL.</i>
Miocardiopatía No Compactada de Ventrículo Izquierdo	<i>ACTC1, DTNA, LDB3, MYBPC3, MYH7, TAZ, TNNT2, TPM1.</i>
Miocardiopatía Restrictiva o Miocardiopatía Dilatada con fenotipo restrictivo	<i>ACTC1, DES, MYH7, TNNI3, TNNT2</i>
Muerte Súbita Infantil	<i>GJA1, SCN5A</i>
Muerte Súbita	<i>ABCC9, ACTC1, ACTN2, AKAP9, ANK2, CACNA1B, CACNA1C, CACNB2, CALR3, CASQ2, CAV3, CSRP3, DES, DSC2, DSG2, DSP, DTNA, EYA4, FBN1, FBN2, FKTN, GJA5, GPD1L, JPH2, JUP, KCNA5, KCNE1, KCNE2, KCNE3, KCNH2, KCNJ2, KCNQ1, LAMP2, LDB3, LMNA, LRP6, MEFA2, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOZ2, NEXN, NPPA, PKP2, PLN, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, RBM20, RYR2, SCN1B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SGCD, SLC25A4, SNTA1, TAZ, TCAP, TGFB3, TGFB2, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN, VCL</i>
Síndrome QT largo	<i>KCNQ1, KCNE1, KCNE2, KCNH2, ANK2, SCN5A, KCNJ2, CACNA1C, CAV3, SCN4B, AKAP9, SNTA1.</i>
Síndrome QT-Corto	<i>KCNQ1, KCNJ2, KCNH2, CACNA1C</i>
Taquicardia Ventricular Polimórfica Catecolaminérgica	<i>RYR2, CASQ2.</i>

3. VALIDACIÓN DEL PANEL DE 72 GENES DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.

3.1. MUESTRAS UTILIZADAS PARA LA VALIDACIÓN DEL PANEL.

Para el proceso de validación se utilizó la Línea celular HapMap NA12144 y 10 muestras anonimizadas, portadoras de mutaciones en genes contenidos en el panel.

- **Validación bioinformática:** se realizó con la Línea celular HapMap NA12144 que proviene de un individuo de origen caucásico, sano, de sexo masculino. La línea celular NA12144 es producida y comercializada por Coriell Institute³². En esta línea celular se han descrito 10347 variantes curadas, distribuidas en todos los cromosomas y ha sido caracterizado a través de la plataforma de SNPs de Affimetrix v.6. Los datos totales de las variantes de la línea celular HapMap NA12144 se encuentran en el Anexo II.

- **Validación diagnóstica:** se realizó con muestras anonimizadas previamente estudiadas en Sistemas Genómicos. Estas muestras eran portadoras de mutaciones de interés. Corresponden a 10 pacientes afectos de enfermedades cardiovasculares incluidas en este proceso. En vista de la evaluación de 10347 variantes en la línea HapMap, la selección de las muestras patológicas se hizo según el tipo de mutaciones encontradas, siendo las de mayor interés aquellas que alteran el alineamiento de la secuencia.

Los detalles de las muestras utilizadas se encuentran en el Anexo III.

3.2. MÉTODOS.

La secuenciación masiva se realizó en el laboratorio de Nuevas Tecnologías de Sistemas Genómicos en la plataforma SOLID v4 y siguió el siguiente protocolo:

- Extracción de ADN de alta calidad.

Objetivo 1: Materiales y métodos

- Preparación de librería de fragmentos a partir del ADN genómico.
- Hibridación de la librería de fragmentos con sondas biotiniladas.
- Selección de las regiones que han hibridado con las sondas de captura utilizando microesferas magnéticas con estreptavidina.
- Amplificación de la librería en emulsión sobre microesferas y modificación del extremo 3' de los fragmentos para facilitar su adhesión al soporte para la secuenciación.
- Carga y secuenciación en la plataforma SOLiD v4 que se realiza mediante ligación con sondas fluorescentes.

La evaluación bioinformática de la secuenciación y de la captura siguió el siguiente procedimiento resumido, realizado en la Unidad de Bioinformática de Sistemas Genómicos:

- Alineación de las secuencias frente al genoma humano de referencia (versión hg 18).
- Filtrados primario y secundario para eliminar duplicados de PCR, alineamientos múltiples, lecturas en blanco y mala calidad de la lectura.
- Cálculo de la cobertura obtenida después de la alineación. Se calcula en base a dos parámetros: Depth o profundidad que se establece por el número de diferentes lecturas para una sola base, representada por un número seguido de una "x". Ej: 1x, 20x, etc. y a la cobertura propiamente dicha, que corresponde al número de bases cubiertas por un valor dado de Depth.
- Identificación de variantes.
- Especificidad y sensibilidad del panel.



V. OBJETIVO 1: RESULTADOS

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

1. VALIDACIÓN BIOINFORMÁTICA DEL PANEL DE 72 GENES.

Para evaluar la exactitud y precisión del panel se realizó el proceso de secuenciación masiva con la línea celular HapMap NA12144.

Para evaluar la variabilidad, se verificó la exactitud y precisión de los procesos llevados a cabo en diferentes tiempos y por diferentes técnicos.

Los resultados bioinformáticos obtenidos (Figura 11) revelaron los siguientes datos:

- El 94,41% de bases diana fue capturado por las sondas del diseño.
- El 85,74% de las zonas no cubiertas fueron zonas UTR ricas en elementos repetitivos.
- Se detectaron 4.233 variantes en HGMD en zonas diana. No se cubrieron 1,84% de variantes.
- La eficiencia de la unidad de captura fue del 94.41% en concordancia con los resultados del fabricante (50 al 85%)¹¹.

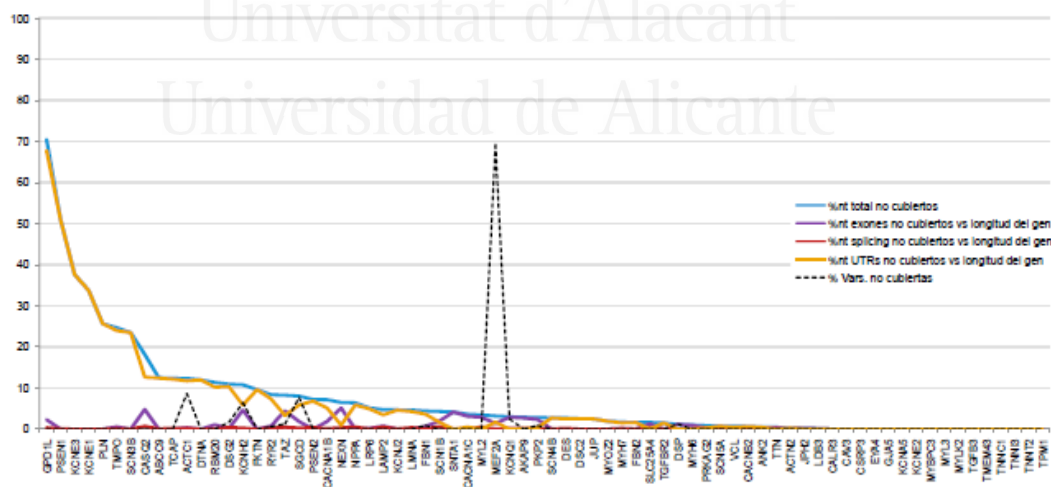


Figura 11. Evaluación del diseño de sondas del panel 72 genes de Enfermedades Cardiovasculares asociadas a muerte súbita.

La especificidad de la unidad de captura se estimó considerando la homogeneidad en la distribución de las regiones diana a diferentes profundidades. El 97% de regiones codificantes y alrededor del 95% de las regiones UTR estuvieron cubiertas por al menos una sonda. La cobertura media del panel a 20x fue de 96.31% con DS de 0.8%.

Se verificó la exactitud y precisión para evaluar la variabilidad entre los procesos llevados a cabo en diferentes tiempos y por diferentes técnicos. Los resultados a 20x demostraron diferencias menores a 1,22% entre runs y 0.06% entre diferentes técnicos, fortaleciendo la utilización de esta tecnología en la rutina de diagnóstico.

La sensibilidad de la técnica se evaluó mediante la comparación de los datos obtenidos en SOLID v4 con los datos de secuenciación masiva obtenidos y analizados en el ámbito del proyecto internacional *1000genomes*⁹⁶, lo que supone enfrentar datos procedentes de dos fuentes diferentes de secuenciación masiva.

- El valor medio global de sensibilidad se estimó en 96.68% para SNPs y en 70.85% para Indels. Estos resultados muestran una alta sensibilidad para los SNPs. La menor sensibilidad de los indels es debida a la limitación intrínseca de la secuenciación masiva para la identificación de indels (12 nucleótidos para deleciones y 5 nucleótidos para duplicaciones). Sin embargo, esta sensibilidad en los indels debe considerarse como buena¹⁴⁴.

- Las plataformas y pipelines utilizados en el proceso de validación en Sistemas Genómicos son diferentes a los empleados en el proyecto *1000 genomes* del que se toman los datos de referencia.

2. VALIDACIÓN DIAGNÓSTICA CON MUESTRAS CONOCIDAS.

Para la validación diagnóstica se utilizaron 10 muestras anonimizadas, previamente estudiadas por secuenciación Sanger en el laboratorio de Biología Molecular de Sistemas Genómicos. Se escogieron mutaciones de tipo *nonsense*, deleciones, duplicaciones e indels de hasta 5 bases y mutaciones de *splicing* en

diferentes genes del panel de 72 genes. La cobertura media para definir si una variante debería validarse por secuenciación Sanger fue $>20x$.

Los resultados demostraron una concordancia del 100% en la detección de las mutaciones de cada muestra. La sensibilidad en la detección de variantes fue del 100%. La especificidad en la detección de variantes fue del 90%, sin embargo, todas las variantes detectadas por secuenciación masiva fueron confirmadas por secuenciación Sanger.

Las limitaciones propias de la tecnología de secuenciación masiva corresponden a detección de inserciones hasta 5 nucleótidos, así como deleciones hasta 12 nucleótidos.

En conclusión, la identificación de variantes por secuenciación masiva es fiable, precisa y altamente reproducible.

El procedimiento para el diseño y validación del panel de 72 genes se resumen en la Figura 12.

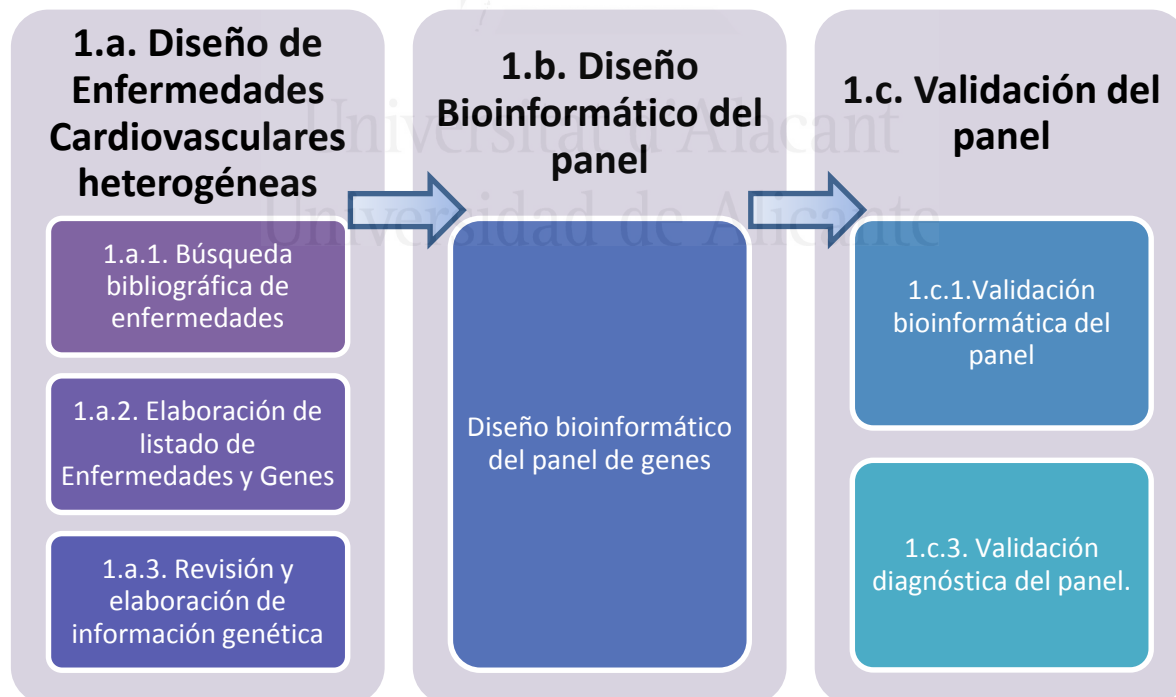


Figura 12. Procedimiento de diseño y validación de estudios genéticos de enfermedades cardiovasculares de origen heterogéneo a través del panel de secuenciación masiva de 72 genes.

OBJETIVO 2:

**DESARROLLAR UNA ESTRATEGIA DE ESTUDIO
DE ALTA ESPECIFICIDAD PARA APLICAR AL
DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES
CARDIOGENÉTICAS CON RIESGO DE MUERTE
SÚBITA MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA.**



VI. OBJETIVO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

Objetivo 2: Materiales y Métodos

Para alcanzar este objetivo, el protocolo de estudio incluye procesos de laboratorio previamente realizados en la Unidad de Nuevas Tecnologías y el análisis bioinformático primario y secundario realizado en la Unidad de Bioinformática que no serán abordados en esta tesis debido a que se llevan a cabo en otras unidades de trabajo de Sistemas Genómicos.

Muy brevemente, la metodología utilizada en el laboratorio de Nuevas Tecnologías y en la Unidad de Bioinformática de Sistemas Genómicos en las muestras obtenidas para diagnóstico de enfermedades cardiovasculares asociadas a muerte súbita se realizó mediante:

- Extracción y purificación del ADN genómico a partir de la muestra remitida.
- Preparación de una librería de fragmentos del genoma.
- Selección de las regiones objeto de estudio mediante hibridación con sondas en solución. Estas regiones incluyen las regiones codificantes, regiones intrónicas adyacentes y regiones 5' y 3' de los genes.
- Amplificación clonal de los fragmentos de ADN seleccionados mediante PCR en emulsión.
- Secuenciación de las regiones seleccionadas mediante ligación de sondas (SOLiD v4) siguiendo la estrategia de *paired-ends*.
- Análisis bioinformático primario y secundario.

1. DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN SECUENCIACIÓN MASIVA.

- **Material:** Datos del análisis bioinformático en muestras de ADN sometidas a secuenciación masiva. Corresponde al Anexo IV.

- **Métodos:** El segundo objetivo de esta tesis doctoral fue el desarrollo de una metodología de diagnóstico molecular ordenada y estandarizada, aplicada al estudio de enfermedades cardíacas analizadas por secuenciación masiva hasta llegar a la emisión de informe clínico-biológico. El modelo de diagnóstico se obtuvo entre octubre 2010 y febrero 2011 en la Unidad de Genética Médica.



VII. OBJETIVO 2: RESULTADOS

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

El flujograma que se ha desarrollado para establecer el diagnóstico molecular de enfermedades cardíacas genéticas se resume en la Figura 13. Incluye el sistema de filtrados sobre el resultado bioinformático, consulta de bases de datos y estudios de predicción *in silico* para realizar la clasificación de las variantes detectadas, interpretación biológica de las variantes nucleotídicas con probablemente patogénicas, validación de estas variantes por secuenciación Sanger y la elaboración del informe clínico biológico de los resultados moleculares.

1. SISTEMA DE FILTRADOS

Para determinar la presencia de mutaciones asociadas a enfermedad y variantes de significado desconocido que puedan estar implicadas en la patología, se aplican filtros en el siguiente orden, teniendo en cuenta aquellas variantes que tengan un cambio de base con un valor Depth > 20x y un cociente Variante/Depth > 0,2. En el caso de indels el cociente aplicado para Variante/Depth es > 0,1. Estos parámetros no son aplicables en el caso de variantes clasificadas como probablemente muy patogénicas.

Fase 1:

- Variantes probablemente muy patogénicas: Se seleccionan todas aquellas variantes cuya consecuencia prevista en el transcrito de referencia sea una de las siguientes opciones: *'transcript ablation'*; *'stop gained'*; *'stop lost'*; *'frameshift variant'*; *'splice donor variant'*; *'splice acceptor variant'*; *'initiator codon variant'*.
- Variantes asociadas a enfermedad: Se seleccionan todas aquellas variantes que aparecen descritas en la base de datos Biobase HGMD Professional, como *'disease causing mutation'* independiente de la frecuencia global del alelo minoritario (MAF), o como *'likely disease causing mutation'* con un valor MAF < 0,01.
- Variantes de significado incierto no descritas que incluye:

- Variantes *missense* con valor MAF no descrito.
- Variantes en región de *splicing* con valor MAF no descrito.

Fase 2:

- Variantes de significado incierto poco frecuentes:
- Variantes *missense* con valor MAF < 0,01.
- Variantes en regiones de *splicing* con valor MAF < 0,01.

Fase 3:

- Variantes sinónimas y en regiones UTR poco frecuentes o no descritas:
- Variantes sinónimas con valor MAF < 0,01 o no descrito.
- Variantes en regiones UTR con valor MAF < 0,01 o no descrito.

Todas las variantes candidatas encontradas en una sola fase, se validan por secuenciación Sanger.

2. CONSULTA DE BASES DE DATOS.

Las bases de datos consultadas pueden ser múltiples, dependiendo de las características de la variante nucleotídica en estudio, de la enfermedad y su posible asociación, de su efecto a nivel de la proteína o de su frecuencia en estudios poblacionales. Entre ellas están:

- Biobase Pro HGMD²¹: proporciona datos completos sobre las mutaciones de enfermedades hereditarias humanas en la investigación genética y genómica. Su compilación permite un rápido acceso a consultas sobre mutaciones individuales y aplicaciones de búsqueda avanzada. HGMD ® se utiliza en la investigación de genética humana, diagnóstico y aplicaciones de la genómica personal y fue una herramienta fundamental en el análisis de los genomas de James D. Watson y J. Craig Venter, así como los genomas reunidos por el Proyecto 1000 Genomas.

- LOVD (Leiden Open Variation Database) es una base de datos libre, desarrollado en el Centro Médico de la Universidad de Leiden en los Países Bajos, diseñado para recopilar y mostrar variantes en la secuencia de ADN. El enfoque de la base de datos LOVD suele ser la combinación entre un gen y una enfermedad genética. A diferencia de otras bases de datos del genoma humano, que muestran información sobre todas las variantes de ADN, LOVD incluyen información sobre las personas en las que se encuentran las variantes. Esta información del paciente es por lo general sólo accesible para los usuarios registrados. Actualmente dispone de 124.000 variantes únicas en 5175 genes en 162.000 pacientes.

- Bases de datos de Displasia arritmogénica de ventrículo derecho²⁰⁴. Desarrollada por el Departamento de Genética del Centro Médico de la Universidad de Groningen, Países Bajos y por una beca de la Fundación Holandesa del Corazón. El software y los datos que se proporcionan están relacionados con el estudio de los genes: *DES*, *DSC2*, *DSG2*, *DSP*, *JUP*, *PKP2*, *TGFB3*, *TMEM43*, *TTN* relacionados con esta patología y su frecuencia en población control.

- Kaviar⁶³, es una base de datos de variantes conocidas humanas, la mayoría de ellas corresponden a variaciones de un solo nucleótido (SNPs); obtiene la información de diversas fuentes que agrupan al menos a 13 bases de datos, siendo las más relevantes dbSNP135, HapMap, *1000Genomes* y *200Exomes* e incluye más de 55 millones de variantes de los genomas personales, genomas familiares, transcriptomas, bases de datos SNV y encuestas de población. Además facilita un software de acceso libre para la consulta de datos de manera eficiente.

- DbNSP³⁹, esta base de datos es de consulta libre y reúne polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). Los SNPs son las variantes más comunes distribuidas en todo el genoma y se encuentran aproximadamente 1 cada 100 a 300 bases. Esta base de datos se ha desarrollado mediante la colaboración entre el Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano y el Centro Nacional de Información sobre Biotecnología para servir como un repositorio central de

sustituciones de nucleótidos, deleciones cortas e inserciones consideradas como polimorfismos. Los datos de dbSNP se encuentran integrados con otros datos genómicos de NCBI.

- Pubmed¹⁴⁰: Base de datos que incluye más de 23 millones de citas de literatura biomédica de MEDLINE, revistas de ciencias de la vida, y los libros en línea. Las citas pueden incluir vínculos a contenido de texto completo de PubMed Central y sitios web de editores.

3. ESTUDIOS DE PREDICCIÓN *IN SILICO*.

Los algoritmos *In silico* se utilizan en el caso de Variantes *missense* no descritas.

Alamut⁸⁹ es una aplicación de software dedicada a la interpretación de variantes en Genética Médica con varias funciones complementarias: integración de datos a partir de fuentes de datos públicos, información sobre la conservación de aminoácidos, polimorfismos, mutaciones publicadas, distancia físico-química entre dos aminoácidos y anotaciones de proteínas. Básicamente, Alamut es un visor sofisticado de miles de genes humanos anotados, que permite introducir variaciones y estudiar sus efectos sobre la transcripción, *splicing* y traducción.

La interpretación se realiza gracias al acceso automatizado a los sistemas de puntuación de variantes basadas en web (PolyPhen, SIFT, Align GVGD) y por métodos integrados de predicciones en trastornos de *splicing* (Human Splice Site Finder, MaxEntScan, NNSPLICE, SpliceSiteFinder-like).

Algunos de los programas más utilizados son:

- Polyphen (Polymorphism Phenotyping)¹⁶⁰ calcula la diferencia entre los valores obtenidos para la variante salvaje y la variante mutante. De acuerdo a las diferencias encontradas, puede indicar que la sustitución estudiada es rara o que nunca se ha observado en la familia de la proteína en estudio.

La predicción puede ser:

- Probablemente patogénica cuando afecta a la función y a la estructura de la proteína si la diferencia es mayor de 2.
 - Posiblemente patogénica cuando afecta a la función y a la estructura de la proteína con diferencias entre 1.5 y 2.
 - Benigna cuando la diferencia entre el valor salvaje y mutante está por debajo de 1.5.
-
- SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant)¹⁸²: predice si la sustitución de un aminoácido afecta a la función de la proteína. Se basa en la homología de secuencia y en las propiedades físicas de los aminoácidos. Cuando el score que da el programa para predecir el efecto de la mutación es menor de 0.05 considera que ésta es deletérea, mientras que si el valor es mayor de 0.05 considera que es tolerable.
 - Align-GVGD⁹⁰ es un programa que combina las características biofísicas de los aminoácidos y múltiples alineamientos de secuencias proteicas para predecir dónde caen variantes *missense* en los genes de interés, en un espectro que va desde un efecto deletéreo hasta neutral.
 - Human Splice Site Finder⁴² es un programa que permite predecir el efecto de las mutaciones que afectan al *splicing*. Miles de mutaciones se identifican anualmente y muchas de ellas alteran la expresión de proteínas. Aproximadamente el 15% de las mutaciones patógenas causan la enfermedad a través de alteración del sitio de *splicing*. En su mayoría afectan a los sitios de *splicing* existentes, pero mutaciones sinónimas, no sinónimas o sin sentido también pueden crear o alterar los sitios de *splicing*.

4. CLASIFICACIÓN DE VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO.

Las Variantes de significado desconocido, pueden clasificarse en cinco clases: patogénica, probablemente patogénica, indeterminada, probablemente no patogénica, y benigna. Esta clasificación es orientativa, no tiene por sí misma valor diagnóstico y se ha realizado, integrando la información disponible para cada una de las variantes:

- Tipo de cambio.
- Clasificación en la literatura y en HGMD.
- Frecuencia del alelo minoritario (MAF).
- Valor de los predictores *in silico* para las variantes missense (SIFT, PolyPhen, Condel) y de *splicing* (MaxEnt, NNSPLICE, HSF).

Adicionalmente, se pueden considerar otros indicadores de patogenicidad proporcionados por el programa ALAMUT para mutaciones de tipo *missense* (*phyloP score*, *amino acid conservation*, *Grantham distance*, *Align GVGD*, *MutationTaster*, *protein domain*).

5. INTERPRETACIÓN BIOLÓGICA DE VARIANTES NUCLEOTÍDICAS.

Para establecer los criterios de interpretación de variantes se ha seguido las recomendaciones de las Sociedades inglesa y holandesa de Genética clínica y molecular.¹⁶

El efecto de una variante ha sido atribuido atendiendo a los siguientes criterios:

- **Patogénico***: se considera en este grupo en el caso de variantes descritas como mutaciones de tipo *frameshift*, *missense*, *nonsense*, y de región de *splicing*, en HGMD y ampliamente referidas en la literatura consultada.

- **Probablemente patogénico:** se consideran las siguientes opciones:
 - Variantes descritas: variantes de tipo *frameshift*, *missense*, *nonsense*, y de región de *splicing*, previamente descritas como patogénicas en HGMD y en la que la mayoría de la bibliografía consultada, refiere su probable carácter patogénico aunque puede haber bibliografía contradictoria. La clasificación de la variante como deletérea por parte de la mayoría de los predictores sirve para apoyar su clasificación en esta categoría.
 - Variantes nuevas: mutaciones de tipo *frameshift*, *missense*, *nonsense*, y de región de *splicing*, en la que la tendencia de los predictores evaluados conlleva a la probable patogenicidad del cambio.

- **Incierto:**
 - Variantes descritas: variante de tipo *frameshift*, *missense*, *nonsense*, y de región de *splicing* en las que existe una elevada discrepancia entre la bibliografía consultada o entre ésta y los predictores.
 - Variantes nuevas: mutaciones de tipo *frameshift*, *missense*, *nonsense*, y de región de *splicing* en las que existe una elevada discrepancia entre los valores de los predictores evaluados.

- **Probablemente benigno:**
 - Variantes descritas: variantes de tipo *missense*, *nonsense*, y de región de *splicing*, en la que la mayoría de la bibliografía consultada, refiere su probable carácter benigno. También puede encontrarse bibliografía contradictoria. La clasificación de la variante como no deletérea por parte de la mayoría de los predictores, así como un valor de MAF cercano al 1% sirven para apoyar su clasificación en esta categoría.

- Variantes nuevas: mutaciones de tipo *missense* y de región de *splicing*, en la que la tendencia de los predictores evaluados apunta a un probable efecto neutro del cambio.
- **Benigno*:**
 - Variantes descritas: variantes de tipo *missense*, *nonsense*, y de región de *splicing*, previamente descritas como tal en la literatura. La clasificación de la variante como no deletérea por parte de la mayoría de los predictores, así como un valor de MAF cercano al 1% sirven para apoyar su clasificación en esta categoría.

Comentario*: A pesar de los criterios emitidos, se recomienda la evaluación del efecto de las variantes mediante los estudios funcionales y/o cosegregación familiar.

6. VALIDACIÓN DE VARIANTES A TRAVÉS DE SECUENCIACIÓN SANGER.

Dentro del proceso de diagnóstico, aquellas variantes detectadas en un estudio y que han sido clasificadas como patogénicas, probablemente patogénicas o inciertas, son validadas a través de secuenciación Sanger. Esta confirmación se realiza para certificar su presencia como un hallazgo constitucional en la muestra de un paciente y excluir falsos positivos.

7. INFORME CLÍNICO-BIOLÓGICO DE RESULTADOS OBTENIDOS POR SECUENCIACIÓN MASIVA

El informe clínico biológico se basa en las guías de *American College of Medical Genetics and Genomics*¹⁶⁹, *UKNEQAS*¹⁹⁷ y Sociedad suiza de Genética Médica¹⁹. Además de los datos demográficos, indicación médica que consta en el formulario de petición y de datos de la historia clínica y genética, cuando está disponible, el informe desarrollado consta de tres partes principales:

Objetivo 2: Resultados

- Resumen de los resultados, que contiene toda la información pertinente a la indicación del estudio, los hallazgos moleculares más relevantes y la conclusión del estudio realizado. Se presenta en una sola página.
- Informe completo y exhaustivo, que contiene el fundamento biológico de la enfermedad en estudio y que está cubierta por la prueba, metodología utilizada, resultados detallados, interpretación biológica y clínica de los hallazgos, conclusiones y recomendaciones. Además se acompaña de un listado de todos los SNPs detectados en el panel de genes estudiado.

El formulario de petición de estudios, consentimiento informado y modelos de informe para miocardiopatía hipertrófica y muerte súbita se encuentran en el Anexo V.

En conclusión, se han desarrollado todas las estrategias necesarias para llegar al diagnóstico molecular con alta especificidad en enfermedades cardiovasculares con riesgo de muerte súbita mediante secuenciación masiva del panel de 72 genes.



Figura 13. Flujograma de diagnóstico genético de enfermedades cardiovasculares de origen heterogéneo mediante secuenciación masiva en panel de 72 genes.

OBJETIVO 3:

TRASLADAR LA TECNOLOGÍA A LA PRÁCTICA CLÍNICA ANALIZANDO UN AMPLIO GRUPO DE PACIENTES CON PATOLOGÍA CARDIOVASCULAR PARA CONFIRMAR SU DIAGNÓSTICO GENÉTICO.



VIII. OBJETIVO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

Universidad de Alicante

1. PACIENTES

El presente estudio se ha planteado de forma retrospectiva en un grupo de muestras de 163 pacientes que se han recibido en la empresa Sistemas Genómicos en el período comprendido entre enero 2011 y noviembre 2012. Los 163 pacientes fueron diagnosticados de patología cardiovascular con riesgo de muerte súbita. Los criterios clínico-genéticos que se han seguido para la realización de las pruebas solicitadas fueron los siguientes:

- Afectos con diagnóstico cardiológico de una de las enfermedades cardiovasculares contenidas en el panel, con características familiares de la misma enfermedad o muerte súbita, previa valoración y estudios de gabinete realizados por Cardiología. En estos casos, la prueba solicitada preferentemente fue la realización de un panel específico de genes asociados a la enfermedad en estudio.

- Afectos con diagnóstico cardiológico de arritmias omiocardiopatías, con características familiares, cuya etiología no pudo ser determinada a través de estudios de gabinete realizados por Cardiología. En este grupo de pacientes, la prueba solicitada incluyó el estudio de un panel de genes asociados a todas las enfermedades que producen trastornos del ritmo o miocardiopatías, según el caso. De acuerdo al criterio cardiológico y según los antecedentes familiares, en algunos casos se realizó el estudio sobre el panel de 72 genes de muerte súbita.

- Afectos de muerte súbita resucitada con antecedentes familiares, cuya etiología no pudo ser determinada a través de estudios de gabinete realizados por Cardiología. En estos pacientes, la prueba realizada correspondió al análisis de los 72 genes contenidos en el panel de muerte súbita.

La distribución por sexos corresponde a 71 mujeres y 92 varones con una media de edad al diagnóstico de 41 años.

Objetivo 3: Materiales y Métodos

De acuerdo a la enfermedad en estudio, se indica el número de genes analizados en cada paciente con un total de 4795 genes estudiados. Los datos correspondientes a los 163 pacientes y su indicación cardiológica se encuentran en el Anexo VI.

La distribución del número de pacientes por enfermedades se expresa en la Figura 14, siendo la miocardiopatía hipertrófica la patología más frecuentemente estudiada (30%), seguida de síndrome de Marfan y aneurisma de aorta (21%).

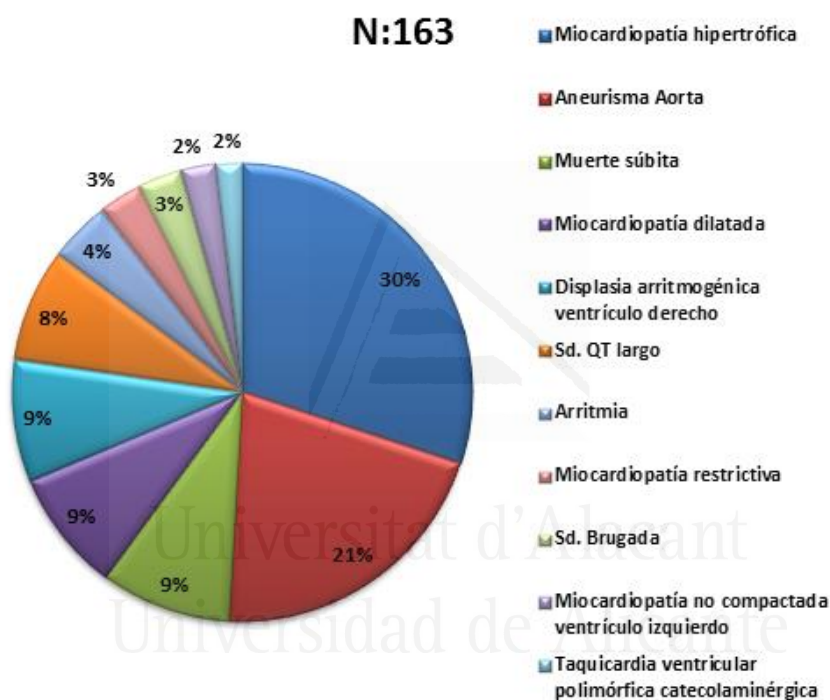


Figura 14. Distribución de patologías estudiadas, expresada en porcentaje.

De acuerdo a la distribución por patologías, se han estudiado en total 86 pacientes con diferentes tipos de miocardiopatías (Tablas 7-11), 28 pacientes con diferentes trastornos de conducción cardíaca (Tablas 12-15), 34 pacientes con aneurisma de aorta familiar y síndrome de Marfan (Tabla 16) y 15 casos de muerte súbita (Tabla 17).

Tabla 7. Miocardiopatía hipertrófica. N=49

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
1	32	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
3	49	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
4	38	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
26	49	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
33	50	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
34	64	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
35	55	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
48	59	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
51	50	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
52	58	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
53	51	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
55	65	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
56	45	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
66	56	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
72	67	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
73	75	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
77	43	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
80	39	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
84	50	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
85	80	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
88	57	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
89	8	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
91	63	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
92	46	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
93	69	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
94	79	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
95	79	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
97	75	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
99	53	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
105	38	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
107	76	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
109	28	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
110	45	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
113	44	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24

Objetivo 3: Materiales y Métodos

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
116	53	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
118	17	M	Miocardopatía Hipertrófica	40
125	3	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
127	30	M	Miocardopatía Hipertrófica	72
128	21	M	Miocardopatía Hipertrófica	40
130	2	F	Miocardopatía Hipertrófica	40
131	5	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
137	15	F	Miocardopatía Hipertrófica	40
138	13	M	Miocardopatía Hipertrófica	40
143	66	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
144	62	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
149	56	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
151	47	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
160	70	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
163	55	M	Miocardopatía Hipertrófica	24

Tabla 8. Miocardopatía dilatada. N=14

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
39	4	F	Miocardopatía dilatada	34
54	13	F	Miocardopatía dilatada	34
57	56	M	Miocardopatía dilatada	40
59	57	F	Miocardopatía dilatada	40
60	48	M	Miocardopatía dilatada	40
64	61	F	Miocardopatía dilatada	34
81	46	F	Miocardopatía dilatada	34
102	68	F	Miocardopatía dilatada	72
103	58	M	Miocardopatía dilatada	72
119	35	M	Miocardopatía dilatada	34
121	56	M	Miocardopatía dilatada	34
123	55	M	Miocardopatía dilatada	34
124	49	M	Miocardopatía dilatada	34
156	46	M	Miocardopatía dilatada	34

Objetivo 3: Materiales y Métodos

Tabla 9. Displasia Arritmogénica Ventrículo Derecho. N=14

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
2	53	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
18	29	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
71	45	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
82	31	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
86	54	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	30
90	46	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	30
101	70	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
117	45	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
145	56	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
146	76	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
153	50	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
154	70	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
155	42	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
158	54	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8

Tabla 10. Ventrículo Izquierdo no Compactado. N=4

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
112	53	F	Ventrículo izquierdo no compactado	8
114	37	M	Ventrículo izquierdo no compactado	40
157	35	M	Ventrículo izquierdo no compactado	8
162	31	F	Ventrículo izquierdo no compactado	40

Tabla 11. Miocardiopatía familiar y Miocardiopatía Restrictiva. N=5

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
32	61	F	Miocardiopatía Familiar	40
58	49	M	Miocardiopatía restrictiva	40
69	47	F	Miocardiopatía Familiar	72
87	35	M	Miocardiopatía Familiar	40
104	16	F	Miocardiopatía Familiar	40

Objetivo 3: Materiales y Métodos

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
15	55	M	Síndrome de Brugada	7
96	43	M	Síndrome de Brugada	72
108	52	F	Síndrome de Brugada	30
147	65	F	Síndrome de Brugada	7
161	7	M	Síndrome de Brugada	7

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
8	22	M	Síndrome QT largo	12
20	33	F	Síndrome QT largo	12
22	17	F	Síndrome QT largo	12
23	55	M	Síndrome QT largo	12
29	37	F	Síndrome QT largo	12
38	15	F	Síndrome QT largo	12
47	3	F	Síndrome QT largo	30
78	43	F	Síndrome QT largo	12
79	12	M	Síndrome QT largo	12
122	58	F	Síndrome QT largo	12
139	63	F	Síndrome QT largo	12
142	9	M	Síndrome QT largo	12
150	12	F	Síndrome QT largo	12

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
36	63	M	Síndrome QT corto	72
63	15	M	Taquicardia ventricular catecolaminérgica	30
111	18	F	Taquicardia ventricular catecolaminérgica	2

Objetivo 3: Materiales y Métodos

Tabla 15. Arritmias. N=7

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
7	25	M	Arritmia familiar	30
76	34	F	Arritmia familiar	30
98	17	M	Arritmia familiar	72
120	16	M	Arritmia familiar	30
129	52	F	Arritmia familiar	72
133	23	M	Arritmia familiar	30
152	28	F	Arritmia familiar	72

Tabla 16. Aneurisma de aorta y Síndrome de Marfan. N=34

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiovascular	Nº de genes analizados
6	28	M	Aneurisma de Aorta	72
17	52	M	Aneurisma de Aorta	72
24	44	F	Aneurisma de Aorta	72
25	37	M	Aneurisma de Aorta	72
27	51	F	Aneurisma de Aorta	72
67	26	F	Aneurisma de Aorta	3
106	53	F	Aneurisma de Aorta	3
134	18	M	Aneurisma de Aorta	3
148	48	F	Aneurisma de Aorta	3
5	40	M	Síndrome de Marfan	3
9	54	M	Síndrome de Marfan	72
12	15	M	Síndrome de Marfan	3
13	43	F	Síndrome de Marfan	72
16	16	M	Síndrome de Marfan	72
19	31	F	Síndrome de Marfan	3
21	16	M	Síndrome de Marfan	72
28	45	M	Síndrome de Marfan	72
30	39	M	Síndrome de Marfan	3
37	29	F	Síndrome de Marfan	3
40	49	M	Síndrome de Marfan	3
41	38	F	Síndrome de Marfan	3
42	44	M	Síndrome de Marfan	3
43	32	F	Síndrome de Marfan	3
44	52	F	Síndrome de Marfan	3

Objetivo 3: Materiales y Métodos

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiovascular	Nº de genes analizados
46	34	F	Síndrome de Marfan	3
49	39	M	Síndrome de Marfan	72
61	46	F	Síndrome de Marfan	3
65	29	F	Síndrome de Marfan	72
68	40	M	Síndrome de Marfan	3
70	29	M	Síndrome de Marfan	3
74	53	M	Síndrome de Marfan	3
75	33	M	Síndrome de Marfan	3
126	54	M	Síndrome de Marfan	3
159	58	M	Síndrome de Marfan	3

Tabla 17. Muerte Súbita. N=15

Caso	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
10	50	F	Muerte súbita familiar	72
11	50	F	Muerte súbita familiar	72
14	56	M	Muerte súbita	72
31	36	M	Muerte súbita familiar	72
45	2	M	Muerte súbita	30
50	16	M	Muerte súbita familiar	72
62	38	M	Muerte súbita	72
83	15	F	Muerte súbita familiar	8
100	33	M	Muerte súbita	72
115	12	F	Muerte súbita en gemela monocigótica	30
132	23	M	Muerte súbita familiar	72
135	26	M	Muerte súbita	72
136	21	M	Muerte súbita	30
140	8	M	Muerte súbita familiar	12
141	5	F	Muerte súbita familiar	12

Tomando en cuenta que la frecuencia de la patología cardiovascular asociada a muerte súbita varía dependiendo de la edad de los pacientes, se han estudiado 60 casos en menores de 35 años, con un rango de edad entre 2 y 35 años, mientras que en el grupo de mayores de 35 años, se han analizado 103 pacientes con un rango de 36 a 80 años.

Objetivo 3: Materiales y Métodos

La distribución por patologías en los dos grupos de edad se presenta en la Figura 15. El mayor incremento de estudios se produce en miocardiopatía hipertrófica y síndrome de Marfan y aneurismas de aorta torácica, seguidos por displasia arritmogénica de ventrículo derecho y miocardiopatía dilatada, debido a que las evidencias cardiológicas permiten su diagnóstico a medida que se incrementa la edad.

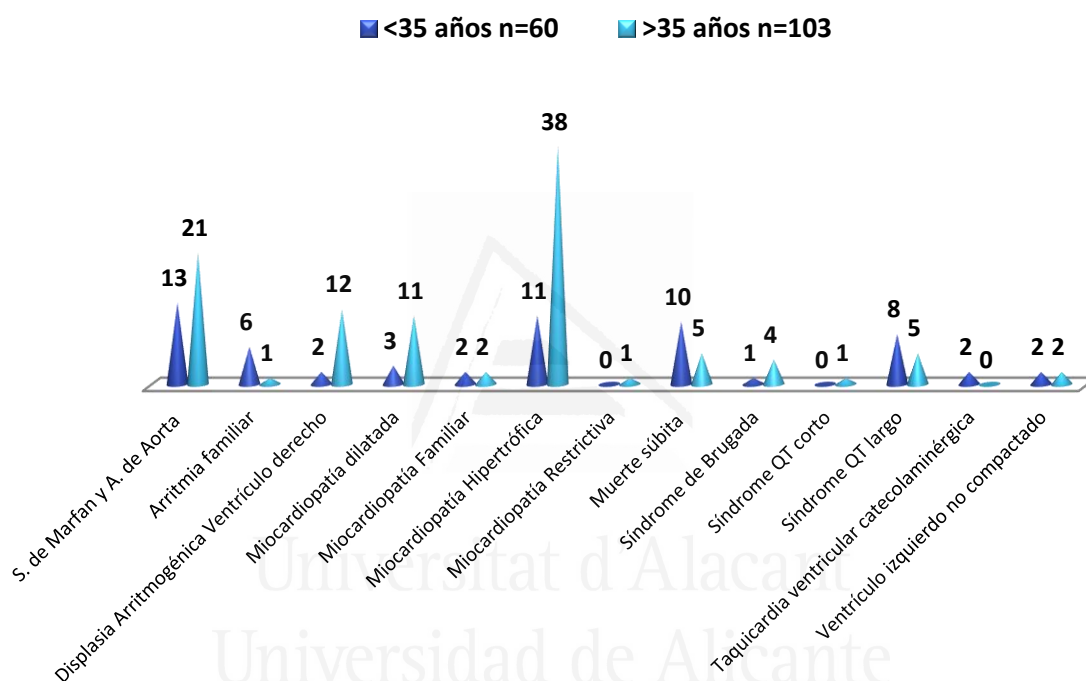


Figura 15. Distribución de pacientes por Patología y grupos de edad menor o mayor a 35 años.

1.1. SELECCIÓN DEL PANEL DE GENES SEGÚN EL DIAGNÓSTICO CARDIOLÓGICO

Cuando el diagnóstico cardiológico está confirmado, se aplica un panel específico de genes seleccionados para cada enfermedad. En la Tabla 18 se

Objetivo 3: Materiales y Métodos

correlaciona el número de pacientes estudiados bajo este criterio y corresponden a 120 pacientes con análisis de 2571 genes.

Tabla 18. Correlación de número de pacientes estudiados con panel específico para la patología y número de genes analizados.

Genes asociados a Patología	Panel específico nº de pacientes	TOTAL GENES ESTUDIADOS
Miocardiopatía Hipertrófica 24 genes	43	1032
Síndrome de Marfan y Aneurisma de Aorta 3 genes	22	66
Muerte súbita 72 genes	9	648
Miocardiopatía dilatada 34 genes	9	306
Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho 8 genes	12	96
Síndrome QT largo 12 genes	12	144
Arritmia familiar 30 genes	4	120
Síndrome de Brugada 7 genes	3	21
Miocardiopatía Familiar 40 genes	3	120
Ventrículo izquierdo no compactado 8 genes	2	16
Taquicardia ventricular catecolaminérgica 2 genes	1	2
TOTAL	120	2571

Por otro lado, cuando el diagnóstico cardiológico no pudo determinar la etiología a través de estudios de gabinete realizados por Cardiología, el estudio genético por secuenciación masiva se realizó sobre un panel de genes asociados a todas las enfermedades que producen trastornos del ritmo o miocardiopatías, o sobre un panel de 72 genes de muerte súbita. En esta condición se encontraron 43 muestras de pacientes en las cuales se realizó el estudio sobre un panel de mayor complejidad con el análisis de 2224 genes. Los datos se encuentran en la Tabla 19.

En nuestra serie, 11 muestras de pacientes con sospecha de diferentes tipos de miocardiopatías fueron evaluados con un panel de 40 genes asociados a miocardiopatía familiar y en 3 casos se realizó el estudio en un panel de muerte súbita de 72 genes. En 5 muestras de pacientes con sospecha de diferentes

Objetivo 3: Materiales y Métodos

trastornos del ritmo cardíaco, el estudio se realizó con un panel de 30 genes asociados a Arritmia familiar y en 2 casos, el estudio se realizó sobre un panel de muerte súbita de 72 genes. En un caso de miocardiopatía familiar y tres de arritmia familiar se estudiaron paneles de muerte súbita con 72 genes. En 12 estudios de síndrome de Marfan o aneurisma de aorta torácica, por su historia familiar de muerte súbita, se prefirió un estudio ampliado de 72 genes.

Finalmente, en 6 pacientes con muerte súbita resucitada o muerte súbita en familiares se indicó el estudio de paneles de menor número de genes, orientados a la patología correspondiente al diagnóstico cardiológico. En esta condición, se analizaron 3 casos con el panel de arritmias de 30 genes, 1 caso con el panel de 8 genes de DAVD y 2 casos con el panel de Síndrome de QT largo de 12 genes.

Tabla 19. Correlación de número de pacientes estudiados con panel no específico para la patología y número de genes analizados.

Patología	Panel MCF 40 Genes	Panel AF 30 Genes	Panel MS 72 Genes	Panel no específico	TOTAL GENES
Miocardiopatía Hipertrófica	5		1		272
Miocardiopatía dilatada	3		2		264
Miocardiopatía Restrictiva	1				40
Ventrículo izquierdo no compactado	2				80
Miocardiopatía Familiar			1		72
Síndrome QT largo		1			30
Síndrome QT corto			1		72
Síndrome de Brugada		1	1		102
Displasia Arritmogénica Ventriculo derecho		2			60
Taquicardia ventricular catecolaminérgica		1			30
Arritmia familiar			3		216
Muerte súbita		3		3	122
Síndrome de Marfan y Aneurisma de Aorta			12		864
TOTAL	11	8	21	3	2224

En definitiva, se han analizado 4795 genes en 163 pacientes estudiados, como se indica en la Figura 16

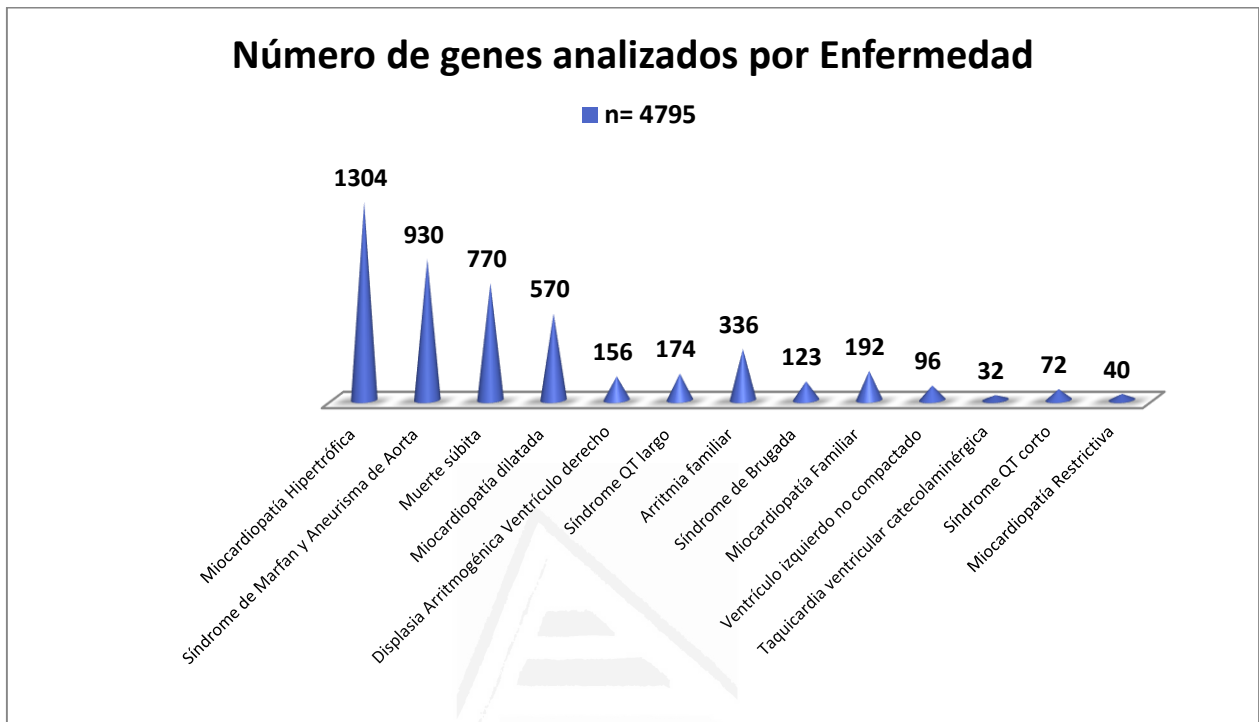


Figura 16. Número total de genes analizados por enfermedad en 163 pacientes.

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

2. METODOLOGÍA UTILIZADA

Los procesos de laboratorio fueron llevados a cabo por el Laboratorio de Biología Molecular y Laboratorio de Nuevas Tecnologías de Sistemas Genómicos.

De forma resumida, el protocolo utilizado fue el siguiente:

- Extracción y purificación del ADN genómico a partir de la muestra remitida.
- Preparación de una librería de fragmentos del genoma.

Objetivo 3: Materiales y Métodos

- Selección de las regiones objeto de estudio mediante hibridación con sondas en solución. Estas regiones incluyen las regiones codificantes, regiones intrónicas adyacentes y regiones 5' y 3' de los genes incluidos en el panel.
- Amplificación clonal de los fragmentos de ADN seleccionados mediante PCR en emulsión.
- Secuenciación de las regiones seleccionadas mediante ligación de sondas (SOLiD v4) siguiendo la estrategia de *paired-ends*.

El análisis bioinformático primario y secundario fue realizado por la Unidad de Bioinformática de Sistemas Genómicos.

El proceso de diagnóstico molecular por secuenciación masiva, objeto de este trabajo, fue llevado a cabo por la Unidad de Genética Médica de Sistemas Genómicos, aplicando el algoritmo desarrollado en el objetivo 2.



IX. OBJETIVO 3: RESULTADOS

Universidad de Alicante

Los resultados moleculares de los 163 pacientes incluidos en el estudio se encuentran en el Anexo VII.

1. MUTACIONES DETECTADAS

En el estudio de 163 pacientes, se detectaron 45 mutaciones en 40 pacientes. Todas las mutaciones fueron previamente validadas por secuenciación Sanger.

24 mutaciones se encontraron en pacientes afectos de diferentes tipos de miocardiopatías, 10 mutaciones asociadas a síndrome de Marfan y 11 mutaciones en trastornos del ritmo.

En 5 pacientes se detectaron dos mutaciones:

. Paciente 89, afecto de miocardiopatía hipertrófica: heterocigoto compuesto con mutaciones c.772G>A(p.Glu258Lys) y c.1828G>C (p.Asp610His) en el gen *MYBPC3*.

Cuatro pacientes fueron dobles heterocigotos, con herencia digénica:

. Paciente 59, afecto de miocardiopatía dilatada, con mutación c.73012C>T (p.Arg24338*) en el gen *TTN* y mutación c.349G>A (p.Asp117Asn) en el gen *LDB3*.

. Paciente 84, afecto de miocardiopatía hipertrófica, con mutación de *splicing* c.1090+1G>A en el gen *MYBPC3* y mutación c.829C>A (p.Leu277Met) en el gen *VCL*.

. Paciente 103, afecto de miocardiopatía dilatada, con mutación c.43015_43028delinsTTTACTCTTC (p.Glu14339Phefs*11) en el gen *TTN* y c.296G>A (p.Arg99His) en el gen *KCNE3*.

. Paciente 116, afecto de miocardiopatía hipertrófica, con mutación c.772G>A (p.Glu258Lys) en el gen *MYBPC3* y mutación c.349G>A (p.Asp117Asn) en el gen *LDB3*.

Objetivo 3: Resultados

37 mutaciones fueron catalogadas como causantes de la enfermedad en 33 pacientes, mientras que 8 mutaciones se encontraron en genes no relacionados con el diagnóstico cardiológico inicial, debido a que el estudio se realizó sobre un panel de mayor número de genes que el específico para dicho trastorno, sin embargo ayudaron a establecer el diagnóstico definitivo, tal es el caso 49 cuyo diagnóstico inicial fue síndrome de Marfan y su diagnóstico final fue síndrome de Cantú.

La tasa de pacientes portadores de mutaciones en esta serie representa el 27.6%. Los resultados se expresan en la Tabla 20.

Tabla 20. Mutaciones detectadas en 163 pacientes.				
Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
4	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.3605delC	p.Cys1202Leufs*35
33	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.428G>A	p.Arg143Gln
56	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.2529_2530dup	p.Met844Argfs*36
59	MCD	TTN	NM_133378.4:c.73012C>T	p.Arg24338*
59	MCD	LDB3	NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn
64	MCD	MYBPC3	NM_000256.3:c.1546G>T	p.Glu516*
72	MCH	RBM20	NM_001134363.1:c.1364C>T	p.Ser455Leu
84	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.1090+1G>A	p.?
84	MCH	VCL	NM_014000.2:c.829C>A	p.Leu277Met
89	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys
89	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.1828G>C	p.Asp610His
91	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys
92	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.2905+1G>A	p.?
93	MCH	LMNA	NM_170707.2:c.1930C>T	p.Arg644Cys
103	MCD	TTN	NM_003319.4:c.43015_43028del insTTTACTCTTC	p.Glu14339Phefs*11
114	LVNC	TTN	NM_003319.4:c.30800del	p.His10267Profs*18
116	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys
116	MCH	LDB3	NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn
119	MCD	TTN	NM_003319.4:c.75039_75042del	p.Arg25014Serfs*9
162	LVNC	TNNT2	NM_001001430.1:c.281G>A	p.Arg94His
103	MCD	KCNE3	NM_005472.4:c.296G>A	p.Arg99His
18	DAVD	DSP	NM_004415.2:c.6850C>T	p.Arg2284*
71	DAVD	ANK2	NM_001148.4:c.4373A>G	p.Glu1458Gly

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
82	DAVD	PKP2	NM_004572.3:c.1368del	p.Lys456Asnfs*3
7	Arritmia	AKAP9	NM_005751.4:c.10129C>T	p.Arg3377*
20	SQTL	KCNH2	NM_000238.2:c.2587C>T	p.Arg863*
36	SQTC	LDB3	NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn
76	Arritmia	AKAP9	NM_005751.4:c.7438C>T	p.Gln2480*
78	SQTL	KCNQ1	NM_000218.2:c.871_872insA	p.Ser291Tyrfns*172
111	TVPC	KCNJ2	NM_000891.2:c.644G>A	p.Gly215Asp
150	SQTL	KCNJ2	NM_000891.2:c.652C>T	p.Arg218Trp
161	SB	SCN5A	NM_198056.2:c.2582_2583del	p.Phe861Trpfs*90
15	SB	MYBPC3	NM_000256.3:c.2873C>T	p.Thr958Ile
47	SQTL	TNNT2	NM_000364.2:c.502C>T	p.Arg168*
108	SB	MYBPC3	NM_000256.3:c.2373dup	p.Trp792Valfs*41
19	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.478T>C	p.Cys160Arg
30	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.7776C>A	p.Cys2592*
37	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.2362_2370del	p.Phe788_Cys790del
68	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.6530delG	p.Gly2177Glufs*8
70	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.1869C>A	p.Cys623*
74	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.4096G>A	p.Glu1366Lys
28	S. Marfan	SLC25A4	NM_001151.3:c.178A>T	p.R60*
49	S. Marfan	ABCC9	NM_005691.2:c.1467_1468insA	p.Glu490Argfs*8
65	S. Marfan	TNNT2	NM_001001430.1:c.230C>T	p.Pro77Leu
42	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.1585C>T	p.Arg529*

2. CLASIFICACIÓN DE MUTACIONES

De acuerdo al tipo de mutaciones, se encontraron 11 mutaciones sin sentido (*nonsense*), 10 mutaciones con desplazamiento del marco de lectura (*frameshift*) y un reordenamiento complejo en el gen *TTN* con efecto truncante sobre la proteína codificada, 15 mutaciones de sentido erróneo con cambio de aminoácidos (*missense*), una mutación *in frame* pero con efecto sobre el aminoácido cisteína, muy importante en la patología del síndrome de Marfan y otras tres mutaciones que afectan al *splicing*. Se encontraron 14 nuevas mutaciones y 26 mutaciones descritas. En resumen, el 55.5% de mutaciones tuvieron un efecto truncante sobre la proteína. La clasificación se presenta en la Tabla 21.

Tabla 21. Clasificación de mutaciones detectadas.

Tipo	Gen	Mutación	Proteína	Nueva mutación	Mutación descrita. Ref.
Mutaciones sin sentido (nonsense)	AKAP9	NM_005751.4:c.10129C>T	p.Arg3377*	1	
	DSP	NM_004415.2:c.6850C>T	p.Arg2284*		53
	KCNH2	NM_000238.2:c.2587C>T	p.Arg863*		208
	FBN1	NM_000138.4:c.7776C>A	p.Cys2592*	1	
	TTN	NM_133378.4:c.73012C>T	p.Arg24338*	1	
	MYBPC3	NM_000256.3:c.1546G>T	p.Glu516*		124
	FBN1	NM_000138.4:c.1869C>A	p.Cys623*	1	
	AKAP9	NM_005751.4:c.7438C>T	p.Gln2480*	1	
	SLC25A4	NM_001151.3:c.178A>T	p.R60*	1	
	TNNT2	NM_000364.2:c.502C>T	p.Arg168*	1	
	FBN1	NM_000138.4:c.1585C>T	p.Arg529*		166
Mutaciones con desplazamiento del marco de lectura (frameshift)	MYBPC3	NM_000256.3:c.3605delC	p.Cys1202Leufs*35		170
	MYBPC3	NM_000256.3:c.2529_2530dup	p.Met844Argfs*36		57
	FBN1	NM_000138.4:c.6530delG	p.Gly2177Glufs*8	1	
	KCNQ1	NM_000218.2:c.871_872insA	p.Ser291Tyrfs*172	1	
	PKP2	NM_004572.3:c.1368del	p.Lys456Asnfs*3		37
	TTN	NM_003319.4:c.30800del	p.His10267Profs*18	1	
	TTN	NM_003319.4:c.75039_75042del	p.Arg25014Serfs*9	1	
	SCN5A	NM_198056.2:c.2582_2583del	p.Phe861Trpfs*90		101
	ABCC9	NM_005691.2:c.1467_1468insA	p.Glu490Argfs*8	1	
	MYBPC3	NM_000256.3:c.2373dup	p.Trp792Valfs*41		145
Mutaciones de sentido erróneo (missense)	FBN1	NM_000138.4:c.478T>C	p.Cys160Arg		31
	MYH7	NM_000257.2:c.428G>A	p.Arg143Gln		187
	LDB3	NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn		211
	ANK2	NM_001148.4:c.4373A>G	p.Glu1458Gly		128
	FBN1	NM_000138.4:c.4096G>A	p.Glu1366Lys		20
	VCL	NM_014000.2:c.829C>A	p.Leu277Met		210
	MYBPC3	NM_000256.3:c.1828G>C	p.Asp610His		136
	LMNA	NM_170707.2:c.1930C>T	p.Arg644Cys		129,172
	KCNJ2	NM_000891.2:c.644G>A	p.Gly215Asp		83
	KCNJ2	NM_000891.2:c.652C>T	p.Arg218Trp		72
	TNNT2	NM_001001430.1:c.281G>A	p.Arg94His		54
	MYBPC3	NM_000256.3:c.2873C>T	p.Thr958Ile		100
	TNNT2	NM_001001430.1:c.230C>T	p.Pro77Leu		209
	RBM20	NM_001134363.1:c.1364C>T	p.Ser455Leu		168
	KCNE3	NM_005472.4:c.296G>A	p.Arg99His		148, 12

Tipo	Gen	Mutación	Proteína	Nueva mutación	Mutación descrita. Ref.
Mutación de <i>splicing</i>	MYBPC3	NM_000256.3:c.1090+1G>A	p.?		152
Mutación Compleja	TTN	NM_003319.4:c.43015_43028del insTTTACTCTTC	p.Glu14339Phefs*11	1	
Otras mutaciones	FBN1	NM_000138.4:c.2362_2370del	p.Phe788_Cys790del	1	
	MYBPC3	NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys		206

3. VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO DETECTADAS

Se han detectado y validado por secuenciación Sanger 178 variantes de significado desconocido (VSD) en 78 pacientes (47.8%). Todas las VSD asociadas a genes relacionados con patología cardiovascular se encuentran en el Anexo VIII.

Los estudios de predicción *In Silico* demuestran 12 VSD probablemente patogénicas, 5 VSD probablemente no patogénicas y 161 variantes de significado incierto. Los datos de las variantes probablemente patogénicas se encuentran en la Tabla 22. Los datos de las variantes con predicción *In Silico* de tipo incierto o probablemente no patogénica se encuentran en las Tablas 9.a. y 9.b.en el Anexo IX.

Tabla 22. Variantes Significado Desconocido probablemente patogénicas

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
5	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.6883T>A	p.Cys2295Ser
8	SQTL	AKAP9	NM_005751.4:c.3580G>A	p.Ala1194Thr
40	S. Marfan	FBN2	NM_001999.3:c.4495A>C	p.Asn1499His
57	MCD	DSP	NM_004415.2:c.740C>T	p.Ala247Val
58	MCR	TTN	NM_133378.4:c.41856A>T	p.Lys13952Asn
58	MCR	TTN	NM_133378.4:c.7517G>A	p.Arg2506Gln
61	S. Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.1631G>A	p.Gly544Glu
69	MCF	MYH6	NM_002471.3:c.2398C>T	p.Arg800Cys
113	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.2149-1G>A	p.?
1	MCH	AKAP9	NM_005751.4:c.10664A>T	p.Asp3555Val
3	MCH	RYR2	NM_001035.2:c.5294C>G	p.Ser1765Cys
66	MCH	AKAP9	NM_005751.4: c.10039_10040delinsTT	p.Glu3347Leu

4. AUSENCIA DE VARIANTES

En 30 pacientes (18.4%), no se encontraron variantes que puedan ser consideradas mutaciones como tampoco variantes de significado desconocido. Se indican en la Tabla 23.

Tabla 23. Casos de ausencia de mutaciones y variantes significado desconocido.

Código	Diagnóstico	Gen	Código 2	Diagnóstico2	Gen2
10	MSF	No variantes	85	MCH	No variantes
11	MSF	No variantes	88	MCH	No variantes
34	MCH	No variantes	94	MCH	No variantes
38	SQTL	No variantes	99	MCH	No variantes
44	S. Marfan	No variantes	106	AA	No variantes
45	MS	No variantes	109	MCH	No variantes
46	S. Marfan	No variantes	112	LVNC	No variantes
48	MCH	No variantes	122	SQTL	No variantes
51	MCH	No variantes	125	MCH	No variantes
52	MCH	No variantes	134	AA	No variantes
55	MCH	No variantes	139	SQTL	No variantes
67	AA	No variantes	140	MSF	No variantes
75	S. Marfan	No variantes	153	DAVD	No variantes
79	SQTL	No variantes	154	DAVD	No variantes
81	MCD	No variantes	157	LVNC	No variantes

En resumen, se han detectado y validado por secuenciación Sanger 223 variantes nucleotídicas detectadas en 163 pacientes y su clasificación se sintetiza en la Figura 17.

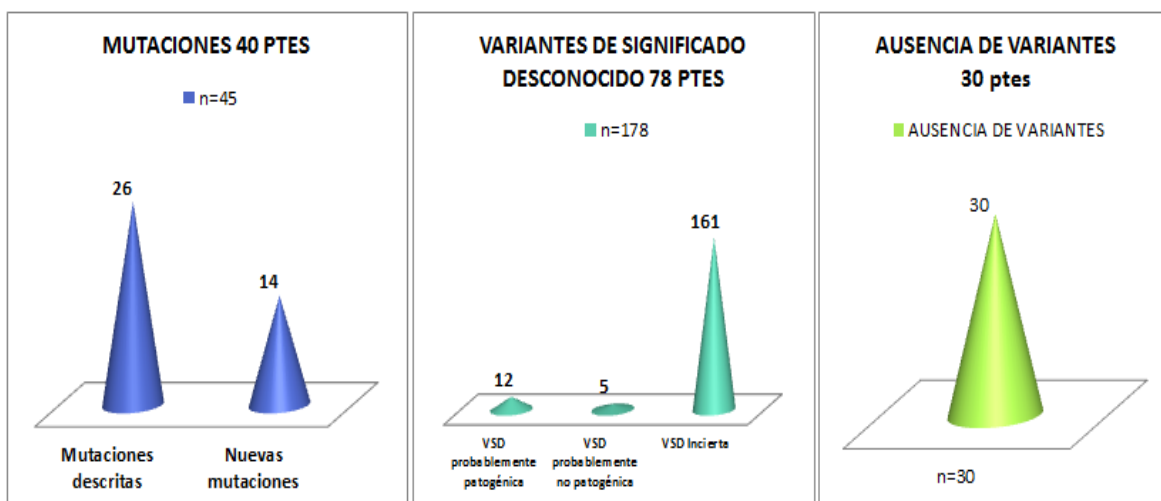


Figura 17. Resumen de Variantes detectadas en 163 pacientes.

5. RESULTADOS DE MUTACIONES POR PATOLOGÍAS ESTUDIADAS

5.1. MUTACIONES EN MIOCARDIOPATÍAS

5.1.1. Miocardiopatía Hipertrófica

Es la patología más frecuentemente estudiada en esta serie con un total de 49 pacientes; se detectaron 12 mutaciones en 9 pacientes que se resumen en la Tabla 24.

El gen más frecuentemente mutado fue el gen *MYBPC3* en 7 pacientes y en 3 de ellos, la mutación detectada fue *c.772G>A* que produce un cambio de aminoácido de ácido glutámico a lisina en la posición 258 de la proteína (p.Glu258Lys), (casos 89, 91 y 116).

El gen *MYBPC3* codifica la isoforma cardíaca de la miosina de unión a la proteína C. *MYBPC3* se expresa únicamente en el corazón, y la regulación de su fosforilación por proteína quinasa A (PKA) después de la estimulación adrenérgica, puede estar relacionada con la modulación de la contracción cardíaca. La mutación *c.772G>A* se localiza en el último nucleótido del exón 6 de

MYBPC3, y altera el sitio donador de *splicing* del intrón 6, produciendo el desplazamiento del marco de lectura del exón 6, lo que ocasiona a su vez, la aparición de un codón de parada prematuro, dejando una proteína de tan solo 246 aminoácidos de 1274 aminoácidos de la proteína normal^{170, 136, 205}.

La delección *c.3605delC* en el gen *MYBPC3* encontrada en el caso 4, provoca un cambio en la pauta de lectura (p.Cys1202LeufsX35), generando un cambio del aminoácido cisteína por leucina en la posición aminoacídica 1202 y la aparición de un codón de parada prematuro que da lugar a una proteína truncada de 1235 de 1274 aminoácidos normales¹⁷⁰.

La variante nucleotídica detectada en el caso 56 es una duplicación de dos nucleótidos en el exón 25 del gen *MYBPC3*, (*c.2529_2530dup*). Esta duplicación crea desplazamiento de la pauta de lectura en el codón 844. La nueva pauta de lectura resulta en la introducción de un codón de parada prematuro, 36 posiciones más adelante. El mRNA resultante podría ser susceptible de ser degradado por el fenómeno de *nonsense mediated decay* (NMD). El cambio nucleotídico *c.2529_2530dup* (p.Met844Argfs*36) en el gen *MYBPC3* ha sido descrito previamente como mutación asociada a miocardiopatía hipertrófica en población española⁵⁷.

La variante nucleotídica *c.2905+1G>A* del caso 92 produce un cambio G>A en el sitio crítico 5' de *splicing* del intrón 27 del gen *MYBPC3*. Los algoritmos de predicción *in silico* *NNSPLICE*, *SpliceSiteFinder-like*, *MaxEntScan* y *Human Splicing Finder*, estiman que se produciría una disrupción del sitio donador de *splicing* del intrón 27 que conduciría a la pérdida del exón 27, codón de parada prematuro y proteína truncada (p.Cys913*) con 912 de 1274 aminoácidos.

Otro hallazgo interesante que implica al gen *MYBPC3* es la detección de una segunda mutación en el mismo gen *MYBPC3* o en otros genes y se encuentra en el 6% de nuestros casos:

- Caso 89: se trata de un paciente de 8 años, con un cuadro severo de miocardiopatía hipertrófica y las dos mutaciones detectadas se encontraron en el gen *MYBPC3*: *c.772G>A* y *c.1828G>C*. El efecto del cambio *c.772G>A* es la producción de una proteína truncada de 246 de 1274

aminoácidos, mientras que la mutación *c.1828G>C* produce un cambio p.Asp610His en un residuo altamente conservado y ha sido descrito como mutación patogénica¹³⁶, lo que explicaría la severidad del cuadro clínico en una edad muy temprana y poco frecuente.

- Caso 84: se trata de una mujer de 50 años con historia familiar de muerte súbita y miocardiopatía hipertrófica. Las mutaciones detectadas fueron: *c.1090+1G>A* en *MYBPC3* que altera el sitio crítico 5' de *splicing* del intrón 12 del gen *MYBPC3*. Los algoritmos de predicción *in silico* *NNSPLICE*, *MaxEntScan* y *Human Splicing Finder*, estiman que se produciría una disrupción completa del sitio donador de *splicing* del intrón 12 produciendo un codón de parada prematuro y una proteína truncada (p.Asp310Profs*12)^{62,152}. La segunda mutación fue el cambio *c.829C>A* (p.Leu277Met) en el gen *VCL*, mutación descrita previamente²¹⁰.
- Caso 116: es un varón de 53 años que tiene la mutación *c.772G>A* en el exón 6 de *MYBPC3* y que produce un codón de parada prematuro, dejando una proteína de tan solo 246 de 1274 aminoácidos, descrito previamente, y una segunda mutación en el gen *LDB3*: *c.349G>A* que produce un cambio de aminoácido de ácido aspártico a asparagina en la posición 117. Esta mutación ha sido descrita previamente como responsable de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo²¹¹.
- Otras mutaciones encontradas en miocardiopatía hipertrófica fueron *c.428G>A* en *MYH7* que afecta a un residuo altamente conservado y *c.1930C>T* en *LMNA* que han sido previamente reportadas^{206,129, 172}.

En resumen, en este grupo de pacientes se encontraron 24% de mutaciones, 18% de pacientes tuvieron una mutación y 6% fueron dobles heterocigotos o heterocigotos compuestos.

Tabla 24. Mutaciones en Miocardiopatía Hipertrófica.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
4	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.3605delC	p.Cys1202Leufs*35
33	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.428G>A	p.Arg143Gln
56	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.2529_2530dup	p.Met844Argfs*36
84	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.1090+1G>A	p.?
84	MCH	VCL	NM_014000.2:c.829C>A	p.Leu277Met
89	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys
89	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.1828G>C	p.Asp610His
91	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys
92	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.2905+1G>A	p.?
93	MCH	LMNA	NM_170707.2:c.1930C>T	p.Arg644Cys
116	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys
116	MCH	LDB3	NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn

5.1.2. Miocardiopatía Dilatada

Se estudiaron 14 casos y se encontraron 6 mutaciones en cuatro pacientes (Tabla 25) el gen más frecuentemente mutado fue *TTN*.

Las mutaciones encontradas en el gen *TTN* de los pacientes 59(c.73012C>T), 103(c.43015_43028delinsTTTACTCTTC) y 119(c.75039_75042del) corresponden a proteínas truncadas de 24338, 14339 y 25014 aminoácidos, siendo su tamaño normal 33423 aminoácidos para la referencia de músculo esquelético y 26926 aminoácidos para la referencia de músculo cardíaco.

Otra proteína truncada detectada en miocardiopatía dilatada, corresponde al caso 64 que confirma la mutación c.1546G>T en el gen *MYBPC3* y produce una proteína de apenas 516 de los 1475 aminoácidos, explicando su severidad clínica. Al igual que en miocardiopatía hipertrófica, en miocardiopatía dilatada se encontraron dobles heterocigotos asociados al fenotipo:

- Caso 59: además de la mutación c.73012C>T (p.Arg24338*) en *TTN*, se encuentra una segunda mutación en el gen *LDB3* (c.349G>A) que produce un cambio de aminoácido de ácido aspártico a asparagina en la posición

117. Esta mutación ha sido descrita previamente como responsable de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo²¹¹.

- Caso 103: se trata de un paciente de 58 años diagnosticado de miocardiopatía dilatada familiar siendo afectos de la misma patología su padre y 11 parientes de segundo grado asociados a muerte súbita. Además, dos de sus cuatro hijos están diagnosticados de síndrome de QT largo y al momento no se ha detectado miocardiopatía dilatada. El estudio por secuenciación masiva demostró la variante en heterocigosis *c.43015_43028delinsTTTACTCTTC* en el exón 327 del gen *TTN*. Esta compleja mutación comprende una delección de 14 nucleótidos y la inserción de la secuencia TTTACTCTTC en el exón 327 que altera el marco de lectura de la secuencia codificante. Esta mutación produce un cambio de aminoácido de ácido glutámico a fenilalanina en la posición 14339 y un codón de parada prematuro 11 codones hacia abajo, en la posición p.Glu14339Phefs*11, generando una proteína con ausencia de los 12577 aminoácidos finales. Debido al efecto deletéreo, esta variante se clasifica como mutación patogénica asociada a miocardiopatía dilatada. En este mismo paciente se ha detectado la variante *c.296G>A* (p.Arg99His) en heterocigosis en el exón 3 del gen *KCNE3* que se ha descrito asociada al Síndrome QT largo^{148,12} y al Síndrome de Brugada⁴⁰. Los datos se encuentran en la Figura 18.

Tabla 25. Mutaciones en Miocardiopatía Dilatada.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
59	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.73012C>T</i>	p.Arg24338*
59	MCD	<i>LDB3</i>	<i>NM_001080116.1:c.349G>A</i>	p.Asp117Asn
64	MCD	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1546G>T</i>	p.Glu516*
103	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.43015_43028delinsTTTACTCTTC</i>	p.Glu14339Phefs*11
103	MCD	<i>KCNE3</i>	<i>NM_005472.4:c.296G>A</i>	p.Arg99His
119	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.75039_75042del</i>	p.Arg25014Serfs*9

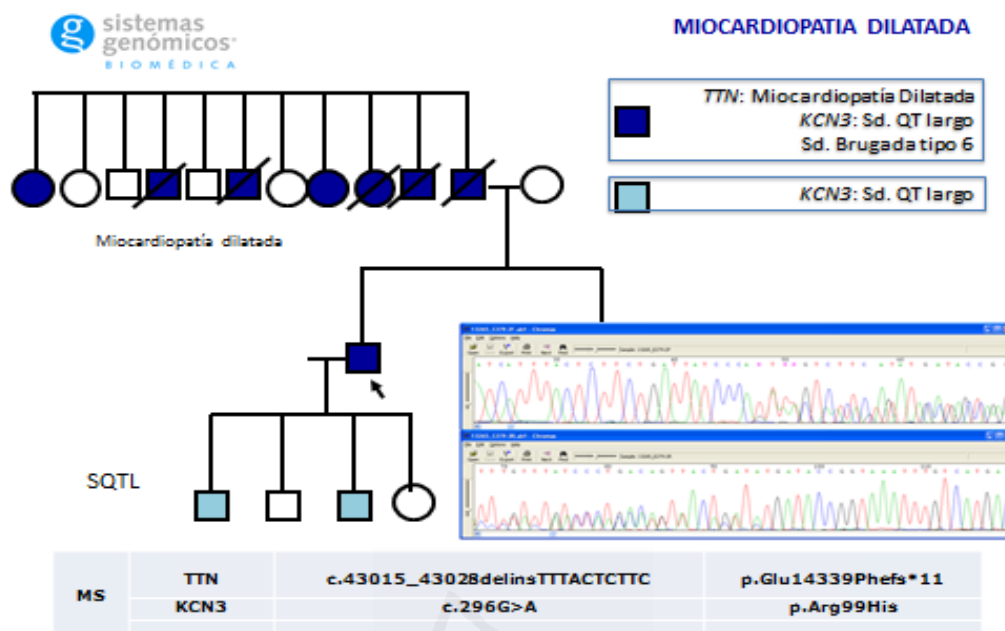


Figura 18. Caso 103: árbol genealógico, resultados y validación por secuenciación Sanger de mutación en el gen *TTN*.

En definitiva, en el 28% de pacientes con MCD se detectaron mutaciones 21% de ellas fueron en el gen *TTN* y 14% fueron dobles heterocigotos.

5.1.3. Ventrículo izquierdo no compactado (LVCN) y Displasia/miocardiopatía arritmogénica de ventrículo derecho (DAVD)

En la Tabla 26 se encuentran los resultados moleculares de los dos casos de LVCN en los que se detectaron mutaciones respecto de los 4 analizados y dos casos mutados de los 14 analizados de DAVD. Se detectaron mutaciones en los genes *TTN* con una proteína truncada de 1026 aminoácidos y en el gen *TNNT2* siendo una mutación previamente descrita⁵⁴. En los dos casos de displasia arritmogénica de ventrículo derecho, se han detectado dos mutaciones con efecto de proteínas truncadas en los genes *DSP*⁵³ y *PKP2*³⁷.

Tabla 26. Mutaciones en otras Miocardiopatías.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
114	LVNC	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.30800del	p.His10267Profs*18
162	LVNC	<i>TNNT2</i>	NM_001001430.1:c.281G>A	p.Arg94His
18	DAVD	<i>DSP</i>	NM_004415.2:c.6850C>T	p.Arg2284*
82	DAVD	<i>PKP2</i>	NM_004572.3:c.1368del	p.Lys456Asnfs*3

5.2. MUTACIONES EN TRASTORNOS DEL RITMO CARDÍACO

Se analizaron 28 casos con diferentes trastornos del ritmo. En 6 de ellos, se detectaron mutaciones, 4 de ellas asociadas a canalopatías del sodio¹⁰¹ y del potasio^{208, 83,72} y dos casos con mutaciones no descritas en el gen *AKAP9* que codifica la proteína de anclaje de quinasa A-9(AKAPs), que tienen la función común de unión a la subunidad reguladora de la proteína quinasa A (PKA) y confinar la holoenzima a lugares discretos dentro de la célula. Este gen se encuentra mutado en el síndrome QT largo tipo 11, por lo que en estos dos casos, se estableció el diagnóstico molecular de las arritmias. Los resultados se expresan en la Tabla 27. La tasa de mutaciones en este grupo corresponde al 21.4%.

Tabla 27. Mutaciones en Trastornos del ritmo.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
7	Arritmia	<i>AKAP9</i>	NM_005751.4:c.10129C>T	p.Arg3377*
76	Arritmia	<i>AKAP9</i>	NM_005751.4:c.7438C>T	p.Gln2480*
161	SB	<i>SCN5A</i>	NM_198056.2:c.2582_2583del	p.Phe861Trpfs*90
20	SQTL	<i>KCNH2</i>	NM_000238.2:c.2587C>T	p.Arg863*
78	SQTL	<i>KCNQ1</i>	NM_000218.2:c.871_872insA	p.Ser291Tyrf*172
150	SQTL	<i>KCNJ2</i>	NM_000891.2:c.652C>T	p.Arg218Trp

5.3. MUTACIONES EN ANEURISMA DE AORTA PRIMARIO Y ASOCIADO A SÍNDROMES

Del análisis de 25 casos de Síndrome de Marfan y 9 de aneurismas de aorta, 7 casos demostraron mutaciones en el gen *FBN1*, confirmando su diagnóstico de síndrome de Marfan. Además de las mutaciones *nonsense* y con desplazamiento del marco de lectura que originan proteínas truncadas (casos 30, 42, 68 y 70), los casos 19, 42 y 74 corresponden a mutaciones previamente descritas^{31,166,20}. La tasa de detección de mutaciones corresponde al 36%. Los resultados se expresan en la Tabla 28.

Tabla 28. Mutaciones en Aneurismas de aorta.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
19	S. Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.478T>C</i>	p.Cys160Arg
30	S. Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.7776C>A</i>	p.Cys2592*
37	S. Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.2362_2370del</i>	p.Phe788_Cys790del
42	S. Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.1585C>T</i>	p.Arg529*
68	S. Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.6530delG</i>	p.Gly2177Glufs*8
70	S. Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.1869C>A</i>	p.Cys623*
74	S. Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.4096G>A</i>	p.Glu1366Lys

5.4. MUTACIONES EN OTROS GENES

Cuando el estudio molecular se realizó con un panel de mayor número de genes, se detectaron 11 mutaciones en 43 pacientes con una tasa del 25.6%. Las mutaciones detectadas en la mayoría de casos estableció el diagnóstico molecular. Los resultados se encuentran en la Tabla 29.

En el caso 72, con diagnóstico cardiológico de miocardiopatía hipertrófica, la mutación detectada *c.247C>A* (p.Ser455Leu) en el gen *RBM20* se ha descrito asociada a miocardiopatía dilatada tipo 1DD y actualmente está en seguimiento¹⁶⁸.

En el caso 103, la mutación *c.296G>A* (p.Arg99His) detectada en el gen *KCNE3* está asociada con el síndrome QT largo. Esta patología se ha diagnosticado en sus descendientes y, a través de los estudios de cosegregación realizados, se ha encontrado la misma mutación en *KCNE3*¹⁴⁸, explicando su hallazgo cardiológico.

En el caso 71, con sospecha de displasia arritmogénica de ventrículo derecho, la mutación *c.4373A>G*(p.Glu1458Gly) detectada en el gen *ANK2* se asocia a síndrome QT largo tipo 4¹²⁸.

En el caso 111 con diagnóstico de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica se detectó la mutación *c.644G>A* (p.Gly215Asp) en el gen *KCNJ2* asociado a síndrome de Andersen, sin embargo se conoce el solapamiento clínico entre estas dos patologías^{83, 72,104}.

El estudio 47 reveló la mutación *c.502C>T*(p.Arg168*) en el gen *TNNT2* que produce una proteína truncada de 168 de 295 aminoácidos, asociado a miocardiopatía hipertrófica, sin embargo, esta paciente de 3 años tenía la sospecha de un síndrome de QT largo. El gen *TNNT2* codifica la subunidad de unión a la tropomiosina y regula la contracción muscular en respuesta a las alteraciones de la concentración iónica intracelular de calcio, por lo que el diagnóstico cardiológico de sus padres está en revisión.

El diagnóstico cardiológico del caso 36 fue síndrome de QT corto y se detectó una mutación descrita en el gen *LDB3:c.349G>A* (p.Asp117Asn) asociada a miocardiopatía dilatada²¹¹.

En los casos 28 y 49 con sospecha de síndrome de Marfan se encontraron mutaciones con efecto de proteínas truncadas en los genes *SLC25A4* y *ABCC9*. En el caso 28, su diagnóstico final fue de oftalmoplejia externa progresiva, patología que debe considerarse en el diagnóstico diferencial de síndrome de Marfan, mientras que en el caso 49, su diagnóstico fue de síndrome de Cantú, trastorno caracterizado por osteodisplasia asociada a válvula aórtica bicúspide y persistencia de ductus arterioso que pueden originar aneurisma de aorta torácica.

Las mutaciones encontradas en los genes *TNNT2* y *MYBPC3* en los casos 65 y 15 corresponden a mutaciones descritas^{209,100}, mientras que la mutación

c.2373dup en el gen *MYBPC3* detectada en el paciente 108 corresponde a una proteína truncada que tiene 712 de 1274 aminoácidos.

Tabla 29. Mutaciones en otros genes.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
72	MCH	<i>RBM20</i>	<i>NM_001134363.1:c.247C>A</i>	p.Leu83Ile
103	MCD	<i>KCNE3</i>	<i>NM_005472.4:c.296G>A</i>	p.Arg99His
71	DAVD	<i>ANK2</i>	<i>NM_001148.4:c.4373.A>G</i>	p.Glu1458Gly
15	SB	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2873C>T</i>	p.Thr958Ile
108	SB	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2373dup</i>	p.Trp792Valfs*41
111	TVPC	<i>KCNJ2</i>	<i>NM_000891.2:c.644G>A</i>	p.Gly215Asp
47	SQTL	<i>TNNT2</i>	<i>NM_000364.2:c.502C>T</i>	p.Arg168*
36	SQTC	<i>LDB3</i>	<i>NM_001080116.1:c.349G>A</i>	p.Asp117Asn
28	S. Marfan	<i>SLC25A4</i>	<i>NM_001151.3:c.178A>T</i>	p.R60*
49	S. Marfan	<i>ABCC9</i>	<i>NM_005691.2:c.1467_1468insA</i>	p.Glu490Argfs*8
65	S. Marfan	<i>TNNT2</i>	<i>NM_001001430.1:c.230C>T</i>	p.Pro77Leu



Universitat d'Alacant **X. DISCUSIÓN**
Universidad de Alicante

En los últimos años, el advenimiento de la secuenciación masiva (NGS) ha revolucionado el enfoque de los estudios genéticos gracias a la secuenciación del genoma completo dentro del Proyecto Genoma Humano (HGP)²¹³. Este nuevo conocimiento ha sido cada vez más importante para definir la base de la biología humana y la medicina, proporcionando una única referencia para toda la información genética. 12 años después del HGP, la secuenciación masiva, conocida como “*Next Generation Sequencing*” (NGS), ha cambiado los enfoques de la genómica y transcriptómica con una reducción de costes, incremento significativo de su rendimiento y obtención de información genómica que se traslada a bases de datos a nivel mundial¹⁸⁹.

Se ha demostrado que NGS es una tecnología que permite la identificación de mutaciones en diversos genes a la vez, en trastornos hereditarios con heterogeneidad genética con bajo número de pacientes afectados y con costes cada vez más reducidos en el diagnóstico molecular de pacientes¹²¹ o en casos de muerte súbita a través de la autopsia molecular^{165, 188, 195}. Actualmente, se plantean nuevas expectativas para el diagnóstico prenatal no invasivo¹⁴³, terapia génica dirigida a dianas moleculares¹⁵, estratificación de tratamientos asociados a genotipo¹⁹⁹, entre otros. Sin embargo, de acuerdo con Ware et al. (2012)²¹⁵ esta nueva tecnología de secuenciación masiva plantea nuevos retos, tales como el procesamiento de gran cantidad de información bioinformática y su almacenamiento, la discriminación de mutaciones de las variantes de significado desconocido, aspectos bioéticos como la protección de datos, hallazgos inesperados como anomalías genéticas no relacionadas con la enfermedad en estudio, o no paternidad. Además, es indispensable el nuevo conocimiento de la medicina genómica, necesaria en toda la formación de profesionales inmersos en Ciencias de la Salud²¹⁵.

En la etiología de las enfermedades cardiovasculares tales como las miocardiopatías^{2,36,60,76,192} diversas canalopatías^{26,46,66,137}, así como los aneurismas de aorta torácica de tipo familiar aislados o asociados a fenotipos sindrómicos^{7,79,123,199}, se ha demostrado un claro componente hereditario,

monogénico, que sigue los patrones mendelianos clásicos, pero a la vez con gran heterogeneidad genética y con un número de genes cada vez mayor, tanto que a esta fecha superan los 200 genes¹⁵⁰.

Las guías publicadas por el grupo de consenso de *Heart Rhythm Society* y *European Heart Rhythm Association* en 2011² establecieron como enfermedades de interés para diagnóstico genético por técnicas de secuenciación convencional, aquellas con una frecuencia de mutaciones en un gen mayor al 5%. De esta forma, en los trastornos del ritmo como el síndrome de QT largo se puede detectar hasta el 75% de mutaciones en los genes *KCNH2*, *KCNQ1* y *SCN5A*. De igual forma, TVPC con el 60% de mutaciones en *RYR2*; Brugada, con 30% de mutaciones en *SCN5A*, entre los más importantes. En miocardiopatías, la forma hipertrófica puede asociarse con mutaciones en *MYBPC3* hasta en el 45%; *PKP2* en el 40% de DAVD; *LMNA* en el 10% de MCD. En los casos de MS, se llega al 15% de mutaciones en *RYR2*. Estos datos revelan la complejidad de los estudios por tecnología convencional debido a que se estudian los genes más frecuentes, dejando de lado genes más complejos, como sucede con el gen *TTN* con 313 exones, cuya frecuencia en MCD ha sido publicada en el 25% de casos familiares y 18% de casos esporádicos, creando un subregistro de genes no abordados¹⁴⁶. Los estudios por secuenciación masiva, ayudarán a determinar frecuencias reales de diversos genes asociados a patología cardiovascular, a explicar la expresión variable de fenotipos debido a efecto de genes modificadores, así como permitirán el abordaje de trastornos complejos que siguen modelos multifactoriales junto a modelos monogénicos, como los estudios de Vandrovcova et al. (2013)²⁰¹ en el diagnóstico por NGS de hipercolesterolemia, asociados a la enfermedad arterial coronaria.

En esta Tesis Doctoral se presentan los resultados obtenidos del estudio por secuenciación masiva de una gran serie de 163 pacientes diagnosticados de enfermedades cardiovasculares con riesgo de muerte súbita, analizados entre enero 2011 y noviembre 2012, en el inicio de esta tecnología aplicada al diagnóstico, siguiendo estrategias validadas y modificadas por nuestro centro,

para su aplicación diagnóstica y que posteriormente han sido consensuadas por el grupo de Gargis et al (2012)⁵⁶.

1. MUERTE SÚBITA CARDIOVASCULAR

La muerte súbita cardíaca sigue siendo un importante problema de salud pública en el mundo occidental con más de 200.000 muertes al año sólo en los EE.UU, siendo la taquiarritmia ventricular el mecanismo subyacente más frecuente¹³⁵. Entre el 3 y 53% de las muertes súbitas afectan a niños, adolescentes y adultos jóvenes, previamente sanos y sin anomalías morfológicas identificables en la autopsia¹⁹⁴. Sin embargo, se conoce que aproximadamente el 90% de casos de MS se producen por cardiopatías siendo la primera causa de muerte. Entre el 25-50% de estas cardiopatías tienen base genética o agregación familiar, sin embargo, se han detectado únicamente del 1 al 2% de mutaciones con repercusión proteica en miocardiopatías y trastornos de canales iónicos²⁹.

En contraste con estas frecuencias publicadas por Chopra et al. (2011)²⁹, los resultados encontrados en nuestra serie demuestran que el 27.6% de pacientes presenta una mutación en genes implicados en muerte súbita de origen cardiovascular. De este grupo, el 82% de mutaciones está en concordancia con el diagnóstico cardiológico. Estas diferencias se explican por las patologías abordadas en el diseño del panel de 72 genes, junto a la tecnología de secuenciación masiva utilizada. De esta forma, se ha confirmado el diagnóstico molecular en un mayor número de pacientes con diagnóstico cardiológico, se ha podido explicar la severidad del cuadro clínico y su relación con edades tempranas de la enfermedad como en el caso 89 y, a la vez, ha permitido el asesoramiento genético familiar sobre bases moleculares concretas que permitan la toma de decisiones reproductivas con diversas opciones de diagnóstico fetal certero².

De acuerdo al último documento de consenso publicado por el grupo de trabajo de enfermedades de miocardio y pericardio de la Sociedad Europea de

Cardiología (2013)¹⁶⁷, considera a las miocardiopatías hereditarias como enfermedades heterogéneas causadas por la anomalía estructural y funcional del músculo cardíaco en ausencia de otras enfermedades cardíacas, tales como enfermedad de arteria coronaria, hipertensión, enfermedades valvulares o cardiopatías congénitas y establece la necesidad de estudios genéticos aplicando estrategias de secuenciación masiva como son los paneles dirigidos a patologías específicas, tal como se ha desarrollado en nuestro estudio.

2. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA

La miocardiopatía hipertrófica (MHC) es la patología más frecuentemente estudiada en esta serie siendo del 30% de pacientes analizados y con una detección de mutaciones del 24%. Según las guías de diagnóstico y tratamiento de miocardiopatía hipertrófica de *American College of Cardiology Foundation/American Heart Association* publicadas en 2011⁶⁰, se considera que del 50 al 60% de pacientes con diagnóstico de MCH y con historia familiar positiva, independiente de la edad, así como el 20 a 30% de casos en quienes no se ha demostrado historia familiar, tienen mutaciones en alguno de los genes que codifican para componentes del sarcómero.

El estudio de Page y cols (2012)¹⁵⁵ demuestra que el gen más frecuentemente mutado en MHC corresponde a *MYBPC3* que codifica la isoforma cardíaca de la miosina de unión a la proteína C, con una frecuencia de mutaciones del 9.7% en una serie de 585 pacientes en concordancia con nuestra serie de 49 pacientes y detección de mutaciones en este gen en el 24% de pacientes. La mutación más frecuente fue *c.772G>A* que produce un cambio de aminoácido de ácido glutámico a lisina en la posición 258 de la proteína (p.Glu258Lys) y aparición de un codón de parada prematuro, dejando una proteína de tan solo 246 aminoácidos de los 1274 aminoácidos normales. Esta mutación fue descrita por Niimura y cols (1998)¹⁴⁵ y ha sido detectada en el 34% de pacientes en la serie de

Olivotto y cols (2008)¹⁴⁹ así como en 3 familias con un cuadro clínico severo y descritas por Page (2012)¹⁵⁵.

Otras mutaciones detectadas en esta serie en el gen *MYBPC3* producen proteínas truncadas como p.Cys1202LeufsX*35, p.Cys913* y p.Met844Argfs*36, ésta última descrita en población española por García-Castro y col (2009)⁵⁷. En este estudio, se han detectado mutaciones en *MYBPC3* en afectos y familiares en el 16% de casos, siendo la mayoría de mutaciones de novo.

Otro hallazgo interesante que implica al gen *MYBPC3* es la detección de dobles heterocigotos para el gen *MYBPC3* o heterocigotos compuestos, que en nuestra serie de miocardiopatía hipertrófica se encuentra en 3 casos que hacen el 6%, frente al 0.7% en 585 casos de MCH de la serie de Page y cols (2012)¹⁵⁵. En el caso de doble heterocigoto detectado en nuestra serie (caso 89) explicaría la edad temprana de diagnóstico y la severidad del cuadro clínico (8 años, cuadro severo de MCH) con mutaciones p.Glu258Lys y p.Asp610His, cuyo efecto a nivel proteico corresponde a una proteína truncada de 246 de 1274 aminoácidos y un cambio de ácido aspártico por histidina en un residuo altamente conservado, ambas mutaciones descritas como patogénicas^{206, 136}.

En los casos de heterocigotos dobles (casos 84 y 116) se detectaron las mutaciones *c.1090+1G>A* en el gen *MYBPC3* y *c.829C>A* (p.Leu277Met) en el gen *VCL*^{150, 210} (caso 84); y *c.772G>A* en el exón 6 de *MYBPC3* y *c.349G>A* en el gen *LDB3*^{205, 211} (caso 116). El efecto de estas mutaciones en los pacientes generarían dos proteínas truncadas de 310 y 246 aminoácidos en la proteína codificada por el gen *MYBPC3*, y las mutaciones *missense* en los genes *VCL* asociado a miocardiopatía hipertrófica tipo 15 y en el gen *LDB3*, descrita como responsable de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo actuarían como genes modificadores en el cuadro clínico de estos pacientes. En el estudio de Page y cols (2012)¹⁵⁵ las mutaciones descritas de los heterocigotos compuestos se encontraron preferentemente con el gen *MYH7*, mientras que el estudio de

Richard et al. (2003)¹⁷⁰ detectó el 6% de casos de heterocigotos dobles y heterocigotos compuestos en una serie de 197 casos.

Estas diferencias en heterocigotos dobles se explican debido al estudio simultáneo de 24 genes descritos asociados a MCH en el diseño del panel de resecuenciación dirigida de 72 genes, en concordancia con los hallazgos de Lopes y cols.(2013)¹¹⁰, quienes realizaron su estudio por secuenciación masiva con un panel de 41 genes asociados a MCH sobre 223 afectados del consorcio UK 10k y, aparte de mutaciones descritas, encontraron diversas variantes de significado desconocido en genes sarcoméricos y no sarcoméricos.

3. MIOCARDIOPATÍA DILATADA

Respecto de Miocardiopatía Dilatada (MCD) y, de acuerdo a los estudios de Norton y cols. (2013)¹⁴⁶y Herman y cols. (2012)⁷⁵se conoce que el 40 a 50% de pacientes con MCD familiar puede ser causada por mutaciones en al menos 30 genes diferentes, siendo el gen *TTN* el más frecuentemente mutado. Este gen está mutado hasta en el 25% de casos familiares y 18% de casos esporádicos. Las mutaciones más frecuentes en *TTN* fueron tipo *nonsense* y *frameshift* produciendo proteínas truncadas. Nuestros hallazgos están en concordancia con los resultados de estos autores ya que, de 14 pacientes estudiados con miocardiopatía dilatada, se detectaron mutaciones en 4 de ellos (28%), siendo *TTN* el gen más frecuentemente mutado. Las mutaciones fueron tipo *nonsense* y *frameshift*: p.Arg24338*, p.Glu14339Phefs*11 y p.Arg25014Serfs*9. Sin embargo, el estudio en población control de Herman (2012)⁷⁵ demostró 2 mutaciones *frameshift* y 5 mutaciones en el *splicing* en el gen *TTN* en 249 controles (3%), hallazgos que complican la interpretación de patogenicidad de estas variantes en el gen *TTN*, e indica la necesidad de ampliar los estudios en población control. Las mutaciones detectadas en el gen *TTN* por Herman y cols. (2012)⁷⁵ fueron: c.12059delA (p.Lys4020fs), c.71774_71775delTT(p.L23925fs), c.1246-3delT(p.Val416), c.34690G>T+1 (p.Val11564Phe), c.3101-2A>T(p.Val1034) y

c.50197+3A>G(p.Glu16733). Desgraciadamente en este estudio citado, solamente se realizó secuenciación masiva del gen *TTN*, por lo que se desconoce si otros genes asociados a MCD estuvieron mutados.

Al igual que en miocardiopatía hipertrófica, se detectaron dobles heterocigotos en dos casos de miocardiopatía dilatada: uno de ellos, además de la mutación p.Arg24338* en *TTN*, se detectó una segunda mutación en el gen *LDB3* que produce un cambio de aminoácido de ácido aspártico a asparagina en la posición 117. Esta mutación ha sido descrita previamente como responsable de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo tras detectarlo en dos pacientes no emparentados y realizar mutagénesis dirigida en ratones, donde observaron una desorganización del citoesqueleto de actina en los cardiomiocitos²¹¹.

En el segundo caso (caso 103), la historia familiar reveló, MCD en el probandus, su padre y 11 parientes de segundo grado con MCD y posterior muerte súbita. Además, dos parientes de primer grado (hijos) fueron diagnosticados de síndrome de QT largo y al momento no se ha detectado miocardiopatía dilatada. El estudio por secuenciación masiva demostró la variante c.43015_43028delinsTTTACTCTTC en heterocigosis en el exón 327 del gen *TTN*. Esta compleja mutación comprende una delección de 14 nucleótidos y la inserción de la secuencia TTTACTCTTC en el exón 327 que altera el marco de lectura de la secuencia codificante. Esta mutación produce un cambio de aminoácido de ácido glutámico a fenilalanina en la posición 14339 y un codón de parada prematuro 11 codones hacia abajo, en la posición p.Glu14339Phefs*11, generando una proteína con ausencia de los 12577 aminoácidos finales, teniendo un efecto deletéreo, por lo que esta variante se clasifica como mutación patogénica asociada a miocardiopatía dilatada. En este mismo paciente se ha detectado la variante c.296G>A (p.Arg99His) en heterocigosis en el exón 3 del gen *KCNE3*. Mutaciones en este gen se han relacionado con fibrilación auricular y parálisis periódica hipopotasémica; sin embargo, esta mutación ha sido descrita asociada a síndrome de Brugada⁴⁰ y a síndrome de QT largo, en el estudio de Ohno y cols.(2009)¹⁴⁸,

explicando el hallazgo de descendientes afectados de síndrome de QT largo en esta familia.

Otro tipo de miocardiopatía en la que se detectó mutaciones fue el ventrículo izquierdo no compactado. En esta rara enfermedad se encontró una mutación en el gen *TNNT2* que codifica para proteínas del filamento delgado del miocardio y que ha sido asociada a esta patología⁵⁴ junto a una mutación en el gen *TTN* no descrita como asociada a LVNC, sin embargo, mutaciones en este gen han sido descritas en el 20% de pacientes con miocardiopatía dilatada de tipo familiar y en el 18% de casos esporádicos¹²⁰ y, según los estudios de Oechslin y cols (2011)¹⁴⁷, podría tratarse de una superposición de diferentes fenotipos entre las miocardiopatías dilatada, hipertrófica y ventrículo izquierdo no compactado, sin que hasta esta fecha se conozca cuáles son los factores desencadenantes o modificadores para definir el curso de la enfermedad, ante la presencia de una misma mutación en un gen sarcomérico, tal como ha sido considerado el gen *TTN*.

4. DISPLASIA ARRITMOGENICA DE VENTRICULO DERECHO

La displasia arritmogénica de ventrículo derecho (DAVD) constituye una patología mixta con daño estructural miocárdico y reemplazo por tejido fibroadiposo que interfiere en la conducción cardíaca, provocando arritmias que incrementan el riesgo de muerte súbita. De acuerdo con los estudios de Quarta y cols (2011)¹⁶³ además de la displasia de ventrículo derecho, se encuentra compromiso del ventrículo izquierdo entre el 10 y 28%.5 de los 8 genes asociados a esta patología codifican para proteínas desmosómicas y por esta razón, DAVD se considera una enfermedad de los desmosomas. Estas estructuras son cruciales en la morfogénesis cardíaca durante la época embrionaria y garantizan la cohesión mecánica de los cardiomiocitos durante el proceso de contracción cardíaca¹¹⁵. Las mutaciones en los genes que codifican a los desmosomas interfieren en la tensión mecánica constante y sostenida de los cardiomiocitos, llevando a disfunción cardíaca y muerte celular. Estos genes se encuentran mutados en un 30 a 50% de pacientes, con amplia variabilidad en el curso clínico

de la enfermedad⁵⁵. La prevalencia de mutaciones en el gen *PKP2* asociados a DAVD oscila entre el 11 y 43%, siendo el gen más frecuentemente mutado seguido de *DSG2* y *DSP*⁴¹.

Cabe destacar que en nuestra serie de 14 pacientes con DAVD, en dos afectos se detectaron las mutaciones c.6850C>T (p.Arg2284*) en el gen *DSP* y c.1368 del (p.Lys456Asnfs*3) en el gen *PKP2*. Las dos mutaciones tienen un efecto truncante sobre desmoplaquina y placofilina. Sin embargo, los estudios de expresión llevados a cabo por Vite A, et al (2013)²¹⁴ demuestran únicamente la disminución de desmogleína 2 y desmocolina 2 en tejido cardíaco, independiente del tipo de mutaciones, abriendo nuevas rutas de investigación en el estudio de los desmosomas asociados a DAVD.

5. TRASTORNOS DEL RITMO CARDÍACO

Otro grupo de gran interés cardiogenético constituye los trastornos de ritmo cardíaco. De acuerdo con las observaciones de Liu et al. (2010)¹⁰⁹, estos trastornos se asocian con diferentes enfermedades genéticas cardíacas como el síndrome de QT largo, cuyo diagnóstico molecular permite establecer el patrón de riesgo específico en el afecto e iniciar los estudios familiares en función del hallazgo molecular, siendo más eficaz que el cribado clínico por sí solo. Sin embargo, los estudios por secuenciación convencional resultan costosos y largos debido al gran número de genes implicados, por lo que su aplicación en la práctica diaria no siempre se llevan a cabo a pesar de estar vigente en las guías cardiológicas publicadas^{2, 26, 216}.

En nuestra serie, se analizaron 28 casos que incluyen arritmias, síndromes de Brugada, QT largo, QT corto y taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica. En esta serie, se detectaron mutaciones en 6 casos: se confirmó el síndrome de Brugada en uno de ellos, ya que se detectó una mutación en el gen *SCN5A* con efecto de proteína truncada, siendo el gen más frecuentemente mutado (5 a 30% de casos), en concordancia con los datos de Duthoit et al (2012)⁴⁴.

Interesantemente, 3 de 13 casos de síndrome de QT largo tuvieron mutaciones en genes que codifican para el canal de potasio: *KCNQ1*, *KCNH2* y *KCNJ2*, con frecuencias de 25 a 30%, 25 a 30% y <1% respectivamente, como se ha reconocido en los trabajos de Ackerman⁴. Además, se ha podido establecer el diagnóstico de arritmia en dos pacientes, al detectar mutaciones en el gen *AKAP9* asociado a síndrome de QT largo tipo 11. El gen *AKAP9* codifica la proteína de anclaje de quinasa A-9(AKAPs), cuya función común es de unión a la subunidad reguladora de la proteína quinasa A (PKA). Su frecuencia asociada a síndrome QT largo es menor al 1%, tal como describe Ackerman et al (2013)⁵.

6. ANEURISMA DE AORTA TORÁCICA FAMILIAR

Otra de las causas de muerte súbita constituye las formas familiares de aneurismas y disecciones de aorta torácica. De acuerdo con la clasificación de Campens y De Paepe et al. (2013)²⁵, Faivre et al. (2012)⁵¹ y Pomianowski et al. (2013)¹⁶¹ se conocen dos grupos: cuadros sindrómicos que hacen aproximadamente el 5% de casos e incluye los Síndromes de Marfan, Loeys–Dietz, Shprintzen–Goldberg y aneurismas asociados a osteoartritis, y las formas no sindrómicas que hacen el 20% de casos. La patología aislada incluye la aorta bicúspide, enfermedad cerebrovascular, persistencia de ductus arterioso o prolapso de la válvula mitral. El origen de varios de estos trastornos se encuentra en mutaciones de genes relacionados con la ruta TGF β , por lo que se van conociendo como vasculopatías asociadas a TGF β . Estas entidades patológicas pueden sufrir solapamientos, lo que dificulta su diagnóstico molecular. Para ello, Campens y De Paepe et al (2013)²⁵, establecen un interesante algoritmo de diagnóstico por secuenciación masiva, que es el utilizado en nuestro centro. Nuestra serie incluye 34 pacientes, 25 de ellos diagnosticados clínicamente de síndrome de Marfan y se detectaron mutaciones en 7 casos. Como se ha reconocido en el estudio de Aalberts et al.(2014)¹, es muy importante determinar el tipo de mutación detectada en *FBN1* para establecer el riesgo de dilatación del ventrículo izquierdo asociado a mutaciones que no sean de tipo *missense*. De

acuerdo en el estudio de Comeglio et al.(2007)³¹, las mutaciones identificadas en *FBN1* se distribuyen por todo el gen, con evidencia limitada de correlación entre las regiones de las mutaciones y el fenotipo clínico, mientras que aquellas mutaciones que afectan a nucleótidos que producen cambios en cisteína se asocian con un fenotipo más severo como es el caso 19 de nuestra serie.

Sin embargo, el estudio de Faivre et al (2012)⁵² en una población de 1013 afectados de síndrome de Marfan, demuestra que mutaciones *nonsense* y mutaciones *missense* que se encuentran entre los exones 24 a 32, generalmente se asocian a fenotipos con características esqueléticas más severas como se demuestra en seis casos de nuestra serie.

7. EXPRESIVIDAD VARIABLE

Cabe destacar que la secuenciación masiva constituye una importante herramienta diagnóstica cuando el cuadro clínico y estudios complementarios especializados no permiten establecer un diagnóstico cardiológico preciso. En esta condición, el análisis de los 72 genes implicados en muerte súbita facilita la detección de mutaciones en 11 de 43 pacientes, aclarando el diagnóstico de la patología subyacente.

- Pacientes diagnosticados de miocardiopatías, en quienes se detectaron mutaciones asociadas a trastornos del ritmo:

- Caso 103: la mutación *c.296G>A p.Arg99His* en el gen *KCNE3* está descrita con síndrome de QT largo, según el estudio de Ohno y cols (2009)¹⁴⁸, explicando el hallazgo de descendientes afectados de síndrome de QT largo.
- Caso 71: la mutación *c.4373.A>G p.Glu1458G* y en el gen *ANK2*, detectada en un paciente con sospecha de displasia arritmogénica de ventrículo derecho, fue descrita por Mohler et al (2003)¹²⁸, con efecto de pérdida de función y asociada a síndrome de QT largo tipo 4. Las características clínicas incluyen diferentes grados de disfunción cardíaca tales como bradicardia, arritmia sinusal,

fibrilación ventricular idiopática, taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica y riesgo de muerte súbita.

- Caso 72: la mutación *c.247C>A p.Leu83Ile* en el gen *RBM20*, detectada en un paciente con sospecha de MCH. Cabe destacar la importancia de *RBM20* como un regulador del *splicing* alternativo del gen *TTN* y de otros 30 genes que tienen un significativo solapamiento postranscripcional. En el estudio GRADE con 283 pacientes, Refaat et al (2011)¹⁶⁸ demostró que mutaciones en *RBM20* tienen una frecuencia del 3% asociadas a Miocardiopatía dilatada, una de las cuales fue descrita en un paciente de nuestra serie, por lo que su diagnóstico cardiológico fue reevaluado. Los estudios funcionales de Guo et al (2012)⁷⁰ en ratas con mutaciones en *RBM20*, han detectado dilatación ventricular, arritmias, fibrosis cardíaca y riesgo incrementado de muerte súbita, confirmando su implicación en miocardiopatía dilatada.

- Pacientes diagnosticados de trastornos del ritmo en quienes se detectaron mutaciones en genes que provocan trastornos estructurales cardíacos:

- Caso 47: la sospecha clínica fue de síndrome de QT largo en una paciente de 3 años y se detectó la mutación *c.502C>T p.Arg168** en el gen *TNNT2* que produce una proteína truncada de 168 aminoácidos respecto de 295 aminoácidos normales. El gen *TNNT2* codifica la subunidad de unión a la tropomiosina y regula la contracción muscular en respuesta a las alteraciones de la concentración iónica intracelular de calcio, por lo que su diagnóstico arrítmico podría quedar explicado. Los estudios de Luedde et al (2010)¹¹² asocian mutaciones de este gen con miocardiopatía no compactada con trastornos del ritmo.

- Caso 36: su diagnóstico cardiológico fue síndrome de QT corto y se detectó la mutación *c.349G>A p.Asp117Asn* en el gen *LDB3* identificada en pacientes con miocardiopatía dilatada²¹¹. Los interesantes estudios de Xi et al (2012)²²² ponen en evidencia la contribución de esta mutación a enfermedades del sistema de conducción asociados a patología cardíaca estructural, ya que, defectos de las proteínas de la citoarquitectura cardíaca producen miocardiopatía no compactada

y se asocian a defectos del sistema de conducción, tal es el caso de la mutación p.Asp117Asn en *LDB3* que produce pérdida de la función del canal del sodio tipo 5 sin alteración significativa del complejo de proteínas del citoesqueleto. Estos estudios contribuyen a la comprensión de los mecanismos de arritmias en miocardiopatías.

- Casos 15 y 108 diagnosticados de síndrome de Brugada: se detectaron mutaciones en el gen *MYBPC3*: mutación *c.2373dup p.Trp792Valfs*41* con efecto de proteína truncada. Esta mutación fue descrita por Niimura et al (1998)¹⁴⁵ como mutación fundadora. Otra mutación en *MYBPC3* fue *c.2873C>T p.Thr958Ile* de tipo *missense* asociada a miocardiopatía hipertrófica descrita por Kabaeva et al (2005)¹⁰⁰ y Ehlermann et al (2008)⁴⁵, quienes encontraron esta mutación en pacientes con miocardiopatía hipertrófica o dilatada asociada a eventos cardíacos tales como insuficiencia cardíaca progresiva, accidente cerebrovascular y muerte súbita, asociada a edades juveniles.

El solapamiento de diversas arritmias puede ser un factor importante en el diagnóstico, como revela el caso 111 referido como taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, En este caso, se detectó la mutación *c.644G>A* (p.Gly215Asp) en el gen *KCNJ2*, descrita asociada a síndrome de Andersen Tawil⁸³. Este síndrome se caracteriza por parálisis periódica, arritmias cardíacas y rasgos dismórficos. En este último tiempo, se ha demostrado la implicación del gen *KCNJ2* en el origen de TVPC con una frecuencia menor del 3% en Japón, según los estudios de Kawamura et al (2013)¹⁰³. La proteína codificada por *KCNJ2* es una proteína integral de membrana y de uno de los rectificadores internos del canal de potasio, y se conoce que produce mayor tendencia a permitir que el potasio fluya al interior de la célula y que probablemente participe en el establecimiento de la onda del potencial de acción y la excitabilidad de los tejidos neuronales y musculares.

- Pacientes diagnosticados de aneurismas de aorta en quienes se detectaron mutaciones en otros genes:

El síndrome de Marfan constituye una patología cuya asociación a mutaciones en *FBN1* es muy alta (70 a 93%). Sin embargo, existen otros trastornos que pueden ser parte del diagnóstico diferencial de esta enfermedad, tal es el caso de la Oftalmoplejia externa progresiva caracterizada por oftalmoplejia progresiva, ptosis palpebral, debilidad muscular y rasgos miopáticos que se produce por mutaciones en el gen *SLC25A4*. En el caso 28, el cambio nucleotídico *c.178A>T* (p.R60*) en el gen *SLC25A4* truncaría la proteína en la posición 60, 239 aminoácidos antes del final de la proteína, y aunque este cambio no ha sido descrito previamente como mutación asociada a patología, debido al efecto deletéreo que este cambio produce en la proteína, es posible interpretar que probablemente esté relacionado con el cuadro clínico descrito en el paciente.

En el caso 49, se detectó la mutación *c.1467_1468InsA* (p.Glu490Argfs*8) en el gen *ABCC9*. Esta alteración provoca el cambio del aminoácido glutámico por arginina en la posición 490 de la cadena polipeptídica y la aparición de un codón de parada prematuro 8 aminoácidos después. La proteína truncada constaría de 497 de los 1549 aminoácidos de la proteína normal, pero debido a su efecto deletéreo podría considerarse como probablemente patogénica. Las mutaciones en el gen *ABCC9* se han relacionado con el Síndrome de Cantú, trastorno autosómico dominante caracterizado por macrosomía, macrocefalia, cardiomegalia, válvula aórtica bicúspide, persistencia de conducto arterioso, hipertrofia de ventrículo izquierdo y osteodisplasia²⁰⁰. Algunos de estos signos pueden sugerir síndrome de Marfan y forma parte de su diagnóstico diferencial.

8. VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO

Como se ha podido observar en el curso de este trabajo, el análisis por NGS de paneles de genes asociados a enfermedades cardiovasculares representa un gran avance en el diagnóstico molecular de estas patologías, ya que la secuenciación masiva ha permitido confirmar el diagnóstico molecular en un número elevado de pacientes. Sin embargo, determinar si una variante

nucleotídica encontrada es responsable de la enfermedad es uno de los mayores retos de la genética clínica contemporánea, debido en gran medida a nuestro limitado conocimiento del espectro de las variantes raras, a la penetrancia incompleta y a la acción espistásica de cambios nucleotídicos en determinados genes para causar la enfermedad o modificar su expresión²¹⁵.

De acuerdo con el trabajo de Pérez_Cabornero et al (2013)¹⁵⁹, determinar la patogenicidad de una variante de significado desconocido es muy importante, ya que las decisiones sobre las políticas preventivas del paciente y su familia dependen de su interpretación, así como dejar de realizar estudios de seguimiento en familiares no portadores de mutaciones conocidas, con su consiguiente implicación de costes sanitarios.

Para tratar de determinar la implicación biológica de una variante de significado desconocido, existen diversas estrategias que pueden acercar a una correcta interpretación: estudios de cosegregación de la mutación con el fenotipo, co-ocurrencia (en *trans*) con mutaciones deletéreas, determinación de la frecuencia de la variante en población control no afectada, polaridad de aminoácidos, conservación evolutiva de los residuos y estudios funcionales³³. Sin embargo, los estudios de cosegregación para variantes candidatas con fenotipos de la enfermedad en grandes familias no siempre es posible y, además, los estudios poblacionales poco a poco incrementan las bases de datos de frecuencias que permiten aclarar la relación de las variantes de significado desconocido en el origen de las enfermedades. En nuestra serie, el 47.8% de casos analizados tuvieron variantes de significado desconocido en el análisis por secuenciación masiva de más de 4000 genes.

La combinación de todos estos enfoques, junto con el estudio de estas variantes en un gran número de muestras de control específico en la población, ayudará a predecir si estas variantes contribuyen al fenotipo de la enfermedad o simplemente representan polimorfismos raros. Finalmente, se cree que en el futuro, ensayos funcionales biológicos y bioquímicos pueden ayudar a aclarar la actividad de estas variantes, así como el desarrollo de bases de datos, tal es el caso del Proyecto *Variome* como un esfuerzo a nivel mundial¹⁵⁹.

9. AUSENCIA DE MUTACIONES

Otro aspecto muy importante conlleva la respuesta a aquellos pacientes en los que no se demostró la presencia de una mutación asociada a su enfermedad cardiovascular de origen familiar. En nuestra serie, en un grupo de 30 pacientes no se detectó ninguna mutación. La ausencia de mutaciones no representa de ninguna forma la exclusión de la base genética de una enfermedad con características familiares. Implica la necesidad de nuevos abordajes moleculares que permitan la detección de nuevos genes involucrados.

Por ello, el nuevo momento de la genómica se ha iniciado, gracias a la aplicación de los estudios de exoma en el diagnóstico de enfermedades genéticas, encontrando más de 2300 referencias bibliográficas asociadas a este nuevo modelo de estudio. El estudio de Yang et al.(2013)²²⁵ analiza la utilidad del exoma clínico en el diagnóstico de enfermedades mendelianas y demuestra 86 mutaciones en 62 genes en el 25% de casos de una población de 250 casos neuropediátricos sin diagnóstico previo. Entre los 62 pacientes que recibieron un diagnóstico, 33 tenían una enfermedad autosómica dominante, 16 tenían autosómica recesiva y 9 tenían trastornos ligados al cromosoma X.

En el ámbito cardiovascular, Norton et al. (2013)¹⁴⁶ en su estudio de exoma en 17 familias con miocardiopatía dilatada, reveló la presencia de variantes nucleotídicas truncantes en el gen *TTN* en el 25% de pacientes. Además, esta metodología abre la posibilidad de conocer otros loci implicados en la caracterización de enfermedades conocidas²²⁵.

Sin embargo, a medida que avanza exponencialmente la utilización de la secuenciación masiva del exoma o del genoma completo en la medicina genómica, ya sea en la caracterización molecular de las enfermedades raras, en la individualización del tratamiento (en especial en el cáncer), en farmacogenómica¹⁹⁹, en la detección preconcepcional o diagnóstico prenatal¹⁴³ y en el cribado de la población para susceptibilidad a enfermedades complejas, también lo hará el descubrimiento de hallazgos casuales no relacionados con el objeto de estudio, conocidos en la actualidad como incidentalomas, pero que

pueden ser, no obstante, de valor médico y de utilidad para el paciente y su familia y que obligan a planteamientos bioéticos y de directrices dadas por la comunidad científica⁶⁸.

Para ello, el proceso de atención médica genética debe ser claramente especificado en el asesoramiento genético preanalítico, dando especial importancia a las limitaciones de las técnicas, el consentimiento informado, el informe genético con los incidentalomas que se consideren de beneficio para el paciente y, siempre y cuando su evidencia biológica y clínica esté ampliamente reconocida y consensuada, y el asesoramiento genético postanalítico a la recepción de resultados en amplia colaboración con los médicos que han solicitado los estudios. A esta fecha se ha definido una lista de enfermedades y genes y variantes que deben ser informadas en beneficio del paciente y se encuentra en el documento de consenso del Colegio Americano de Genética Clínica⁶⁸. También el exoma puede informar de hallazgos no esperados, tales como no paternidades o enfermedades que no son susceptibles de tratamiento en estos momentos, tales como demencias y enfermedades neurodegenerativas.

A pesar de todos los avances tecnológicos, es indiscutible la necesidad del trabajo multidisciplinario de cardiólogos con sus diferentes subespecialidades, cirujanos cardiovasculares, especialistas en imagen, genetistas clínicos, biólogos moleculares formados en NGS, genetistas especializados en el diagnóstico genómico para integrar el diagnóstico molecular genómico, pronóstico y tratamiento de los pacientes con enfermedades cardiovasculares. De esta forma, los familiares podrán ser asesorados sobre los riesgos reales de afectación de la enfermedad y deberán entrar en programas preventivos cardiológicos que permitan la detección temprana de la patología, la utilización de tratamientos preventivos que disminuyan la tasa de muerte súbita y que se acojan a opciones reproductivas con posibilidades de diagnóstico preimplantación o diagnóstico prenatal sobre estudios de informatividad bien dirigidos. De esta misma forma, los familiares que no están en riesgo de la enfermedad no requieren estudios de seguimiento, con el consiguiente ahorro de costes innecesarios para la salud pública¹⁷⁴.



Universitat d'Alicante **XI. CONCLUSIONES**
Universidad de Alicante

1. La secuenciación masiva ha demostrado ser una tecnología eficiente, fiable y con coste efectivo en el diagnóstico de enfermedades genéticas cardiovasculares de tipo heterogéneo.

2. El diseño de paneles de genes es un proceso muy activo que exige una constante actualización debido al incremento exponencial de publicaciones que certifican nuevos genes asociados a enfermedades genéticas heterogéneas. Para las enfermedades cardiovasculares, actualmente se conocen más de 200 genes. Sin embargo, cada nueva versión de un panel exige una nueva validación del diseño antes de ser utilizado en el diagnóstico, para certificar la calidad del nuevo diseño.

3. La sensibilidad de los paneles de secuenciación masiva es muy elevada ya que alcanza el 99% para SNPs y el 70.85% para Indels a una cobertura 20x. Esta sensibilidad está en concordancia con la limitación técnica de la secuenciación masiva con identificación de hasta 14 nucleótidos para deleciones y hasta 5 nucleótidos para duplicaciones. La especificidad fue del 90%, sin embargo, los paneles actuales alcanzan el 95%. Para evitar falsos positivos, todas las mutaciones y variantes de significado desconocido siempre son validadas por secuenciación Sanger.

4. En este grupo de 163 pacientes se ha logrado establecer el diagnóstico molecular de su patología en el 27.6% de casos frente al 15 a 22% de detección mediante estudios gen a gen por tecnología Sanger, dependiendo de la enfermedad en estudio. El 55% de mutaciones encontradas tuvieron un efecto truncante sobre la proteína y han permitido asesorar a las familias sobre datos moleculares.

5. La detección de dobles heterocigotos o heterocigotos compuestos en los diversos tipos de miocardiopatías se encuentra entre el 6 y 14% y se consideran como modificadores del fenotipo. Esta tasa de mutaciones se incrementará en el

futuro gracias a la secuenciación masiva y en la actualidad ya permite explicar la variabilidad fenotípica intra e interfamiliar de una misma enfermedad cardíaca genética.

6. La secuenciación masiva ha ayudado a establecer el diagnóstico cardiológico de diversos pacientes, al demostrar la presencia de mutaciones asociadas a patologías específicas, tales como mutaciones en genes de canalopatías en casos de miocardiopatías o mutaciones en genes estructurales cuya primera manifestación clínica fue un trastorno del ritmo.

7. Después del análisis de más de 4000 genes, se detectaron variantes de significado desconocido en el 47.8% de casos. Estas variantes fueron validadas por secuenciación Sanger, analizadas y clasificadas según los diferentes programas de predicción *in silico*. En el futuro, este gran número de variantes podrán ser clasificadas gracias al desarrollo de bases de datos, estudios funcionales y estudios poblacionales, por lo que la actualización de la información a los pacientes deberá ser un proceso activo y dinámico.

8. En el 18.4% de pacientes no se detectaron mutaciones, abriendo nuevas opciones de investigación y de diagnóstico como los estudios de exoma. Sin embargo hay que tomar en cuenta que el diseño de exoma a esta fecha, no cubre todas las regiones de *splicing* ni todos los exones que se abordan con paneles. La cobertura en exoma es menor, sin olvidar la presencia de incidentalomas y de información no deseada como no paternidades o enfermedades neurodegenerativas.

Por tanto, la secuenciación masiva ha abierto la ruta de un nuevo conocimiento de la genética y de su implicación en la fisiopatología de las enfermedades heterogéneas, de un nuevo modelo de medicina genómica para la que todos los médicos debemos estar preparados, sin olvidar los aspectos bioéticos que estos nuevos horizontes nos deparan.



Universitat d'Alacant
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
Universidad de Alicante

Referencias Bibliográficas

1. Aalberts JJ, van Tintelen JP, Meijboom LJ, Polko A, Jongbloed JD, van der Wal H, and et al. Relation between genotype and left-ventricular dilatation in patients with Marfan syndrome. *Gene*. 2014;534(1):40-3.
2. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies: this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Europace*. 2011; 13(8):1077-109.
3. Ackerman MJ. The long QT syndrome: ion channel diseases of the heart. *Mayo Clin Proc*. 1998; 73(3):250-69.
4. Ackerman MJ, Mohler PJ. Defining a new paradigm for human arrhythmia syndromes: phenotypic manifestations of gene mutations in ion channel- and transporter-associated proteins. *Circ Res*. 2010; 107(4):457-65.
5. Ackerman MJ, Marcou CA, Tester DJ. Personalized Medicine: Genetic Diagnosis for Inherited Cardiomyopathies/Channelopathies. *Rev Esp Cardiol*. 2013;66(4):298-307.
6. Agilent technologies. [Internet]. Disponible en: <https://earray.chem.agilent.com/earray/>. Acceso: Departamento de Bioinformática SG,
7. Albornoz G, Coady MA, Roberts M, Davies RR, Tranquilli M, Rizzo JA, Elefteriades JA. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections--incidence, modes of inheritance, and phenotypic patterns. *Ann Thorac Surg*. 2006; 82:1400–5.

8. Antzelevitch C, Brugada P, Borggrefe M, Brugada J, Brugada R, Corrado D, et al. Brugada syndrome: Report of the second consensus conference: Endorsed by the Heart Rhythm Society and the European Heart Rhythm Association. *Circulation* 2005; 111:659–670.
9. Antzelevitch C. Genetic, molecular and cellular mechanisms underlying the J wave syndromes. *Circ J.* 2012;76(5):1054-65
10. Applied Biosystems [Internet]. [Actualizado 2013; citado 16 septiembre 2013]. Disponible en: http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb_marketing/documents/
11. Applied Biosystems. [Internet]. [Acceso agosto 2010]. Disponible en: http://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/brochures/cms_074747.pdf
12. Arnestad M, Crotti L, Rognum TO, Insolia R, Pedrazzini M, Ferrandi C, et al. Prevalence of long-QT syndrome gene variants in sudden infant death syndrome. *Circulation.* 2007;115(3):361-7.
13. Awad MM, Calkins H, Judge DP. Mechanisms of disease: molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/ cardiomyopathy. *Nature Clinical Practice-Cardiovascular Medicine* 2008;5(5):258-267.
14. Bagnall RD, Ingles J, Semsarian C. Molecular diagnostics of cardiomyopathies: the future is here. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011; 4(2):103-4.
15. Barsheshet A, Goldenberg I, O-Uchi J, Moss AJ, Jons C, Shimizu W, et al. Mutations in cytoplasmic loops of the KCNQ1 channel and the risk of life-threatening events: implications for mutation-specific response to β -blocker therapy in type 1 long-QT syndrome. *Circulation.* 2012;125(16):1988-96

Referencias Bibliográficas

16. Bell J, et al. Practice guidelines for the Interpretation and Reporting of Unclassified Variants (UVs) in Clinical Molecular Genetics. Guidelines ratified by the UK Clinical Molecular Genetics Society (11th January, 2008) and the Dutch Society of Clinical Genetic Laboratory Specialists (Vereniging Klinisch Genetische Laboratoriumspecialisten; VKGL) (22nd October, 2007). <http://www.cmgs.org/>) and Dutch Society of Clinical Genetic Laboratory Specialists <http://www.nav-vkgn.nl>.
17. Bennett ST, Barnes C, Cox A, Davies L, Brown C. Toward the 1,000 dollars human genome. *Pharmacogenomics*. 2005;6(4):373-82
18. Berne P, Brugada J. Brugada syndrome 2012. *Circ J*. 2012;76(7):1563-71.
19. Best practice guidelines on reporting in molecular genetic diagnostic laboratories in Switzerland. Swiss Society of Medical Genetics. 2003.
20. Biggin A, Holman K, Brett M, Bennetts B, Adès L. Detection of thirty novel FBN1 mutations in patients with Marfan syndrome or a related fibrillinopathy. *Hum Mutat*. 2004;23(1):99-107.
21. Biobase Biological Database Professional. [Internet]. [Actualizado 2013: acceso octubre 2013]. Disponible en: <http://www.biobase-international.com/>
22. Booher AM, Isselbacher EM, Nienaber CA, Froehlich JB, Trimarchi S, Cooper JV, et al, International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD) Investigators. Ascending thoracic aorta dimension and outcomes in acute type B dissection (from the International Registry of Acute Aortic Dissection [IRAD]). *Am J Cardiol*. 2011;107(2):315-20.
23. Brenyo AJ, Huang DT, Aktas MK. Congenital long and short QT syndromes. *Cardiology*. 2012;122(4):237-47.

24. Buchanan CC, Torstenson ES, Bush WS, Ritchie MD. A comparison of cataloged variation between International HapMap Consortium and 1000 Genomes Project data. *J Am Med Inform Assoc.* 2012;19(2): 289-94.
25. Campens L, Renard M, Callewaert B, Coucke P, De Backer J, De Paepe A. New insights into the molecular diagnosis and management of heritable thoracic aortic aneurysms and dissections. *Pol Arch Med Wewn.* 2013;123(12):693-700
26. Campuzano O, Sarquella-Brugada G, Brugada R, Brugada P, Brugada J. Bases genéticas de las arritmias malignas y las miocardiopatías *Rev Esp Cardiol.* 2009;62(4):422-36
27. Campuzano O, Brugada R. Genetics of familial atrial fibrillation. *Europace.* 2009;11(10):1267-71
28. Cancer Genome Atlas. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 19 septiembre 2013]. Disponible en: <http://cancergenome.nih.gov/>
29. Chopra N, Knollmann B. Genetics of Sudden Cardiac Death Syndromes. *Curr Opin Cardiol.* 2011;26(3):196–203.
30. Chugh SS, Reinier K, Teodorescu C, Evanado A, Kehr E, Al Samara M, et al. Epidemiology of sudden cardiac death: clinical and research implications. *Prog.Cardiovasc.Dis.* 2008;51:213–228.
31. Comeglio P, Johnson P, Arno G, Brice G, Evans A, Aragon-Martin J, et al. The importance of mutation detection in Marfan syndrome and Marfan-related disorders: report of 193 FBN1 mutations. *Hum Mutat.* 2007;28(9):928-50

Referencias Bibliográficas

32. Coriell Institute. [Internet]. [acceso agosto 2010]. Disponible en: <http://ccr.coriell.org/Sections/Search/Search.aspx?PgId=165&q=NA12144>
33. Couch FJ, Rasmussen LJ, Hofstra R, Monteiro AN, Greenblatt MS, de Wind N IARC Unclassified Genetic Variants Working Group. Assessment of functional effects of unclassified genetic variants. *Hum Mutat.* 2008;29:1314–1326
34. Crotti L, Marcou CA, Tester DJ, Castelletti S, Giudicessi JR, Torchio M, et al. Spectrum and prevalence of mutations involving BrS1- through BrS12-susceptibility genes in a cohort of unrelated patients referred for Brugada syndrome genetic testing: implications for genetic testing. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(15):1410-8
35. 454 Sequencing Roche [Internet] Roche Diagnostics Corporation. [Actualizado agosto 2013; citado 16 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.454.com/>
36. Curila K, Benesova L, Penicka M, Minarik M, Zemanek D, Veselka J, et al. Spectrum and clinical manifestations of mutations in genes responsible for hypertrophic cardiomyopathy. *Acta Cardiol.* 2012;67(1):23-9
37. Dalal D, Molin LH, Piccini J, Tichnell C, James C, Bomma C, et al. Clinical features of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in plakophilin-2. *Circulation.* 2006;113(13):1641-9
38. Daneshvar DA, Kedia G, Fishbein MC, Siegel RJ. Familial restrictive cardiomyopathy with 12 affected family members. *Am J Cardiol.* 2012;109(3):445-7.
39. dbSNP Short Genetic Variations. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 19 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>

40. Delpón E, Cordeiro JM, Núñez L, Thomsen PE, Guerchicoff A, Pollevick GD, et al. Functional effects of KCNE3 mutation and its role in the development of Brugada syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2008;1(3):209-18.
41. den Hann AD, Tan BY, Zikusoka MN, Lladó LI, Jain R, Daly A, et al. Comprehensive desmosome mutation analysis in north americans with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2009;2(5):428-35
42. Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, Collod-Bérout G, Claustres M, Bérout C. Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(9)e67
43. Drera B, Zoppi N, Ritelli M, Tadini G, Venturini M, Wischmeijer A, et al. Diagnosis of vascular Ehlers-Danlos syndrome in Italy: clinical findings and novel COL3A1 mutations. *J Dermatol Sci.* 2011;64(3):237-40
44. Duthoit G, Fressart V, Hidden-Lucet F, Simon F, Kattygnarath D, Charron P, et al. Brugada ECG pattern: a physiopathological prospective Study based on clinical, electrophysiological, angiographic, and genetic findings. *Front Physiol.* 2012;3:474-90
45. Ehlermann P, Weichenhan D, Zehelein J, Steen H, Pribe R, Zeller R, et al. Adverse events in families with hypertrophic or dilated cardiomyopathy and mutations in the MYBPC3 gene. *BMC Medical Genetics* 2008, 9:95
46. Ellinor PT, Yi BA, MacRae CA. Genetics of atrial fibrillation. *Med Clin NorthAm.* 2008; 92(1):41-51.

47. Ensembl 59. [Internet]. [Actualizado Agosto 2010: acceso agosto 2010]. Disponible en: <http://www.ensembl.org/index.html>
48. EUROSTAT: European statistical system. European Commission [Internet]. Luxembourg; [citado 10 de abril 2013]. Disponible en: <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/health/introduction>.
49. EUROSTAT: European statistical system. European Commission [Internet]. Luxembourg; [citado 10 de abril 2013]. Causes of death in the EU28 in 2010: Circulatory diseases main cause of death for men and women aged 65 years and over. Disponible en: http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_PUBLIC/3-28112013-AP/EN/3-28112013-AP-EN.PDF
50. Faggioni M, Kryshchal DO, Knollmann BC. Calsequestrin mutations and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Pediatr Cardiol.* 2012; 33(6):959-67
51. Faivre L, Collod-Beroud G, Adès L, Arbustini E, Child A, Callewaert BL, et al. The new Ghent criteria for Marfan syndrome: what do they change? *Clin Genet.* 2012;81(5):433-42
52. Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, Child A, Binquet C, Gautier E, et al. Effect of Mutation Type and Location on Clinical Outcome in 1,013 Proband with Marfan Syndrome or Related Phenotypes and FBN1 Mutations: An International Study. *Am. J. Hum. Genet.* 2007;81(3):454-66
53. Fressart V, Duthoit G, Donal E, Probst V, Deharo JC, Chevalier P, et al. Desmosomal gene analysis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: spectrum of mutations and clinical impact in practice. *Europace.* 2010;12(6):861-8.

Referencias Bibliográficas

54. Frisso G, Limongelli G, Pacileo G, Del Giudice A, Forgione L, Calabrò P, et al. A child cohort study from southern Italy enlarges the genetic spectrum of hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Genet.* 2009;76(1):91-101
55. Gandjbakhch E, Vite A, Gary F, Fressart V, Donal E, Simon F, et al. Screening of genes encoding junctional candidates in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Europace.* 2013;15(10):1522-5.
56. Gargis A, Kalman L, Berry MW, Bick DP, Dimmock DP, Hambuch T, et al. Assuring the quality of next-generation sequencing in clinical laboratory practice. *Nature Biotechnology* 2012;30(11):1033-1036
57. García-Castro M, Coto E, Reguero JR, Berrazueta JR, Alvarez V, Alonso B, et al. Mutations in sarcomeric genes MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, and TPM1 in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62(1):48-56.
58. Genatlas Universite Paris Descartes. [Internet]. [Actualizado enero 2010: acceso agosto 2010]. Disponible en: <http://genatlas.medecine.univ-paris5.fr/>
59. GeneCards Human Gene Database. [Internet]. [Actualizado Agosto 2010: acceso agosto 2010]. Disponible en: <http://www.genecards.org/>
60. Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, Dearani JA, Fifer MA, Link MS, et al., American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; American Association for Thoracic Surgery; American Society of Echocardiography; American Society of Nuclear Cardiology; Heart Failure Society of America; Heart Rhythm Society; Society for Cardiovascular Angiography and Interventions; Society of Thoracic Surgeons. 2011 ACCF/AHA guideline for the diagnosis and

treatment of hypertrophic cardiomyopathy: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2011;13;124(24):2761-96.

61. Gillis J, Burashnikov E, Antzelevitch C, Blaser S, Gross G, Turner L, et al. Long QT, syndactyly, joint contractures, stroke and novel CACNA1C mutation: Expanding the spectrum of Timothy syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(1):182-7.
62. Girolami F, Olivotto I, Passerini I, Zachara E, Nistri S, Re F, et al. A molecular screening strategy based on beta-myosin heavy chain, cardiac myosin binding protein C and troponin T genes in Italian patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiovasc Med* 2006;7(8):601-7.
63. Glusman G, Caballero J, Mauldin DE, Hood L, Roach JC, et al. Kaviar: an accessible system for testing SNV novelty. *Bioinformatics*. 2011;27(22):3216–3217.
64. Godfrey M. Congenital Contractural Arachnodactyly. 2001 Jan 23 [updated 2012 Feb 23]. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP, editors. *GeneReviews™* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1386/>
65. Goldenberg I, Zareba W, Moss AJ: Long QT syndrome. *Curr Probl Cardiol*. 2008;33(11):629-94
66. Gollob MH, Redpath CJ, Roberts JD. The short QT syndrome: proposed diagnostic criteria. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(7):802-12

67. Gowd BM, Thompson PD. Effect of female sex on cardiac arrhythmias. *Cardiol Rev.* 2012;20(6):297-303
68. Green R, Berg J, Grody W, Kalia S, Korf B, Martin C, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med* 2013;15(7):565–574.
69. Gullapalli RR, Desai KV, Santana-Santos L, Kant JA, Becich MJ. Next generation sequencing in clinical medicine: Challenges and lessons for pathology and biomedical informatics. *J Pathol Inform.* 2012;3:40.
70. Guo W, Schafer S, Greaser ML, Radke MH, Liss M, Govindarajan T, et al. RBM20, a gene for hereditary cardiomyopathy, regulates titin splicing. *Nat Med.* 2012;18(5): 766–73
71. Handel AE, Disanto G, Ramagopalan SV. Next-generation sequencing in understanding complex neurological disease. *Expert Rev Neurother.* 2013;13(2):215-27.
72. Haruna Y, Kobori A, Makiyama T, Yoshida H, Akao M, Doi T, et al. Genotype-phenotype correlations of KCNJ2 mutations in Japanese patients with Andersen-Tawil syndrome. *Hum Mutat.* 2007;28(2):208-21
73. Hedberg C, Melberg A, Kuhl A, Jenne D, Oldfors A. Autosomal dominant myofibrillar myopathy with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy 7 is caused by a DES mutation. *Eur J Hum Genet.* 2012;20(9):984-5
74. Hernan I, Borràs E, de Sousa Dias M, Gamundi MJ, Mañé B, Llorca G, et al. Detection of genomic variations in BRCA1 and BRCA2 genes by long-range PCR and next-generation sequencing. *J Mol Diagn.* 2012;14(3):286-93.

75. Herman DS, Lam L, Taylor MR, Wang L, Teekakirikul P, Christodoulou D, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2012;366(7):619-28
76. Hershberger RE, Siegfried JD. Update 2011: clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(16):1641-9.
77. Hershberger RE, Morales A, Siegfried JD. Clinical and genetic issues in dilated cardiomyopathy: a review for genetics professionals. *Genet Med.* 2010;12(11):655-67
78. Hershberger RE, Morales A. LMNA-Related Dilated Cardiomyopathy. 2008 Jun 12 [Updated 2013 Sep 19]. In: Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2014. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1674/>
79. Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman JA, Bersin RM, Carr VF, Casey DE Jr, et al. American College of Cardiology Foundation; ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease: executive summary. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2010;76(2):E43-86.

Referencias Bibliográficas

80. Hodgson-Zingman DM, Karst ML, Zingman LV, Heublein DM, Darbar D, Herron KJ, et al. Atrial natriuretic peptide frameshift mutation in familial atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2008;359(2):158-65
81. Hoedemaekers YM, Caliskan K, Michels M, Frohn-Mulder I, van der Smagt JJ, Phefferkorn JE, et al. The importance of genetic counseling, DNA diagnostics, and cardiologic family screening in left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2010;3(3):232-9
82. Hong H, Zhang W, Shen J, Su Z, Ning B, et al. Critical role of bioinformatics in translating huge amounts of next-generation sequencing data into personalized medicine. *Sci China Life Sci.* 2013;56(2):110-8.
83. Hosaka Y, Hanawa H, Washizuka T, Chinushi M, Yamashita F, Yoshida T, et al. Function, subcellular localization and assembly of a novel mutation of KCNJ2 in Andersen's syndrome. *J Mol Cell Cardiol.* 2003; 35(4):409-15.
84. HUGO Gene Nomenclature Committee. [Internet]. [Actualizado 2010: acceso agosto 2010]. Disponible en: <http://www.genenames.org/>
85. Human Gene Mutation Database. Biobase Biological Database Professional. [Internet]. [Actualizado abril 2010: acceso agosto 2010]. Disponible en: <https://portal.biobase-international.com/cgi-bin/portal/login>.
86. Igual B, Zorio E, Maceira A, Estornell J, Lopez-Lereu MP, Monmeneu JV, et al. Resonancia magnética cardiaca en miocardiopatía arritmogénica. Tipos de afección y patrones de realce tardío de gadolinio. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64(12):1114–1122

Referencias Bibliográficas

87. Illumina [Internet]. [Actualizado 2013; citado 16 septiembre 2013]. Disponible en: [http://www.illumina.com/technology/sequencing-technology.ilmn](http://www.illumina.com/technology/sequencing-technology/ilmn)
88. INE: Instituto Nacional de Estadísticas [Internet]. Madrid: INE; [citado 6 de abril 2013] Nota de prensa Tasa de mortalidad INE. Disponible en: <http://www.ine.es/prensa/np767.pdf>
89. Interactive Biosoftware: Alamut. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 23 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.interactive-biosoftware.com/software/alamut/features/v-22>.
90. International Agency for Research on Cancer WHO. . [Internet]. [Actualizado 2013: citado 23 septiembre 2013]. Disponible en <http://agvvd.iarc.fr/>
91. International Cancer Genome Project. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 18 septiembre 2013]. Disponible en: <http://icgc.org/>
92. International HapMap Project [Internet]. [Actualizado 2013; citado 18 septiembre 2013]. Disponible en: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>
93. International HapMap 3 Consortium, Altshuler DM, Gibbs RA, Peltonen L, Altshuler DM, Gibbs RA, et al. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature*. 2010;467(7311):52-8.
94. International HapMap Consortium. A Haplotype Map of the Human Genome. *Nature*. 2005;437(7063):1299-320.
95. International HapMap Consortium, Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, Hinds DA, Stuve LL, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature*. 2007; 449(7164):851-61.

Referencias Bibliográficas

96. International HapMap Project. [Internet]. [acceso agosto 2010]. Disponible en: http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/downloads/genotypes/2010-08_phaseII+IIIinconsistencies/23_snps_multi_pos.txt
97. Jacoby D, McKenna WJ. Genetics of inherited cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2012 Feb; 33(3):296-304.
98. Jondeau G, Boileau C. Genetics of thoracic aortic aneurysms. *Curr Atheroscler Rep*. 2012;14(3):219-26
99. Judge DP, Rouf R, Habashi J, Dietz HC. Mitral valve disease in Marfan syndrome and related disorders. *J Cardiovasc Transl Res*. 2011;4(6):741-7
100. Kabaeva Z, Perrot A, Pilz B, Schulz-Menger J, Mohr FW, Dietz R, Osterziel KJ. Returning hypertrophy after surgery in a patient with hypertrophic cardiomyopathy caused by a myosin-binding protein C mutation. *Int J Cardiol*. 2005;100(2):343-5.
101. Kapplinger JD, Tester DJ, Alders M, Benito B, Berthet M, Brugada J, et al. An international compendium of mutations in the SCN5A-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing. *Heart Rhythm*. 2010;7(1):33-46
102. Kaufman ES. Genetic testing in Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(15): 1419-20
103. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, et al. Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J*. 2013;77(7):1705-13

Referencias Bibliográficas

104. Kimura H, Zhou J, Kawamura M, Itoh H, Mizusawa Y, Ding WG, et al. Phenotype variability in patients carrying KCNJ2 mutations. *Circ Cardiovasc Genet.* 2012;5(3):344-53
105. Kimura A. Molecular basis of hereditary cardiomyopathy: abnormalities in calcium sensitivity, stretch response, stress response and beyond. *J Hum Genet.* 2010;55(2):81-90.
106. Kramer DB, Zimetbaum PJ. Long-QT syndrome. *Cardiol Rev.* 2011; 19(5):217-25
107. Lindsay ME, Schepers D, Bolar NA, Doyle JJ, Gallo E, Fert-Bober J, et al. Loss-of-function mutations in TGFB2 causes a syndromic presentation of thoracic aortic aneurysm. *Nat Genet.* 2012;44(8):922-7
108. Liu JF, Jons C, Moss AJ, McNitt S, Peterson DR, Qi M, et al. International Long QT Syndrome Registry. Risk Factors for Recurrent Syncope and Subsequent Fatal or Near-Fatal Events in Children and Adolescents With Long QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(8):941-50.
109. Liu JF, Moss AJ, Jons C, Benhorin J, Schwartz PJ, Spazzolini C, et al. Mutation specific risk in two genetic forms of type 3 long QT syndrome. *Am J Cardiol.* 2010; 105(2):210-3.
110. Lopes LR, Zekavati A, Syrris P, Hubank M, Giambartolomei C, Dalageorgou C, et al. Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *J Med Genet* 2013;50(4):228-39
111. Lubitz S, Benjamin E, Ruskin J, Fuster V, Ellinor P. Challenges in the classification of atrial fibrillation. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7(8):451–460.

112. Luedde M, Ehlermann P, Weichenhan D, Will R, Zeller R, Rupp S, et al. Severe familial left ventricular non-compaction cardiomyopathy due to a novel troponin T (TNNT2) mutation. *Cardiovasc Res.* 2010;86(3):452-60.
113. Maceira AM, Prasad SK, Khan M, Pennell DJ. Reference right ventricular systolic and diastolic function normalized to age, gender and body surface area from steady-state free precession cardiovascular magnetic resonance. *Eur Heart J.* 2006; 27(23):2879-88.
114. Maiolino G, Colonna S, Zanchetta M, Pedon L, Seccia TM, Cesari M, et al. Exon 11 deletion in the myocyte enhancer factor 2A (MEF)2A and early onset coronary artery disease gene in a Sicilian family. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2011;18(4):557-560
115. Marcus FI, Edson S, Towbin JA. Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a practical guide for physicians. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61(19):1945-8
116. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults: echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation.* 1995; 92:785–9.
117. Márquez MF. Long QT syndrome: a brief review of the electrocardiographical diagnosis including Viskin's test. *Arch Cardiol Mex.* 2012;82(3):243-7
118. Meaburn E, Schulz R. Next generation sequencing in epigenetics: insights and challenges. *Semin Cell Dev Biol.* 2012;23(2):192-9
119. Meder B, Haas J, Keller A, Heid C, Just S, Borries A, et al. Targeted next-generation sequencing for the molecular genetic diagnostics of cardiomyopathies. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011; 4(2):110-22.

Referencias Bibliográficas

120. Mestroni L, Taylor MR. Genetics and genetic testing of dilated cardiomyopathy: a new perspective. *Discov Med.* 2013; 15(80):43-9.
121. Metzker ML. Sequencing technologies-the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010;11(1):31-46.
122. Milewicz DM, Carlson AA, Regalado ES. Genetic testing in aortic aneurysm disease: PRO. *Cardiol Clin.* 2010;28(2):191-7
123. Milewicz DM, Regalado E. Thoracic Aortic Aneurysms and Aortic Dissections. 2003 Feb 13 [Updated 2012 Jan 12]. In: Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1120/>
124. Millat G, Bouvagnet P, Chevalier P, Dauphin C, Jouk PS, Da Costa A, et al. Prevalence and spectrum of mutations in a cohort of 192 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Med Genet.* 2010;53(5):261-7.
125. Mills JD, Janitz M. Alternative splicing of mRNA in the molecular pathology of neurodegenerative diseases. *Neurobiol Aging.* 2012;33(5):1012.e11-24.
126. 1000 genomes. A Deep Catalog of Human Genetic Variation. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 18 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.1000genomes.org/>
127. Mogensen J, Arbustini E. Restrictive cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol.* 2009;24(3): 214-20.
128. Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, Dilly KW, Guatimosim S, duBell WH, et al. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature.* 2003; 421(6923):634-9.

129. Møller DV, Pham TT, Gustafsson F, Hedley P, Ersbøll MK, Bundgaard H, et al. The role of Lamin A/C mutations in Danish patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2009; 11(11):1031-5.
130. Monteforte N, Napolitano C, Priori S. Genética y arritmias: aplicaciones diagnósticas y pronósticas. *Rev Esp Cardiol.* 2012;65(3):278–286
131. Moore JR, Leinwand L, Warshaw DM. Understanding cardiomyopathy phenotypes based on the functional impact of mutations in the Myosin motor. *Circ Res.* 2012;111(3):375-85.
132. Morimoto S. Sarcomeric proteins and inherited cardiomyopathies. *Cardiovasc Res.* 2008;77(4):659-66
133. Murray B. Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy (ARVD/C): A Review of Molecular and Clinical Literature. *J Genet Couns.* 2012;21(4):494-504
134. Mutz KO, Heilkenbrinker A, Lönne M, Walter JG, Stahl F. Transcriptome analysis using next-generation sequencing. *Curr Opin Biotechnol.* 2013;24(1):22-30
135. Myerburg RJ. Scientific gaps in the prediction and prevention of sudden cardiac death. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2002;13(7):709–723.
136. Nanni L, Pieroni M, Chimenti C, Simionati B, Zimbello R, Maseri A, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: two homozygous cases with 'typical' hypertrophic cardiomyopathy and three new mutations in cases with progression to dilated cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;309(2):391-8.
137. Napolitano C, Bloise R, Monteforte N, Priori SG. Sudden cardiac death and genetic ion channelopathies: long QT, Brugada, short QT,

Referencias Bibliográficas

- catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, and idiopathic ventricular fibrillation. *Circulation*. 2012; 125(16):2027-34
138. National Center for Biotechnology Information: Online Mendelian Inheritance in Man. [Internet]. [Actualizado agosto 2013: acceso agosto 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
139. National Center for Biotechnology Information: GeneReviews. [Internet]. [Actualizado 2013: acceso agosto 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>
140. National Center for Biotechnology Information: PubMed. [Internet]. [Actualizado 2013: acceso agosto 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
141. National Center for Biotechnology Information: Gene. [Internet]. [Actualizado 2010: acceso agosto 2010]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
142. National Human Genome Research Institute. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 19 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.genome.gov/10005107>
143. Nepomnyashchaya YN, Artemov AV, Roumiantsev SA, Roumyantsev AG, Zhavoronkov A. Non-invasive prenatal diagnostics of aneuploidy using next-generation DNA sequencing technologies, and clinical considerations. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(6):1141-54
144. Neuman JA, Isakov O, Shomron N. Analysis of insertion-deletion from deep-sequencing data: software evaluation for optimal detection. *Brief Bioinform*. 2013 Jan;14(1):46-55.
145. Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S, Watkins H, Chudley AE, McKenna W, et al. Mutations in the gene for cardiac myosin-binding

- protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 1998;338(18):1248-57
146. Norton N, Li D, Rampersaud E, Morales A, Martin ER, Zuchner S, et al. Exome Sequencing and Genome-Wide Linkage Analysis in 17 Families Illustrate the Complex Contribution of TTN Truncating Variants to Dilated Cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013;6(2):144-53.
147. Oechslin E, Jenni R. Left ventricular non-compaction revisited: a distinct phenotype with genetic heterogeneity? *European Heart Journal* 2011;32:1446–1456.
148. Ohno S, Toyoda F, Zankov DP, Yoshida H, Makiyama T, Tsuji K, et al. Novel KCNE3 mutation reduces repolarizing potassium current and associated with long QT syndrome. *Hum Mutat.* 2009;30(4):557-63.
149. Olivotto I, Girolami F, Ackerman MJ, Nistri S, Bos JM, Zachara E, et al. Myofilament protein gene mutation screening and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc.* 2008;83(6):630-8.
150. OMIM [Internet]. Baltimore, Maryland: OMIM [actualizado 8 agosto 2013; citado 10 agosto 2013]- Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/mimstats.html>
151. OMS: Organización Mundial de la Salud [Internet]. Ginebra: OMS; [citado 6 abril 2013]. Centro de prensa. Enfermedades Cardiovasculares. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/index.html>
152. Otsuka H, Arimura T, Abe T, Kawai H, Aizawa Y, Kubo T, et al. Prevalence and distribution of sarcomeric gene mutations in Japanese patients with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ J.* 2012;76(2):453-61.

153. Oxford Nanopore technologies [Internet]. [Actualizado 2013; citado 16 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.nanoporetech.com/>
154. Pacific Biosciences [Internet]. [Actualizado 2013; citado 16 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.pacificbiosciences.com/products/smrt-technology/smrt-sequencing-advantage/>
155. Page S, Kounas S, Syrris P, Christiansen M, Frank-Hansen R, McKenna W, et al. Cardiac Myosin Binding Protein-C Mutations in Families with Hypertrophic Cardiomyopathy Disease Expression in Relation to Age, Gender, and Long Term Outcome *Circ Cardiovasc Genet.* 2012;5(2):156-66
156. Parvari R, Levitas A. The Mutations Associated with Dilated Cardiomyopathy. *Biochem Res Int.*2012;2012:639250
157. Paterick T, Tajik J. Left Ventricular Noncompaction: A Diagnostically Challenging Cardiomyopathy. *Circ J* 2012;76:1556–1562
158. Paterick TE, Gerber TC, Pradhan SR, Lindor NM, Tajik AJ. Left ventricular noncompaction cardiomyopathy: what do we know? *Rev Cardiovasc Med.* 2010 Spring;11(2):92-9.
159. Pérez-Cabornero L, Infante M, Velasco E, Lastra E, Miner C, Durán M. Evaluating the effect of unclassified variants identified in MMR genes using phenotypic features, bioinformatics prediction, and RNA assays. *J Mol Diagn.* 2013;15(3):380-90
160. Polyphen: in Interactive Biosoftware: Alamut. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 23 septiembre 2013]. Disponible en: <http://www.interactive-biosoftware.com/software/alamut/features/v-22>.

161. Pomianowski P, Elefteriades JA. The genetics and genomics of thoracic aortic disease. *Ann Cardiothorac Surg* 2013;2(3):271-79
162. Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, Bloise R, Ronchetti E, Grillo M, et al: Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348:1866–1874.
163. Quarta G, Muir A, Pantazis A, Syrris P, Gehmlich K, McKenna WJ, et al. Familial evaluation in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: impact of genetics and revised task force criteria. *Circulation*. 2011;123(23):2701-9
164. Rabbani B, Mahdih N, Hosomichi K, Nakaoka H, Inoue I. Next-generation sequencing: impact of exome sequencing in characterizing Mendelian disorders. *J Hum Genet*. 2012;57(10):621-32
165. Raju H, Behr ER. Unexplained sudden death, focussing on genetics and family phenotyping. *Curr Opin Cardiol*. 2013;28(1):19-25.
166. Rand-Hendriksen S, Tjeldhorn L, Lundby R, Semb SO, Offstad J, Andersen K, et al. Search for correlations between FBN1 genotype and complete Ghent phenotype in 44 unrelated Norwegian patients with Marfan syndrome. *Am J Med Genet A*. 2007.143A (17):1968-77.
167. Rapezzi C, Arbustini E, Caforio AL, Charron P, Gimeno-Blanes J, Elliott P, et al. Diagnostic work-up in cardiomyopathies: bridging the gap between clinical phenotypes and final diagnosis. A position statement from the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2013;34(19):1448-58
168. Refaat MM, Lubitz SA, Makino S, Islam Z, Frangiskakis JM, Mehdi H, et al. Genetic variation in the alternative splicing regulator RBM20 is associated with dilated cardiomyopathy. *Heart Rhythm*. 2011;9(3):390-6.

169. Rehm H, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, et al.; Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med*. 2013;15(9):733-47
170. Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C, et al. EUROGENE Heart Failure Project. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation* 2003;107(17):2227-32.
171. Roberts JD, Gollob M. The genetic and clinical features of cardiac channelopathies. *Future Cardiol*. 2010;6(4):491-506.
172. Rodriguez G, Czernuszewicz G, Tan Y, Kleiman N, Torre-Amione G, Willerson JT, et al. Phenotypic Plasticity of LMNA Mutations in Cardiovascular System Includes Isolated Cardiac Progeria, Dilated and Hypertrophic Cardiomyopathies, Atrial Fibrillation, Conduction Defects and Degenerative Valvular Diseases. *Circulation* 2008. 118:S_883-S_884
173. Ruberg FL, Judge DP, Maurer MS. Familial amyloid cardiomyopathy due to TTR mutations: an underdiagnosed cause of restrictive cardiomyopathy. *J Card Fail*. 2009;15(5):464.
174. Sabater-Molina M, García-Molina E, Tovar I, Ruiz-Espejo F, Gimeno JR, Valdés M. Cost-effectiveness of genetic studies in inherited heart diseases. *Cardiogenetics* [Internet]. 2013 [citado 6 Agosto 2013];3:e5:28-30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4081/cardiogenetics.2013.e5>
175. Sáenz CC, Tello de Meneses R, Delgado Jiménez J, Gómez Pajuelo C, Gómez Sánchez MA, González Cocina E. Historia natural de la miocardiopatía hipertrófica. *Rev Esp Cardiol* 1996; 49: 214-25.

176. Saffitz JE. Arrhythmogenic cardiomyopathy: advances in diagnosis and disease pathogenesis. *Circulation*. 2011;124 (15):e390-2
177. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74(12):5463-7.
178. Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1975;94(3):441-8.
179. Sanger F. Determination of nucleotide sequences in DNA. *Science*. 1981;214(4526): 1205-10.
180. Seebohm G, Strutz-Seebohm N, Ursu ON, Preisig-Müller R, Zuzarte M, Hill EV, et al. Altered stress stimulation of inward rectifier potassium channels in Andersen-Tawil syndrome. *FASEB J*. 2012;26(2):513-22
181. Sen-Chowdhry S, McKenna W.J. Sudden cardiac death in the young: a strategy for prevention by targeted evaluation. *Cardiology*.2006; 105:196–206.
182. SIFT J. Craig Venter Institute. [Internet]. [Actualizado 2013: citado 23 septiembre 2013]. Disponible en: <http://sift.jcvi.org/>
183. Sikkema-Raddatz B, Johansson LF, de Boer EN, Almomani R, Boven LG, van den Berg MP, et al. Targeted Next-Generation Sequencing can Replace Sanger Sequencing in Clinical Diagnostics. *Hum Mutat*. 2013;34(7):1035-42.

Referencias Bibliográficas

184. Singh P, Foley SL, Nayak R, Kwon YM. Massively parallel sequencing of enriched target amplicons for high-resolution genotyping of Salmonella serovars. *Mol Cell Probes*. 2013 Apr;27(2):80-5
185. Singh R, Smith E, Fathzadeh M, Liu W, Go GW, Subrahmanyam L, et al. Rare nonconservative LRP6 mutations are associated with metabolic syndrome. *Hum Mutat*. 2013;34(9):1221-5
186. Solomon SD, Geisterfer-Lowrance AA, Vosberg HP, Hiller G, Jarcho JA, McKenna WJ, et al. A locus for familial hypertrophic cardiomyopathy is closely linked to the cardiac myosin heavy chain genes, CRI-L436, and CRI-L329 on chromosome 14 at q11-q12. *Am J Hum Genet*. 1990;47(3):389-94
187. Song L, Zou Y, Wang J, Wang Z, Zhen Y, Lou K, et al. Mutations profile in Chinese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Chim Acta*. 2005;351(1-2):209-16.
188. Steinberger J, Lucas RV, Edwards JE, Titus JL. Causes of sudden unexpected cardiac death in the first two decades of life. *Am J Cardiol*. 1996;77:992-5.
189. Su Z, Ning B, Fang H, Hong H, Perkins R, Tong W, Shi L. Next-generation sequencing and its applications in molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2011; 11:333-343.
190. Taylor M, Graw S, Sinagra G, Barnes C, Slavov D, Brun F, et al. Genetic variation in titin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy-overlap syndromes. *Circulation*. 2011;124(8):876-85

Referencias Bibliográficas

191. Tawil R, Venance SL. Andersen-Tawil Syndrome. 2004 Nov 22 [updated 2010 May 13]. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP, editors. GeneReviews™ [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1264/>
192. Teekakirikul P, Kelly MA, Rehm HL, Lakdawala NK, Funke BH. Inherited cardiomyopathies: molecular genetics and clinical genetic testing in the postgenomic era. *J Mol Diagn.* 2013;15(2):158-70
193. Templin C, Ghadri JR, Rougier JS, Baumer A, Kaplan V, Albesa M, et al. Identification of a novel loss-of-function calcium channel gene mutation in short QT syndrome (SQTS6). *Eur Heart J.* 2011;32(9):1077-88.
194. Tester DJ, Ackerman MJ. Genetic testing for potentially lethal, highly treatable inherited cardiomyopathies/channelopathies in clinical practice. *Circulation* 2011;123:1021-1037
195. Tester DJ, Ackerman MJ. The molecular autopsy: should the evaluation continue after the funeral? *Pediatr Cardiol.* 2012;33(3):461-70.
196. Tranebjaerg L, Samson RA, Green GE. Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. 2002 Jul 29 [Updated 2012 Oct 4]. In: Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1405/>
197. Treacy R. et al. Draft Best Practice Guidelines for Reporting Molecular Genetics results. Clinical Pathology Accreditation (UK) Ltd: Standards for the Medical Laboratory v2.02. Nov 2010.

Referencias Bibliográficas

198. UniProt. [Internet]. [Actualizado Agosto 2010: acceso agosto 2010]. Disponible en: <http://www.uniprot.org/>
199. Vanakker OM, De Paepe A. Pharmacogenomics in children: advantages and challenges of next generation sequencing applications. *Int J Pediatr.* 2013;2013:136524.
200. Van Bon BW, Gilissen C, Grange DK, Hennekam RC, Kayserili H, Engels H, et al. Cantú syndrome is caused by mutations in ABCC9. *Am J Hum Genet.* 2012;90(6):1094-101
201. Vandrovцова J, Thomas ER, Atanur SS, Norsworthy PJ, Neuwirth C, Tan Y, et al. The use of next-generation sequencing in clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Genet Med.* 2013;15(12):948-57
202. van de Laar IM, van der Linde D, Oei EH, Bos PK, Bessems JH, Bierma-Zeinstra SM, et al. Phenotypic spectrum of the SMAD3-related aneurysms-osteoarthritis syndrome. *J Med Genet.* 2012; 49(1):47-57.
203. van den Wijngaard A, Volders P, Van Tintelen JP, Jongbloed JD, van den Berg MP, Lekanne Deprez RH, et al. Recurrent and founder mutations in the Netherlands: cardiac Troponin I (TNNI3) gene mutations as a cause of severe forms of hypertrophic and restrictive cardiomyopathy. *Neth Heart J.* 2011;19(7-8):344-51.
204. van der Zwaag PA, Jongbloed JD, van den Berg MP, van der Smagt JJ, Jongbloed R, Bikker H, et al. A genetic variants database for arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Hum Mutat.* 2009;30(9):1278-83.

Referencias Bibliográficas

205. Van Driest SL, Vasile VC, Ommen SR, Will ML, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(9):1903-10
206. Van Driest SL, Jaeger MA, Ommen SR, Will ML, Gersh BJ, Tajik AJ, Ackerman MJ. Comprehensive analysis of the beta-myosin heavy chain gene in 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(3):602-10
207. Van Hemelrijk C, Renard M, Loeys B. The Loeys-Dietz syndrome: an update for the clinician. *Curr Opin Cardiol.* 2010;25(6):546-51
208. Van Langen IM, Birnie E, Alders M, Jongbloed RJ, Le Marec H, Wilde AA. The use of genotype-phenotype correlations in mutation analysis for the long QT syndrome. *J Med Genet.* 2003;40(2):141-5
209. Varnava AM, Elliott PM, Baboonian C, Davison F, Davies MJ, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: histopathological features of sudden death in cardiac troponin T disease. *Circulation.* 2001;104(12):1380-4.
210. Vasile VC, Ommen SR, Edwards WD, Ackerman MJ. A missense mutation in a ubiquitously expressed protein, vinculin, confers susceptibility to hypertrophic cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 345(3):998-1003
211. Vatta M, Mohapatra B, Jimenez S, Sanchez X, Faulkner G, Perles Z, et al. Mutations in Cypher/ZASP in patients with dilated cardiomyopathy and left ventricular non-compaction. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42(11):2014-27.

212. Veerakul G, Nademanee K. Brugada syndrome. *Circ J*. 2012; 76(12):2713-22.
213. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291(5507):1304-51. Erratum in: *Science* 2001; 292(5523): 1838.
214. Vite A, Gandjbakhch E, Prost C, Fressart V, Fouret P, Neyroud N, et al. Desmosomal Cadherins Are Decreased in Explanted Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy Patient Hearts. *PLoS One*. 2013; 8(9):e75082
215. Ware J, Roberts AM, Cook SA. Next generation sequencing for clinical diagnostics and personalised medicine: implications for the next generation cardiologist. *Heart*. 2012;98(4):276-81
216. Ware J, John S, Roberts AM, Buchan R, Gong S, Peters NS, et al. Next Generation Diagnostics in Inherited Arrhythmia Syndromes. A Comparison of Two Approaches. *J Cardiovasc Transl Res*. 2013;6(1):94-103
217. Watanabe H, Darbar D, Kaiser DW, Jiramongkolchai K, Chopra S, Donahue BS, et al. Mutations in sodium channel beta1- and beta2-subunits associated with atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2009;2(3):268-75
218. Watkins H, Ashrafian H, Redwood C. Inherited cardiomyopathies. *N Engl J Med*. 2011;364(17):1643-56.
219. Wei X, Dai Y, Yu P, Qu N, Lan Z, Hong X, et al. Targeted next-generation sequencing as a comprehensive test for patients with and female carriers

- of DMD/BMD: a multi-population diagnostic study. *Eur J Hum Genet.* 2014; 22(1):110-8
220. Wieczorek DF, Jagatheesan G, Rajan S. The role of tropomyosin in heart disease. *Adv Exp Med Biol.* 2008;644:132-42
221. Wood AR, Perry JR, Tanaka T, Hernandez DG, Zheng HF, Melzer D, et al. Imputation of Variants from the 1000 Genomes Project Modestly Improves Known Associations and Can Identify Low-frequency Variant–Phenotype Associations Undetected by HapMap Based Imputation. *PLoS One.* 2013; 8(5): e64343
222. Xi Y, Ai T, De Lange E, Li Z, Wu G, Brunelli L, et al. Loss of function of hNav1.5 by a ZASP1 mutation associated with intraventricular conduction disturbances in left ventricular noncompaction. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5(5):1017-26.
223. Xu Q, Dewey S, Nguyen S, Gomes AV. Malignant and benign mutations in familial cardiomyopathies: insights into mutations linked to complex cardiovascular phenotypes. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;48(5):899-909
224. Yang Y, Liu X, Zhang XL, Wang XH, Tan HW, Shi HF, et al. Novel connexin40 missense mutations in patients with familial atrial fibrillation. *Europace.* 2010;12(10):1421-7
225. Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, et al. Clinical Whole-Exome Sequencing for the Diagnosis of Mendelian Disorders. *N Engl J Med* 2013; 369(16):1502-11

Referencias Bibliográficas

226. Zhang T, Moss A, Cong P, Pan M, Chang B, Zheng L, et al, Long QT International Registry Investigators; HVP-China Investigators, Qi M. SQT1 gene LOVD database. Hum Mutat. 2010;31(11):E1801-10
227. Zhang X, Chen S, Yoo S, Chakrabarti S, Zhang T, Ke T, et al. Mutation in nuclear pore component NUP155 leads to atrial fibrillation and early sudden cardiac death. Cell 2008;135(6):1017-27
228. Zhang W, Dolan ME. Impact of the 1000 genomes project on the next wave of pharmacogenomic discovery. Pharmacogenomics. 2010;11(2):249-56



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant **XIII. ANEXOS**
Universidad de Alicante

ANEXO I

ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS Y GENES ASOCIADOS

Tabla 1.a. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
14q11.2	Miocardopatía Hipertrófica 1	192600	<i>MYH7</i>	160760	AD	40
1q32.1	Miocardopatía Hipertrófica 2	115195	<i>TNNT2</i>	191045	AD	5
15q22.2	Miocardopatía Hipertrófica 3	115196	<i>TPM1</i>	191010	AD	2
11p11.2	Miocardopatía Hipertrófica 4	115197	<i>MYBPC3</i>	600958	AD	40
7q36.1	Miocardopatía Hipertrófica 6	600858	<i>PRKAG2</i>	602743	AD	<1
19q13.42	Miocardopatía Hipertrófica 7	613690	<i>TNNI3</i>	191044	AD	5
3p21.31	Miocardopatía Hipertrófica 8	608751	<i>MYL3</i>	160790	AD	1
2q31.2	Miocardopatía Hipertrófica 9	613765	<i>TTN</i>	188840	AD	desconocida
12q24.11	Miocardopatía Hipertrófica 10	608758	<i>MYL2</i>	160781	AD	desconocida
15q14	Miocardopatía Hipertrófica 11	612098	<i>ACTC1</i>	102540	AD	desconocida
11p15.1	Miocardopatía Hipertrófica 12	612124	<i>CSRP3</i>	600824	AD	desconocida
3p21.1	Miocardopatía Hipertrófica 13	613243	<i>TNNC1</i>	191040	AD	rara
14q11.2	Miocardopatía Hipertrófica 14	613251	<i>MYH6</i>	160710	AD	desconocida
10q22.2	Miocardopatía Hipertrófica 15	613255	<i>VCL</i>	193065	AD	rara
4q26	Miocardopatía Hipertrófica 16	613838	<i>MYOZ2</i>	605602	AD	<1
20q13.12	Miocardopatía Hipertrófica 17	613873	<i>JPH2</i>	605267	AD	rara
6q22.31	Miocardopatía Hipertrófica 18	613874	<i>PLN</i>	172405	AD	rara
19p13.11	Miocardopatía Hipertrófica 19	613875	<i>CALR3</i>	611414	AD	rara
1p31.1	Miocardopatía Hipertrófica 20	613876	<i>NEXN</i>	613121	AD	desconocida
20q11.21	Miocardopatía Hipertrófica de tabique ventricular	192600	<i>MYLK2</i>	606566	AD	rara
3p25.3	Miocardopatía Hipertrófica	192600	<i>CAV3</i>	601253	AD	rara
4q35.1	Miocardopatía Hipertrófica	192600	<i>SLC25A4</i>	103220	AD	desconocida
10q21.3	Miocardopatía Hipertrófica 22	615248	<i>MYPN</i>	608517	AD	
1q42-q43	PubMed		<i>ACTN2</i>	102573	AD	rara
17q12	PubMed		<i>TCAP</i>	604488	AD	desconocida
4q25-26	PubMed		<i>ANK2</i>	106410		desconocida
10q22.1-q23	PubMed		<i>ANKRD1</i>	609599		desconocida
4q35.1	PubMed		<i>PDLIM3</i>	605889		desconocida
8q24.3	PubMed		<i>PLEC</i>	601282		desconocida
1p21.2	E. Glucógeno IIIA y IIIB	232400	<i>AGL</i>	610860	AR	desconocida
9q21.11	Ataxia Freidreich	229300	<i>FXN</i>	606829	AR	desconocida
17q25.3	Enfermedad de Pompe	232300	<i>GAA</i>	606800	AR	desconocida
18q21.1	Amiloidosis	105210	<i>TTR</i>	176300	AD	desconocida
9q33.2	Amiloidosis tipo finlandés	105120	<i>GSN</i>	137350	AD	desconocida
Xq22.1	Enfermedad de Fabry	301500	<i>GLA</i>	300644	Recesiva ligada a X	100 varones
Xq24	Enfermedad de Danon	300257	<i>LAMP2</i>	309060	Dominante ligada a X	desconocida

Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
Xq26.3	Miocardiopatía hipertrófica asociada a distrofia muscular EmeryDreyfuss 6	300696	<i>FHL1</i>	300163	Recesiva ligada a X	desconocida
6q25.1-q25.2	Miocardiopatía hipertrófica asociada a distrofia muscular EmeryDreyfuss 4	612998	<i>SYNE1</i>	608441	AD	desconocida
14q23.2	Miocardiopatía hipertrófica asociada a distrofia muscular EmeryDreyfuss 5	612999	<i>SYNE2</i>	608442	AD	desconocida
13q12.12	Miocardiopatía hipertrófica asociada a distrofia muscular de cinturas tipo 2C	253700	<i>SGCG</i>	608896	AR	desconocida

Tabla 1.b. DISPLASIA ARRITMOGÉNICA VENTRÍCULO DERECHO

Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
14q24.3	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 1	107970	<i>TGFB3</i>	190230	AD	rara
1q43	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 2	600996	<i>RYR2</i>	180902	AD	50 - 70
3p25.1	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 5	604400	<i>TMEM43</i>	612048	AD	desconocida
2q35	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 7		<i>DES</i>	125660	AD	desconocida
6p24.3	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 8	607450	<i>DSP</i>	125647	AD	6 al 16
12p11.21	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 9	609040	<i>PKP2</i>	602861	AD	11 a 43
18q12.1	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 10	610193	<i>DSG2</i>	125671	AD	12 al 40
18q12.1	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 11	610476	<i>DSC2</i>	125645	AD	1 a 5
17q21.2	Displasia arritmogénica de ventrículo derecho 12	611528	<i>JUP</i>	173325	AD	rara
2q24.1	PubMed		<i>PKP4</i>	604276		desconocida
14q21.1	PubMed		<i>PNN</i>	603154		desconocida
3p22.1	PubMed		<i>RPSA</i>	150370		desconocida
2q31.2	PubMed		<i>TTN</i>	188840		desconocida

Tabla 1.c. MIOCARDIOPATÍA RESTRICTIVA FAMILIAR						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
1q32.1	Miocardopatía familiar restrictiva tipo 3	612422	<i>TNNT2</i>	191045	AD	desconocida
19q13.42	Miocardopatía familiar restrictiva	115210	<i>TNNI3</i>	191044	AD	8
10q21.3	Miocardopatía familiar restrictiva 4	615248	<i>MYPN</i>	608517		desconocida
15q14	PubMed		<i>ACTC1</i>	102540	AD	desconocida
14q11.2	PubMed		<i>MYH7</i>	160760	AD	desconocida
2q35	PubMed		<i>DES</i>	125660		desconocida
3p21.1	PubMed		<i>TNNC1</i>	191040		desconocida
18q21.1	PubMed		<i>TTR</i>	176300		desconocida

Tabla 1.d. MIOCARDIOPATÍA DILATADA						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
1q22	Miocardopatía Dilatada 1A	115200	<i>LMNA</i>	150330	AD	6
1q43	Miocardopatía Dilatada 1AA	612158	<i>ACTN2</i>	102573	AD	<1
18q12.1	Miocardopatía Dilatada 1BB	612877	<i>DSG2</i>	125671	AR	12 a 40
10q23.2	Miocardopatía Dilatada 1C	601493	<i>LDB3</i>	605906	AD	1
1p31.1	Miocardopatía Dilatada 1CC	613122	<i>NEXN</i>	613121	AD	<1
1q32.1	Miocardopatía Dilatada 1D	601494	<i>TNNT2</i>	191045	AD	2 .9
10q25.2	Miocardopatía Dilatada 1DD	613172	<i>RBM20</i>	613171	AD	1.9
3p22.2	Miocardopatía Dilatada 1E	601154	<i>SCN5A</i>	600163	AD	2 a 4
14q11.2	Miocardopatía Dilatada 1EE	613252	<i>MYH6</i>	160710	AD	3 a 4
19q13.42	Miocardopatía Dilatada 1FF	613286	<i>TNNI3</i>	191044	AD	<1
2q31.2	Miocardopatía Dilatada 1G	604145	<i>TTN</i>	188840	AD	20
5p15.33	Miocardopatía Dilatada 1GG	613642	<i>SDHA</i>	600857	AR	desconocida
10q26.11	Miocardopatía Dilatada 1HH	613881	<i>BAG3</i>	603883	AD	2.5
2q35	Miocardopatía Dilatada 1I	604765	<i>DES</i>	125660	AD	<1
11q23.1	Cardiomyopathy, dilated, 1II	615184	<i>CRYAB</i>	123590	AD	desconocida
6q23.2	Miocardopatía Dilatada 1J	605362	<i>EYA4</i>	603550	AD	desconocida
5q33.3	Miocardopatía Dilatada 1L	606685	<i>SGCD</i>	601411	AR	<1
11p15.1	Miocardopatía Dilatada 1M	607482	<i>CSRP3</i>	600824	AD	<1
17q12	Miocardopatía Dilatada 1N	607487	<i>TCAP</i>	604488	AD	1
12p12.1	Miocardopatía Dilatada 1O	608569	<i>ABCC9</i>	601439	AD	<1
6q22.31	Miocardopatía Dilatada 1P	609909	<i>PLN</i>	172405	AD	desconocida
15q14	Miocardopatía Dilatada 1R	613424	<i>ACTC1</i>	102540	AD	<1
14q11.2	Miocardopatía Dilatada 1S	613426	<i>MYH7</i>	160760	AD	4.2
12q23.1	Miocardopatía Dilatada 1T	613740	<i>TMPO</i>	188380	AD	1.1
14q24.2	Miocardopatía Dilatada 1U	613694	<i>PSEN1</i>	104311	AD	<1
1q42.13	Miocardopatía Dilatada 1V	613697	<i>PSEN2</i>	600759	AD	<1
10q22.2	Miocardopatía Dilatada 1W	611407	<i>VCL</i>	193065	AD	1
9q31.2	Miocardopatía Dilatada 1X	611615	<i>FKTN</i>	607440	AR	<1
15q22.2	Miocardopatía Dilatada 1Y	611878	<i>TPM1</i>	191010	AD	<1 a 1.9
3p21.1	Miocardopatía Dilatada 1Z	611879	<i>TNNC1</i>	191040	AD	<1 a 1.3
19q13.42	Miocardopatía Dilatada 2A	611880	<i>TNNI3</i>	191044	AR	1.3

Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
Xq28	Miocardopatía Dilatada 3A	300069	TAZ	300394	RLX	desconocida
Xp21.2-p21.1	Miocardopatía Dilatada 3B	302045	DMD	300377	RLX	desconocida
11p11.2	Miocardopatía Dilatada	115200	MYBPC3	600958	AD	2 a 4
6q21	Miocardopatía Dilatada 1JJ	615235	LAMA4	600133	AD	desconocida
10q21.3	Miocardopatía dilatada 1KK	615248	MYPN	608517	AD	desconocida
22q13.33	Miocardopatía dilatada asociada a distrofia muscular congénita	602541	CHKB	612395	AR	desconocida
19q13.32	Miocardopatía dilatada asociada a distrofia de cinturas tipo C, 5	607155	FKRP	606596	AR	desconocida
9q34.13	Miocardopatía dilatada asociada a distrofia de cinturas tipo C, 1	609308	POMT1	607423	AR	desconocida
7q32.1	Miocardopatía asociada a miopatía miofibrilar	609524	FLNC	102565	AD	desconocida
5q31.2	Miocardopatía asociada a miopatía miofibrilar	609200	MYOT	604103	AD	desconocida
10q25.3	PubMed		ADRB1	109630	susceptibilidad	
5q32	PubMed		ADRB2	109690	susceptibilidad	
8p11.23	PubMed		ADRB3	109691	susceptibilidad	
10q22.1-q23	PubMed		ANKRD1	609599		2.2
16p11.2	PubMed		CTF1	600435		desconocida
2q12.1-q12.2	PubMed		FHL2	602633		desconocida
11p15.4	PubMed		ILK	602366		desconocida
10p12.31	PubMed		NEBL	605491		desconocida

Tabla 1.e. MIOCARDIOPATÍA NO COMPACTADA DE VENTRÍCULO IZQUIERDO

Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
18q12.1	Miocardopatía no compactada de ventrículo izquierdo 1, con o sin defectos cardíacos congénitos.	604169	DTNA	601239	AD	desconocida
10q23.2	Miocardopatía no compactada de ventrículo izquierdo 3, con o sin miocardopatía dilatada.	601493	LDB3	605906	AD	desconocida
15q14	Ventrículo izquierdo no compactado 4	613424	ACTC1	102540	AD	desconocida
14q11.2	Ventrículo izquierdo no compactado 5	613426	MYH7	160760	AD	desconocida
1q32.1	Ventrículo izquierdo no compactado 6	601494	TNNT2	191045	AD	desconocida
Xq28	Ventrículo izquierdo no compactado, ligado a X	300183	TAZ	300394	RLX	desconocida
11p11.2	PubMed		MYBPC3	600958	AD	desconocida
15q22.2	PubMed		TPM1	191010	AD	desconocida

Tabla 1.f. RASOPATIAS						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
7q34	Síndrome Cardiofaciocutáneo	115150	BRAF	164757	AD	75
7q34	Síndrome LEOPARD 3	613707	BRAF	164757	AD	<5
7q34	Síndrome Noonan 7	613706	BRAF	164757	AD	<2
12p12.1	Síndrome Cardiofaciocutáneo	115150	KRAS	190070	AD	<2 a 3
12p12.1	Síndrome Noonan 3	609942	KRAS	190070	AD	5
12q24.13	Síndrome LEOPARD 1	151100	PTPN11	176876	AD	90
12q24.13	Síndrome Noonan 1	163950	PTPN11	176876	AD	50
3p25.2	Síndrome Noonan 5	611553	RAF1	164760	AD	3 a 17
3p25.2	Síndrome LEOPARD 2	611554	RAF1	164760	AD	<5
2p22.1	Síndrome Noonan 4	610733	SOS1	182530	AD	10 a 13
11p15.5	Síndrome Costello	218040	HRAS	190020	AD	80 a 90
12p12.1	Síndrome Cardiofaciocutáneo	115150	MAP2K1	176872	AD	12%
12p12.1	Síndrome Noonan		MAP2K1	176872	AD	<2
12p12.1	Síndrome Cardiofaciocutáneo	115150	MAP2K2	601263	AD	12%
1p13.2	Síndrome Noonan 6	613224	NRAS	164790	AD	desconocida
10q25.2	Síndrome Noonan-like con pelo anageno	607721	SHOC2	602775	AD	desconocida
11q23.3	Síndrome Noonan-like con o sin leucemia mielomonocítica juvenil	613563	CBL	165360		desconocida
15q14	Síndrome Legius	611431	SPRED1	609291	AD	desconocida

Tabla 1.g. ANEURISMA DE AORTA TORÁCICA FAMILIAR AISLADA Y SINDRÓMICA						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
10q23.31	Aneurisma de Aorta torácica Familiar 6	611788	ACTA2	102620	AD	10 a 14
16p13.11	Aneurisma de Aorta torácica Familiar 4	132900	MYH11	160745	AD	1
3q21.1	Aneurisma de Aorta torácica Familiar 7	613780	MYLK	600922	AD	1
9q22.33	Aneurisma de Aorta torácica Familiar		TGFBR1	190181	AD	1
3p24.1	Aneurisma de Aorta torácica Familiar		TGFBR2	190182	AD	4
15q22.33	Aneurisma de Aorta torácica Familiar		SMAD3	603109	AD	2
2q32.2	Síndrome Ehlers-Danlos tipo IV	130020	COL3A1	120180	AD	95
15q21.11	Síndrome Marfan	154700	FBN1	134797	AD	70 a 93
15q21.11	Síndrome MASS	604308	FBN1	134797	AD	
15q21.11	Prolapso la válvula mitral	157700	FBN1	134797	AD	
15q21.11	Síndrome Weill-Marchesani tipo 2	808328	FBN1	134797	AD	
5q23.3	Contractura congénita con aracnodactilia	121050	FBN2	612570	AD	27 a 75
11q13.1	Cutis laxa tipo 1B	614437	EFEMP2	604633	AR	
14q32.12	Cutis laxa AD tipo 2 / AR 1A		FBLN5	604580	AD y AR	
9q34.3	Enfermedad valvular aórtica	109730	NOTCH1	190198	AD	

Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
20q13.12	Sd. Tortuosidad arterial	208050	<i>SLC2A10</i>	606145	AR	
9q22.33	Síndrome Loey-Dietz 1A	609192	<i>TGFBR1</i>	190181	AD	
3p24.1	Síndrome Loey-Dietz 1B	610168	<i>TGFBR2</i>	190182	AD	75
9q22.33	Síndrome Loey-Dietz 2A	608967	<i>TGFBR1</i>	190181	AD	25
3p24.1	Síndrome Loey-Dietz 2B	610380	<i>TGFBR2</i>	190182	AD	75
15q22.33	Síndrome Loey-Dietz 3	613795	<i>SMAD3</i>	603109	AD	
1q41	Síndrome Loey-Dietz 4	614816	<i>TGFB2</i>	190220	AD	
10q23.31	Enfermedad Moyamoya	614042	<i>ACTA2</i>	102620	AD	

Tabla 1.h. SÍNDROME DE BRUGADA						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
3p22.2	Síndrome de Brugada 1	601144	<i>SCN5A</i>	600163	AD	15 a 30
3p22.3	Síndrome de Brugada 2	611777	<i>GPD1L</i>	611778	AD	<5
12p13.33	Síndrome de Brugada 3	611875	<i>CACNA1C</i>	114205	AD	<5
10p12.33-p12.31	Síndrome de Brugada 4	611876	<i>CACNB2</i>	600003	AD	<5
19q13.12	Síndrome de Brugada 5	612838	<i>SCN1B</i>	600235	AD	<5
11q13.4	Síndrome de Brugada 6	613119	<i>KCNE3</i>	604433	AD	<5
11q24.1	Síndrome de Brugada 7	613120	<i>SCN3B</i>	608214	AD	<5
17p13	Síndrome de Brugada 8		<i>RANGRF</i>	607954		<1
7q21.11	Síndrome de Brugada 9		<i>CACNA2D1</i>	114204		1.8
15q24.1	Síndrome de Brugada 8		<i>HCN4</i>	605206		<5
1p13.2	Síndrome de Brugada 10		<i>KCND3</i>	605411		raro
12p12.1	Síndrome de Brugada 11		<i>KCNJ8</i>	600935		raro
12p12.1	Síndrome de Brugada 12		<i>ABCC9</i>	601439		raro
	GENES MODULADORES					desconocida
7q36.1	PubMed		<i>KCNH2</i>	152427		desconocida
Xq23	PubMed		<i>KCNE1L</i>	300328		desconocida
11q23.3	PubMed		<i>SCN2B</i>	601327		desconocida

Tabla 1.i. SÍNDROME QT LARGO AISLADO Y SINDRÓMICO						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
11p15.5-p15.4	Síndrome QT largo 1	192500	<i>KCNQ1</i>	607542	AD	46
7q36.1	Síndrome QT largo 2	613688	<i>KCNH2</i>	152427	AD	38
3p22.2	Síndrome QT largo 3	603830	<i>SCN5A</i>	600163	AD	13
4q25-q26	Síndrome QT largo 4	600919	<i>ANK2</i>	106410	AD	desconocida
21q22.12	Síndrome QT largo 5	613695	<i>KCNE1</i>	176261	AD	2
21q22.11	Síndrome QT largo 6	613693	<i>KCNE2</i>	603796	AD	1
17q24.3	Síndrome QT largo 7	170390	<i>KCNJ2</i>	600681	AD	desconocida
12p13.3	Síndrome QT largo 8		<i>CACNA1C</i>	114205	AD	desconocida
3p25.3	Síndrome QT largo 9	611818	<i>CAV3</i>	601253	AD	raro
11q23.3	Síndrome QT largo 10	611819	<i>SCN4B</i>	608256	AD	raro

Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
7q21.2	Síndrome QT largo 11	611820	<i>AKAP9</i>	604001	AD	raro
20q11.21	Síndrome QT largo 12	612955	<i>SNTA1</i>	601017	AD	raro
11q24.3	Síndrome QT largo 13	613485	<i>KCNJ5</i>	600734	AD	raro
12p13.33	Síndrome Timothy	601005	<i>CACNA1C</i>	114205	AD	100
17q24.3	Síndrome Andersen	170390	<i>KCNJ2</i>	600689	AD	60
11p15.5-p15.4	Síndrome Jervell y Lange-Nielsen 1	220400	<i>KCNQ1</i>	607542	AR	90
21q22.12	Síndrome Jervell y Lange-Nielsen 2	612347	<i>KCNE1</i>	176261	AR	10

Tabla.1.j. SÍNDROME QT CORTO						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
7q36.1	Síndrome QT corto 1	609620	<i>KCNH2</i>	152427	AD	desconocido
11p15.5-p15.4	Síndrome QT corto 2	609621	<i>KCNQ1</i>	607542	AD	desconocido
17q24.3	Síndrome QT corto 3	609622	<i>KCNJ2</i>	600681	AD	desconocido
12p13.33	Síndrome QT corto 4		<i>CACNA1C</i>	114205	AD	desconocido
10p12.33-p12.31	Síndrome QT corto 5		<i>CACNB2</i>	600003	AD	desconocido
9q34.3	Síndrome QT corto 5		<i>CACNA1B</i>	601012		desconocido
7q21.11	Síndrome QT corto 6		<i>CACNA2D1</i>	114204		desconocido
3p21.1	PubMed		<i>CACNA1D</i>	114206		desconocido

Tabla 1.k. TAQUICARDIA VENTRICULAR POLIMÓRFICA CATECOLAMINÉRGICA						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
1q43	Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica 1	604772	<i>RYR2</i>	180902	AD	50 a 55
1p13.1	Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica 2	611938	<i>CASQ2</i>	114251	AR	1 a 2
4q25-26	PubMed		<i>ANK2</i>	106410		desconocida
17q24.3	PubMed		<i>KCNJ2</i>	600681		desconocida

Tabla 1.l. FIBRILACIÓN AURICULAR FAMILIAR						
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia	Frecuencia mutaciones %
11p15.5-p15.4	Fibrilación auricular 3	607554	<i>KCNQ1</i>	607542	AD	
21q22.11	Fibrilación auricular 4	611493	<i>KCNE2</i>	603796	AD	
1p36.22	Fibrilación auricular 6	612201	<i>NPPA</i>	108780	AD	
12p13.32	Fibrilación auricular 7	612240	<i>KCNA5</i>	176267	AD	
17q24.3	Fibrilación auricular 9		<i>KCNJ2</i>	600681		
3p22.2	Fibrilación auricular 10		<i>SCN5A</i>	600163		
1q21.2	Fibrilación auricular 11	614049	<i>GJA5</i>	121013	AD	

Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia
12p12.1	Fibrilación auricular 12		ABCC9	601439	
17q21.2	Fibrilación auricular asociada a lipodistrofia congénita	613327	PTRF	603198	AR
6q22.31	PubMed		GJA1	121014	
7q36.1	PubMed		KCNH2	152427	
3p21.1	PubMed		CACNA1D	114206	
5p12	PubMed		HCN1	602780	
Xq23	PubMed		KCNE1L	300328	
2q36.1	PubMed		KCNE4	607775	
17p13.1	PubMed		RANGRF	607954	
11q23.3	PubMed		SCN2B	601327	
16p12.2-p12.1	PubMed		SCNN1B	600760	
16p12.2	PubMed		SCNN1G	600761	
3p22.2	PubMed		SCN10A	604427	

Tabla 1.m. FIBRILACIÓN VENTRICULAR FAMILIAR					
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia
3p22.2	Fibrilación ventricular familiar tipo 1	603829	SCN5A	600163	AD
7q36.2	Fibrilación ventricular paroxística familiar tipo 2	612956	DPP6	126141	AD
1p13.2	PubMed		KCND3	605411	
19q13.12	PubMed		SCN1B	600235	AD
12p13.33	PubMed		CACNA1C	114205	AD
10p12.33-p12.31	PubMed		CACNB2	600003	AD
Xq23	PubMed		KCNE1L	300328	
12p12.1	PubMed		KCNJ8	600935	
3p22.2	PubMed		SCN10A	604427	

Tabla 1.n. TRASTORNOS GENÉTICOS DEL SISTEMA DE CONDUCCIÓN CARDÍACO					
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia
3p22.2	Bloqueo progresivo 1A	113900	SCN5A	600163	AR
19q13.33	Bloqueo progresivo 1B	604559	TRPM4	606936	AD
3p22.2	Bloqueo no progresivo	113900	SCN5A	600163	AD
19q13.12	Defecto de conducción inespecífico	612838	SCN1B	600235	AD
3p22.2	Enfermedad del seno, 1	608567	SCN5A	600163	AR
15q24.1	Enfermedad del seno 2	163800	HCN4	605206	AD
14q11.2	Enfermedad del seno3 (susceptibilidad)	614090	MYH6	160710	
7q36.1	Síndrome Wolff-Parkinson-White	194200	PRKAG2	602743	
5q35.1	Defecto auricular con o sin trastorno de conducción	108900	NKX2-5	600584	AD
5p12	PubMed		HCN1	602780	
11q23.3	PubMed		SCN4B	608256	

Tabla 1.o. CARDIOPATÍAS CONGÉNITAS					
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia
8p23.1	Defecto de septo auricular tipo 2	607941	GATA4	600576	AD
14q11.2	Defecto de septo auricular tipo 3	614089	MYH6	160710	AD
10q24.2	Defecto de septo auricular tipo 3	614089	NKX2-3	606727	AD
7p14.2	Defecto de septo auricular tipo 4	611363	TBX20	606061	AD
15q14	Defecto de septo auricular tipo 5	612794	ACTC1	102540	AD
4q32.3	Defecto de septo auricular tipo 6	613087	TLL1	606742	AD
5q35.1	Defecto de septo auricular tipo 7, con o sin defecto de conducción AV.	108900	NKX2-5	600584	AD
18q11.2	Defecto de septo auricular tipo 9	614475	GATA6	601656	AD
8p23.1	Defecto de septo atrioventricular tipo 4	614430	GATA4	600576	AD
18q11.2	Defecto septo atrioventricular 5	614474	GATA6	601656	AD
6q22.31	Defecto de septo atrioventricular 3	600309	GJA1	121014	AD
8p23.1	Defecto de septo ventricular 1	614429	GATA4	600576	AD
5q35.1	Defecto de septo ventricular 3	614432	NKX2-5	600584	AD
17q21.31	Hipertensión arterial pulmonar, leucopenia y defecto septal auricular	612541	G6PC3	611045	AR
2q33	Hipertensión pulmonar primaria	178600	BMPR2	600799	AD
2q33	Enfermedad veno-oclusiva pulmonar	265450	BMPR2	600799	AD
2q21.1	Doble tracto de salida de ventrículo derecho	217095	CFC1	605194	AR
19p13.11	Doble tracto de salida de ventrículo derecho	217095	GDF1	602880	AR
2q21.1	Heterotaxia visceral	605376	CFC1	605194	AD
19p13.11	Dextroposición de grandes arterias tipo 3	613854	GDF1	602880	AD
2q21.1	Dextroposición de grandes arterias tipo 2	613853	CFC1	605194	AD
7q11.23	Estenosis supraavicular aórtica	185500	ELN	130160	AD
22q11.21	Tetralogía de Fallot	187500	TBX1	602054	AD
5q35.1	Tetralogía de Fallot	187500	NKX2-5	600584	AD
19p13.11	Tetralogía de Fallot	187500	GDF1	602880	AD
20p12.2	Tetralogía de Fallot	187500	JAG1	601920	AD
8p23.1	Tetralogía de Fallot	187500	GATA4	600576	AD
18q11.2	Tetralogía de Fallot	187500	GATA6	601656	AD
18q11.2	Tetralogía de Fallot	187500	GATA6	601656	AD
5q35.1	Cardiopatía congénita conotruncal variable	217095	NKX2-5	600584	AR
18q11.2	Persistencia de ductus arterioso	217095	GATA6	601656	AR
8p21.2	Persistencia de ductus arterioso	217095	NKX2-6	611770	AR
5q35.1	Síndrome de corazón izquierdo hipoplásico 2	614435	NKX2-5	600584	AD
Xp11.23	Síndrome TARP	311900	RBM10	300080	LIGADO X
22q11.21	Síndrome facial y anomalía conotruncal	217095	TBX1	602054	AR
22q11.21	Síndrome DiGeorge	188400	TBX1	602054	AD
22q11.21	Síndrome Velocardiofacial	192430	TBX1	602054	AD
6q22.31	Síndrome de corazón izquierdo hipoplásico 1	241550	GJA1	121014	AR
18q11.2	Agenesia pancreática y cardiopatía congénita	600001	GATA6	601656	AD

Tabla 1.p. ENFERMEDAD CORONARIA MONOGÉNICA					
Locus	Enfermedad	MIM Fenotipo	Gen	MIM Gen	Herencia
15q26.3	Enfermedad de arteria coronaria tipo 1	608320	<i>MEF2A</i>	600660	AD
12p13.2	Enfermedad de arteria coronaria tipo 2	610947	<i>LRP6</i>	603507	AD
9q31.1	Cardiopatía isquémica coronaria: Deficiencia HDL tipo 2	604091	<i>ABCA1</i>	600046	AD
9q31.1	Cardiopatía isquémica coronaria: Enfermedad de Tangier	205400	<i>ABCA1</i>	600046	AR
16p13.11	Calcificación arterial generalizada de la infancia tipo 2	614473	<i>ABCC6</i>	603234	AR
11q23.3	Cardiopatía isquémica coronaria: Hipoalfalipoproteinemia	604091	<i>APOA1</i>	107680	AD
2p24.1	Hipercolesterolemia por ligando ApoB defectuoso	144010	<i>APOB</i>	107730	AD
19q13.32	Deficiencia de Apolipoproteína E		<i>APOE</i>	107741	AD
6q23.2	Calcificación arterial generalizada de la infancia tipo 1	208000	<i>ENPP1</i>	173335	AR
19p13.2	Hipercolesterolemia familiar	143890	<i>LDLR</i>	606945	AD
8p21.3	Hiperlipidemia familiar combinada	144250	<i>LPL</i>	609708	AD
8p21.3	Hiperlipoproteinemia tipo 1	238600	<i>LPL</i>	609708	AR
1p32.3	Hipercolesterolemia familiar tipo 3	603776	<i>PCSK9</i>	607786	AD

ANEXO II VARIANTES DETECTADAS EN LÍNEA HAPMAP NA12144

Variantes detectadas en línea HapMap NA12144. Disponible en la web:
http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/downloads/genotypes/2010-08_phaseII+IIIinconsistencies/23_snps_multi_pos.Txt

Tamaño aproximado 38.378 MB.Formato txt.

ANEXO III

**MUESTRAS PATOGENICAS ANONIMIZADAS UTILIZADAS PARA
VALIDACIÓN DEL PANEL DE 72 GENES RELACIONADOS CON
ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES ASOCIADAS A MUERTE SÚBITA.**

Tabla 3.a. MUESTRAS PATOGENICAS ANONIMIZADAS				
CÓDIGO MUESTRA	DIAGNÓSTICO PACIENTE	GEN	VARIANTE	PROTEÍNA
V.001	Síndrome de Marfan	<i>FBN1</i>	<i>c.7039_7040del</i>	p.Met2347ValfsX18
V.002	Displasia arritmogénica ventrículo derecho	<i>DSP</i>	<i>c.7217C>A</i>	p.Ser2406*
V.003	Síndrome QT largo	<i>KCNH2</i>	<i>g.28943G>A</i>	p.Val822Met
V.004	Síndrome de Marfan	<i>FBN1</i>	<i>c.5076_5078delAAG</i>	p.Arg1692del
V.005	Síndrome de Marfan	<i>FBN1</i>	<i>c.4326dupA</i>	p.Ala1433SerfsX3
V.006	Síndrome Loeys-Dietz	<i>TGFBR2</i>	<i>c.1314T>A</i>	p.Asn438Lys
V.007	Síndrome de Marfan	<i>FBN1</i>	<i>c.1148-1G>A</i>	chr15(GRCh37)::g.48.808.485
V.008	Miocardiopatía dilatada	<i>ACTN2</i>	<i>c.783+1G>A</i>	Chr1(GRCh37)::g.236899021
V.009	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>c.2363+1G>A</i>	chr11(GRCh37)::g.47.360.094
V.010	Síndrome de Marfan	<i>FBN1</i>	<i>c.2248del</i>	p.Cys750AlafsX22

ANEXO IV

MODELO DE DATOS DE ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO EN MUESTRAS DE ADN SOMETIDAS A SECUENCIACIÓN MASIVA.

4.a. VARIANTES POLIMÓRFICAS DEL ADN SOMETIDAS A SECUENCIACIÓN MASIVA						
Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
NEXN	chr1	78399207	C	G	0,2912	rs4483454
TNNT2	chr1	201328705	G	A	0,0165	rs45576635
TNNT2	chr1	201334795	C	T	0,0714	rs3729845
TNNT2	chr1	201338896	T	C	0,4556	rs10920184
TNNT2	chr1	201339043	C	T	0,4144	rs12049476
TNNT2	chr1	201341175	CAGAAG	C	0.4693&AGAAG:0.4693	rs45533739,rs45533739
REN	chr1	204129671	A	C	0,3004	rs5707
REN	chr1	204130376	G	C	0,2244	rs2272237
REN	chr1	204131060	TGA	T	0,0408	rs148589104
PSEN2	chr1	227069677	T	C	0,256	rs11405
PSEN2	chr1	227069737	C	T	0,4812	rs6759
PSEN2	chr1	227071364	G	A	0,4812	rs1295643
PSEN2	chr1	227071525	C	T	0,4812	rs1046240
PSEN2	chr1	227073410	G	C	0,256	rs2236910
PSEN2	chr1	227078955	T	C	0,2569	rs2802267
PSEN2	chr1	227081622	A	G	0,2784	rs10753428
PSEN2	chr1	227081850	G	A	0,4112	rs2855562
AGT	chr1	230840096	T	C	0,1451	rs1926723
AGT	chr1	230845794	A	G	0,3379	rs699,COSM425562
AGT	chr1	230846679	T	C	0,1516	rs11122576
AGT	chr1	230849799	A	G	0,3402	rs2148582
AGT	chr1	230849872	C	T	0,3356	rs5051
AGT	chr1	230849886	T	G	0,1745	rs5050
AGT	chr1	230850018	C	T	0,0467	rs11568020
ACTN2	chr1	236902865	A	C	0,4679	rs2288602
RYR2	chr1	237620049	T	C	0,457	rs2045955
RYR2	chr1	237675163	G	A	0,3356	rs67622164
RYR2	chr1	237796837	G	A	0,4144	rs10802626
RYR2	chr1	237797082	T	G	0,3984	rs1967579
RYR2	chr1	237797103	C	A	0,2706	rs1967580
RYR2	chr1	237814898	C	A	0,4469	rs2184014
RYR2	chr1	237817784	A	G	0,3114	rs669375
RYR2	chr1	237923243	A	G	0,1081	rs3817436
RYR2	chr1	237944814	C	T	0,1264	rs12135982
RYR2	chr1	237951482	G	A	0,2967	rs16835818
RYR2	chr1	237957146	G	A	0,2729	rs790902

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
<i>FHL2</i>	chr2	105977761	G	A	0,1291	rs11124029
<i>FHL2</i>	chr2	105979730	C	A	0,2875	rs2278502
<i>GPD2</i>	chr2	157293072	G	C	0,033	rs72893369
<i>GPD2</i>	chr2	157406249	G	A	0,3448	rs2116665,COSM148959
<i>GPD2</i>	chr2	157425801	A	G	0,1021	rs67602053
<i>GPD2</i>	chr2	157441664	G	C	0,2578	rs2280278
<i>GPD2</i>	chr2	157442237	G	A	0,0215	rs141376915
<i>GPD2</i>	chr2	157442253	G	A	0,2578	rs1053394
<i>GPD2</i>	chr2	157442754	CTG	C	0,0723	rs141820097
<i>TTN</i>	chr2	179431076	C	G	0,0105	rs56307213
<i>TTN</i>	chr2	179498042	T	C	0,0527	rs6723526
<i>TTN</i>	chr2	179518911	TAGC	T	0.1067&-:0.1067	rs66943019,rs139167585,rs143222156,rs66943019,rs139167585,rs143222156
<i>TTN</i>	chr2	179563702	C	T	0,0133	rs116053231
<i>TTN</i>	chr2	179569387	T	A	0,0137	rs72650006
<i>TTN</i>	chr2	179579977	G	A	0,0128	rs72648987
<i>TTN</i>	chr2	179583317	G	A	0,0664	rs72648978
<i>TTN</i>	chr2	179610172	T	A	0,0536	rs3813240
<i>TTN</i>	chr2	179638238	G	A	0,0659	rs2291306
<i>DES</i>	chr2	220284779	C	T	0,456	rs12991025
<i>DES</i>	chr2	220285309	C	T	0,3471	rs1058261,DES:c.828C>T
<i>DES</i>	chr2	220285666	G	C	0,3471	rs12920,DES:c.1014G>C
<i>DES</i>	chr2	220286142	G	A	0,342	rs1058284,DES:c.1104G>A
<i>DES</i>	chr2	220291474	T	C	0,4551	rs11685408
<i>OBSL1</i>	chr2	220415595	GGA	G	0,4208	rs146790993
<i>OBSL1</i>	chr2	220415646	T	C	0,4231	rs1043582
<i>OBSL1</i>	chr2	220416942	G	C	0,4286	rs34490902
<i>OBSL1</i>	chr2	220416967	C	T	0,4991	rs4672934
<i>OBSL1</i>	chr2	220417228	G	T	0,3988	rs60549465
<i>OBSL1</i>	chr2	220417266	C	T	0,418	rs59332477
<i>OBSL1</i>	chr2	220419553	C	T	0,2331	rs12617530
<i>OBSL1</i>	chr2	220420785	G	A	0,2637	rs3087971
<i>OBSL1</i>	chr2	220421417	C	G	0,304	rs1983210,COSM442368
<i>OBSL1</i>	chr2	220421479	A	G	0,2651	rs13010015
<i>OBSL1</i>	chr2	220422400	C	G	0,4414	rs2278200
<i>OBSL1</i>	chr2	220422774	A	G	0,4501	rs2278201
<i>OBSL1</i>	chr2	220427347	G	T	0,2074	rs10804275
<i>OBSL1</i>	chr2	220427395	G	A	0,2015	rs3183099
<i>OBSL1</i>	chr2	220427428	GA	G	0,2047	rs55904205
<i>OBSL1</i>	chr2	220431458	A	C	0,1772	rs62191614

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
OBSL1	chr2	220431631	G	T	0,1667	rs1043537
OBSL1	chr2	220432014	G	A	0,168	rs61732787
OBSL1	chr2	220433113	T	C	0,1662	rs12623922
TMEM4 3	chr3	14183410	T	C	0,3356	rs1043943
SCN5A	chr3	38590275	A	G	0,2166	rs41315485
SCN5A	chr3	38590849	G	A	0,4973	rs4073796
SCN5A	chr3	38590850	A	T	0,4959	rs4073797
SCN5A	chr3	38591689	T	C	0,4918	rs7429945
SCN5A	chr3	38592406	A	G	0,4936	rs1805126,LQTS_NM_000335.4:c.5454T>C
SCN5A	chr3	38601556	T	C	0,435	rs6799868
SCN5A	chr3	38655643	C	T	0,207	rs9856587
SCN5A	chr3	38674712	T	C	0,2335	rs6599230
MYL3	chr3	46899516	C	T	0,2056	rs1042973
MYL3	chr3	46900051	G	A	0,103	rs3729704
MYL3	chr3	46902129	T	G	0,3919	rs2227294
MYL3	chr3	46904708	C	A	0,3169	rs936175
AGTR1	chr3	148425873	A	G	0,3846	rs2276736
ADH4	chr4	100045141	C	T	0,2253	rs1139490
ADH4	chr4	100047929	G	A	0,2596	rs10009145
ADH1A	chr4	100205819	C	A	0,2015	rs28364312
ADH1A	chr4	100205829	T	G	0,2015	rs28364311
ADH1A	chr4	100212173	A	T	0,2001	rs13134764
ADH1B	chr4	100227327	A	T	0,3814	rs28914793
ADH1B	chr4	100228466	T	C	0,348	rs1042026
ADH1C	chr4	100266133	T	C	0,4194	rs2241894
ADH1C	chr4	100268131	C	T	0,4341	rs3762896
ADH1C	chr4	100274157	G	C	0,4359	rs4147541
ADH7	chr4	100333612	T	C	0,0668	rs3805329
ADH7	chr4	100333932	A	G	0,0664	rs3805331
ADH7	chr4	100333977	T	A	0,4396	rs284786
ADH7	chr4	100341643	G	A	0,4437	rs1154460
ADH7	chr4	100341861	C	T	0,1406	rs971074
ADH7	chr4	100349204	A	C	0,0472	rs75076500
ADH7	chr4	100349669	C	G	0,0582	rs1573496
ADH7	chr4	100350594	A	ATC	0.0934&TC:0.0934	rs35006747,rs35006747
ADH7	chr4	100356466	A	G	0,0916	rs17537595
ADH7	chr4	100356584	A	G	0,0472	rs34925826
PDLIM3	chr4	186423655	G	A	0,1525	rs12644280
PDLIM3	chr4	186423734	TCA	T	0,1525	rs34016200
ADRB2	chr5	148206348	C	T	0,2431	rs1042711
ADRB2	chr5	148206375	C	T	0,2431	rs1801704

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
ADRB2	chr5	148206440	G	A	0,4702	rs1042713
ADRB2	chr5	148206473	G	C	0,2386	rs1042714
SGCD	chr5	155771579	T	C	0,494	rs1801193,SGCD:c.84 T>C
SGCD	chr5	156187928	C	T	0,2285	rs284445
DSP	chr6	7556063	C	T	0,0151	rs56148603
DSP	chr6	7572026	T	A	0,4991	rs2076303
DSP	chr6	7574852	T	C	0,0659	rs2295859
DSP	chr6	7577260	C	T	0,2614	rs2064217,COSM1500 41
DSP	chr6	7578189	G	A	0,2885	rs6942260
DSP	chr6	7585967	G	C	0,2889	rs2744380
DSP	chr6	7586308	C	T	0,2614	rs12250
ME1	chr6	83949261	T	C	0,4313	rs1180230
ME1	chr6	84108065	A	T	0,495	rs4706990
LAMA4	chr6	112429912	T	A	0,2537	rs7758910
LAMA4	chr6	112430027	G	T	0,2917	rs6568718
LAMA4	chr6	112430180	A	G	0,2537	rs12208872
LAMA4	chr6	112435264	T	G	0,2537	rs3734290
LAMA4	chr6	112435273	A	C	0,2537	rs3734289
LAMA4	chr6	112435796	G	C	0,2578	rs6917142
LAMA4	chr6	112435807	G	T	0,2505	rs11969913
LAMA4	chr6	112435912	A	T	0,2921	rs1050353
LAMA4	chr6	112450374	GTGTGTG TGTGTGT GCA	G	0,2271	rs66482680
LAMA4	chr6	112457383	G	C	0,2326	rs1050349
LAMA4	chr6	112460541	G	A	0,3187	rs2072019
LAMA4	chr6	112471688	G	C	0,3301	rs3734286
LAMA4	chr6	112476210	T	C	0,3228	rs2277084
LAMA4	chr6	112496511	C	A	0,0614	rs6917763
LAMA4	chr6	112512905	G	A	0,2752	rs2072021
LAMA4	chr6	112522893	A	C	0,0252	rs79008328
LAMA4	chr6	112537682	A	G	0,0119	rs78871662
PLN	chr6	118869423	A	C	0,0307	rs77186188
PLN	chr6	118880640	T	G	0,3924	rs12198461
LAMA2	chr6	129371106	C	T	0,0994	rs1140366,LAMA2:c.1 56C>T
LAMA2	chr6	129622055	A	G	0,3191	rs902373,LAMA2:c.31 74+38A>G
LAMA2	chr6	129722425	G	A	0,4519	rs3749878,LAMA2:c.5 502G>A
LAMA2	chr6	129777382	C	T	0,3668	rs1811970,LAMA2:c.6 708-98C>T
LAMA2	chr6	129796620	C	T	0,3951	rs7741996
LAMA2	chr6	129807714	G	A	0,3837	rs2229850,LAMA2:c.7 845G>A
LAMA2	chr6	129837610	T	C	0,2138	rs1049476,LAMA2:c.*1 18T>C

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
<i>EYA4</i>	chr6	133562456	G	C	0,1877	rs498079
<i>EYA4</i>	chr6	133827354	A	G	0,3141	rs2277083
<i>EYA4</i>	chr6	133849966	C	T	0,4487	rs3734279
<i>EYA4</i>	chr6	133850246	AC	A	0,4496	rs3842093
<i>TBX20</i>	chr7	35271254	T	C	0,1204	rs2075047
<i>TBX20</i>	chr7	35280404	C	T	0,1076	rs2075048
<i>TBX20</i>	chr7	35280693	C	T	0,3352	rs2072434
<i>TBX20</i>	chr7	35288213	T	C	0,3356	rs17606844
<i>TBX20</i>	chr7	35288276	T	C	0,3356	rs17675148
<i>TBX20</i>	chr7	35293193	A	G	0,3072	rs336283
<i>TBX20</i>	chr7	35293417	A	G	0,3237	rs73099190
<i>KCNH2</i>	chr7	150645534	T	G	0,1291	rs1805123,COSM1449213,LQTS_NM_000238.2:c.2690A>C
<i>KCNH2</i>	chr7	150647569	T	C	0,256	rs4725983
<i>KCNH2</i>	chr7	150647969	C	T	0,2179	rs2072413,rs41258144
<i>KCNH2</i>	chr7	150647970	C	G	0,2179	rs2072412
<i>KCNH2</i>	chr7	150648198	A	G	0,2413	rs1137617,LQTS_NM_000238.2:c.1956T>C
<i>PRKAG2</i>	chr7	151262385	T	C	0,0201	rs73156279
<i>PRKAG2</i>	chr7	151265714	C	T	0,4052	rs2241053
<i>PRKAG2</i>	chr7	151267353	G	A	0,1369	rs2302531
<i>PRKAG2</i>	chr7	151269890	T	A	0,1406	rs17134620
<i>PRKAG2</i>	chr7	151478602	T	C	0,2386	rs12374732
<i>PRKAG2</i>	chr7	151573580	G	A	0,0302	rs77902041
<i>PLEC</i>	chr8	144989462	A	G	0,4331	rs7155
<i>PLEC</i>	chr8	144990335	G	A	0,2509	rs1065837
<i>PLEC</i>	chr8	144990528	A	G	0,4519	rs7014582
<i>PLEC</i>	chr8	144991176	T	C	0,4524	rs6558405
<i>PLEC</i>	chr8	144992103	T	C	0,4675	COSM454175,COSM1489094,COSM454174,rs6558406
<i>PLEC</i>	chr8	144992361	T	C	0,4611	rs7822511
<i>PLEC</i>	chr8	144992862	A	G	0,429	COSM454177,COSM1489095,COSM454176,rs7819099
<i>PLEC</i>	chr8	144993324	C	T	0,2413	rs6984820
<i>PLEC</i>	chr8	144993377	A	G	0,4464	rs6992333
<i>PLEC</i>	chr8	144995494	C	T	0,2463	rs6558407,rs76803079
<i>PLEC</i>	chr8	144995736	G	A	0,2463	rs11777402
<i>PLEC</i>	chr8	144996029	A	G	0,4478	COSM454187,COSM1489102,COSM454186,rs7833924
<i>PLEC</i>	chr8	144996408	T	G	0,2463	rs11778026
<i>PLEC</i>	chr8	144996598	G	A	0,2454	rs11786903

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
PLEC	chr8	144996635	G	A	0,2445	rs11786934
PLEC	chr8	144997656	C	T	0,2454	COSM454191,COSM1489104,COSM454190,rs7016416
PLEC	chr8	144997927	G	A	0,2454	rs7002002
PLEC	chr8	144998169	C	T	0,2454	rs1140522
PLEC	chr8	144998190	A	G	0,2463	rs2857829
PLEC	chr8	144999417	C	T	0,2445	rs55836855
PLEC	chr8	144999621	C	T	0,2321	rs55646585
PLEC	chr8	144999642	A	C	0,2463	rs56117011
PLEC	chr8	144999684	A	G	0,2482	rs35916068
PLEC	chr8	145000056	T	C	0,2454	rs7002152
PLEC	chr8	145000898	A	G	0,2454	rs56401829
PLEC	chr8	145001031	T	C	0,446	COSM150563,COSM150562,rs55895668
PLEC	chr8	145001267	G	A	0,1007	rs62522552
PLEC	chr8	145001300	T	A	0,2454	rs55984967
PLEC	chr8	145001311	T	C	0,2454	rs55812715
PLEC	chr8	145001372	T	C	0,244	rs11782890
PLEC	chr8	145001509	T	C	0,2454	rs11136333
PLEC	chr8	145001588	C	T	0,2454	COSM454197,COSM1489106,COSM454196,rs11136334
PLEC	chr8	145001784	A	G	0,2454	rs3135109
PLEC	chr8	145003777	G	A	0,2358	rs11136335
PLEC	chr8	145004546	G	A	0,364	rs11780911
PLEC	chr8	145005688	A	AC	0,2839	rs35671527
PLEC	chr8	145007187	G	A	0,2399	rs11136336
PLEC	chr8	145007534	C	T	0,3906	rs7003580
PLEC	chr8	145008342	C	A	0,2344	rs11782331
PLEC	chr8	145008443	A	T	0,2418	rs11783772
PLEC	chr8	145008560	A	G	0,2408	rs11783799
PLEC	chr8	145008706	C	T	0,2408	rs11782433
PLEC	chr8	145008931	G	C	0,3846	rs6994460
PLEC	chr8	145011204	A	G	0,2413	rs6993938
PLEC	chr8	145012466	A	G	0,2413	rs11136338
PLEC	chr8	145012777	C	G	0,2418	rs7823393
ALDH1 B1	chr9	38396065	G	T	0,4199	rs2073478,COSM1462466
ALDH1 B1	chr9	38397915	G	A	0,4716	rs7859877
ALDH1 A1	chr9	75515809	C	G	0,0179	rs8187999
ALDH1 A1	chr9	75539077	G	A	0,391	rs3739962
ALDH1 A1	chr9	75545882	G	A	0,3887	rs13959
MURC	chr9	103340309	T	C	0,3063	rs1226591

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
<i>MURC</i>	chr9	103340369	G	A	0,3063	rs1226590
<i>MURC</i>	chr9	103340875	T	C	0,2358	rs1226589
<i>MURC</i>	chr9	103348634	G	A	0,3008	rs2780956
<i>MURC</i>	chr9	103350089	C	T	0,4835	rs1135455
<i>FKTN</i>	chr9	108398331	T	G	0,2115	rs10978177
<i>FKTN</i>	chr9	108403163	T	A	0,212	rs1048215,FKTN:c.*56 18T>A
<i>NEBL</i>	chr10	21071191	G	C	0,4057	rs1043121
<i>NEBL</i>	chr10	21073287	AT	A	0,4451	rs111346650
<i>NEBL</i>	chr10	21074455	T	C	0,2647	rs2296613
<i>NEBL</i>	chr10	21104694	A	T	0,4721	rs4748727
<i>NEBL</i>	chr10	21108377	C	T	0,2047	rs1006363
<i>NEBL</i>	chr10	21112111	A	T	0,2807	rs11012353
<i>NEBL</i>	chr10	21115332	T	C	0,4725	rs1409348
<i>NEBL</i>	chr10	21141440	AG	A	0,245	rs3831100
<i>MYPN</i>	chr10	69933921	G	A	0,3585	rs10997975
<i>MYPN</i>	chr10	69933969	G	A	0,3443	rs7916821
<i>MYPN</i>	chr10	69934258	C	G	0,4789	rs3814182
<i>MYPN</i>	chr10	69954290	G	A	0,375	rs7081213
<i>MYPN</i>	chr10	69959345	GCTGGGA	G	0,3727	rs11279655
<i>MYPN</i>	chr10	69959397	G	A	0,3768	rs7079974
<i>MYPN</i>	chr10	69969986	C	T	0,2958	rs10998022
<i>MYPN</i>	chr10	69970895	G	C	0,3791	rs876489
<i>MYPN</i>	chr10	69971136	GA	G	0,3741	rs201204017
<i>MYPN</i>	chr10	69971138	AG	A	0,3768	rs3217542
<i>VCL</i>	chr10	75867193	G	T	0,1195	rs2279648
<i>VCL</i>	chr10	75879750	G	A	0,1726	rs8255
<i>LDB3</i>	chr10	88428158	T	C	0,19	rs2803555
<i>LDB3</i>	chr10	88428167	G	T	0,3539	rs11812601
<i>LDB3</i>	chr10	88428335	T	C	0,2637	rs2803558
<i>LDB3</i>	chr10	88445385	G	C	0,3988	rs3740345
<i>ANKRD1</i>	chr10	92675649	GA	G	0,1818	rs3839929
<i>RBM20</i>	chr10	112544655	C	T	0,179	rs7077757
<i>ADRB1</i>	chr10	115805056	G	C	0,2981	rs1801253
<i>BAG3</i>	chr10	121410904	G	C	0,0247	rs192502283
<i>BAG3</i>	chr10	121429633	T	C	0,0994	rs2234962
<i>BAG3</i>	chr10	121429762	C	G	0,2935	rs196326
<i>CYP2E1</i>	chr10	135340829	G	T	0,0302	rs6413420
<i>CYP2E1</i>	chr10	135341935	C	T	0,0169	rs41299410
<i>CYP2E1</i>	chr10	135345811	T	C	0,0298	rs6413421
<i>CYP2E1</i>	chr10	135350490	A	AGATGGGTGGAT	0.4931&-:0.4931	rs147973606,rs147973606
<i>KCNQ1</i>	chr11	2549334	GGC	G	0,4464	rs199528268

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
<i>KCNQ1</i>	chr11	2683357	A	G	0,4963	rs760419
<i>KCNQ1</i>	chr11	2790163	T	C	0,0582	rs11024034
<i>KCNQ1</i>	chr11	2797237	G	A	0,2001	rs1057128,LQTS_AF000571.1:c.1638G>A
<i>KCNQ1</i>	chr11	2797320	A	G	0,3324	rs163150
<i>KCNQ1</i>	chr11	2799299	G	T	0,0188	rs41282928
<i>KCNQ1</i>	chr11	2869188	C	T	0,1177	rs11601907,LQTS_AF000571.1:c.1986C>T
<i>KCNQ1</i>	chr11	2870108	A	G	0,4858	rs8234
<i>KCNQ1</i>	chr11	2870165	A	G	0,4899	rs10798
<i>CSRP3</i>	chr11	19206426	A	T	0,2775	rs2288251
<i>CSRP3</i>	chr11	19207841	C	T	0,0517	rs13451
<i>MYBPC3</i>	chr11	47365199	G	A	0,2546	rs2856650
<i>MYBPC3</i>	chr11	47371484	AG	A	0,397	rs11570050
<i>MYBPC3</i>	chr11	47371578	G	A	0,0147	rs3218719
<i>LDHB</i>	chr12	21799803	T	G	0,022	rs67155709
<i>ABCC9</i>	chr12	22005003	T	G	0,3164	rs2307024
<i>ABCC9</i>	chr12	22035873	C	T	0,4364	rs1356368
<i>ABCC9</i>	chr12	22063337	A	G	0,3356	rs4148656
<i>KRAS</i>	chr12	25358650	A	T	0,4478	rs12245
<i>KRAS</i>	chr12	25358943	T	C	0,4487	rs8720
<i>KRAS</i>	chr12	25358969	T	G	0,4647	rs1137196
<i>KRAS</i>	chr12	25359466	AC	A	0,467	rs201705904
<i>KRAS</i>	chr12	25361756	C	A	0,0508	rs61763590
<i>PKP2</i>	chr12	32943617	C	T	0,4918	rs10771995
<i>PKP2</i>	chr12	32944158	CA	C	0,4922	rs11476598
<i>PKP2</i>	chr12	32945107	G	C	0,4977	rs12612
<i>PKP2</i>	chr12	32948969	CA	C	0,315	rs71447623
<i>PKP2</i>	chr12	32974245	C	T	0,3787	rs10772008
<i>PKP2</i>	chr12	33049781	G	A	0,4267	rs187291890
<i>GPD1</i>	chr12	50503269	C	T	0,2537	rs836180
<i>TMPO</i>	chr12	98925362	G	C	0,0206	rs17028432
<i>TMPO</i>	chr12	98928490	A	T	0,0206	rs17028453
<i>MYL2</i>	chr12	111348550	C	G	0,1685	rs12812271
<i>MYL2</i>	chr12	111350999	G	A	0,1671	rs2233260
<i>MYL2</i>	chr12	111351029	TC	T	0,2628	rs3833910
<i>MYH6</i>	chr14	23856896	A	G	0,4776	rs178642
<i>MYH6</i>	chr14	23861811	A	G	0,3599	rs365990
<i>MYH6</i>	chr14	23865885	G	A	0,3521	rs452036
<i>MYH6</i>	chr14	23866713	A	G	0,3049	rs412768
<i>MYH6</i>	chr14	23872666	T	C	0,206	rs434273
<i>MYH6</i>	chr14	23874117	T	C	0,3182	rs440466

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
<i>MYH6</i>	chr14	23874541	C	T	0,0563	rs17277970
<i>MYH6</i>	chr14	23876267	C	T	0,0559	rs28711516
<i>MYH6</i>	chr14	23882144	T	C	0,3709	rs2284651
<i>MYH7</i>	chr14	23884137	T	A	0,1186	rs3729832
<i>MYH7</i>	chr14	23884889	C	T	0,12	rs3729830
<i>MYH7</i>	chr14	23885997	G	A	0,3384	rs3729828,rs59799414
<i>MYH7</i>	chr14	23887645	T	C	0,3388	rs7159367
<i>MYH7</i>	chr14	23888323	T	TG	0,3233	rs34598192
<i>MYH7</i>	chr14	23888665	A	T	0,3233	rs2277475
<i>MYH7</i>	chr14	23892888	A	G	0,3558	COSM147748,rs7157716
<i>MYH7</i>	chr14	23893453	G	A	0,119	rs45457293
<i>MYH7</i>	chr14	23895083	T	C	0,1973	rs3729818,rs77249170
<i>MYH7</i>	chr14	23898994	G	A	0,1442	COSM1562687,rs2231126
<i>MYH7</i>	chr14	23899725	A	G	0,1525	rs3729810
<i>MYH7</i>	chr14	23900794	G	A	0,2257	rs2069542
<i>MYH7</i>	chr14	23902753	G	A	0,4702	rs2069540
<i>MYH7</i>	chr14	23903380	A	G	0,4734	rs2239578
<i>ACTC1</i>	chr15	35080523	T	C	0,4098	rs604689
<i>ACTC1</i>	chr15	35081168	G	C	0,201	rs8037241
<i>ACTC1</i>	chr15	35082141	A	G	0,1273	rs1370155
<i>ACTC1</i>	chr15	35082225	C	T	0,2779	rs1370154
<i>ACTC1</i>	chr15	35084215	C	G	0,277	rs3729755
<i>ACTC1</i>	chr15	35088203	A	G	0,2541	rs496394
<i>TPM1</i>	chr15	63336099	C	G	0,0385	rs62013181
<i>TPM1</i>	chr15	63363490	T	C	0,0147	rs138843544
<i>TPM1</i>	chr15	63363654	A	G	0,3072	rs8519
<i>TPM1</i>	chr15	63363901	C	T	0,3091	rs6738
<i>TCAP</i>	chr17	37821770	C	T	0,0348	rs2941510,TCAP:c.110+48C>T
<i>TCAP</i>	chr17	37822311	A	C	0,4254	COSM436493,rs1053651,TCAP:c.453A>C
<i>JUP</i>	chr17	39912145	T	A	0,4286	rs1126821
<i>JUP</i>	chr17	39925925	A	G	0,2949	rs7405731
<i>JUP</i>	chr17	39942819	TGC	T	0,3901	rs147461274
<i>JUP</i>	chr17	39942919	T	C	0,3842	rs4796702
<i>ACE</i>	chr17	61556298	C	G	0,3636	rs4295
<i>ACE</i>	chr17	61559923	C	T	0,4208	rs4309
<i>ACE</i>	chr17	61560763	T	C	0,3498	rs4311
<i>ACE</i>	chr17	61562309	C	T	0,495	rs4316,COSM437110
<i>ACE</i>	chr17	61562490	A	AG	0.4895&-:0.4895	rs144726912,rs144726912
<i>ACE</i>	chr17	61562553	G	A	0,4918	rs4320
<i>ACE</i>	chr17	61562774	T	C	0,4831	rs4321

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
<i>ACE</i>	chr17	61564052	A	G	0,4762	rs4331
<i>ACE</i>	chr17	61564281	T	C	0,4831	rs4332
<i>ACE</i>	chr17	61564522	T	C	0,4657	rs4333
<i>ACE</i>	chr17	61565990	G	C	0,4826	rs4341
<i>ACE</i>	chr17	61566031	G	A	0,381	rs4343
<i>ACE</i>	chr17	61573761	T	C	0,4405	rs4362
<i>ACE</i>	chr17	61574492	G	A	0,446	rs4363
<i>GAA</i>	chr17	78078709	T	C	0,3063	rs1800300
<i>GAA</i>	chr17	78079481	C	G	0,3878	rs8069491
<i>GAA</i>	chr17	78079544	C	G	0,3878	rs3816256
<i>GAA</i>	chr17	78079597	A	G	0,3832	rs1042393
<i>GAA</i>	chr17	78079669	G	A	0,3878	rs1042395
<i>GAA</i>	chr17	78081526	A	AGCAGCGG	0,3938	rs3071247
<i>GAA</i>	chr17	78081707	G	A	0,3878	rs2252455
<i>GAA</i>	chr17	78082504	G	A	0,3906	rs1800304
<i>GAA</i>	chr17	78084507	G	C	0,3906	rs2304844
<i>GAA</i>	chr17	78086953	G	A	0,2308	rs2304833
<i>GAA</i>	chr17	78087109	A	G	0,2637	rs1800310,COSM1162489
<i>GAA</i>	chr17	78090928	G	A	0,2399	rs2304832
<i>GAA</i>	chr17	78091405	G	A	0,3063	rs1126690
<i>GAA</i>	chr17	78093353	C	T	0,1955	rs8132
<i>MIB1</i>	chr18	19321247	G	A	0,2509	rs7243281
<i>MIB1</i>	chr18	19449678	C	G	0,2569	rs45495193
<i>MIB1</i>	chr18	19450386	T	C	0,3288	rs1046936
<i>DSC2</i>	chr18	28673565	T	C	0,1154	rs12954874
<i>DSG2</i>	chr18	29098323	G	A	0,38	rs2276149
<i>DSG2</i>	chr18	29101230	T	A	0,1236	rs55657337
<i>DSG2</i>	chr18	29104698	C	T	0,4876	rs2230233
<i>DSG2</i>	chr18	29116462	T	C	0,1282	rs2276150
<i>DSG2</i>	chr18	29125854	A	G	0,1873	rs1042769
<i>DSG2</i>	chr18	29126670	T	C	0,4565	rs1791235
<i>DSG2</i>	chr18	29128045	G	A	0,1071	rs9304101
<i>DSG2</i>	chr18	29128418	C	CTG	0.4625&-:0.4625	rs76557644,rs76557644
<i>DSG2</i>	chr18	29128572	T	C	0,4556	rs1047433
<i>DSG2</i>	chr18	29128951	G	A	0,4565	rs1791233
<i>DSG2</i>	chr18	29129060	T	G	0,2065	rs1449077
<i>TTR</i>	chr18	29179040	C	T	0,4432	rs1791228
<i>DTNA</i>	chr18	32386125	T	C	0,1287	rs4458079
<i>CXADR</i>	chr21	18885168	A	G	0,3269	rs2739389
<i>CXADR</i>	chr21	18932934	T	A	0,3397	rs979190
<i>CXADR</i>	chr21	18933557	A	AAC	0,0678	rs200024200

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	SSXT_PH_1110	MAF	ID dbSNP
CXADR	chr21	18933828	A	G	0,179	rs2824359
CXADR	chr21	18938260	T	G	0,3741	rs393317
CXADR	chr21	18938677	T	C	0,3036	rs422668,rs76443885, rs78727192
CXADR	chr21	18939429	T	C	0,3017	rs420854,rs55965029
CXADR	chr21	18939446	C	T	0,1941	rs62239918
CXADR	chr21	18940524	G	T	0,3086	rs2737874
CXADR	chr21	18940648	G	A	0,3306	rs1784914
CXADR	chr21	18940900	A	G	0,3347	rs454870
CXADR	chr21	18940923	G	C	0,3027	rs428017
CXADR	chr21	18941087	G	A	0,3338	rs453096
CXADR	chr21	18941115	C	G	0,1795	rs13052678
CXADR	chr21	18941263	A	G	0,2092	rs2824365
CXADR	chr21	18941701	C	T	0,2573	rs445896
CXADR	chr21	18941975	G	C	0,3338	rs442217
KCNE1	chr21	35820324	T	C	0,4886	rs11909074
KCNE1	chr21	35821821	T	C	0,332	rs1805127,rs19980948 6,LQTS_4557686:c.11 2G>A
DMD	chrX	31676096	G	A	0,3213	rs2270672,DMD:c.802 7+11C>T
DMD	chrX	32363964	A	AAG	0,2188	rs10626188
DMD	chrX	32503194	T	C	0,27	rs228406,DMD:c.2645 G>A
DMD	chrX	32563488	A	C	0,2188	rs115571,DMD:c.1993 -37T>G
DMD	chrX	32716169	T	C	0,0127	rs41303183,DMD:c.83 2-54A>G
LAMP2	chrX	119571541	T	C	0,2236	rs42889
LAMP2	chrX	119572586	C	A	0,3177	rs45622238
TAZ	chrX	153640060	CT	C	0,1905	rs11388353

ANEXO V

FORMULARIO DE PETICIÓN, CONSENTIMIENTO INFORMADO, MODELO INFORME MCH, MODELO INFORME MUERTE SÚBITA

A) FORMULARIO PETICIÓN



SISTEMAS GENÓMICOS S.L. • Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980-Paterna (Valencia) SPAIN • Tel. +34 902 364 669
Fax. +34 902 364 670 • www.sistemasgenomicos.com • ugm@sistemasgenomicos.com

SOLICITUD DE ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR DE PATOLOGÍAS HEREDITARIAS

*Obligatorio para realizar el ensayo

1. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

*Médico (Nombre y apellidos)

*Hospital/Clinica

*Unidad/Servicio:

*Teléfono

*Fax

*Email

USO INTERNO

Cód. Muestra:

Ref. ensayo:

Historia Clínica SSGG:

Fecha entrada:

Fecha salida:

2. INFORMACIÓN DEL PACIENTE

*Apellidos

*Nombre

*Fecha nacimiento (dd/mm/año)

*Género: F M

*Étnia: Afroamericano Asiático Caucásico Hispano Judío Otro. Especificar

*Teléfono:

Referencia muestra

Tipo de muestra: Sangre en EDTA (recomendado para MLPA, Secuenciación masiva y Microarrays)

Sangre en papel FTA

ADN resuspendido en (indicar) Agua TE Otros (especificar)

Tejido tumoral congelado

Tejido tumoral parafinado

Líquido amniótico

Otros (especificar)

3. INFORMACIÓN CLÍNICA (obligatorio para paneles de secuenciación masiva)

Finalidad del estudio: Confirmación de diagnóstico clínico

Estatus de portador

Otros, especificar

Desea ser informado sobre genes implicados en otras enfermedades no relacionadas con el diagnóstico en estudio? SI NO

*Historia clínica (paciente)

Antecedentes personales de enfermedad genética o anomalías? Sí No

Diagnóstico (s). Por favor indique el diagnóstico médico

Información adicional/Otros antecedentes (incluya cualquier estudio genético previo)

Resultado del estudio (adjunte el informe)

*Historia clínica relevante de la familia (adjunte árbol genealógico)

Materna (parte de la madre)

Relación con el paciente

Tipo de enfermedad

Edad al diagnóstico

Paterna (parte del padre)

Relación con el paciente

Tipo de enfermedad

Edad al diagnóstico

Adicional/Otra (Hermanos/Hijos)

Relación con el paciente

Tipo de enfermedad

Edad al diagnóstico

Los datos personales que usted nos ha facilitado en este documento, incluidos aquellos que se soliciten adicionalmente conforme a la necesidad del estudio genético que nos ocupa, pasarán a formar parte de un fichero titularidad de SISTEMAS GENÓMICOS S.L. domiciliada en Parque Tecnológico de Valencia, Ronda G. Marconi, 6. Teléfono 902 364 669 (46980 Paterna, Valencia). SISTEMAS GENÓMICOS S.L., destinataria de la información que nos proporciona, usará y tratará sus datos para el cumplimiento de la finalidad diagnóstica y de seguimiento descrita a lo largo del presente documento. Asimismo, en cumplimiento con el artículo 5 de la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (Ley 15/1999, de 13 de diciembre) usted tiene los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición. Los referidos derechos podrá ejercitarlos gratuitamente en las siguientes direcciones (Parque Tecnológico de Valencia, Ronda G. Marconi, 6 46980 Paterna o por mail: ugm@sistemasgenomicos.com).

Rev. 4

Página 1 de 2



SISTEMAS GENÓMICOS S.L. • Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980-Paterna (Valencia) SPAIN • Tel. +34 902 364 669
 Fax. +34 902 364 670 • www.sistemasgenomicos.com • ugm@sistemasgenomicos.com

SOLICITUD DE ESTUDIO GENÉTICO MOLECULAR DE PATOLOGÍAS HEREDITARIAS

4. ESTUDIOS GENÉTICOS PREVIOS

Nombre del gen:

Mutaciones previamente detectadas:

Indique la metodología mediante la cual se identificó la mutación:

Secuenciación

MLPA

Laboratorio que realizó el estudio:

Por favor, incluya copia del informe si fue realizado por otro laboratorio

Paciente ya estudiado en Sistemas Genómicos? Sí No

Familia ya estudiada en Sistemas Genómicos? Sí No

Nombre Fecha Nacimiento Relación

5. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Al solicitar el estudio genético, el médico o profesional autorizado reconoce que al paciente se le ha informado sobre las pruebas genéticas y el paciente ha dado su consentimiento para las pruebas genéticas a realizar y que su consentimiento firmado se ha archivado en su expediente.

Confirmando que esta prueba es médicamente necesaria para el diagnóstico o la detección de una enfermedad, discapacidad, síndrome o trastorno, y que estos resultados pueden ser utilizados en las decisiones de tratamiento para este paciente.

Ha dado el paciente su consentimiento al uso de su muestra en investigación? Sí No

Se asume el consentimiento si la casilla se deja en blanco

* Firma del médico

Fecha:

6. * ESTUDIO SOLICITADO

Referencia LV	Descripción

*Por favor, indique la referencia LV del estudio solicitado que encontrará en nuestra web.

Los datos personales que usted nos ha facilitado en este documento, incluidos aquellos que se soliciten adicionalmente conforme a la necesidad del estudio genético que nos ocupa, pasarán a formar parte de un fichero titularidad de SISTEMAS GENÓMICOS S.L. domiciliada en Parque Tecnológico de Valencia, Ronda G. Marconi, 6. Teléfono 902 364 669 (46980 Paterna, Valencia). SISTEMAS GENÓMICOS S.L., destinataria de la información que nos proporciona, usará y tratará sus datos para el cumplimiento de la finalidad diagnóstica y de seguimiento descrita a lo largo del presente documento. Asimismo, en cumplimiento con el artículo 5 de la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (Ley 15/1999, de 13 de diciembre) usted tiene los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición. Los referidos derechos podrá ejercitarlos gratuitamente en las siguientes direcciones (Parque Tecnológico de Valencia, Ronda G. Marconi, 6 46980 Paterna o por mail: ugm@sistemasgenomicos.com).
 Rev. 4

B) CONSENTIMIENTO INFORMADO



CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS

Escriba el estudio genético que se le va a realizar:

Por favor, marque la casilla de cada declaración como reconocimiento de que usted ha leído y comprendido la información.

Entiendo la información siguiente sobre el propósito de la prueba y la metodología:

El propósito de este estudio genético molecular es determinar si usted es portador de una mutación (o más) que sea/n la causa o incremente/n la susceptibilidad de padecer una enfermedad genética de tipo hereditario. Esta prueba incluirá el análisis de todos los genes incluidos en la prueba seleccionada. Su médico le puede proporcionar más información sobre la enfermedad genética específica asociada a los genes incluidos en la prueba seleccionada.

La muestra de sangre, fluido corporal o tejido enviado son necesarios para el aislamiento y purificación del ADN a partir del cual se realizará el análisis genético molecular por secuenciación masiva.

Entiendo la información siguiente con respecto a la política de divulgación de resultados de Sistemas Genómicos:

Debido a la complejidad de las pruebas basadas en el ADN y las implicaciones de los resultados de las pruebas, estos resultados se comunicarán a su médico y usted debe ponerse en contacto con él para conocer los resultados de la prueba.

Adicionalmente, los resultados de la prueba podrían entregarse a todos los que, por ley, puedan tener acceso a dichos datos.

Entiendo la siguiente información relativa a los resultados de las pruebas:

Las mutaciones en los genes incluidos en esta prueba pueden estar asociadas a distintas enfermedades genéticas hereditarias y pueden estar asociadas también a diferentes niveles de riesgo de padecer la enfermedad. La detección de la enfermedad genética y la orientación médica dependerán del gen (es) en que se encuentre una mutación. Los riesgos de estas enfermedades y las recomendaciones de seguimiento puede que no estén claramente definidas para algunos de los genes en este estudio debido a falta de información y conocimiento científico a esta fecha. Puede haber una variabilidad significativa en la edad de aparición y en la severidad de la enfermedad, que no necesariamente es predecible a partir de los resultados de la prueba. Si las mutaciones se identifican en más de un gen (en el caso de paneles), puede que no haya suficiente información disponible para determinar cómo estas mutaciones, combinadas, afectan en el riesgo de padecer una enfermedad genética.

Los resultados de esta prueba podrían estar asociados a un mayor riesgo a condiciones de salud no genéticas. Estos riesgos pueden variar dependiendo del panel seleccionado, los genes analizados y los resultados de las pruebas. Esto debería discutirlo con su médico.

Los resultados de las pruebas genéticas tienen implicaciones para los miembros de su familia. Si una vez hecha la prueba, se detecta que Vd. es portador de una mutación/variante en cualquiera de los genes analizados, esto puede tener implicaciones para los miembros de su familia. Esto debería discutirlo con su médico.

Hay varios tipos de resultados que pueden ser generados como resultado de las pruebas genéticas, incluyendo:

Positivo – Se ha identificado una mutación en un gen asociado con una mayor susceptibilidad a padecer enfermedad genética. Esto, o bien confirma un diagnóstico de una enfermedad genética específica si usted es sintomático, o significa que tiene un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. El tipo específico (s) de enfermedad genética que Ud. podría desarrollar con un alto riesgo depende del gen específico analizado. Su médico hará las recomendaciones médicas adecuadas en base a lo que se conoce acerca del gen (s) en el que se detectó una mutación. Podría haber un riesgo elevado de padecer problemas de salud no genéticas dependiendo del gen y la mutación específica identificada.

Negativo - No se identificaron mutaciones en ninguno de los genes probados. Este resultado reduce la probabilidad de que usted tenga una mutación en los genes probados (ver limitaciones de las pruebas). Su médico continuará con el seguimiento y las recomendaciones para el tratamiento médico basadas en su historia personal y /o antecedentes familiares.

Variante – Se ha identificado una alteración en uno o más genes, sin embargo, no hay suficiente información para determinar si este cambio se asocia con un mayor riesgo de padecer una enfermedad genética. Un examen exhaustivo de la variante y de la literatura asociada, puede sugerir que una variante es más probable que sea causante de la enfermedad o benigna, con el conocimiento científico a esta fecha. Sin embargo, en algunos casos, el significado no está claro.



CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS

Es recomendable que cualquier persona que vaya a someterse a una prueba genética solicite un consejo genético previo a la realización de las pruebas y a la recepción de los resultados. Este procedimiento debe ser realizado por un especialista calificado, como un consejero genético o genetista médico.

Entiendo que esta prueba genética molecular puede requerir una muestra adicional de sangre, fluidos corporales, o muestra de tejido para obtener resultados precisos.

Entiendo la información siguiente con respecto a las limitaciones técnicas de esta prueba:

Aunque este ensayo está diseñado para identificar las mutaciones más detectables en los genes analizados, es posible que haya mutaciones que esta tecnología sea incapaz de detectar. Además, puede haber otros genes asociados con las enfermedades genéticas de tipo heterogéneo que no están incluidos en este panel o que no se conocen en este momento.

Doy mi consentimiento a ser informado sobre genes implicados en otras enfermedades no relacionadas con el diagnóstico en estudio?

SI NO

Entiendo la siguiente información acerca de las limitaciones del laboratorio:

Entiendo que pueden producirse resultados inexactos por los siguientes motivos, entre otros: intercambio/cruce de muestras, muestras de familiares críticos no disponibles, información médica inexacta o engañosa sobre su condición clínica o la de sus familiares, o problemas técnicos.

Entiendo la siguiente información sobre el uso de muestras para la investigación:

Una vez terminada la prueba, su muestra de sangre, fluido corporal o tejido puede eliminarse o retenerse indefinidamente para la investigación, validación de pruebas y/o formación en Sistemas Genómicos siempre que esté asegurada su privacidad. No recibirá ninguna compensación por los resultados de la I+D desarrollada con el uso de sus muestras. Usted puede negarse a ceder su muestra para el uso descrito y puede retirar su consentimiento en cualquier momento poniéndose en contacto con su médico. Su negativa a consentir la cesión de su muestra para la investigación médica no afectará a sus resultados. Indique a continuación si da su consentimiento o no.

Doy mi consentimiento para el uso de mi muestra de ADN con fines de investigación.

No doy mi consentimiento para el uso de mi muestra de ADN con fines de investigación.

Entiendo que Sistemas Genómicos se reserva el derecho a:

Proponer las pruebas moleculares adicionales si es de ayuda para resolver su genotipo clínico.

Rechazar la pruebas, si una de las condiciones de este documento de consentimiento informado no se cumple.

Entiendo la siguiente información con respecto a mi responsabilidad financiera:

Si la solicitud de cancelación de la prueba se recibe antes del inicio de la prueba, no se realizará cargo alguno. Una vez iniciada la prueba, la cancelación no es posible.

He leído o se me han leído todas las declaraciones anteriores y entiendo la información en relación a las pruebas genético-moleculares y he tenido la oportunidad de hacer las preguntas que pueda tener acerca de la prueba, el procedimiento, sus riesgos y las alternativas antes de dar mi consentimiento informado. Estoy de acuerdo en que me realicen la prueba genética molecular.

.

Firma del paciente (o padre / tutor si el paciente es un menor de edad) Fecha

Nombre del Paciente

Nombre y relación (padre / tutor si el paciente es un menor de edad)

C) MODELO INFORME MCH



LABORATORIO AUTORIZADO Nº 5479
 CONSELLERIA DE SANITAT.
 GENERALITAT VALENCIANA.

RESUMEN DE INFORME DE RESULTADOS: ESTUDIO POR SECUENCIACIÓN MASIVA DE MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA

DATOS DE LA MUESTRA	DATOS DEL PACIENTE
Referencia interna:	Nombre y Apellidos:
MUESTRA ENVIADA POR:	
Dra:	Genética. Hospital

ESTUDIO SOLICITADO: Secuenciación masiva del panel de 24 genes asociados a Miocardiopatía Hipertrófica: ACTC1, ACTN2, CAV3, CSRFP3, JPH2, LAMP2, LDB3, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOZ2, PLN, PRKAG2, SLC25A4, TCAP, TNNC1, TNNB3, TNNT2, TPM1, TTN y VCL.

INDICACIÓN CLÍNICA: Varón de 53 años con miocardiopatía hipertrófica asimétrica de predominio septal con obstrucción moderada en TSVI. Aurícula izquierda y raíz aórtica ligeramente dilatadas. Válvula aórtica trivalva, engrosada con apertura conservada. Intolerancia a betabloqueantes. Implante de DAI en 2007. Hermana con MCH.

RESULTADOS: El análisis por secuenciación masiva, en la muestra XXXX, de los genes del panel de miocardiopatía hipertrófica, ha detectado los siguientes cambios nucleotídicos:

Gen	Cambio de nucleótido [‡]	Aminoácido [‡]	Efecto	Genotipo [‡]
MYBPC3	Chr11(GRCh37):g.47369975C>T NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys	Patogénico	[c.772G>A];[=]
LDB3	Chr10(GRCh37):g.88446830G>A NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn	Probablemente patogénico	[c.349G>A];[=]
ACTN2	Chr1(GRCh37):g.236917337G>A NM_001103.2:c.1930G>A	p.Ala644Thr	Incierto	[c.1930G>A];[=]

[‡] Se ha empleado la nomenclatura recomendada por la Human Genome Variation Society (HGVS).

INTERPRETACIÓN CLÍNICO-BIOLÓGICA

El cambio nucleotídico c.772G>A (p.Glu258Lys) en el gen MYBPC3 ha sido descrito previamente como mutación causante de miocardiopatía hipertrófica [13-21]. Afecta al último nucleótido del exón 6 de MYBPC3, y supone la pérdida fuera del marco de lectura de este exón al alterarse el sitio donador de splicing del intrón 6, y como consecuencia, aparece un codón de parada prematuro y se produce una proteína truncada de tan sólo 246 aminoácidos (su tamaño normal es de 1274 aminoácidos). El cambio nucleotídico c.349G>A (p.Asp117Asn) en el gen LDB3 ha sido descrito en una única publicación [22] como causante de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo. Estos hallazgos son compatibles con el diagnóstico clínico del paciente. En alrededor de un 5% de casos reportados, se encuentran dos mutaciones diferentes en heterocigosis.

Se adjunta informe completo con anexo I de variantes polimórficas.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

XXXXXX es portador de la mutación c.772G>A (p.Glu258Lys) en el gen MYBPC3, que ha sido descrita como causante de miocardiopatía hipertrófica. También es portador de la variante probablemente patogénica c.349G>A (p.Asp117Asn) en el gen LDB3, que ha sido descrita como causante de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo. Se recomienda realizar un estudio de co-segregación de estos cambios en parientes sanos y afectados del paciente, para establecer la implicación de ambos cambios en la patología del paciente. Se recomienda un adecuado asesoramiento genético en un contexto familiar.

NOTAS:

- Los datos obtenidos en este estudio son confidenciales y deben ser manejados sobre la base de estrictos principios de privacidad.
- Este estudio se basa en la secuenciación completa de la región codificante y regiones intrónicas adyacentes del gen. Grandes deleciones, reordenamientos, o mutaciones que afecten a regiones intrónicas profundas del gen no son detectadas mediante la metodología utilizada.
- Mutaciones por inserción de más de 4 pb o por deleción de más de 11 nucleótidos no pueden ser detectadas mediante la metodología empleada.

Paterna,

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
 EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
 PÁG. 1 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.
 Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
 Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

INFORME DE RESULTADOS: ESTUDIO GENÉTICO DE MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA POR SECUENCIACIÓN MASIVA

DATOS DE LA MUESTRA

Referencia externa:
Referencia interna:
Fecha de entrada:
Tipo de muestra:

DATOS DEL PACIENTE

Nombre:
Apellidos:
Fecha de nacimiento:
Sexo:

MUESTRA ENVIADA POR:

Dr./ Dra.:
Hospital/Clínica:
Unidad/Servicio:

EXISTENCIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO: Sí.

ESTUDIO SOLICITADO: Secuenciación masiva del panel de 24 genes asociados a Miocardiopatía Hipertrófica: ACTC1, ACTN2, CAV3, CSRP3, JPH2, LAMP2, LDB3, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOZ2, PLN, PRKAG2, SLC25A4, TCAP, TNNT1, TNNT2, TNNT3, TPM1, TTN y VCL.

INDICACIÓN CLÍNICA: Varón de 53 años con miocardiopatía hipertrófica asimétrica de predominio septal con obstrucción moderada en TSVI. Aurícula izquierda y raíz aórtica ligeramente dilatadas. Válvula aórtica trivalva, engrosada con apertura conservada. Intolerancia a betabloqueo. Implante de DAI en 2007. Hermana con MCH.

BASES BIOLÓGICAS DEL ESTUDIO

Miocardiopatía Hipertrófica (CMH) se caracteriza por hipertrofia primaria del ventrículo izquierdo. Las manifestaciones clínicas de esta patología pueden variar desde ausencia de síntomas hasta insuficiencia cardíaca progresiva. El cuadro clínico incluye síncope, disnea, angina de pecho, palpitaciones y la primera manifestación puede ser muerte súbita en jóvenes, con alta variabilidad de un individuo a otro, incluso dentro de la misma familia. El 20% de pacientes pueden desarrollar fibrilación auricular y puede estar asociado a embolia.

Su prevalencia es de 1/500 y se hereda por un modelo autosómico dominante con alta heterogeneidad alélicas y genética que produce penetrancia y expresividad variable y un riesgo de afectación en parientes de primer grado del 50%.

Desde el punto de vista genético, se han descrito al menos 14 formas de CMH asociadas a 24 genes nucleares así como varias formas mitocondriales y síndromicas no incluidas en este protocolo. Se produce por mutaciones en uno o más de los 24 genes, la mayoría de los cuales codifican para las proteínas sarcoméricas. (Tabla I). Se han descrito más de 600 mutaciones en diversos genes asociadas a distintas formas clínicas. Los genes más frecuentemente alterados son: MYH7 y MYBPC3 y representan al 80% de casos de CMH. Mutaciones en los genes TNNT2, TNNT3 y TPM1 representan del 10 al 15% de afectos. Se detectan mutaciones en el 40-60% de casos esporádicos y en familiares de un afecto. Por otra parte, se han identificado heterocigotos dobles en el 2 al 5% de pacientes con hipertrofia severa. Se ha propuesto que el segundo gen actúa como modificador del fenotipo.

Las mutaciones en los genes del filamento delgado afectan al complejo de la troponina y en particular a la troponina T cardíaca codificada por el gen TNNT2 provocando hipertrofia de miocardio moderada o insignificante y alto riesgo de muerte súbita. Estas mutaciones afectan a la contractilidad del músculo causando hipertrofia compensadora con un incremento de la sensibilidad al Ca²⁺ de los miofilamentos.

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 2 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Las mutaciones en el gen de la troponina I cardíaca (TNNI3) producen incremento de la sensibilidad de los miocitos al Ca^{2+} , desorganización de los miocitos, la fibrosis intersticial sin hipertrofia cardíaca significativa.

Mutaciones en el gen de la troponina C lenta (TNNC1) provoca disminución de la sensibilidad al Ca^{2+} durante el proceso de fosforilación de la troponina C por proteína kinasa A.

La isoforma ζ de Tropomiosina, codificada por el gen TPM1 se expresa en el músculo cardíaco. Aproximadamente el 5% de CMH familiar se debe a mutaciones en este gen especialmente en la población finlandesa en donde llega al 25%. El efecto de hipersensibilidad al Ca^{2+} se ha observado en casos mutados que se manifiestan con disfunción diastólica.

Las actinas sarcoméricas γ y θ actúan en el músculo cardíaco y esquelético y se coexpresan en el miocardio. Las mutaciones en el gen ACTC1 es una causa rara de CMH (1.5% de casos) y producen disminución de la estabilidad térmica del monómero de actina impidiendo la formación de los filamentos.

El músculo cardíaco expresa las isoformas ζ y θ de Miosina. La forma ζ es abundante en las aurículas mientras que la forma θ se expresa predominantemente en los ventrículos y en las fibras tipo I del músculo esquelético. Las mutaciones en el gen MYH7 de la forma θ de miosina son las más frecuentes y se asocian con un fenotipo severo caracterizado por inicio temprano, penetrancia del 100% en adultos y alta incidencia de muerte súbita prematura. Se ha demostrado que mutaciones en este gen producen mayor sensibilidad de los miofilamentos al Ca^{2+} y disfunción diastólica.

Mutaciones en el gen de la cadena ligera de la miosina esencial MYL3 es una causa poco frecuente de CMH (<1%) y se considera de pronóstico benigno mientras que las mutaciones en el gen regulador de la cadena ligera de la miosina MYL2 se ha demostrado que son de mal pronóstico.

Las mutaciones en el gen MYBPC3 son una de las causas genéticas más frecuentes de CMH y se asocia con inicio más tardío, hipertrofia menos severa, baja penetrancia, y un mejor pronóstico en comparación con mutaciones en MYH7 o TNNT2. Algunas mutaciones de MYBPC3 producen proteínas truncadas que no se incorporan correctamente en la banda A del sarcómero sugiriendo un mecanismo de haploinsuficiencia que provoca interferencia en la formación y mantenimiento de la ultraestructura del sarcómero.

La proteína titina codificada por el gen TTN es la proteína determinante de la rigidez pasiva del músculo cardíaco ya que mantiene a la miosina en su posición, actúa como resorte recuperando la longitud de la miofibrilla después de la contracción muscular, mantiene la sensibilidad de los miofilamentos al Ca^{2+} y actúa como regulador de la expresión génica.

Tabla 1. Genes relacionados con Miocardiopatía Hipertrofica

ENFERMEDAD	GEN	LOCUS	Frecuencia mutaciones (%)
MCH1	MYH7	14q11.2	30 a 40
MCH2	TNNT2	1q32	5
MCH3	TPM1	15q22.1	1 a 2
MCH4	MYBPC3	11p11.2	30 a 40
MCH6	PRKAG2	7q36	<1
MCH7	TNNI3	19q34.4	5
MCH8	MYL3	3p21.3	1
MCH9	TTN	2q31	rara
MCH10	MYL2	12q23-24.3	rara
MCH11	ACTC1	15q11-q14	1
MCH12	CSRP3	11p15.1	rara
MCH13	TNNC1	3p21.3-p14.3	<1

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 3 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

ENFERMEDAD	GEN	LOCUS	Frecuencia mutaciones (%)
MCH14	MYH6	14q11.4	<1
MCH15	VCL	10q22.1-q23	rara
OTRAS FORMAS	CAV3	3p25	rara
	SLC25A4	4q35	rara
	TCAP	17q12	<1
	MIOZ2	4q26-q27	<1
	MYLK2	20q13.3	rara
	LDB3	10q22.2-q23.3	rara
	ACTN2	1q42-q43	rara
	PLN	6q22.1	rara
	JPH2	20q12	rara
	CALR3	19p13.12	rara

METODOLOGÍA

1. Extracción y purificación del ADN genómico a partir de la muestra remitida.
2. Preparación de una librería de fragmentos del genoma.
3. Selección de las regiones objeto de estudio mediante hibridación con sondas en solución. Estas regiones incluyen los exones, regiones intrónicas adyacentes y regiones 5' y 3' de los genes.
4. Amplificación clonal de los fragmentos de ADN seleccionados mediante PCR en emulsión.
5. Secuenciación de las regiones seleccionadas mediante ligación de sondas (SOLiD) siguiendo la estrategia de paired-ends.
6. Estudio bioinformático de la secuencia de ADN obtenida por comparación con la secuencia nucleotídica de referencia.
7. Validación por Sanger de los cambios detectados con relevancia clínica y las variantes de significado incierto.
8. Estudios predictivos in silico de las variantes de significado incierto mediante el programa Alamut [12].

RESULTADOS

El análisis por secuenciación masiva, en la muestra XXXXX, de los genes del panel de miocardiopatía hipertrófica (ACTC1, ACTN2, CAV3, CSRP3, JPH2, LAMP2, LDB3, MYBPC3, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK2, MYOZ2, PLN, PRKAG2, SLC25A4, TCAP, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTN y VCL), ha detectado los siguientes cambios nucleotídicos:

Gen	Cambio de nucleótido [‡]	Aminoácido [‡]	Efecto	Genotipo [‡]
MYBPC3	Chr11(GRCh37):g.47369975C>T NM_000256.3:c.772G>A	p.Glu258Lys	Patogénico	[c.772G>A];[=]
LDB3	Chr10(GRCh37):g.88446830G>A NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn	Probablemente patogénico	[c.349G>A];[=]
ACTN2	Chr1(GRCh37):g.236917337G>A NM_001103.2:c.1930G>A	p.Ala644Thr	Incierto	[c.1930G>A];[=]

[‡] Se ha empleado la nomenclatura recomendada por la Human Genome Variation Society (HGVS).

INTERPRETACIÓN BIOLÓGICO-CLÍNICA

En la muestra de XXXXX se ha detectado, en heterocigosis, el cambio c.772G>A en el exón 6 del gen MYBPC3. La presencia de esta variante ha sido confirmada por secuenciación Sanger. El gen MYBPC3 codifica la isoforma cardiaca de la proteína de unión a miosina (myosin-binding protein C). MYBPC3 se expresa únicamente en el corazón, y la regulación de su fosforilación por proteína quinasa A (PKA) después de la estimulación adrenérgica, puede estar relacionada con la modulación de la contracción cardiaca. Mutaciones en el gen MYBPC3 son una de las causas de miocardiopatía hipertrófica familiar de tipo 4 (CMH4).

La variante nucleotídica c.772G>A (p.Glu258Lys) supone un cambio de aminoácido de ácido glutámico a lisina en la posición 258 de la proteína. Este cambio ha sido descrito con anterioridad en las bases de datos consultadas [13-21] como mutación patogénica asociada a miocardiopatía hipertrófica. Este cambio se localiza en el último nucleótido del exón 6 de MYBPC3, y altera el sitio donador de splicing del intrón 6, produciéndose la pérdida fuera del marco de lectura del exón 6, lo

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 4 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

que ocasiona a su vez, la aparición de un codón de parada prematuro, dejando una proteína de tan solo 246 aminoácidos (su tamaño normal es de 1274 aminoácidos).

En la muestra de XXXX se ha detectado, en heterocigosis, el cambio c.349G>A (p.Asp117Asn) en el gen LDB3. La presencia de esta variante ha sido confirmada por secuenciación Sanger. Este gen codifica una proteína que contiene un dominio PDZ. Los motivos PDZ son dominios modulares de interacción proteína-proteína constituidos por residuos de 80-120 aminoácidos. Las proteínas con dominios PDZ interactúan entre sí en el ensamblaje del citoesqueleto, o con otras proteínas implicadas en el transporte y la agrupación de las proteínas de membrana. La proteína codificada por este gen interactúa con alfa-actinina-2 (ACTN2) a través de su dominio PDZ N-terminal y con la proteína quinasa C a través de su extremo C-terminal de dominios LIM. El dominio LIM es un motivo rico en cisteína, definido por 50-60 aminoácidos que contiene dos módulos de unión a zinc. Esta proteína también interactúa con los tres miembros de la familia de la myozenina. Las mutaciones en este gen se han asociado con miopatía miofibrilar, miocardiopatía dilatada y miocardiopatía no compactada del ventrículo izquierdo.

La variante nucleotídica c.349G>A (p.Asp117Asn) supone un cambio de aminoácido de ácido aspártico a asparagina en la posición 117 de la cadena polipeptídica. En un estudio previo [22], este cambio fue descrito como mutación patogénica responsable de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo, tras detectarlo en dos pacientes no emparentados y realizar mutagénesis dirigida en ratones, donde observaron una desorganización del citoesqueleto de actina en los miocardiocitos.

En la muestra de XXXXX se ha detectado, en heterocigosis, el cambio c.1930G>A (p.Ala644Thr) en el gen ACTN2. La presencia de esta variante ha sido confirmada por secuenciación Sanger. Este gen codifica una isoforma de actinina alfa específica de músculo, que se expresa en músculo esquelético y cardíaco. La actinina alfa pertenece a la superfamilia de genes de la espectrina que representa a un grupo diverso de proteínas del citoesqueleto, que incluye las espectrinas alfa y beta, y las distrofinas. La actinina alfa es una proteína de unión a actina con múltiples funciones en diferentes tipos de células. En las células no musculares, la isoforma del citoesqueleto se encuentra a lo largo de haces de microfilamentos y en uniones de adherencia, en las que está involucrada en la unión de actina a la membrana. En contraste, las isoformas de músculo esquelético, cardíaco y liso, se localizan en los discos Z y en corpúsculos densos análogos, en los que ayudan a anclar los filamentos de actina miofibrilares. Mutaciones en este gen están relacionadas con miocardiopatías hipertrófica y dilatada.

La variante nucleotídica c.1930G>A (p.Ala644Thr) supone un cambio de aminoácido de alanina a treonina en la posición 644 de la cadena polipeptídica. Este cambio no ha sido descrito con anterioridad ni como mutación patogénica ni como polimorfismo de tipo SNP sin asociación clínica con alguna cardiopatía. Se encuentra, no obstante, descrito en dbSNP con número de acceso rs146164600. Los aminoácidos alanina y treonina tienen diferencias fisicoquímicas pequeñas (distancia Grantham: 58 [0-215]). El cambio p. Ala644Thr se encuentra en un residuo altamente conservado en un dominio Spectrin repeat. Los algoritmos de predicción *in silico* que se han empleado estiman que el cambio p. Ala644Thr tendría un efecto deletéreo (SIFT y MutationTaster) o benigno (Align GVGD, PolyPhen-2 y Condel) en la proteína. Se desconoce el efecto de este cambio en la función de la proteína. Por ello, no podemos confirmar ni descartar una relación de esta variante de significado incierto con la patología del paciente.

Estos hallazgos son compatibles con el diagnóstico clínico de Miocardiopatía Hipertrófica.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

XXXX es portador de la mutación c.772G>A (p.Glu258Lys) en el gen MYBPC3, que ha sido descrita como causante de miocardiopatía hipertrófica. También es portador de la variante probablemente patogénica c.349G>A (p.Asp117Asn) en el gen LDB3, que ha sido descrita como causante de miocardiopatía no compactada de ventrículo izquierdo. Se recomienda realizar un estudio de co-segregación de estos cambios en parientes sanos y afectados del paciente, para establecer la implicación de ambos cambios en la patología del paciente. Se recomienda un adecuado asesoramiento genético en un contexto familiar.

REFERENCIAS

- Andersen PS et al. Diagnostic yield, interpretation, and clinical utility of mutation screening of sarcomere encoding genes in Danish hypertrophic cardiomyopathy patients and relatives. *Hum Mutat.* 2009 Mar;30(3):363-70.

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 5 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

2. Morimoto S. Sarcomeric proteins and inherited cardiomyopathies. *Cardiovasc Res.* 2008 Mar 1;77(4):659-66
3. Marian AJ. Hypertrophic cardiomyopathy: from genetics to treatment. *Eur J Clin Invest.* 2010 Apr;40(4):360-9. Review.
4. Wang L et al. Narrative review: harnessing molecular genetics for the diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy. *Ann Intern Med.* 2010 Apr 20;152(8):513-20, W181.
5. Callis TE et al. Evolving molecular diagnostics for familial cardiomyopathies: at the heart of it all. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010 Apr;10(3):329-51.
6. Deo RC et al. Clinical screening and genetic testing. *Heart Fail Clin.* 2010 Apr;6(2):231-8
7. Xu Q et al. Malignant and benign mutations in familial cardiomyopathies: insights into mutations linked to complex cardiovascular phenotypes. *J Mol Cell Cardiol.* 2010 May;48(5):899-909
8. Kimura A. Molecular basis of hereditary cardiomyopathy: abnormalities in calcium sensitivity, stretch response, stress response and beyond. *J Hum Genet.* 2010 Feb;55(2):81-90.
9. Hershberger RE et al. Progress with genetic cardiomyopathies: screening, counseling, and testing in dilated, hypertrophic, and arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Heart Fail.* 2009 May;2(3):253-61
10. Rodríguez JE et al. Familial hypertrophic cardiomyopathy: basic concepts and future molecular diagnostics. *Clin Biochem.* 2009 Jun;42(9):755-65.
11. Kimura A. Molecular etiology and pathogenesis of hereditary cardiomyopathy. *Circ J.* 2008;72.
12. Alamut version 2.0 (Interactive Biosoftware, Rouen, France).
13. Human Gene Mutation Database (HGMD® Professional 2012.2. Krawczak M and Cooper DN. The human gene mutation database. *Trends Genet* (1997) 13:121-122.
14. Niimura H, et al (1998). Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 338(18):1248-57.
15. Richard P, et al (2003). Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation* 107(17):2227-32.
16. Nanni L, et al (2003). Hypertrophic cardiomyopathy: two homozygous cases with 'typical' hypertrophic cardiomyopathy and three new mutations in cases with progression to dilated cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 309(2):391-8.
17. Alders M, et al (2003). The 2373insG mutation in the MYBPC3 gene is a founder mutation, which accounts for nearly one-fourth of the HCM cases in the Netherlands. *Eur Heart J* 24(20):1848-53.
18. Van Driest SL, et al (2004). Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 44(9):1903-10.
19. Song L, et al (2005). Mutations profile in Chinese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Chim Acta* 351(1-2):209-16.
20. Sarikas A, et al (2005). Impairment of the ubiquitin-proteasome system by truncated cardiac myosin binding protein C mutants. *Cardiovasc Res.* 66(1):33-44.
21. Cardiogenomics. Sarcomere protein gene mutation database. <http://genetics.med.harvard.edu/~seidman/cq3/index.html> [Acceso Diciembre 2012].
22. Vatta M, et al. (2003). Mutations in Cypher/ZASP in patients with dilated cardiomyopathy and left ventricular non-compaction. *J Am Coll Cardiol.* 42(11):2014-27.

NOTAS

- 1) Los datos obtenidos en este estudio son confidenciales y deben ser manejados sobre la base de estrictos principios de privacidad.
- 2) Este estudio se basa en la secuenciación completa de la región codificante y regiones intrónicas adyacentes del gen. Grandes deleciones o reordenamientos, o mutaciones que afecten a regiones intrónicas profundas del gen no son detectadas mediante la metodología utilizada.

Paterna,

UNIDAD DE NUEVAS TECNOLOGÍAS

UNIDAD DE BIOINFORMÁTICA

UNIDAD DE GENÉTICA MÉDICA

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 6 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

ANEXO I: VARIANTES POLIMÓRFICAS

Lista de variantes polimórficas identificadas mediante secuenciación masiva.
Tanto su presencia como su zigosis necesitan ser confirmadas mediante secuenciación Sanger.

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	BM13706.1	ID dbSNP	MAF
TNNT2	chr1	201331554	T	G	rs1104859	0.282 (T)
TNNT2	chr1	201334382	G	A	rs3729547	0.327 (G)
TNNT2	chr1	201335899	C	T	rs1573230	0.012 (C)
TNNT2	chr1	201336984	C	T	rs3729843	0.301 (T)
TNNT2	chr1	201337170	A	G	rs3729842	0.145 (A)
TNNT2	chr1	201341175	CAGAAG	C	rs45533739	0.469 (A)
TNNT2	chr1	201347315	A	G	rs2799686	0.077 (A)
ACTN2	chr1	236883421	C	T	rs1341863	0.063 (C)
ACTN2	chr1	236883564	G	A	rs1341862	0.060 (G)
ACTN2	chr1	236894647	G	A	rs819640	0.455 (A)
ACTN2	chr1	236902560	C	T	rs7527525	0.446 (T)
ACTN2	chr1	236902594	C	G	rs2288601	0.240 (C)
ACTN2	chr1	236902865	A	C	rs2288602	0.468 (C)
ACTN2	chr1	236902955	T	C	rs7544174	0.465 (C)
ACTN2	chr1	236910863	T	C	rs10802557	0.322 (C)
ACTN2	chr1	236911122	C	T	rs79971593	0.066 (T)
ACTN2	chr1	236924506	A	G	rs2282366	0.183 (A)
ACTN2	chr1	236926030	A	G	rs1051251	0.430 (G)
ACTN2	chr1	236926366	C	G	rs1051253	0.44 (G)
ACTN2	chr1	236926445	T	C	rs1803032	0.427 (T)
ACTN2	chr1	236926667	A	G	rs7522310	0.440 (G)
ACTN2	chr1	236926873	G	A	rs2153203	0.092 (A)
TTN	chr2	179424048	T	C	rs55972010	0.019 (C)
TTN	chr2	179432185	A	G	rs12463674	0.152 (G)
TTN	chr2	179440029	G	A	rs12464787	0.164 (A)
TTN	chr2	179462494	A	G	rs35833641	0.151 (G)
TTN	chr2	179497133	C	T	rs56034831	0.011 (T)
TTN	chr2	179498042	T	C	rs6723526	0.053 (C)
TTN	chr2	179545859	C	T	rs36051007	0.151 (T)
TTN	chr2	179554305	C	T	rs2244492	0.372 (T)
TTN	chr2	179566146	T	G	rs2251987	0.032 (T)
TTN	chr2	179583317	G	A	rs72648978	0.066 (A)
TTN	chr2	179585266	C	T	rs2562831	0.013 (C)
TTN	chr2	179586604	C	G	rs72648970	0.020 (G)
TTN	chr2	179600563	G	A	rs2742348	0.013 (G)
TTN	chr2	179618019	T	A	rs3754953	0.163 (T)
TTN	chr2	179623758	C	T	rs2291310	0.157 (C)
TTN	chr2	179629363	T	C	rs4894043	0.020 (T)
TTN	chr2	179629461	C	T	rs2291311	0.161 (C)
TTN	chr2	179632710	T	C	rs2291313	0.448 (T)
TTN	chr2	179635882	C	T	rs4894047	0.028 (C)
TTN	chr2	179638238	G	A	rs2291306	0.066 (A)
TTN	chr2	179639297	C	T	rs3816781	0.099 (C)
TTN	chr2	179639498	C	G	rs4894049	0.076 (C)
TTN	chr2	179642425	G	A	rs719201	0.086 (G)
TTN	chr2	179643886	A	G	rs2291302	0.076 (A)

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAY
PÁG. 7 DI

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	BM13706.1	ID dbSNP	MAF
TTN	chr2	179643934	A	G	rs2291301	0.076 (A)
TTN	chr2	179644035	G	A	rs1552280	0.072 (G)
TTN	chr2	179644304	G	A	rs2035496	0.076 (G)
TTN	chr2	179644855	T	C	rs10497520	0.450 (T)
TTN	chr2	179650701	C	T	rs6715406	0.232 (T)
TTN	chr2	179650954	G	A	rs6715901	0.309 (A)
TTN	chr2	179667090	C	T	rs3816849	0.313 (C)
TNNC1	chr3	52488202	C	T	rs1035002	0.036 (C)
TNNC1	chr3	52488517	C	T	rs724801	0.054 (T)
TNNC1	chr3	52488745	TCA	T	rs3066889	0.053 (C)
TNNC1	chr3	52489074	A	G	rs2215466	0.035 (A)
CAV3	chr3	8775223	C	A	rs6793441	0.311 (A)
CAV3	chr3	8775589	C	T	rs1974763	0.059 (T)
CAV3	chr3	8787220	T	C	rs13087941	0.164 (C)
CAV3	chr3	8788096	T	C	rs13093809	0.070 (C)
CAV3	chr3	8788198	A	T	rs11476	0.389 (T)
CAV3	chr3	8788336	A	G	rs7629329	0.316 (G)
MYL3	chr3	46899516	C	T	rs1042973	0.206 (T)
MYL3	chr3	46900051	G	A	rs3729704	0.103 (A)
MYL3	chr3	46902129	T	G	rs2227294	0.392 (G)
MYL3	chr3	46904708	C	A	rs936175	0.317 (A)
MYOZ2	chr4	120056815	G	A	rs1459055	0.340 (A)
MYOZ2	chr4	120072233	G	C	rs6828875	0.431 (G)
MYOZ2	chr4	120072238	A	G	rs6828349	0.431 (A)
MYOZ2	chr4	120072275	G	C	rs6829055	0.431 (G)
MYOZ2	chr4	120079159	A	G	rs11721566	0.428 (A)
MYOZ2	chr4	120079387	G	A	rs11729978	0.351 (A)
MYOZ2	chr4	120106982	T	C	rs7661020	0.316 (C)
MYOZ2	chr4	120108603	G	A	rs9995277	0.317 (A)
SLC25A4	chr4	186068637	A	G	rs7660552	0.081 (A)
PLN	chr6	118880640	T	G	rs12198461	0.392 (G)
PLN	chr6	118881822	C	T	rs1051429	0.421 (C)
PRKAG2	chr7	151253083	C	A	rs4726046	0.421 (C)
PRKAG2	chr7	151253226	C	T	rs7429	0.420 (C)
PRKAG2	chr7	151253265	C	A	rs116972410	rs# was deleted
PRKAG2	chr7	151253765	C	A	rs1051956	0.427 (C)
PRKAG2	chr7	151253835	G	A	rs17714947	0.034 (A)
PRKAG2	chr7	151254175	T	C	rs8961	0.420 (T)
PRKAG2	chr7	151478602	T	C	rs12374732	0.239 (T)
PRKAG2	chr7	151483445	A	G	rs12671980	0.210 (A)
VCL	chr10	75863750	C	T	rs2270552	0.455 (C)
VCL	chr10	75865065	G	A	rs767809	0.372 (A)
VCL	chr10	75865159	C	T	rs55984079	0.026 (T)
VCL	chr10	75866929	C	A	rs2131957	0.440 (A)
VCL	chr10	75871735	C	G	rs2131956	0.354 (C)
VCL	chr10	75873892	C	T	rs10824072	0.440 (T)
VCL	chr10	75878915	C	CTA	rs16408	0.478 (T)
VCL	chr10	75879511	T	A	rs703258	0.351 (T)
LDB3	chr10	88428076	A	T	rs2675692	0.198 (A)

Inscrita en el Registro Mercantil de Valencia. Tomo 6.127. Libro 3.433 de la Secc. 8 del L. 54ds. Folio Nº V.61387. Insc. 1ª. C.I.F. B.96779764

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 8 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	BM13706.1	ID dbSNP	MAF
LDB3	chr10	88428158	T	C	rs2803555	0.190 (T)
LDB3	chr10	88428167	G	T	rs11812601	0.354 (T)
LDB3	chr10	88428335	T	C	rs2803558	0.264 (T)
LDB3	chr10	88445385	G	C	rs3740345	0.399 (G)
CSRP3	chr11	19204403	A	G	rs45549043	0.167 (G)
CSRP3	chr11	19206426	A	T	rs2288251	0.278 (T)
CSRP3	chr11	19207841	C	T	rs13451	0.052 (T)
MYBPC3	chr11	47353899	C	T	rs80192881	0.036 (T)
MYBPC3	chr11	47354787	C	T	rs1052373	0.456 (T)
MYBPC3	chr11	47354905	T	C	rs11570115	0.043 (C)
MYBPC3	chr11	47361084	T	C	rs2856653	0.256 (T)
MYBPC3	chr11	47364762	A	G	rs896818	0.026 (A)
MYBPC3	chr11	47365014	C	T	rs11570078	0.086 (T)
MYBPC3	chr11	47365276	A	G	rs11570072	0.132 (G)
MYBPC3	chr11	47369443	G	A	rs11570058	0.075 (A)
MYBPC3	chr11	47370041	T	C	rs3729989	0.086 (C)
MYBPC3	chr11	47371484	AG	A	rs11570050	0.397 (G)
MYL2	chr12	111348550	C	G	rs12812271	0.169 (G)
MYL2	chr12	111350999	G	A	rs2233260	0.167 (A)
MYH6	chr14	23851874	A	G	rs178636	0.469 (G)
MYH6	chr14	23851882	C	A	rs10135780	0.213 (A)
MYH6	chr14	23852651	T	G	rs35182223	0.221 (G)
MYH6	chr14	23853629	T	C	rs8006357	0.223 (C)
MYH6	chr14	23854324	A	G	rs178638	0.480 (G)
MYH6	chr14	23855569	A	G	rs178640	0.423 (G)
MYH6	chr14	23855849	C	T	rs2071634	0.227 (T)
MYH6	chr14	23856896	A	G	rs178642	0.478 (A)
MYH6	chr14	23857351	G	A	rs8022522	0.399 (A)
MYH6	chr14	23858232	C	T	rs451794	0.050 (T)
MYH6	chr14	23861811	A	G	rs365990	0.360 (G)
MYH6	chr14	23865885	G	A	rs452036	0.352 (A)
MYH6	chr14	23866713	A	G	rs412768	0.305 (G)
MYH6	chr14	23868285	G	A	rs439735	0.175 (A)
MYH6	chr14	23872666	T	C	rs434273	0.206 (T)
MYH6	chr14	23873092	G	A	rs388914	0.165 (A)
MYH6	chr14	23874117	T	C	rs440466	0.318 (C)
MYH6	chr14	23874523	C	T	rs2277474	0.159 (T)
MYH7	chr14	23881920	G	T	rs12147570	0.082 (T)
MYH7	chr14	23882144	T	C	rs2284651	0.371 (C)
MYH7	chr14	23882186	T	G	rs7149517	0.338 (G)
MYH7	chr14	23882855	A	G	rs2331979	0.338 (G)
MYH7	chr14	23883184	C	T	rs3729833	0.139 (T)
MYH7	chr14	23886264	C	T	rs3729825	0.138 (T)
MYH7	chr14	23887645	T	C	rs7159367	0.339 (C)
MYH7	chr14	23888323	T	TG	rs34598192	0.323 (G)
MYH7	chr14	23888665	A	T	rs2277475	0.323 (T)
MYH7	chr14	23892888	A	G	rs7157716	0.356 (G)
MYH7	chr14	23899027	C	T	rs735711	0.092 (T)
TPM1	chr15	63333892	G	T	rs55962736	0.445 (T)

Inscrita en el Registro Mercantil de Valencia, Tomo 6.127, Libro 3.433 de la Secc. 8 del L. 54da., Folio Nº V.61387, Insc. 1ª - C.I.F. B.96779764

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 9 DE 10

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gen	Crom.	Pos. (pb)	GRCh37	BM13706.1	ID dbSNP	MAF
TPM1	chr15	63349096	G	A	rs4775613	0.498 (A)
TPM1	chr15	63351687	A	G	rs4775614	0.166 (A)
TPM1	chr15	63351840	C	A	rs1071646	0.304 (C)
ACTC1	chr15	35080094	T	C	rs8027352	0.074 (C)
ACTC1	chr15	35080151	A	C	rs74009718	0.073 (C)
ACTC1	chr15	35080179	C	T	rs74009719	0.072 (T)
ACTC1	chr15	35080523	T	C	rs604689	0.410 (C)
ACTC1	chr15	35082225	C	T	rs1370154	0.278 (T)
ACTC1	chr15	35084215	C	G	rs3729755	0.277 (G)
ACTC1	chr15	35088327	C	T	rs16959824	0.158 (T)
TNNI3	chr19	55667806	T	C	rs3729709	0.064 (C)
TNNI3	chr19	55668310	C	G	rs3729838	0.406 (G)
TNNI3	chr19	55668509	A	T	rs3729836	0.394 (T)
TNNI3	chr19	55668805	T	C	rs11671293	0.406 (C)
TNNI3	chr19	55668819	A	G	rs11667847	0.219 (G)
TNNI3	chr19	55668848	G	C	rs3729708	0.078 (C)
TNNI3	chr19	55669872	C	G	rs10422978	0.289 (G)
JPH2	chr20	42740230	A	G	rs6031394	0.477 (A)
JPH2	chr20	42740308	C	T	rs6031395	0.436 (T)
JPH2	chr20	42740551	T	C	rs1055727	0.461 (T)
JPH2	chr20	42740567	T	C	rs2294893	0.347 (C)
JPH2	chr20	42740699	C	T	rs1055716	0.436 (T)
JPH2	chr20	42741114	A	C	rs6065705	0.459 (A)
JPH2	chr20	42741434	C	CA	rs11482166	0.449 (A)
JPH2	chr20	42814931	T	C	rs6031442	0.143 (T)
JPH2	chr20	42815190	G	A	rs1883790	0.158 (G)
JPH2	chr20	42815746	C	T	rs41279278	0.163 (T)
JPH2	chr20	42815795	C	G	rs2235808	0.326 (G)
JPH2	chr20	42816845	G	A	rs6103669	0.153 (A)
LAMP2	chrX	119590533	T	A	rs12097	0.395 (A)

NOTAS:

Las posiciones de ADN genómico están dadas respecto de la secuencia de referencia GRCh37 (hg19).

Estas variantes no han sido confirmadas mediante secuenciación Sanger.

La variante nucleotídica resaltada en negrita, supone la delección de 5 pares de bases cerca del sitio aceptor de splicing del exón 4 en el gen **TNNI2**. Esta variante ha sido descrita en la bibliografía [1, 2] como un polimorfismo frecuente asociado a miocardiopatía hipertrofica, con número de acceso de dbSNP: rs45533739. Estudios de expresión in vitro [2] mostraron que la delección provoca la pérdida del exón 4 durante el proceso de splicing, sin afectar a la pauta de lectura, y que el genotipo delección/delección (homocigosis) se asocia con un mayor cociente "Masa del Ventrículo Izquierdo / Altura" en una población de pacientes con miocardiopatía hipertrofica. Los autores de dicho estudio concluyen que esta variante puede estar relacionada con una predisposición a padecer hipertrofia del ventrículo izquierdo.

REFERENCIAS

1. Human Gene Mutation Database (HGMD® Professional 2011.2).
2. Komamura et al. (2004) The role of a common TNNI2 polymorphism in cardiac hypertrophy. *J Hum Genet.* 49(3):129-33.

D) Modelo de informe de Muerte súbita


 AUTHORISED LABORATORY NUMBER
5479

 CONSELLERIA DE SANITAT.
GENERALITAT VALENCIANA.

**SUMMARY OF GENETIC TEST REPORT:
NEXT GENERATION SEQUENCING OF 154 GENES
ASSOCIATED WITH SUDDEN CARDIAC DEATH**

SAMPLE DETAILS	PATIENT'S DETAILS
Internal reference:	Name:
SAMPLE SUBMITTED BY:	

GENETIC TEST REQUESTED: Next Generation Sequencing of the sudden death 154-gene panel (LV2344): ABCA1, ABCG6, ABCG9, ACTA2, ACTC1, ACTN2, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGL, AKAP9, ANK2, ANKRD1, APOA1, APOB, APOE, BAG3, BRAF, CACNA1B, CACNA1C, CACNA1D, CACNA2D1, CACNB2, CALR3, CASQ2, CAV3, CBL, COL4A1, CRYAB, CSRP3, CTF1, DES, DMD, DPP6, DSG2, DSP, DTNA, EFEMP2, EMD, ENPP1, EYA4, FBLN5, FBNI, FBN2, FHL1, FHL2, FKTN, FLNC, FXN, GAA, GJA1, GJA5, GLA, GPD1L, HCN1, HCN4, HRAS, ILK, JPH2, JUP, KCNA5, KCND3, KCNE1, KCNE1L, KCNE2, KCNE3, KCNE4, KCNH2, KCNJ11, KCNJ12, KCNJ2, KCNJ3, KCNJ5, KCNH8, KCNQ1, KCNQ2, KRAS, LAMA4, LAMP2, LDB3, LDLR, LMNA, LPL, LRP6, MAP2K1, MAP2K2, MEF2A, MYBPC3, MYH11, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK, MYLK2, MYOT, MYO22, MYPN, NEBL, NEXN, NOTCH1, NPPA, NRAS, PCSK9, PDLIM3, PKP2, PKP4, PLEC, PLN, PNN, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, PTPN11, RAF1, RANGRF, RBM20, RPSA, RYR2, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SCN10A, SCNN1B, SCNN1G, SDHA, SGCD, SHOC2, SLC25A4, SLC2A10, SMAD3, SNTA1, SOS1, SPRED1, SYNE1, SYNE2, TAZ, TCAP, TGFBI3, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TMEH43, TMPO, TNNC1, TNNT3, TNNT2, TPM1, TRPM4, TTN and VCL.

CLINICAL INDICATION: repeated syncope + cardiac arrest.

RESULTS: NGS analysis in samplexxx, of the 154 gene panel, has detected the following variants:

Gene	Nucleotide change ^a	Amino acid ^a	Effect	Genotype ^a
CSRP3	NM_003476.3:c.10T>C	p.Trp4Arg	Uncertain	[c.10T>C];[=]
TTN	NM_133378.4:c.26542C>T	p.His8848Tyr	Uncertain	[c.26542C>T];[=]
TTN	NM_003319.4:c.71047C>T	p.Arg23683Cys	Uncertain	[c.71047C>T];[=]
TTN	NM_003319.4:c.9221G>A	p.Arg3074Gln	Uncertain	[c.9221G>A];[=]
MYL2	NM_000432.3:c.141C>A	p.Asn47Lys	Pathogenic	[c.141C>A];[=]
CACNA1C	NM_000719.6:c.109G>A	p.Gly37Arg	Uncertain	[c.109G>A];[=]
JUP	NM_002230.2:c.1120T>C	p.Trp374Arg	Uncertain	[c.1120T>C];[=]
DSP	NM_004415.2:c.4609C>T	p.Arg1537Cys	Uncertain	[c.4609C>T];[=]
PLEC	NM_000445.3:c.5417G>A	p.Arg1806His	Uncertain	[.5417G>A];[=]
PLEC	NM_000445.3:c.1787G>A	p.Arg596Gln	Uncertain	[c.1787G>A];[=]
PLEC	NM_000445.3:c.10139G>C	p.Gly3380Ala	Uncertain	[c.10139G>C];[=]
RYR2	NM_001035.2:c.10324-4A>G	p.?	Uncertain	[c.10324-4A>G];[=]
FLNC	NM_001458.4:c.5311C>G	p.Pro1771Ala	Uncertain	[c.5311C>G];[=]
HCN4	NM_005477.2:c.3337A>G	p.Met1113Val	Uncertain	[c.3337A>G];[=]

^a Recommended nomenclature by the Human Genome Variation Society (HGVS v2.0) has been used.

Please see the attached full report, which includes a list of polymorphic variants (in Appendix I).

CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS

The NGS study of the sample from Mari Erla Haursdotir has detected one mutation in the MYL2 gene, described as pathogenic and associated with hypertrophic cardiomyopathy,, as well as thirteen other variants of uncertain significance.. It is recommended to perform a co-segregation analysis of these changes in affected and unaffected relatives of the patient in order to further investigate their possible involvement in the patient's condition. Offering an appropriate genetic counselling in a familial context is also recommended.

NOTES:

- Patient details included in this study are confidential and must be handled with strict confidentiality criteria.
- This study is based on the complete sequencing of the coding regions and adjacent intronic areas. Large deletions and rearrangements, or deep intronic mutations, would not be detected with this methodology.
- Insertion mutations larger than 4 bp or deletions larger than 11 bp are not detected using this methodology.
- The sensitivity of this technique is 96 % for the detection of SNPs and 70 % for the detection of indels.

Paterna,

 QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 1/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

**GENETIC TEST REPORT:
 NEXT GENERATION SEQUENCING OF 154 GENES
 ASSOCIATED WITH SUDDEN CARDIAC DEATH**

SAMPLE DETAILS

External reference:
 Internal reference:
 Entry date:
 Sample material:

PATIENT'S DETAILS

Name:
 Surname:
 Date of birth:
 Sex:

SAMPLE SUBMITTED BY:

Dr.:
 Hospital:
 Unit/Service:

EXISTENCE OF INFORMED CONSENT: Yes

REQUESTED GENETIC TEST: Next Generation Sequencing of the sudden death 154-gene panel (LV2344):
 ABCA1, ABCC6, ABCC9, ACTA2, ACTC1, ACTN2, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGL, AKAP9, ANK2, ANKRD1, APOA1, APOB, APOE, BAG3, BRAF, CACNA1B, CACNA1C, CACNA1D, CACNA2D1, CACNB2, CALR3, CASQ2, CAV3, CBL, COL3A1, CRYAB, CSR3, CTF1, DES, DMD, DPP6, DSC2, DSG2, DSP, DTNA, EFEMP2, EMD, ENPP1, EYA4, FBLN5, FBN1, FBN2, FHL1, FHL2, FKTN, FLNC, FXN, GAA, GJA1, GJA5, GLA, GPD1L, HCN1, HCN4, HRAS, ILK, JPH2, JUP, KCNA5, KCND3, KCNE1, KCNE1L, KCNE2, KCNE3, KCNE4, KCNH2, KCNJ11, KCNJ12, KCNJ2, KCNJ3, KCNJ5, KCNJ8, KCNQ1, KCNQ2, KRAS, LAMA4, LAMP2, LDB3, LDLR, LMNA, LPL, LRP6, MAP2K1, MAP2K2, MEF2A, MYBPC3, MYH11, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK, MYLK2, MYOT, MYOZ2, MYPN, NEBL, NEXN, NOTCH1, NPPA, NRAS, PCSK9, PDLIM3, PKP2, PKP4, PLEC, PLN, PNN, PRKAG2, PSEN1, PSEN2, PTPN11, RAF1, RANGRF, RBM20, RPSA, RYR2, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SCN10A, SCNN1B, SCNN1G, SDHA, SGCD, SHOC2, SLC25A4, SLC2A10, SMAD3, SNTA1, SOS1, SPRED1, SYNE1, SYNE2, TAZ, TCAP, TGFB3, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNT3, TNNT2, TPM1, TRPM4, TTN and VCL.

CLINICAL INDICATION: repeated syncope + cardiac arrest.

BIOLOGICAL BASIS OF THE STUDY

Sudden Death (SD) is defined as the unexpected, non-violent, non-traumatic death, that occurs instantaneously or between the first and sixth hour of the start of symptoms.

Heart disease is the leading cause of sudden death (about 90%) and between 25-50% of these heart conditions have a genetic origin or familial aggregation.

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most common cause of sudden cardiac death in patients younger than 35 years in Western countries. Although its prevalence is low in the general population (0.2-0.5%), HCM is estimated to produce 36% of sudden deaths in athletes, but it could be up to 50% in young athletes.

This condition is characterized phenotypically by left ventricular hypertrophy, and histologically, myocyte and myofibrils disarray, increased interstitial collagen matrix and alterations of intramyocardial coronary arteries. Several genes implicated in the disease have been identified, as detailed below.

Clinically, it ranges from asymptomatic, to severe forms with dyspnea, syncope, angina, heart failure or sudden death, which can sometimes be the first manifestation of the disease. There is a strong relationship between physical activity and sudden death in subjects suffering from MCH, because exercise acts as a trigger by different mechanisms (increased adrenergic tone, tachycardia

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
 EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
 PAG. 2/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
 Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

and peripheral vasodilatation, electrical instability, ischemia). In fact, sudden death accounts for more than half the mortality of these patients, with an annual incidence of 2-4% in adults and 4-6% in children and adolescents.

From a genetic point of view, it has been shown that HCM is a heterogeneous disorder caused by at least 24 genes, some of which encode sarcomeric proteins with more than 600 mutations identified in 40-60% of patients.

The most frequently altered genes are MYH7 and MYBPC3, accounting for 80% of cases of HCM. Mutations in TNNT2, TNNI3 and TPM1 account for 10 to 15% of patients. Mutations are detected in 40 to 60% of sporadic cases and relatives of an affected individual. Double heterozygotes have been identified in 2 to 5% of patients with severe hypertrophy, so it has been proposed that a second gene can act as a phenotype modifier.

Congenital anomalies of the coronary arteries are considered the second leading cause of sudden death in athletes younger than 35 years. These abnormalities may occur at the origin of the coronary or anywhere along its length. Their frequency was calculated to be from 0.2 to 1.4% in the population undergoing coronary angiography, but in complete autopsy studies, a frequency of up to 2.2% of deaths has been observed, being much more frequent (81% of cases) in males. The most frequent anomaly is the left and right coronary arteries originating from the right sinus of Valsalva. The most severe is the left coronary artery coming from the pulmonary artery. This anomaly has been detected as a cause of sudden death in a variable percentage of cases, between 12 and 19%, mainly due to abnormalities of the left coronary artery. The mechanism of death could correspond either to compression of the coronary artery between the aorta and pulmonary artery, to coronary artery bending, or to arterial spasm, with the production of ventricular arrhythmias secondary to acute ischemia.

Arrhythmogenic right ventricular dysplasia (ARVD) is a heart muscle disease of unknown aetiology characterized by electrical instability, which is due to the presence of muscle atrophy and replacement of right ventricular myocardium by adipose or fibroadipose tissue. The aetiology appears to be multifactorial and involves several genes encoding proteins of the desmosomes. This disease is a major cause of sudden death worldwide, particularly in Europe and especially in Italy, where it is responsible for more than 20% of sudden deaths occurring in individuals under 35 years.

Anatomically, ARVD is characterized by a decrease in the contractile elements of the right ventricular wall and their replacement by adipose tissue in the subepicardium of the apex, the infundibulum, and the right ventricular outflow tract, forming the so-called "triangle of dysplasia". Clinically, palpitations, dizziness and sometimes syncope, are commonly found, usually in connection with exercise. Intense physical exercise can initiate episodes of ventricular tachycardia that occasionally degenerate into ventricular fibrillation and sudden death.

From a genetic point of view, ARVD shows an autosomal dominant inheritance pattern with variable expressivity. Eight genes have been reported to be associated with this disease with a variable mutation rate, which are mutated in 40 to 50% of patients with ARVD. The most frequently altered gene is PKP2.

Most of these genes encode proteins responsible for maintaining the structure and integrity of the heart through the desmosomes, formed by desmoplakin, plakoglobin and plakophilin. Desmosomes are cell structures that are responsible for maintaining the myocytes attached to one another and act as anchoring sites for intermediate filaments, which in the case of cardiac muscle fibres, are formed by desmin, encoded by the DES gene. This binding is mediated by desmoglein and desmocollin, encoded by the DSG2 and DSC2 genes, respectively. Mutations in DSP, PKP2, DSC2, or DSG2 produce alterations in proteins that form desmosomes and anchoring sites of the intermediate filaments of heart muscle.

Mutations in other genes, not associated with desmosomes, have been associated with ARVD, such as TGFB3, whose overexpression results in myocardial fibrosis; RYR2, associated with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia and sudden death; TMEM-43, whose mutations cause deregulation of the adipogenic pathway and infiltration of fibroadipose tissue in the myocardium.

Dilated cardiomyopathy (DCM) is characterized by dilatation and global systolic dysfunction of the left ventricle, and sometimes the right. This condition can remain asymptomatic for a long time and suddenly appear with severe symptoms, the most common symptoms then being: progressive

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 3/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

exertional dyspnea and asthenia. In advanced stages of the disease, ventricular arrhythmias are common and can cause sudden death, although it is a rare cause of death in athletes.

DCM is a disease with a high genetic heterogeneity: to date, over 20 genes have been identified. The genes involved in DCM code for proteins involved in heart muscle contraction. Mutations in genes encoding sarcomeric proteins such as actin alpha cardiac muscle 1 (ACTC1), myosin heavy chain beta (MYH7), myosin binding protein C (MYBPC3), tropomyosin 1 alpha chain (TPM1) and troponin T (TNNT2) and I (TNNI3) represent the majority of mutations identified and are inherited in an autosomal dominant fashion.

Restrictive cardiomyopathy (RCM) is a rare form of cardiomyopathy that may be associated with risk of sudden death, although it is extremely unusual in athletes. This condition is a disease of the myocardium/endocardium that produces severe diastolic dysfunction, secondary to increased ventricular stiffness, normal or decreased diastolic volume in one or both ventricles, biatrial dilatation and thickening of the ventricular wall. Its origin is associated with other diseases like amyloidosis (in the western world) and endomyocardial fibrosis (in tropical areas). From a genetic point of view, it has been linked to mutations in TNNT2 and TNNI3, affecting conserved and functional domains.

Congenital aortic pathology include Marfan syndrome types I and II, familial thoracic aortic aneurysm syndrome, and Loeys-Dietz syndrome.

Marfan syndrome is characterized by myopia, the risk of retinal detachment, glaucoma and ectopia lentis in 60% of patients, skeletal disorders with dolichostenomelia, prominent pectus carinatum, scoliosis and cardiovascular disorders including aneurysm with or without aortic dissection, prolapse of the mitral and tricuspid valves. From a genetic point of view, it follows an autosomal dominant pattern and is associated mainly to mutations in the FBN1 gene (70-90% of cases) or mutations in the TGFBR2 gene in 8-15% of patients.

Loeys-Dietz syndrome is characterized by a thoracic or abdominal aortic aneurysm, cerebral aneurysms, skeletal abnormalities such as prominent pectus carinatum, scoliosis, and joint hypermobility. From a genetic point of view, it follows an autosomal dominant inheritance pattern and is associated with mutations in TGFBR1 (25% of cases) and TGFBR2 (75% of cases).

Aneurysms and thoracic aortic dissections (TAAD) include dilated ascending aorta or sinus of Valsalva aneurysms and thoracic aortic dissection affecting the ascending and descending aorta. This condition is found in 20% of cases of sudden death. The TGFBR2 gene can be mutated, with a frequency of 2.5%.

Congenital contractural arachnodactyly has a skeletal phenotype similar to Marfan syndrome, associated with muscular hypoplasia, severe kyphoscoliosis and crumpled ears. Kyphoscoliosis is found in 50% of patients and may be associated with aortic dilatation. Mutations in the FBN2 gene produce alterations of the microfibrils of the extracellular matrix and are found in 27 to 75% of patients.

Coronary heart disease is the most common cause of sudden death (80%) in people over 35 years, during exercise and is rare in children under that age. The existence of cardiovascular risk factors increases the likelihood of coronary heart disease, even asymptomatic, which can lead to serious complications when performing a sport. It is usually due to severe atherosclerotic disease, but may also be due to dissection, thrombosis or coronary spasm.

Channelopathies are a group of genetic diseases that can cause sudden death from conduction system disturbances that lead to abnormal electrical impulses causing atrial and ventricular tachyarrhythmias. It is present in 0.15-0.20% of the general population, for which the risk of sudden death is 0.1%. These include long QT and short QT syndromes, Brugada syndrome, catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia and familial atrial fibrillation.

Brugada syndrome is responsible for 4 to 12% of sudden unexpected deaths and up to 20% of all sudden deaths in individuals with apparently normal heart. Age at diagnosis ranges from two days to 85 years and sudden death occurs around age 40. Seven genes have been described associated with this pathology and mutations are found in 26 to 45% of affected individuals.

Familial atrial fibrillation (FA) is a common condition with a prevalence of 0.89%, which is caused by irregular activation of the atria and ventricles. The familial form represents 15% of all diagnosed cases of this disease. FA is responsible for one third of thromboembolic episodes. From a genetic

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 4/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

point of view, it is a heterogeneous disease with an autosomal dominant inheritance pattern and has been associated with mutations in several genes that regulate ion channels.

CAUSES OF SUDDEN DEATH IN INDIVIDUALS UNDER 35 YEARS

PATHOLOGIES	FREQUENCY (%)
Hypertrophic Cardiomyopathy	36
Congenital anomalies of the coronary arteries	24
Idiopathic hypertrophy of the left ventricle	10
Rupture of aorta (Marfan, dissection of aorta)	5
Aortic Stenosis	4
Myocarditis	3
Dilated Cardiomyopathy	3
Arrhythmogenic right ventricular dysplasia	3
Mitral valve prolapse	2
Coronary Heart Disease	2
Other	6
Channelopathies (long QT, short QT, Brugada)	Lenegre Disease Wolf-Parkinson-White Syndrome
Idiopathic Ventricle Fibrillation	Ebstein disease
Torsade de Pointes	Cocaine use
Catecholaminergic polymorphic VT	

SUDDEN DEATH CAUSES IN INDIVIDUALS OVER 35 YEARS

PATHOLOGIES	FREQUENCY (%)
Coronary atherosclerotic disease	65
Hypertrophic Cardiomyopathy	15
Dilated cardiomyopathy	5
Conduction system disorders, Arrhythmias	5
Valve Disease	5
Other	5
Myocarditis	Cardiac Shock
Marfan Syndrome	Kawasaki Disease
ARVD	Stroke
Sickle Cell Anemia	Heatstroke
Cocaine use, steroids	Lung disease
Sarcoidosis	intracardiac tumors

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 5/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

METHODOLOGY

1. Extraction and purification of DNA from the blood sample.
2. Preparation of a genomic DNA library.
3. Selection of regions of study through specific probes. These regions include exons, adjacent intronic regions and 5' and 3' ends of the genes analysed.
4. Clonal amplification of the DNA fragments through emulsion PCR.
5. Paired-end sequencing of the selected genes through paired-end by SOLiD technology.
6. Bioinformatic study of the DNA sequence obtained by comparison with the reference nucleotide sequence
7. Sanger validation of the clinically relevant and clinically uncertain changes.
8. In silico predictive studies for the variants of uncertain clinical significance by means of the Alamut software.

RESULTS

Next Generation Sequencing analysis in sample number XXXX, of the 154 gene panel, has detected the following nucleotide changes:

Gene	Nucleotide change [‡]	Amino acid [‡]	Effect	Genotype [‡]
CSRP3	Chr11(GRCh37):g.19213986A>G NM_003476.3:c.10T>C	p.Trp4Arg	Uncertain	[c.10T>C];[=]
TTN	Chr2(GRCh37):g.179567340G>A NM_133378.4:c.26542C>T	p.His8848Tyr	Uncertain	[c.26542C>T];[=]
TTN	Chr2(GRCh37):g.179404550G>A NM_003319.4:c.71047C>T	p.Arg23683Cys	Uncertain	[c.71047C>T];[=]
TTN	Chr2(GRCh37):g.179632598C>T NM_003319.4:c.9221G>A	p.Arg3074Gln	Uncertain	[c.9221G>A];[=]
MYL2	Chr12(GRCh37):g.111353547G>T NM_000432.3:c.141C>A	p.Asn47Lys	Pathogenic	[c.141C>A];[=]
CACNA1C	Chr12(GRCh37):g.2224449G>A NM_000719.6:c.109G>A	p.Gly37Arg	Uncertain	[c.109G>A];[=]
JUP	Chr17(GRCh37):g.39921003A>G NM_002230.2:c.1120T>C	p.Trp374Arg	Uncertain	[c.1120T>C];[=]
DSP	Chr6(GRCh37):g.7581032C>T NM_004415.2:c.4609C>T	p.Arg1537Cys	Uncertain	[c.4609C>T];[=]
PLEC	Chr8(GRCh37):g.144998761C>T NM_000445.3:c.5417G>A	p.Arg1806His	Uncertain	[.5417G>A];[=]
PLEC	Chr8(GRCh37):g.145006992C>T NM_000445.3:c.1787G>A	p.Arg596Gln	Uncertain	[c.1787G>A];[=]
PLEC	Chr8(GRCh37):g.144993931C>G NM_000445.3:c.10139G>C	p.Gly3380Ala	Uncertain	[c.10139G>C];[=]
RYR2	Chr1(GRCh37):g.237880494A>G NM_001035.2:c.10324-4A>G	p.?	Uncertain	[c.10324-4A>G];[=]
FLNC	Chr7(GRCh37):g.128490450C>G NM_001458.4:c.5311C>G	p.Pro1771Ala	Uncertain	[c.5311C>G];[=]
HCN4	Chr15(GRCh37):g.73615097T>C NM_005477.2:c.3337A>G	p.Met1113Val	Uncertain	[c.3337A>G];[=]

[‡] Recommended nomenclature by the Human Genome Variation Society (HGVS v2.0) has been used.

CLINICAL/BIOLOGICAL INTERPRETATION

The sample from xxx, presents the nucleotide variant c.10T>C (p.Trp4Arg) in heterozygosis, in exon 2 of the CSRP3 gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes a member of the CSRP family of LIM domain proteins, which may be involved in regulatory processes important for development and cellular differentiation. The LIM/double zinc-finger motif found in this protein is found in a group of proteins with critical functions in gene regulation, cell growth, and somatic differentiation. Mutations in this gene are thought to cause heritable forms of hypertrophic cardiomyopathy (HCM) and dilated cardiomyopathy (DCM) in humans.

The nucleotide variant c.10T>C (p.Trp4Arg) results in an amino acid change from tryptophan to arginine at position 4 of the polypeptide chain. There is a moderate physicochemical difference between tryptophan and arginine (Grantham dist.: 101 [0-215]). Position 4 is moderately

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 6/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

conserved. The W4R substitution exhibits a shift in polarity from non-polar to positively charged and displays a decrease in Kyte-Doolittle hydrophobicity from -0.9 to -4.5. Approximately 0.85% of missense mutations in HGMD are Trp-Arg. The mutation occurs 191 amino acids from the end of the protein. In addition, the *in silico* algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD, SIFT, Mutpred), possibly deleterious (PolyPhen-2) and deleterious (Condel, MutationTaster). In the HGMD Pro database [61] it appears as a disease-causing mutation (CM023060) associated with dilated cardiomyopathy. It has dbSNP accession number rs45550635, and has been found with a minor allele frequency of 0.003 (1000 Genomes project). This variant has been previously reported in the literature [65-69], but there is no consensus regarding its pathogenicity. The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample from xxx, presents the nucleotide variants NM_133378.4:c.26542C>T (p.His8848Tyr), NM_003319.4: c.71047C>T (p.Arg23683Cys) and NM_003319.4: c.9221G>A (p.Arg3074Gln) in heterozygosis, in exons 108, 353 and 40 respectively, of the TTN gene. The presence of these changes has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes a large abundant protein (Titin) of striated muscle. The product of this gene is divided into two regions, a N-terminal I-band and a C-terminal A-band. The I-band, which is the elastic part of the molecule, contains two regions of tandem immunoglobulin domains on either side of a PEVK region that is rich in proline, glutamate, valine and lysine. The A-band, which is thought to act as a protein-ruler, contains a mixture of immunoglobulin and fibronectin repeats, and possesses kinase activity. An N-terminal Z-disc region and a C-terminal M-line region bind to the Z-line and M-line of the sarcomere respectively so that a single titin molecule spans half the length of a sarcomere. Titin also contains binding sites for muscle associated proteins so it serves as an adhesion template for the assembly of contractile machinery in muscle cells. It has also been identified as a structural protein for chromosomes. Considerable variability exists in the I-band, the M-line and the Z-disc regions of titin. Variability in the I-band region contributes to the differences in elasticity of different titin isoforms and, therefore, to the differences in elasticity of different muscle types. Mutations in this gene are associated with: dilated cardiomyopathy; arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy; familial hypertrophic cardiomyopathy 9; limb-girdle muscular dystrophy, type 2J; early-onset myopathy with fatal cardiomyopathy; proximal myopathy with early respiratory muscle involvement; and tibial muscular dystrophy.

The nucleotide variant NM_133378.4:c.26542C>T (p.His8848Tyr) results in an amino acid change from histidine to tyrosine at position 8848 of the polypeptide chain. There is a moderate physicochemical difference between histidine and tyrosine (Grantham dist.: 83 [0-215]). Position 8848 is highly conserved and is located in protein domains: Immunoglobulin I-set; Immunoglobulin-like; Immunoglobulin subtype; and Immunoglobulin subtype 2. The H8848Y substitution exhibits a shift in polarity from positively charged to polar and displays an increase in Kyte-Doolittle hydrophobicity from -3.2 to -1.3. Approximately 0.54% of missense mutations in HGMD are His-Tyr. The mutation occurs 24576 amino acids from the end of the protein. In the HGMD Pro database [61] it appears as a disease-causing mutation (CM116750) associated with Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, although it does not affect the predominant isoform in cardiac muscle (whose transcript is NM_003319.4). It has dbSNP accession number rs72650011, and has been found with a minor allele frequency of 0.001 (1000 Genomes project). In the ARVD/C Genetic Variants Database [64] it is classified as a pathogenic mutation. This variant has been previously described as a pathogenic mutation in a single publication [70]. The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The nucleotide variant NM_003319.4:c.71047C>T (p.Arg23683Cys) results in an amino acid change from arginine to cysteine at position 23683 of the polypeptide chain. There is a large physicochemical difference between arginine and cysteine (Grantham dist.: 180 [0-215]). Position 23683 is located in protein domains: Immunoglobulin I-set; Immunoglobulin subtype; and Immunoglobulin subtype 2. It has dbSNP accession number rs72648272, and has been found with a minor allele frequency of 0.001 (1000 Genomes project). The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 7/22

The nucleotide variant NM_003319.4:c.9221G>A (p.Arg3074Gln) results in an amino acid change from arginine to glutamine at position 3074 of the polypeptide chain. There is a small physicochemical difference between arginine and glutamine (Grantham dist.: 43 [0-215]). Position 3074 is located in protein domains: Immunoglobulin I-set; Immunoglobulin-like; Immunoglobulin subtype; and Immunoglobulin subtype 2. It has dbSNP accession number rs72647894, and has been found with a minor allele frequency of 0.001 (1000 Genomes project). The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample fromxxxx, presents the nucleotide variant c.141C>A (p.Asn47Lys) in heterozygosis, in exon 3 of the MYL2 gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes the regulatory light chain associated with cardiac myosin beta (or slow) heavy chain. Ca²⁺ triggers the phosphorylation of regulatory light chain that in turn triggers contraction. Mutations in this gene are associated with mid-left ventricular chamber type hypertrophic cardiomyopathy.

The nucleotide variant c.141C>A (p.Asn47Lys) results in an amino acid change from asparagine to lysine at position 47 of the polypeptide chain. There is a moderate physicochemical difference between asparagine and lysine (Grantham dist.: 94 [0-215]). Position 47 is moderately conserved and is located in protein domains: EF-hand; EF-HAND 2; and Calcium-binding EF-hand. In addition, the in silico algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD, SIFT, PolyPhen-2, Condel, Mutpred) and deleterious (MutationTaster). The N47K substitution exhibits a shift in polarity from polar to positively charged and displays a decrease in Kyte-Doolittle hydrophobicity from -3.5 to -3.9. Approximately 0.72% of missense mutations in HGMD are Asn-Lys. The mutation occurs 120 amino acids from the end of the protein. In the HGMD Pro database [61] it appears as a disease-causing mutation (CM994129) associated with hypertrophic cardiomyopathy. It has dbSNP accession number rs199474808. In the Sarcomere Protein Gene Mutation Database [71] it is classified as a pathogenic mutation. This variant has been previously described in various publications [72-77].

The sample fromxxxx, presents the nucleotide variant c.109G>A (p.Gly37Arg) in heterozygosis, in exon 2 of the CACNA1C gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes an alpha-1 subunit of a voltage-dependent calcium channel. Calcium channels mediate the influx of calcium ions into the cell upon membrane polarization. The alpha-1 subunit consists of 24 transmembrane segments and forms the pore through which ions pass into the cell. Mutations in this gene have been associated with Timothy syndrome (LQT8) and Brugada Syndrome, type 3.

The nucleotide variant c.109G>A (p.Gly37Arg) results in an amino acid change from glycine to arginine at position 37 of the polypeptide chain. There is a moderate physicochemical difference between glycine and arginine (Grantham dist.: 125 [0-215]). Position 37 is weakly conserved and is located in protein domains: Voltage-dependent calcium channel, L-type, alpha-1C subunit. In addition, the in silico algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD) and deleterious (SIFT, PolyPhen-2, Condel, MutationTaster). It has dbSNP accession number rs34534613. The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample from xxxx, presents the nucleotide variant c.1120T>C (p.Trp374Arg) in heterozygosis, in exon 7 of the JUP gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes a major cytoplasmic protein which is the only known constituent common to submembranous plaques of both desmosomes and intermediate junctions. This protein forms distinct complexes with cadherins and desmosomal cadherins and is a member of the catenin family since it contains a distinct repeating amino acid motif called the armadillo repeat. Mutations in this gene have been associated with Naxos disease and Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy.

The nucleotide variant c.1120T>C (p.Trp374Arg) results in an amino acid change from tryptophan to arginine at position 374 of the polypeptide chain. There is a moderate physicochemical difference between tryptophan and arginine (Grantham dist.: 101 [0-215]). Position 374 is moderately conserved and is located in protein domain: Armadillo. In addition, the in silico algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD, SIFT) and deleterious (PolyPhen-2, Condel, MutationTaster). This variant has not been previously described, neither as a disease-causing mutation, nor as a polymorphism without clinical significance [61, 63]. The available information at

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS. EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA. PÁG. 8/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample from xxx, presents the nucleotide variant c.4609C>T (p.Arg1537Cys) in heterozygosis, in exon 23b of the DSP gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes the protein desmoplakin, which is an obligate component of functional desmosomes that anchors intermediate filaments to desmosomal plaques. Desmosomes are intercellular junctions that tightly link adjacent cells. The N-terminus of desmoplakin is required for localization to the desmosome and interacts with the N-terminal region of plakophilin 1 and plakoglobin. The C-terminus of desmoplakin binds with intermediate filaments. In the mid-region of desmoplakin, a coiled-coiled rod domain is responsible for homodimerization. Mutations in this gene are the cause of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy, dilated cardiomyopathy and keratodermas, as well as the autoimmune disease paraneoplastic pemphigus.

The nucleotide variant c.4609C>T (p.Arg1537Cys) results in an amino acid change from arginine to cysteine at position 1537 of the polypeptide chain. There is a large physicochemical difference between arginine and cysteine (Grantham dist.: 180 [0-215]). Position 1537 is highly conserved. In addition, the *in silico* algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD) and deleterious (SIFT, PolyPhen-2, Condel, MutationTaster). It has dbSNP accession number rs28763967, and has been found with a minor allele frequency of 0.005 (1000 Genomes project). In the ARVD/C Genetic Variants Database [64] it is classified as a variant with no known pathogenicity. This variant has been previously described in various publications [78-81]. The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample from xxx, presents the nucleotide variants c.5417G>A (p.Arg1806His), c.1787G>A (p.Arg596Gln) and c.10139G>C (p.Gly3380Ala) in heterozygosis, in exons 39, 22 and 40 respectively, of the PLEC gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. Plectin is a prominent member of an important family of structurally and in part functionally related proteins, termed plakins or cytolinkers, that are capable of interlinking different elements of the cytoskeleton. Plakins, with their multi-domain structure and enormous size, not only play crucial roles in maintaining cell and tissue integrity and orchestrating dynamic changes in cytoarchitecture and cell shape, but also serve as scaffolding platforms for the assembly, positioning, and regulation of signaling complexes. Mutations in this gene have been associated with autosomal recessive limb girdle muscular dystrophy, type 2Q; and in one instance [82] it was accompanied with adult-onset biventricular dilated cardiomyopathy.

The nucleotide variant c.5417G>A (p.Arg1806His) results in an amino acid change from arginine to histidine at position 1806 of the polypeptide chain. There is a small physicochemical difference between arginine and histidine (Grantham dist.: 29 [0-215]). Position 1806 is highly conserved. In addition, the *in silico* algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD, MutationTaster) and deleterious (SIFT, PolyPhen-2, Condel). This variant has not been previously described, neither as a disease-causing mutation, nor as a polymorphism without clinical significance [61, 63]. The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The nucleotide variant c.1787G>A (p.Arg596Gln) results in an amino acid change from arginine to glutamine at position 596 of the polypeptide chain. There is a small physicochemical difference between arginine and glutamine (Grantham dist.: 43 [0-215]). Position 596 is highly conserved and is located in protein domain: Spectrin/alpha-actinin. In addition, the *in silico* algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD) and deleterious (SIFT, MutationTaster). It has dbSNP accession number rs3135103, and has been found with a minor allele frequency of 0.009 (1000 Genomes project). The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The nucleotide variant c.10139G>C (p.Gly3380Ala) results in an amino acid change from glycine to alanine at position 3380 of the polypeptide chain. There is a small physicochemical difference between glycine and alanine (Grantham dist.: 60 [0-215]). Position 3380 is highly conserved and is located in protein domains: Plectin repeat. In addition, the *in silico* algorithms used predict this change to be probably deleterious (Align GVGD) and deleterious (SIFT, MutationTaster). It has dbSNP accession number rs35261863, and has been found with a minor allele frequency of 0.010 (1000

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 9/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Genomes project). The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample from xxx, presents the nucleotide variant c.10324-4A>G (p.?) in heterozygosis, in intron 71 of the RYR2 gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes a ryanodine receptor found in cardiac muscle sarcoplasmic reticulum. The encoded protein is one of the components of a calcium channel, composed of a tetramer of the ryanodine receptor proteins and a tetramer of FK506 binding protein 1B proteins, that supplies calcium to cardiac muscle. Mutations in this gene are associated with stress-induced polymorphic ventricular tachycardia and arrhythmogenic right ventricular dysplasia.

The nucleotide variant c.10324-4A>G (p.?) is a change from an adenine to a guanine near the splicing acceptor site of intron 71 of the RYR2 gene. It has dbSNP accession number rs72751287, and has been found with a minor allele frequency of 0.001 (1000 Genomes project). The *in silico* prediction algorithms used (NNSPLICE, SpliceSiteFinder-like, MaxEntScan, GeneSplicer and Human Splicing Finder) assign a very slight effect of this change in the processing of the transcript. It is unknown whether this change will have any effect on the function of the protein. The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample from xxx, presents the nucleotide variant c.5311C>G (p.Pro1771Ala) in heterozygosis, in exon 32 of the FLNC gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands. This gene encodes one of three related filamin genes, specifically gamma filamin. These filamin proteins crosslink actin filaments into orthogonal networks in cortical cytoplasm and participate in the anchoring of membrane proteins for the actin cytoskeleton. Three functional domains exist in filamin: an N-terminal filamentous actin-binding domain, a C-terminal self-association domain, and a membrane glycoprotein-binding domain. Mutations in this gene have been associated with distal myopathy type 4, myofibrillar myopathy type 5 and late-onset arrhythmia & myofibrillar myopathy.

The nucleotide variant c.5311C>G (p.Pro1771Ala) results in an amino acid change from proline to alanine at position 1771 of the polypeptide chain. There is a small physicochemical difference between proline and alanine (Grantham dist.: 27 [0-215]). Position 1771 is highly conserved. In addition, the *in silico* algorithms used predict this change to be benign (PolyPhen-2, Condel), possibly deleterious (Align GVGD) and deleterious (SIFT, MutationTaster). It has dbSNP accession number rs200001272 (not validated dbSNP entry). The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

The sample from xxx, presents the nucleotide variant c.3337A>G (p.Met113Val) in heterozygosis, in exon 8 of the HCN4 gene. The presence of this change has been confirmed by Sanger sequencing of both DNA strands, although, due to the existence of two pseudogenes, another sequencing approach is needed to fully map this change to the actual gene. This gene encodes a member of the hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated potassium channels. The encoded protein shows slow kinetics of activation and inactivation, and is necessary for the cardiac pacemaking process. Mutations in this gene have been linked to Brugada syndrome type 8, sick sinus syndrome 2, also known as atrial fibrillation with bradyarrhythmia or familial sinus bradycardia.

The nucleotide variant c.3337A>G (p.Met113Val) would result in an amino acid change from methionine to valine at position 113 of the polypeptide chain. There is a small physicochemical difference between methionine and valine (Grantham dist.: 21 [0-215]). Position 113 is weakly conserved. In addition, all *in silico* algorithms used predict this change to be benign (Align GVGD, SIFT, PolyPhen-2, Condel, MutationTaster). It has dbSNP accession number rs142735148, and has been found with a minor allele frequency of 0.008 (1000 Genomes project). The available information at this time, is not sufficient to associate this variant with the disease in the patient. Therefore it is classified as a variant of uncertain significance.

CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS

The NGS study of the sample from xxx has detected one mutation in the MYL2 gene, described as pathogenic and associated with hypertrophic cardiomyopathy,, as well as thirteen other variants of

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 10/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

uncertain significance.. It is recommended to perform a co-segregation analysis of these changes in affected and unaffected relatives of the patient in order to further investigate their possible involvement in the patient's condition. Offering an appropriate genetic counselling in a familial context is also recommended.

REFERENCES

- Liang P, et al. Genetic analysis of Brugada syndrome and congenital long-QT syndrome type 3 in the Chinese. *J Cardiovasc Dis Res.* 2010 Apr;1(2):69-74
- Roberts JD, Gollob MH. The genetic and clinical features of cardiac channelopathies. *Future Cardiol.* 2010 Jul;6(4):491-506.
- Zeigler VL, Payne L. Sudden cardiac death in the young. *Crit Care Nurs Q.* 2010 Jul-Sep;33(3):219-32.
- Hofman N, et al. Active cascade screening in primary inherited arrhythmia syndromes: does it lead to prophylactic treatment? *J Am Coll Cardiol.* 2010 Jun 8;55(23):2570-6.
- Chugh SS. Early identification of risk factors for sudden cardiac death. *Nat Rev Cardiol.* 2010 Jun;7(6):318-26.
- Albert CM, et al. Common variants in cardiac ion channel genes are associated with sudden cardiac death. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010 Jun 1;3(3):222-9.
- Campuzano O, et al. Genetics and cardiac channelopathies. *Genet Med.* 2010 May;12(5):260-7.
- Burashnikov E, et al. Mutations in the cardiac L-type calcium channel associated with inherited J-wave syndromes and sudden cardiac death. *Heart Rhythm.* 2010 Oct 13.
- Capulzini L, et al. Arrhythmia and right heart disease: from genetic basis to clinical practice. *Rev Esp Cardiol.* 2010 Aug;63(8):963-83.
- García-Castro M et al. The spectrum of SCN5A gene mutations in Spanish Brugada syndrome patients. *Rev Esp Cardiol.* 2010 Jul;63(7):856-9.
- Hofman N, et al. Genetic basis of malignant channelopathies and ventricular fibrillation in the structurally normal heart. *Future Cardiol.* 2010 May;6(3):395-408.
- Svensen JH, et al. Screening for, and management of, possible arrhythmogenic syndromes (channelopathies/ion channel diseases). *Europace.* 2010 May;12(5):741-2
- Campuzano O, et al. Genetics of Brugada syndrome. *Curr Opin Cardiol.* 2010 Mar 10.
- Amin AS, et al. Cardiac sodium channelopathies. *Pflugers Arch.* 2010 Jul;460(2):223-37.
- Hedley PL, et al. The genetic basis of Brugada syndrome: a mutation update. *Hum Mutat.* 2009 Sep;30(9):1256-66.
- Fressart V et al. Desmosomal gene analysis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy: spectrum of mutations and clinical impact in practice. *Europace.* 2010 Jun;12(6):861-8.
- den Haan AD et al. Comprehensive desmosome mutation analysis in north americans with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009 Oct;2(5):428-35
- Qiu X et al. Mutations of plakophilin-2 in Chinese with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2009 May 15;103(10):1439-44.
- Hershberger RE et al. Heart Failure Society of America. Genetic evaluation of cardiomyopathy--a Heart Failure Society of America practice guideline. *J Card Fail.* 2009 Mar;15(2):83-97
- Awad MM et al. Mechanisms of disease: molecular genetics of arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Nature Clinical Practice-Cardiovascular Medicine* 2008; 5(5): 258-267.
- Sen-Chowdhry S et al. Role of genetic analysis in the management of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 50(19): 1813-1821.
- Lubitz SA, et al. Independent susceptibility markers for atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Circulation.* 2010 Sep 7;122(10):976-84.
- Lubitz SA, et al. Genetics of atrial fibrillation: implications for future research directions and personalized medicine. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010 Jun 1;3(3):291-9
- Lubitz SA, et al. Genetics of atrial fibrillation. *Heart Fail Clin.* 2010 Apr;6(2):239-47.
- Roberts JD, Gollob MH. Impact of genetic discoveries on the classification of lone atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Feb 23;55(8):705-12.
- Bokil NJ, et al. Molecular genetics of long QT syndrome. *Mol Genet Metab.* 2010 Sep;101(1):1-8.
- Iturralde-Torres P, et al. Genetic in long QT syndromes. *Arch Cardiol Mex.* 2009 Dec;79 Suppl 2:26-30.
- Lu JT, et al. Recent progress in congenital long QT syndrome. *Curr Opin Cardiol.* 2010 Mar 10.
- Hedley PL, et al. The genetic basis of long QT and short QT syndromes: a mutation update. *Hum Mutat.* 2009 Nov;30(11):1486-511
- Kapa S, et al. Genetic testing for long-QT syndrome: distinguishing pathogenic mutations from benign variants. *Circulation.* 2009 Nov 3;120(18):1752-60.
- Ackerman MJ, Mohler PJ. Defining a new paradigm for human arrhythmia syndromes: phenotypic manifestations of gene mutations in ion channel- and transporter-associated proteins. *Circ Res.* 2010 Aug 20;107(4):457-65.
- Patel C, Yan GX, Antzelevitch C. Short QT syndrome: from bench to bedside. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010 Aug 1;3(4):401-8.
- Redpath CJ, Green MS, Birnie DH, Gollob MH. Rapid genetic testing facilitating the diagnosis of short QT syndrome. *Can J Cardiol.* 2009 Apr;25(4):e133-5.
- Patel U, Pavri BB. Short QT syndrome: a review. *Cardiol Rev.* 2009 Nov-Dec;17(6):3003.

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 11/22

Sistemas Genómicos, S.L.

Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

35. Zareba W, Cygankiewicz I. Long QT syndrome and short QT syndrome. *Prog Cardiovasc Dis*. 2008 Nov-Dec;51(3):264-78.
36. Medeiros-Domingo A. Genetic of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: basic concepts. *Arch Cardiol Mex*. 2009 Dec;79 Suppl 2:13-7
37. Uchinoumi H, et al. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia is caused by mutation-linked defective conformational regulation of the ryanodine receptor. *Circ Res*. 2010 Apr 30;106(8):1413-24.
38. Betzenhauser MJ, Marks AR. Ryanodine receptor channelopathies. *Pflugers Arch*. 2010 Jul;460(2):467-80.
39. Ylänen K, et al. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Eur J Pediatr*. 2010 May;169(5):535-42
40. Cañadas V, Vilacosta I, Bruna I, Fuster V. Marfan syndrome. Part 1: pathophysiology and diagnosis. *Nat Rev Cardiol*. 2010 May;7(5):256-65
41. Chen J, et al. Mutations of the TGFBR2 gene in Chinese patients with Marfan-related syndrome. *Clin Invest Med*. 2010 Feb 1;33(1).
42. Dietz HC. TGF-beta in the pathogenesis and prevention of disease: a matter of aneurysmic proportions. *J Clin Invest*. 2010 Feb 1;120(2):403-7.
43. Brautbar A, et al. FBN1 mutations in patients with descending thoracic aortic dissections. *Am J Med Genet A*. 2010 Feb;152A(2):413-6.
44. Attias D, et al. Comparison of clinical presentations and outcomes between patients with TGFBR2 and FBN1 mutations in Marfan syndrome and related disorders. *Circulation*. 2009 Dec 22;120(25):2541-9
45. Chung BH, et al. Identification of novel FBN1 and TGFBR2 mutations in 65 probands with Marfan syndrome or Marfan-like phenotypes. *Am J Med Genet A*. 2009 Jul;149A(7):1452-9.
46. Milewicz DM, et al. Genetic testing in aortic aneurysm disease: PRO. *Cardiol Clin*. 2010 May;28(2):191-7
47. Andersen PS, et al. Diagnostic yield, interpretation, and clinical utility of mutation screening of sarcomeric encoding genes in Danish hypertrophic cardiomyopathy patients and relatives. *Hum Mutat*. 2009 Mar;30(3):363-70.
48. Morimoto S. Sarcomeric proteins and inherited cardiomyopathies. *Cardiovasc Res*. 2008 Mar 1;77(4):659-66
49. Marian AJ. Hypertrophic cardiomyopathy: from genetics to treatment. *Eur J Clin Invest*. 2010 Apr;40(4):360-9.
50. Callis TE, et al. Evolving molecular diagnostics for familial cardiomyopathies: at the heart of it all. *Expert Rev Mol Diagn*. 2010 Apr;10(3):329-51.
51. Xu Q, et al. Malignant and benign mutations in familial cardiomyopathies: insights into mutations linked to complex cardiovascular phenotypes. *J Mol Cell Cardiol*. 2010 May;48(5):899-909
52. Hershberger RE, et al. Progress with genetic cardiomyopathies: screening, counseling, and testing in dilated, hypertrophic, and arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 2009 May;2(3):253-61
53. Rodríguez JE, et al. Familial hypertrophic cardiomyopathy: basic concepts and future molecular diagnostics. *Clin Biochem*. 2009 Jun;42(9):755-65.
54. Kimura A. Molecular etiology and pathogenesis of hereditary cardiomyopathy. *Circ J*. 2008;72
55. Fatkin D, et al. Genetics of dilated cardiomyopathy. *Heart Fail Clin*. 2010 Apr;6(2):129-40.
56. Dellefave L, et al. The genetics of dilated cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol*. 2010 Feb 24.
57. Hershberger RE, et al. Clinical and genetic issues in dilated cardiomyopathy: A review for genetics professionals. *Genet Med*. 2010 Sep 22.
58. Zimmerman RS, et al. A novel custom resequencing array for dilated cardiomyopathy. *Genet Med*. 2010 May;12(5):268-78.
59. Luk A, et al. Dilated cardiomyopathy: a review. *J Clin Pathol*. 2009 Mar;62(3):219-25.
60. Hershberger RE, et al. Clinical and functional characterization of TNNT2 mutations identified in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009 Aug;2(4):306-13.
61. Human Gene Mutation Database (HGMD® Professional 2013.2). Krawczak M and Cooper DN. The human gene mutation database. *Trends Genet* (1997) 13:121-122.
62. IRCCS Fondazione Salvatore Maugeri Molecular Cardiology Laboratories. Gene Connection for the Heart Inherited Arrhythmias Database. <http://www.fsm.it/cardmoc/> [Accessed March 2013].
63. Glusman G, Caballero J, Mauldin DE, Hood L and Roach J (2011) KAVIAR: an accessible system for testing SNV novelty. *Bioinformatics*. 27(22):3216-3217.
64. van der Zwaag PA, et al (2009). A genetic variants database for arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Hum Mutat*. 30(9):1278-83.
65. Knöll R, Hoshijima M, Hoffman HM, Person V, Lorenzen-Schmidt I, Bang ML, Hayashi T, Shiga N, Yasukawa H, Schaper W, McKenna W, Yokoyama M, Schork NJ, Omens JH, McCulloch AD, Kimura A, Gregorio CC, Poller W, Schaper J, Schultheiss HP, Chien KR. The cardiac mechanical stretch sensor machinery involves a Z disc complex that is defective in a subset of human dilated cardiomyopathy. *Cell*. 2002 Dec 27;111(7):943-55. PubMed PMID: 12507422.
66. Bos JM, Poley RN, Ny M, Tester DJ, Xu X, Vatta M, Towbin JA, Gersh BJ, Ommen SR, Ackerman MJ. Genotype-phenotype relationships involving hypertrophic cardiomyopathy-associated mutations in titin, muscle LIM protein, and telethonin. *Mol Genet Metab*. 2006 May;88(1):78-85. Epub 2005 Dec 13. PubMed PMID: 16352453; PubMed Central PMCID: PMC2756511.
67. Knöll R, Kostin S, Klede S, Savvatis K, Klinge L, Stehle I, Gunkel S, Kötter S, Babicz K, Sohns M, Miocic S, Didié M, Knöll G, Zimmermann WH, Thelen P, Bickeböller H, Maier LS, Schaper W, Schaper J, Kraft T, Tschöpe C, Linke WA, Chien KR. A common MLP (muscle LIM protein) variant is associated with cardiomyopathy. *Circ Res*. 2010 Mar 5;106(4):695-704. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.206243. Epub 2009 Dec 31. PubMed PMID: 20044516.
68. Zimmerman RS, Cox S, Lakdawala NK, Cirino A, Mancini-DiNardo D, Clark E, Leon A, Duffy E, White E, Baxter S, Alaamery M, Farwell L, Weiss S, Seidman CE, Seidman JG, Ho CY, Rehm HL, Funke BH. A novel custom resequencing array

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS. EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA. PÁG. 12/22

- for dilated cardiomyopathy. *Genet Med.* 2010 May;12(5):268-78. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181d6f7c0. PubMed PMID: 20474083; PubMed Central PMCID: PMC3018746.
69. Andreasen C, Nielsen JB, Refsgaard L, Holst AG, Christensen AH, Andreasen L, Sajadieh A, Haunsø S, Svendsen JH, Olesen MS. New population-based exome data are questioning the pathogenicity of previously cardiomyopathy-associated genetic variants. *Eur J Hum Genet.* 2013 Sep;21(9):918-28. doi: 10.1038/ejhg.2012.283. Epub 2013 Jan 9. PubMed PMID: 23299917; PubMed Central PMCID: PMC3746259.
 70. Taylor M, Graw S, Sinagra G, Barnes C, Slavov D, Brun F, Pinamonti B, Salcedo EE, Sauer W, Pyxaras S, Anderson B, Simon B, Bogomolovas J, Labeit S, Granzier H, Mestroni L. Genetic variation in titin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy-overlap syndromes. *Circulation.* 2011 Aug 23;124(8):876-85. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.005405. Epub 2011 Aug 1. PubMed PMID: 21810661; PubMed Central PMCID: PMC3167235.
 71. Cardiogenomics. Sarcomere Protein Gene Mutation Database. Genomics of Cardiovascular Development, Adaptation, and Remodeling. NHLBI Program for Genomic Applications, Harvard Medical School. URL: <http://genepath.med.harvard.edu/~seidman/outdated-mutdb/index.html> [Accessed November 2013].
 72. Andersen PS, Havndrup O, Bundgaard H, Moolman-Smook JC, Larsen LA, Mogensen J, Brink PA, Børglum AD, Corfield VA, Kjeldsen K, Vuust J, Christiansen M. Myosin light chain mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy: phenotypic presentation and frequency in Danish and South African populations. *J Med Genet.* 2001 Dec;38(12):E43. PubMed PMID: 11748309; PubMed Central PMCID: PMC1734772.
 73. Szczesna-Cordary D, Guzman G, Ng SS, Zhao J. Familial hypertrophic cardiomyopathy-linked alterations in Ca²⁺ binding of human cardiac myosin regulatory light chain affect cardiac muscle contraction. *J Biol Chem.* 2004 Jan 30;279(5):3535-42. Epub 2003 Nov 1. PubMed PMID: 14594949.
 74. Greenberg MJ, Watt JD, Jones M, Kazmierczak K, Szczesna-Cordary D, Moore JR. Regulatory light chain mutations associated with cardiomyopathy affect myosin mechanics and kinetics. *J Mol Cell Cardiol.* 2009 Jan;46(1):108-15. doi: 10.1016/j.yjmcc.2008.09.126. Epub 2008 Sep 27. PubMed PMID: 18929571; PubMed Central PMCID: PMC2675789.
 75. Greenberg MJ, Kazmierczak K, Szczesna-Cordary D, Moore JR. Cardiomyopathy-linked myosin regulatory light chain mutations disrupt myosin strain-dependent biochemistry. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Oct 5;107(40):17403-8. doi: 10.1073/pnas.1009619107. Epub 2010 Sep 20. PubMed PMID: 20855589; PubMed Central PMCID: PMC2951453.
 76. Andreasen C, Nielsen JB, Refsgaard L, Holst AG, Christensen AH, Andreasen L, Sajadieh A, Haunsø S, Svendsen JH, Olesen MS. New population-based exome data are questioning the pathogenicity of previously cardiomyopathy-associated genetic variants. *Eur J Hum Genet.* 2013 Sep;21(9):918-28. doi: 10.1038/ejhg.2012.283. Epub 2013 Jan 9. PubMed PMID: 23299917; PubMed Central PMCID: PMC3746259.
 77. Hougs L, Havndrup O, Bundgaard H, Kober L, Vuust J, Larsen LA, Christiansen M, Andersen PS. One third of Danish hypertrophic cardiomyopathy patients with MYH7 mutations have mutations [corrected] in MYH7 rod region. *Eur J Hum Genet* 2005 Feb;13(2):161-5. (PubMed:15483641)
 78. Lahtinen AM, Lehtonen E, Marjamaa A, Kaartinen M, Heliö T, Porthan K, Oikarinen L, Toivonen L, Swan H, Jula A, Peltonen L, Palotie A, Salomaa V, Kontula K. Population-prevalent desmosomal mutations predisposing to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Heart Rhythm.* 2011 Aug;8(8):1214-21. doi: 10.1016/j.hrthm.2011.03.015. Epub 2011 Mar 10. PubMed PMID: 21397041.
 79. Barahona-Dussault C, Benito B, Campuzano O, Iglesias A, Leung TL, Robb L, Talajic M, Brugada R. Role of genetic testing in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Clin Genet.* 2010 Jan;77(1):37-48. doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01282.x. Epub 2009 Oct 15. PubMed PMID: 19863551.
 80. Xu T, Yang Z, Vatta M, Rampazzo A, Boffagna G, Pillichou K, Scherer SE, Saffitz J, Kravitz J, Zareba W, Danielli GA, Lorenzon A, Nava A, Bauce B, Thiene G, Basso C, Calkins H, Gear K, Marcus F, Towbin JA; Multidisciplinary Study of Right Ventricular Dysplasia Investigators. Compound and digenic heterozygosity contributes to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Feb 9;55(6):587-97. doi: 10.1016/j.jacc.2009.11.020. Erratum in: *J Am Coll Cardiol.* 2010 Mar 30;55(13):1401. Pillichou, Kalliopi [corrected to Pillichou, Kalliopi]. PubMed PMID: 20152563; PubMed Central PMCID: PMC2852685.
 81. den Haan AD, Tan BY, Zikusoka MN, Lladó LI, Jain R, Daly A, Tichnell C, James C, Amat-Alarcon N, Abraham T, Russell SD, Bluemke DA, Calkins H, Dalal D, Judge DP. Comprehensive desmosome mutation analysis in north americans with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009 Oct;2(5):428-35. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.858217. Epub 2009 Jun 3. PubMed PMID: 20031617; PubMed Central PMCID: PMC2801867.
 82. Bolling, MC, et al (2010). PLEC1 mutations underlie adult-onset dilated cardiomyopathy in epidermolysis bullosa simplex with muscular dystrophy. *The Journal of investigative dermatology*, 130(4), 1178–1181.

NOTES:

- Patient details included in this study are confidential and must be handled with strict confidentiality criteria.
- This study is based on the complete sequencing of the coding regions and adjacent intronic areas. Large deletions and rearrangements, or deep intronic mutations, would not be detected with this methodology.
- Insertion mutations larger than 4 bp or deletions larger than 11 bp are not detected using this methodology.
- The sensitivity of this technique is 96 % for the detection of SNPs and 70 % for the detection of indels.

Paterna,

NEW TECHNOLOGIES UNIT

MOLECULAR DIAGNOSTIC LABORATORY

BIOINFORMATICS UNIT

MEDICAL GENETICS UNIT

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 13/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

APPENDIX I: POLYMORPHIC VARIANTS

List of polymorphic variants identified by Next Generation Sequencing.
Their presence needs to be confirmed by Sanger sequencing.

Gene	Chr.	Pos. (bp)	GRCh37	GM017133	MAF	dbSNP ID
NPPA	chr1	11,906,068	A	G	0.1392	rs5065
PCSK9	chr1	55,517,344	C	T	0.4602	rs572512
TGFBR3	chr1	92,177,938	A	G	0.3081	rs1805113
TGFBR3	chr1	92,185,657	C	T	0.3947	rs1805112
TGFBR3	chr1	92,262,874	T	C	0.2784	rs2810904,rs58760640
CASQ2	chr1	116,283,343	A	G	337.000	rs9428083
TNNT2	chr1	201,335,196	C	T	0.0824	rs3767545
TNNT2	chr1	201,343,115	C	G	0.2912	rs3020556
PSEN2	chr1	227,059,037	C	T	0.1552	rs1295645
PSEN2	chr1	227,069,677	T	C	256.000	rs11405
PSEN2	chr1	227,078,592	C	T	0.3512	rs1800678
RYR2	chr1	237,433,625	C	T	0.4446	rs2275287
RYR2	chr1	237,540,615	A	C	386.000	rs10925391
RYR2	chr1	237,586,384	T	C	0.1621	rs16835237
APOB	chr2	21,225,753	C	T	0.1525	rs1042031
APOB	chr2	21,232,195	G	A	0.2747	rs693
APOB	chr2	21,232,804	G	A	0.2175	rs1041968
APOB	chr2	21,250,914	G	A	0.4908	rs679899
APOB	chr2	21,263,900	G	A	0.2056	rs1367117
FHL2	chr2	105,977,903	G	C	0.2926	rs2244182
FHL2	chr2	105,979,730	C	A	0.2875	rs2278502
FHL2	chr2	106,013,147	C	T	0.1346	rs34179780
PKP4	chr2	159,313,666	G	A	0.0618	rs3755401
PKP4	chr2	159,314,835	C	G	0.0531	rs80325738
TTN	chr2	179,395,958	T	C	0.4483	rs3813250
TTN	chr2	179,396,354	G	A	0.2047	rs3829748
TTN	chr2	179,397,561	C	T	0.1896	rs3829747
TTN	chr2	179,398,823	G	A	0.2047	rs2857265
TTN	chr2	179,404,786	A	T	201.000	rs2288325
TTN	chr2	179,406,003	C	A	0.4446	rs3731750
TTN	chr2	179,406,191	C	T	0.19	rs3731749
TTN	chr2	179,413,110	G	A	0.2056	rs3731748
TTN	chr2	179,421,694	A	G	0.4483	rs9808377
TTN	chr2	179,424,048	T	C	0.0192	rs55972010
TTN	chr2	179,427,186	A	G	0.4496	rs2366751
TTN	chr2	179,427,536	T	C	0.4487	rs3829746
TTN	chr2	179,430,997	G	A	0.3173	rs3731746
TTN	chr2	179,436,020	G	A	0.19	rs744426
TTN	chr2	179,444,137	A	G	0.3251	rs2288571
TTN	chr2	179,444,939	C	T	0.3251	rs2303838
TTN	chr2	179,447,848	T	C	457.000	rs4894029
TTN	chr2	179,451,420	G	A	0.4473	rs2042996
TTN	chr2	179,454,394	A	G	0.4528	rs1560221
TTN	chr2	179,455,207	T	C	0.4533	rs2163009
TTN	chr2	179,457,147	G	A	0.1946	rs16866406
TTN	chr2	179,458,591	C	T	0.1937	rs2288569
TTN	chr2	179,464,527	T	C	457.000	rs1001238
TTN	chr2	179,498,042	T	C	0.0527	rs6723526
TTN	chr2	179,543,217	C	T	0.2193	rs35112591
TTN	chr2	179,558,366	T	C	0.4167	rs2042995

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 14/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gene	Chr.	Pos. (bp)	GRCh37	GM017133	MAF	dbSNP ID
TTN	chr2	179,578,730	G	A	0.3947	rs2562839
TTN	chr2	179,579,093	T	C	0.2344	rs12693164
TTN	chr2	179,579,212	T	C	429.000	rs2562838
TTN	chr2	179,579,822	T	A	0.3947	rs2562836
TTN	chr2	179,582,327	C	T	0.2344	rs13390491
TTN	chr2	179,582,537	G	T	0.3933	rs2627043
TTN	chr2	179,583,317	G	A	0.0664	rs72648978
TTN	chr2	179,583,496	T	G	0.2289	rs16866465
TTN	chr2	179,585,393	A	G	0.4071	rs2562830
TTN	chr2	179,586,604	C	G	0.0197	rs72648970
TTN	chr2	179,587,130	C	G	0.2349	rs12693166
TTN	chr2	179,595,117	C	G	0.3429	rs17076
TTN	chr2	179,605,180	C	T	0.2628	rs746578
TTN	chr2	179,638,238	G	A	0.0659	rs2291306
TTN	chr2	179,659,912	G	A	0.2317	rs16866538
COL3A1	chr2	189,849,773	A	G	0.3823	rs3106796
COL3A1	chr2	189,863,389	C	T	0.2349	rs13306272
COL3A1	chr2	189,864,080	G	A	0.2088	rs1800255
DES	chr2	220,284,779	C	T	456.000	rs12991025
DES	chr2	220,285,309	C	T	0.3471	rs1058261
DES	chr2	220,285,666	G	C	0.3471	rs12920
DES	chr2	220,286,142	G	A	342.000	rs1058284
CAV3	chr3	8,775,589	C	T	0.0595	rs1974763
CAV3	chr3	8,787,220	T	C	0.1644	rs13087941
CAV3	chr3	8,883,040	T	C	0.3196	rs2270474
CAV3	chr3	8,883,206	A	C	0.4002	rs2270475
CAV3	chr3	8,883,416	A	G	0.1845	rs7612922
RAF1	chr3	12,628,920	G	C	0.2028	rs2290159
RAF1	chr3	12,629,965	G	C	359.000	rs2442807
RAF1	chr3	12,631,774	A	G	0.3567	rs2596830
RAF1	chr3	12,633,552	T	C	0.4249	rs2442808
RAF1	chr3	12,649,937	C	T	0.3535	rs963959
RAF1	chr3	12,650,003	T	G	0.0353	rs113788042
TGFBR2	chr3	30,713,126	T	A	0.3114	rs11466512
GPD1L	chr3	32,200,233	G	A	0.3475	rs2305362
GPD1L	chr3	32,200,322	T	C	0.4666	rs2305361
GPD1L	chr3	32,207,606	A	G	0.4666	rs6799559
GPD1L	chr3	32,207,732	C	T	0.4643	rs6775309
GPD1L	chr3	32,207,737	A	T	0.4629	rs6799728
GPD1L	chr3	32,208,431	A	G	0.4281	rs6802739
GPD1L	chr3	32,208,467	T	G	0.4963	rs6791603
GPD1L	chr3	32,208,621	T	C	0.4716	rs2813
GPD1L	chr3	32,208,875	T	G	0.4707	rs9839305
GPD1L	chr3	32,209,230	T	C	0.4693	rs3749278
GPD1L	chr3	32,209,750	T	C	0.4592	rs3087806
GPD1L	chr3	32,209,927	A	G	0.4583	rs7363
SCN5A	chr3	38,592,406	A	G	0.4936	rs1805126
SCN5A	chr3	38,622,868	G	A	0.0261	rs41260344
SCN5A	chr3	38,645,420	T	C	206.000	rs1805124
SCN5A	chr3	38,656,033	A	G	0.4487	rs6797133
SCN5A	chr3	38,671,768	G	T	0.0357	rs41312963
SCN10A	chr3	38,766,701	C	T	0.1149	rs6791171
CACNA1D	chr3	53,769,479	C	T	0.2225	rs1045958
MYLK	chr3	123,518,876	G	T	0.1282	rs78891934
ANK2	chr4	113,991,140	G	A	0.1538	rs2279892

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 15/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gene	Chr.	Pos. (bp)	GRCh37	GM017133	MAF	dbSNP ID
ANK2	chr4	114,279,674	C	A	16.000	rs34270799
MYOZ2	chr4	120,079,159	A	G	0.4281	rs11721566
PDLIM3	chr4	186,427,735	G	A	0.0119	rs62347360
ADRB2	chr5	148,206,375	C	T	0.2431	rs1801704
ADRB2	chr5	148,206,440	G	A	0.4702	rs1042713
ADRB2	chr5	148,206,473	G	C	0.2386	rs1042714
ADRB2	chr5	148,207,447	G	C	0.3553	rs1042719
ADRB2	chr5	148,207,633	G	A	0.4757	rs1042720
SGCD	chr5	155,771,579	T	C	494.000	rs1801193
DSP	chr6	7,565,727	A	T	0.0174	rs17604693
DSP	chr6	7,577,260	C	T	0.2614	rs2064217
DSP	chr6	7,584,617	C	T	0.2308	rs2076300
DSP	chr6	7,585,967	G	C	0.2889	rs2744380
LAMA4	chr6	112,521,387	A	C	0.3411	rs4947176
EYA4	chr6	133,646,412	C	A	0.3407	rs2184784
EYA4	chr6	133,681,677	G	A	0.0668	rs9389075
SYNE1	chr6	152,442,988	T	C	0.0334	rs3756933
SYNE1	chr6	152,443,761	C	T	0.0513	rs2295192
SYNE1	chr6	152,542,548	A	G	0.3283	rs9383976
SYNE1	chr6	152,615,200	G	A	0.1612	rs12664753
SYNE1	chr6	152,632,271	G	A	0.1081	rs12206761
SYNE1	chr6	152,658,062	C	G	0.0114	rs117501809
SYNE1	chr6	152,683,413	G	T	0.3081	rs4407724
SYNE1	chr6	152,689,195	G	A	0.4231	rs9371592
SYNE1	chr6	152,690,559	G	A	0.4245	rs1873176
SYNE1	chr6	152,694,184	T	C	0.4675	rs6913579
SYNE1	chr6	152,697,706	C	T	0.4808	rs214955
SYNE1	chr6	152,708,310	G	A	0.2564	rs214950
SYNE1	chr6	152,776,750	G	A	0.2972	rs214968
AKAP9	chr7	91,708,898	A	G	0.0668	rs35759833
AKAP9	chr7	91,721,529	T	C	185.000	rs74298192
AKAP9	chr7	91,721,673	G	C	0.1841	rs78291049
FLNC	chr7	128,477,472	T	C	0.1117	rs2291560
FLNC	chr7	128,477,547	T	C	0.1108	rs2291561
FLNC	chr7	128,477,620	G	A	82.000	rs55907818
FLNC	chr7	128,484,816	A	G	0.3516	rs3734973
FLNC	chr7	128,486,363	C	T	0.3329	rs34373805
FLNC	chr7	128,488,734	G	A	0.0705	rs2291569
FLNC	chr7	128,490,553	T	C	0.3668	rs13227216
KCNH2	chr7	150,649,531	G	A	0.37	rs1805120
DPP6	chr7	153,750,096	G	A	0.0284	rs2533730
DPP6	chr7	154,667,643	G	A	0.2024	rs2230064
DPP6	chr7	154,667,919	T	G	0.3819	rs1110077
DPP6	chr7	154,672,646	T	C	0.2592	rs3817522
DPP6	chr7	154,672,679	A	T	0.4171	rs3817520
DPP6	chr7	154,672,703	G	A	0.0687	rs28405723
DPP6	chr7	154,672,717	G	A	0.4125	rs3817519
DPP6	chr7	154,672,809	G	A	0.3329	rs3817518
DPP6	chr7	154,676,618	C	A	0.0668	rs56895940
DPP6	chr7	154,677,085	G	A	0.0604	rs75842666
DPP6	chr7	154,677,414	C	T	0.0357	rs3734959
DPP6	chr7	154,681,363	A	T	0.3292	rs13232266
DPP6	chr7	154,681,383	T	C	0.3233	rs2280656
DPP6	chr7	154,681,835	T	C	0.3723	rs7782222
DPP6	chr7	154,682,304	G	A	0.3283	rs3807297

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 16/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gene	Chr.	Pos. (bp)	GRCh37	GM017133	MAF	dbSNP ID
DPP6	chr7	154,682,396	A	G	0.3233	rs28537726
DPP6	chr7	154,682,505	T	C	0.3269	rs28487939
DPP6	chr7	154,682,608	A	G	0.3768	rs28538686
DPP6	chr7	154,684,153	T	C	0.3338	rs3734960
LPL	chr8	19,810,826	G	A	0.0398	rs248
LPL	chr8	19,822,830	G	A	0.1264	rs4922115
ADRB3	chr8	37,821,486	C	G	0.0989	rs4998
ADRB3	chr8	37,822,769	C	A	0.0998	rs4997
ADRB3	chr8	37,823,798	A	G	0.0998	rs4994
PLEC	chr8	144,990,528	A	G	0.4519	rs7014582
PLEC	chr8	144,990,784	G	A	0.0101	rs113513807
PLEC	chr8	144,991,176	T	C	0.4524	rs6558405
PLEC	chr8	144,992,103	T	C	0.4675	rs6558406
PLEC	chr8	144,992,361	T	C	0.4611	rs7822511
PLEC	chr8	144,992,862	A	G	429.000	rs7819099
PLEC	chr8	144,993,069	G	A	0.0467	rs28455570
PLEC	chr8	144,993,324	C	T	0.2413	rs6984820
PLEC	chr8	144,993,377	A	G	0.4464	rs6992333
PLEC	chr8	144,995,494	C	T	0.2463	rs6558407
PLEC	chr8	144,995,736	G	A	0.2463	rs11777402
PLEC	chr8	144,996,029	A	G	0.4478	rs7833924
PLEC	chr8	144,996,408	T	G	0.2463	rs11778026
PLEC	chr8	144,997,656	C	T	0.2454	rs7016416
PLEC	chr8	144,997,927	G	A	0.2454	rs7002002
PLEC	chr8	144,998,169	C	T	0.2454	rs1140522
PLEC	chr8	144,998,190	A	G	0.2463	rs2857829
PLEC	chr8	144,999,417	C	T	0.2445	rs55836855
PLEC	chr8	144,999,621	C	T	0.2321	rs55646585
PLEC	chr8	144,999,642	A	C	0.2463	rs56117011
PLEC	chr8	144,999,684	A	G	0.2482	rs35916068
PLEC	chr8	145,000,056	T	C	0.2454	rs7002152
PLEC	chr8	145,001,031	T	C	446.000	rs55895668
PLEC	chr8	145,001,267	G	A	0.1007	rs62522552
PLEC	chr8	145,001,588	C	T	0.2454	rs11136334
PLEC	chr8	145,001,784	A	G	0.2454	rs3135109
PLEC	chr8	145,009,356	G	A	27.000	rs12545876
ABCA1	chr9	107,548,566	T	C	0.1255	rs2066881
ABCA1	chr9	107,553,185	A	G	0.3114	rs2020927
ABCA1	chr9	107,562,804	T	C	0.4103	rs2230808
ABCA1	chr9	107,588,033	C	T	0.1277	rs2066715
ABCA1	chr9	107,599,390	G	A	0.13	rs2297399
NOTCH1	chr9	139,391,338	C	T	0.0256	rs61751489
NOTCH1	chr9	139,397,707	G	A	0.4162	rs10521
NOTCH1	chr9	139,405,261	C	T	386.000	rs3125001
NOTCH1	chr9	139,407,932	A	G	0.4441	rs2229971
NOTCH1	chr9	139,410,177	T	C	0.3988	rs3124603
NOTCH1	chr9	139,411,714	T	C	0.3869	rs11145767
NOTCH1	chr9	139,412,197	G	A	0.3127	rs9411208
NOTCH1	chr9	139,418,260	A	G	294.000	rs4489420
CACNA1B	chr9	140,772,434	G	A	0.0614	rs187204220
CACNA1B	chr9	140,772,442	G	A	0.0614	rs191962352
CACNB2	chr10	18,816,633	C	T	0.2198	rs4314963
CACNB2	chr10	18,828,371	C	T	217.000	rs2228645
NEBL	chr10	21,104,694	A	T	0.4721	rs4748727
NEBL	chr10	21,108,247	C	T	0.4771	rs1006362

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 17/22

Gene	Chr.	Pos. (bp)	GRCh37	GM017133	MAF	dbSNP ID
NEBL	chr10	21,108,377	C	T	0.2047	rs1006363
NEBL	chr10	21,120,116	A	G	0.4528	rs10491056
NEBL	chr10	21,177,156	GA	G	0.4345	rs67288319
MYPN	chr10	69,926,319	C	A	0.1209	rs61854624
MYPN	chr10	69,926,325	C	T	0.1534	rs2673793
ACTA2	chr10	90,706,745	G	A	0.2756	rs12415470
ACTA2	chr10	90,708,126	G	C	0.3443	rs913042
SHOC2	chr10	112,679,859	G	A	0.1337	rs74156313
ADRB1	chr10	115,805,056	G	C	0.2981	rs1801253
BAG3	chr10	121,429,633	T	C	0.0994	rs2234962
HRAS	chr11	534,242	A	G	0.2981	rs12628
HRAS	chr11	537,120	C	T	0.0792	rs12421266
KCNQ1	chr11	2,798,804	A	C	0.4414	rs81205
KCNQ1	chr11	2,869,188	C	T	0.1177	rs11601907
ILK	chr11	6,625,016	G	T	0.0499	rs11607058
ILK	chr11	6,629,042	G	A	0.2019	rs2255538
ILK	chr11	6,629,530	G	A	0.4918	rs2048092
ILK	chr11	6,630,410	T	C	0.1538	rs11826498
ILK	chr11	6,631,016	C	T	0.1864	rs2292195
KCNJ11	chr11	17,409,069	G	A	0.2752	rs5218
KCNE3	chr11	74,168,411	A	G	0.1232	rs2270676
SCN4B	chr11	118,004,688	A	G	0.3961	rs3741315
SCN4B	chr11	118,004,863	A	G	174.000	rs45584835
SCN4B	chr11	118,005,119	T	C	0.1745	rs868344
SCN4B	chr11	118,005,622	T	G	174.000	rs45460396
SCN4B	chr11	118,006,408	C	T	0.4222	rs7124127
SCN4B	chr11	118,006,957	C	T	0.4212	rs1814964
SCN3B	chr11	123,509,994	T	C	0.0939	rs74421140
SCN3B	chr11	123,511,651	T	C	462.000	rs1720344
KCNJ5	chr11	128,786,294	G	A	283.000	rs4937391
KRAS	chr12	25,362,777	A	G	0.1658	rs1137282
TMPO	chr12	98,921,562	A	G	207.000	rs35124796
TMPO	chr12	98,925,650	G	T	0.4835	rs3213901
TMPO	chr12	98,925,865	C	A	0.2381	rs3213900
MYH6	chr14	23,855,569	A	G	0.4226	rs178640
MYH6	chr14	23,855,849	C	T	0.2266	rs2071634
MYH6	chr14	23,857,351	G	A	0.3993	rs8022522
MYH6	chr14	23,869,073	T	C	0.0691	rs17212041
MYH6	chr14	23,874,507	G	T	0.0687	rs2277473
MYH7	chr14	23,884,889	C	T	0.12	rs3729830
MYH7	chr14	23,892,888	A	G	0.3558	rs7157716
MYH7	chr14	23,898,994	G	A	0.1442	rs2231126
MYH7	chr14	23,900,794	G	A	0.2257	rs2069542
PNN	chr14	39,644,498	G	A	0.1928	rs1061583
PNN	chr14	39,648,629	C	T	0.1314	rs11558739
SYNE2	chr14	64,612,845	C	T	0.4469	rs11629287
SYNE2	chr14	64,612,858	C	A	0.3864	rs10151658
SYNE2	chr14	64,637,147	C	A	0.3901	rs7161192
SYNE2	chr14	64,640,665	C	G	0.2033	rs7148122
PSEN1	chr14	73,664,718	T	C	0.0288	rs3025786
TGFB3	chr14	76,432,629	A	C	0.0678	rs4252336
TGFB3	chr14	76,432,784	G	C	0.0659	rs3917186
SPRED1	chr15	38,618,257	G	A	0.1113	rs954832
TPM1	chr15	63,349,132	T	A	0.1136	rs28485524
TPM1	chr15	63,352,140	G	T	0.1149	rs3803502

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 18/22

Inscrita en el Registro Mercantil de Valencia, Tomo 6.127, Libro 3.433 de la Secc. 8 del L. Sdeca., Folio 216, Hoja N.º V.61387, Insc. 1.ª - C.I.F. B.96779764

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gene	Chr.	Pos. (bp)	GRCh37	GM017133	MAF	dbSNP ID
TPM1	chr15	63,356,181	G	A	0.1044	rs28660606
SMAD3	chr15	67,358,478	G	A	0.2161	rs1061427
SMAD3	chr15	67,370,368	C	G	0.4331	rs12901081
SMAD3	chr15	67,370,389	A	G	0.2143	rs12901071
HCN4	chr15	73,615,878	C	T	0.0234	rs117819825
HCN4	chr15	73,621,946	G	A	0.0536	rs12909882
MEF2A	chr15	100,252,892	A	G	0.0357	rs34851361
MYH11	chr16	15,806,918	A	G	0.0357	rs78796084
MYH11	chr16	15,807,152	TGAG	T	0.0664	rs138427633
MYH11	chr16	15,820,863	C	T	0.2367	rs12909494
MYH11	chr16	15,950,894	TC	T	0.3365	rs3215003
ABCC6	chr16	16,243,973	C	T	54.000	rs3902401
ABCC6	chr16	16,263,663	G	A	0.1364	rs2856585
SCNN1G	chr16	23,224,416	G	A	0.1836	rs13306653
SCNN1G	chr16	23,226,787	C	G	0.1836	rs5723
KCNJ12	chr17	21,318,770	G	A	0.3269	rs3752033
KCNJ12	chr17	21,318,773	G	A	0.3283	rs3752034
KCNJ12	chr17	21,318,912	C	A	0.3068	rs35011501
KCNJ12	chr17	21,319,399	A	G	0.3736	rs4985866
GAA	chr17	78,076,360	A	C	0.3072	rs55751636
GAA	chr17	78,079,643	C	T	0.1131	rs1800301
GAA	chr17	78,087,109	A	G	0.2637	rs1800310
DSC2	chr18	28,673,565	T	C	0.1154	rs12954874
SCN1B	chr19	35,524,824	T	C	0.38	rs55742440
TRPM4	chr19	49,661,112	G	A	0.1571	rs3760663
TNNI3	chr19	55,668,509	A	T	0.3942	rs3729836
JPH2	chr20	42,743,454	A	G	0.2734	rs6093935
JPH2	chr20	42,744,587	G	C	0.1749	rs74352869
KCNQ2	chr20	62,066,057	G	A	0.1401	rs1108457
KCNE1	chr21	35,883,030	G	A	0.1126	rs7277610
DMD	chrX	31,676,096	G	A	0.3213	rs2270672
DMD	chrX	31,697,636	A	G	0.2001	rs1801188
DMD	chrX	31,893,307	T	G	0.2031	rs1800275
DMD	chrX	32,380,996	C	T	0.4479	rs1801187
DMD	chrX	32,591,931	T	C	0.0904	rs5927083
KCNEIL	chrX	108,868,153	G	A	0.0705	rs17003955
EMD	chrX	153,609,616	G	C	0.1712	rs17426
EMD	chrX	153,609,617	C	T	0.17	rs17427

Inscrita en el Registro Mercantil de Valencia, Tomo 6.127, Libro 3.433, de la Secc. 8 del L. 54da., Folio 216, Hoja Nº V.61387, Insc. 1ª - C.I.F. B-96779764

NOTES

These variants have not been confirmed by Sanger sequencing.
Genomic positions are given according to GRCh37 (hg19).

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 19/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

APPENDIX II: REFERENCE SEQUENCES

All transcripts stored in Ensembl for the 154 genes that comprise the Sudden Cardiac Death NGS panel, were taken into account in the analysis. The following RefSeq transcripts have been used for nomenclature purposes, and with some exceptions, they are also the ones taken as reference transcripts in the HGMD® Professional 2013.2 database.

Gene	Transcript	Notes
ABCA1	NM_005502.3	
ABCC6	NM_001171.5	
ABCC9	NM_005691.2	
ACTA2	NM_001613.2	
ACTC1	NM_005159.4	
ACTN2	NM_001103.2	
ADRB1	NM_000684.2	
ADRB2	NM_000024.5	
ADRB3	NM_000025.2	
AGL	NM_000642.2	
AKAP9	NM_005751.4	
ANK2	NM_001148.4	
ANKRD1	NM_014391.2	
APOA1	NM_000039.1	
APOB	NM_000384.2	
APOE	NM_000041.2	
BAG3	NM_004281.3	
BRAF	NM_004333.4	
CACNA1B	NM_000718.3	
CACNA1C	NM_000719.6	
CACNA1D	NM_000720.2	
CACNA2D1	NM_000722.2	
CACNB2	NM_201590.2, NM_000724.3	HGMD and longest isoform, respectively
CALR3	NM_145046.3	
CASQ2	NM_001232.3	
CAV3	NM_033337.2	
CBL	NM_005188.2	
COL3A1	NM_000090.3	
CRYAB	NM_001885.1	
CSRP3	NM_003476.3	
CTF1	NM_001330.3	
DES	NM_001927.3	
DMD	NM_021027.2	
DPP6	NM_130797.2	
DSC2	NM_024422.3	
DSG2	NM_001943.3	
DSP	NM_004415.2	
DTNA	NM_032978.6	
EFEMP2	NM_016938.4	
EMD	NM_000117.2	
ENPP1	NM_006208.2	
EYA4	NM_004100.4	
FBLN5	NM_006329.3	
FBN1	NM_000138.4	
FBN2	NM_001999.3	
FHL1	NM_001449.4	
FHL2	NM_201555.1	
FKTN	NM_006731.2	NM_001079802.1 does not have a corresponding transcript in Ensembl
FLNC	NM_001458.4	
FXN	NM_000144.4	

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 20/22

Inscrita en el Registro Mercantil de Valencia, Tomo 6.127, Libro 3.433 de la Secc. 8 del L. 54da., Folio 216., Hoja N° V.61387, Insc. 1ª. C.I.F. B.96779764

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gene	Transcript	Notes
GAA	NM_000152.3	
GJA1	NM_000165.3	
GJA5	NM_005266.5	
GLA	NM_000169.2	
GPD1L	NM_015141.3	
HCN1	NM_021072.2	
HCN4	NM_005477.2	
HRAS	NM_005343.2	
ILK	NM_004517.2	
JPH2	NM_020433.4	
JUP	NM_002230.2	
KCNA5	NM_002234.2	
KCND3	NM_004980.4	
KCNE1	NM_001127668.2	NM_001079802.1 does not have a corresponding transcript in Ensembl
KCNE1L	NM_012282.2	
KCNE2	NM_172201.1	
KCNE3	NM_005472.4	
KCNE4	NM_080671.2	
KCNH2	NM_000238.3	
KCNJ11	NM_000525.3	
KCNJ12	NM_021012.4	
KCNJ2	NM_000891.2	
KCNJ3	NM_002239.3	
KCNJ5	NM_000890.3	
KCNJ8	NM_004982.2	
KCNQ1	NM_000218.2	
KCNQ2	NM_172107.2	
KRAS	NM_004985.3	
LAMA4	NM_002290.3	
LAMP2	NM_002294.2	
LDB3	NM_001080116.1, NM_001171610.1	HGMD and longest isoform, respectively
LDLR	NM_000527.4	
LMNA	NM_005572.3	
LPL	NM_000237.2	
LRP6	NM_002336.2	
MAP2K1	NM_002755.3	
MAP2K2	NM_030662.3	
MEF2A	NM_005587.2	
MYBPC3	NM_000256.3	
MYH11	NM_002474.2	
MYH6	NM_002471.3	
MYH7	NM_000257.2	
MYL2	NM_000432.3	
MYL3	NM_000258.2	
MYLK	NM_053025.3	
MYLK2	NM_033118.3	
MYOT	NM_006790.2	
MYOZ2	NM_016599.3	
MYPN	NM_032578.2	
NEBL	NM_006393.2	
NEXN	NM_144573.3	
NOTCH1	NM_017617.3	
NPPA	NM_006172.3	
NRAS	NM_002524.4	
PCSK9	NM_174936.3	
PDLIM3	NM_014476.4	

Inscrita en el Registro Mercantil de Valencia. Tomo 6.127. Libro 3.433 de la Secc. 8 del L. Sides. Folio 216. Hoja Nº V 61387. Insc. 1ª. C.I.F. B 96979704

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PÁG. 21/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

Gene	Transcript	Notes
PKP2	NM_004572.3	
PKP4	NM_003628.3	
PLEC	NM_000445.3	
PLN	NM_002667.3	
PNN	NM_002687.3	
PRKAG2	NM_016203.3	
PSEN1	NM_000021.3	
PSEN2	NM_000447.2	
PTPN11	NM_002834.3	
RAF1	NM_002880.3	
RANGRF	NM_016492.4	
RBM20	NM_001134363.1	
RPSA	NM_002295.4	
RYR2	NM_001035.2	
SCN10A	NM_006514.2	
SCN1B	NM_001037.4, NM_199037.3	
SCN2B	NM_004588.4	
SCN3B	NM_018400.3	
SCN4B	NM_174934.3	
SCN5A	NM_198056.2	
SCNN1B	NM_000336.2	
SCNN1G	NM_001039.3	
SDHA	NM_004168.2	
SGCD	NM_000337.5	
SHOC2	NM_007373.3	
SLC25A4	NM_001151.3	
SLC2A10	NM_030777.3	
SMAD3	NM_005902.3	
SNTA1	NM_003098.2	
SOS1	NM_005633.3	
SPRED1	NM_152594.2	
SYNE1	NM_033071.3	
SYNE2	NM_182914.2	
TAZ	NM_000116.3	
TCAP	NM_003673.3	
TGFB3	NM_003239.2	
TGFBR1	NM_004612.2	
TGFBR2	NM_003242.5	
TGFBR3	NM_003243.4	
TMEM43	NM_024334.2	
TMPO	NM_003276.2	
TNNC1	NM_003280.2	
TNNI3	NM_000363.4	
TNNT2	NM_001001430.1	
TPM1	NM_001018005.1	
TRPM4	NM_017636.3	
TTN	NM_003319.4	Predominant isoform in cardiac muscle
VCL	NM_014000.2	

Inscrita en el Registro Mercantil de Valencia, Tomo 6.127, Libro 3.433 de la Secc. 8 del L. Sids., Folio N.º V.61387, Insc. 1.º, C.I.F. B-96579764

QUEDA PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN DE SISTEMAS GENÓMICOS.
EL RESULTADO HACE REFERENCIA ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ENSAYADA
PAG. 22/22

Sistemas Genómicos, S.L.
Parque Tecnológico de Valencia • Ronda G. Marconi, 6 • 46980 Paterna (Valencia)
Tel. 902 364 669 • Fax: 902 364 670 • info@sistemasgenomicos.com • www.sistemasgenomicos.com

ANEXO VI

LISTA DE PACIENTES ESTUDIADOS CON DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES GENÉTICAS HETEROGÉNEAS

Tabla 6.a. Pacientes estudiados con diagnóstico de Enfermedades Cardiovasculares genéticas heterogéneas y número de genes analizados.

Nº	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
1	32	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
2	53	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
3	49	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
4	38	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
5	40	M	Síndrome de Marfan	3
6	28	M	Aneurisma de Aorta	72
7	25	M	Arritmia familiar	30
8	22	M	Síndrome QT largo	12
9	54	M	Síndrome de Marfan	72
10	50	F	Muerte súbita familiar	72
11	50	F	Muerte súbita familiar	72
12	15	M	Síndrome de Marfan	3
13	43	F	Síndrome de Marfan	72
14	56	M	Muerte súbita	72
15	55	M	Síndrome de Brugada	7
16	16	M	Síndrome de Marfan	72
17	52	M	Aneurisma de Aorta	72
18	29	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
19	31	F	Síndrome de Marfan	3
20	33	F	Síndrome QT largo	12
21	16	M	Síndrome de Marfan	72
22	17	F	Síndrome QT largo	12
23	55	M	Síndrome QT largo	12
24	44	F	Aneurisma de Aorta	72
25	37	M	Aneurisma de Aorta	72
26	49	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
27	51	F	Aneurisma de Aorta	72
28	45	M	Síndrome de Marfan	72
29	37	F	Síndrome QT largo	12
30	39	M	Síndrome de Marfan	3

Nº	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
31	36	M	Muerte súbita familiar	72
32	61	F	Miocardiopatía Familiar	40
33	50	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
34	64	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
35	55	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
36	63	M	Síndrome QT corto	72
37	29	F	Síndrome de Marfan	3
38	15	F	Síndrome QT largo	12
39	4	F	Miocardiopatía dilatada	34
40	49	M	Síndrome de Marfan	3
41	38	F	Síndrome de Marfan	3
42	44	M	Síndrome de Marfan	3
43	32	F	Síndrome de Marfan	3
44	52	F	Síndrome de Marfan	3
45	2	M	Muerte súbita	30
46	34	F	Síndrome de Marfan	3
47	3	F	Síndrome QT largo	30
48	59	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
49	39	M	Síndrome de Marfan	72
50	16	M	Muerte súbita familiar	72
51	50	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
52	58	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
53	51	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
54	13	F	Miocardiopatía dilatada	34
55	65	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
56	45	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
57	56	M	Miocardiopatía dilatada	40
58	49	M	Miocardiopatía restrictiva	40
59	57	F	Miocardiopatía dilatada	40
60	48	M	Miocardiopatía dilatada	40
61	46	F	Síndrome de Marfan	3
62	38	M	Muerte súbita	72
63	15	M	Taquicardia ventricular catecolaminérgica	30
64	61	F	Miocardiopatía dilatada	34
65	29	F	Síndrome de Marfan	72
66	56	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
67	26	F	Aneurisma de Aorta	3
68	40	M	Síndrome de Marfan	3
69	47	F	Miocardiopatía Familiar	72
70	29	M	Síndrome de Marfan	3

Nº	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
71	45	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
72	67	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
73	75	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
74	53	M	Síndrome de Marfan	3
75	33	M	Síndrome de Marfan	3
76	34	F	Arritmia familiar	30
77	43	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
78	43	F	Síndrome QT largo	12
79	12	M	Síndrome QT largo	12
80	39	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
81	46	F	Miocardopatía dilatada	34
82	31	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
83	15	F	Muerte súbita familiar	8
84	50	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
85	80	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
86	54	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	30
87	35	M	Miocardopatía Familiar	40
88	57	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
89	8	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
90	46	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	30
91	63	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
92	46	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
93	69	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
94	79	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
95	79	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
96	43	M	Síndrome de Brugada	72
97	75	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
98	17	M	Arritmia familiar	72
99	53	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
100	33	M	Muerte súbita	72
101	70	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
102	68	F	Miocardopatía dilatada	72
103	58	M	Miocardopatía dilatada	72
104	16	F	Miocardopatía Familiar	40
105	38	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
106	53	F	Aneurisma de Aorta	3
107	76	F	Miocardopatía Hipertrófica	24
108	52	F	Síndrome de Brugada	30
109	28	M	Miocardopatía Hipertrófica	24
110	45	M	Miocardopatía Hipertrófica	24

Nº	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
111	18	F	Taquicardia ventricular catecolaminérgica	2
112	53	F	Ventrículo izquierdo no compactado	8
113	44	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
114	37	M	Ventrículo izquierdo no compactado	40
115	12	F	Muerte súbita en gemela monocigótica	30
116	53	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
117	45	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
118	17	M	Miocardiopatía Hipertrófica	40
119	35	M	Miocardiopatía dilatada	34
120	16	M	Arritmia familiar	30
121	56	M	Miocardiopatía dilatada	34
122	58	F	Síndrome QT largo	12
123	55	M	Miocardiopatía dilatada	34
124	49	M	Miocardiopatía dilatada	34
125	3	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
126	54	M	Síndrome de Marfan	3
127	30	M	Miocardiopatía Hipertrófica	72
128	21	M	Miocardiopatía Hipertrófica	40
129	52	F	Arritmia familiar	72
130	2	F	Miocardiopatía Hipertrófica	40
131	5	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
132	23	M	Muerte súbita familiar	72
133	23	M	Arritmia familiar	30
134	18	M	Aneurisma de Aorta	3
135	26	M	Muerte súbita	72
136	21	M	Muerte súbita	30
137	15	F	Miocardiopatía Hipertrófica	40
138	13	M	Miocardiopatía Hipertrófica	40
139	63	F	Síndrome QT largo	12
140	8	M	Muerte súbita familiar	12
141	5	F	Muerte súbita familiar	12
142	9	M	Síndrome QT largo	12
143	66	F	Miocardiopatía Hipertrófica	24
144	62	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
145	56	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
146	76	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
147	65	F	Síndrome de Brugada	7
148	48	F	Aneurisma de Aorta	3
149	56	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
150	12	F	Síndrome QT largo	12

Nº	Edad	Sexo	Diagnóstico Cardiológico	Nº de genes analizados
151	47	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
152	28	F	Arritmia familiar	72
153	50	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
154	70	F	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
155	42	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
156	46	M	Miocardiopatía dilatada	34
157	35	M	Ventrículo izquierdo no compactado	8
158	54	M	Displasia Arritmogénica Ventrículo derecho	8
159	58	M	Síndrome de Marfan	3
160	70	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24
161	7	M	Síndrome de Brugada	7
162	31	F	Ventrículo izquierdo no compactado	40
163	55	M	Miocardiopatía Hipertrófica	24



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

ANEXO VII

RESULTADOS MOLECULARES DE 163 PACIENTES ESTUDIADOS

Tabla 7.a. Resultados Moleculares de 163 pacientes estudiados.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
1	Miocardiopatía Hipertrófica	TTN	NM_133378.4:c.91022T>C	p.Val30341Ala
		AKAP9	NM_005751.4:c.10664A>T	p.Asp3555Val
2	Displasia Arritmogénica VD	KCNE2	NM_172201.1:c.170T>C	p.Ile57Thr
		TTN	NM_133378.4:c.80690C>T	p.Ser26897Phe
3	Miocardiopatía Hipertrófica	RYR2	NM_001035.2:c.5294C>G	p.Ser1765Cys
4	Miocardiopatía Hipertrófica	MYBPC3	NM_000256.3:c.3605delC	p.Cys1202Leufs*35
5	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.6883T>A	p.Cys2295Ser
6	Aneurisma de Aorta	EYA4	NM_001134363.1:c.347C>T	p.Ala116Val
7	Arritmia	AKAP9	NM_005751.4:c.10129C>T	p.Arg3377*
8	Síndrome QT largo	AKAP9	NM_005751.4:c.3580G>A	p.Ala1194Thr
		CACNA1C	NM_000719.6:c.5665C>T	p.Arg1889Cys
		DSC2	NM_024422.3:c.304G>A	p.Glu102Lys
		TTN	NM_133378.4:c.74785G>A	p.Gly24929Arg
9	Síndrome Marfan	RBM20	NM_004100.4:c.1364C>T	p.Ser455Leu
10	Muerte Súbita Familiar	No variantes		
11	Muerte Súbita Familiar	No variantes		
12	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.796G>C	p.Val266Leu
13	Síndrome Marfan	MYH7	NM_000257.2:c.3997C>G	p.Leu1333Val
14	Muerte Súbita	MYH6	NM_002471.3:c.3979-8C>T	N/A
		FBN1	NM_000138.4:c.370A>G	p.Met124Val
		TTN	NM_133378.4:c.79337G>A	p.Arg26446Gln
15	Síndrome de Brugada	MYBPC3	NM_000256.3:c.2873C>T	p.Thr958Ile
16	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.7774T>C	p.Cys2592Arg
		AKAP9	NM_005751.4:c.510G>C	p.Glu170Asp
17	Aneurisma de Aorta	MYH6	NM_002471.3:c.3010G>T	p.Ala1004Ser
		RBM20	NM_001134363.1:c.1364C>T	p.Ser455Leu
		RYR2	NM_001035.2:c.2204-7C>G	N/A
		TTN	NM_133378.4:c.18508+7A>C	N/A
18	Displasia Arritmogénica VD	DSP	NM_004415.2:c.6850C>T	p.Arg2284*
19	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.478T>C	p.Cys160Arg
20	Síndrome QT largo	KCNH2	NM_000238.2:c.2587C>T	p.Arg863*
21	Síndrome Marfan	FBN2	NM_001999.3:c.8364+7A>T	N/A
		DSC2	NM_024422.3:c.2688_2689dup	p.Ala897Glufs*4
		SGCD	NM_000337.5:c.274A>G	p.Lys92Glu
22	Síndrome QT largo	DSG2	NM_001943.3:c.2759T>G	p.Val920Gly
23	Síndrome QT largo	TTN	NM_133378.4:c.6478A>G	p.Thr2160Ala
		MYO22	NM_016599.3:c.745A>G	p.Thr249Ala
		FBN2	NM_001999.3:c.6511+5G>A	N/A
24	Aneurisma de Aorta	FBN1	NM_000138.4:c.7412C>G	p.Pro2471Arg
		ANK2	NM_001148.4:c.8551C>A	p.Pro2851Thr
		CALR3	NM_145046.3:c.313T>G	p.Cys105Gly
25	Aneurisma de Aorta	ANK2	NM_001148.4:c.6142C>G	p.Gln2048Glu
26	Miocardiopatía Hipertrófica	RYR2	NM_001035.2:c.11433A>C	p.Gln3811His
27	Aneurisma de Aorta	FBN1	NM_000138.4:c.5747G>A	p.Cys1916Tyr
		FBN2	NM_001999.3:c.1313G>A	p.Gly438Glu
		TTN	NM_133378.4:c.19126G>A	p.Ala6376Thr
		ANK2	NM_001148.4:c.2377-8C>T	N/A

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
		ABCC9	NM_005691.2:c.4449+6T>C	N/A
		KCNE1	NM_000219.3:c.238G>A	p.Val80Ile
28	Síndrome Marfan	SLC25A4	NM_001151.3:c.178A>T	p.R60*
29	Síndrome QT largo	TTN	NM_133378.4:c.94399G>A	p.Asp31467Asn
		TTN	NM_133378.4:c.11033G>A	p.Ser3678Asn
30		FBN1	NM_000138.4:c.7776C>A	p.Cys2592*
31	Miocardiopatía Dilatada	MYH7	NM_000257.2:c.3153G>A	p.Ala1051Ala
		TNNT2	NM_001001430.1:c.53-11_53-7del	N/A
		NEXN	NM_144573.3:c.613G>A	p.Glu205Lys
		TTN	NM_133378.4:c.8312T>C	p.Ile2771Thr
		TTN	NM_133378.4:c.88933G>A	p.Asp29645Asn
		SCN5A	NM_198056.2:c.209A>G	p.Asn70Ser
32	Miocardiopatía Familiar	AKAP9	NM_005751.4:c.4003_4004insAAC	p.Lys1335_Leu1336insGln
33	Miocardiopatía Hipertrófica	MYH7	NM_000257.2:c.428G>A	p.Arg143Gln
34	Miocardiopatía Hipertrófica	No variantes		
35	Miocardiopatía Hipertrófica	TTN	NM_133378.4:c.75611A>T	p.Asn25204Ile
36	Síndrome QT corto	LDB3	NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn
37	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.2362_2370del	p.Phe788_Cys790del
38	Síndrome QT largo	No variantes		
39	Miocardiopatía Dilatada	TTN	NM_133378.4:c.11218G>A	p.Val3740Met
		FKTN	NM_001079802.1:c.1297A>G	p.Thr433Ala
40	Síndrome Marfan	FBN2	NM_001999.3:c.4495A>C	p.Asn1499His
41	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.5442C>T	p.=
42	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.1585C>T	p.Arg529*
43	Síndrome Marfan	FBN1	NM_000138.4:c.7824A>T	p.Glu2608Asp
44	Síndrome Marfan	No variantes		
45	Muerte Súbita	No variantes		
46	Síndrome Marfan	No variantes		
47	Síndrome QT largo	TNNT2	NM_000364.2:c.502C>T	p.Arg168*
48	Miocardiopatía Hipertrófica	No variantes		
49	Síndrome Marfan	ABCC9	NM_005691.2:c.1467_1468insA	p.Glu490Argfs*8
50	Muerte Súbita Familiar	TTN	NM_133378.4:c.90098C>T	p.Pro30033Leu
		CACNA1B	NM_000718.2:c.4166G>A	p.Arg1389His
		TCAP	NM_003673.3:c.479T>C	p.Met160Thr
51	Miocardiopatía Hipertrófica	No variantes		
52	Miocardiopatía Hipertrófica	No variantes		
53	Miocardiopatía Hipertrófica	ACTN2	NM_001103.2:c.274A>G	p.Met92Val
54	Miocardiopatía Dilatada	TNNT2	NM_001001430.1:c.628_630del	p.Lys210del
55	Miocardiopatía Hipertrófica	No variantes		
56	Miocardiopatía Hipertrófica	MYBPC3	NM_000256.3:c.2529_2530dup	p.Met844Argfs*36
57	Miocardiopatía Dilatada	DSP	NM_004415.2:c.740C>T	p.Ala247Val
		TTN	NM_133378.4:c.88494C>G	p.Ser29498Arg
58	Miocardiopatía Restrictiva	TTN	NM_133378.4:c.71381T>C	p.Met23794Thr
		TTN	NM_133378.4:c.41856A>T	p.Lys13952Asn
		TTN	NM_133378.4:c.7517G>A	p.Arg2506Gln
		RYR2	NM_001035.2:c.4160+7A>G	p.?
59	Miocardiopatía Dilatada	TTN	NM_133378.4:c.73012C>T	p.Arg24338*
		LDB3	NM_001080116.1:c.349G>A	p.Asp117Asn
60	Miocardiopatía Dilatada	TTN	NM_133378.4:c.50908A>G	p.Thr16970Ala

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
61	Síndrome Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.1631G>A</i>	p.Gly544Glu
62	Muerte Súbita	<i>DSG2</i>	<i>NM_001943.3:c.1597G>A</i>	p.Val533Ile
63	Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.13791G>T</i>	p.Leu4597Phe
64	Miocardopatía Dilatada	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1546G>T</i>	p.Glu516*
65	Síndrome Marfan	<i>TNNT2</i>	<i>NM_001001430.1:c.230C>T</i>	p.Pro77Leu
66	Miocardopatía Hipertrófica	<i>AKAP9</i>	<i>NM_005751.4:c.10039_10040delins TT</i>	p.Glu3347Leu
67	Aneurisma de Aorta	<i>No variantes</i>		
68	Síndrome Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.6530delG</i>	p.Gly2177Gluufs*8
69	Miocardopatía Familiar	<i>DSP</i>	<i>NM_004415.2:c.3497_3499del</i>	p.Lys1167del
		<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.2398C>T</i>	p.Arg800Cys
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.69442G>A</i>	p.Asp23148Asn
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.25964T>C</i>	p.Ile8655Thr
70	Síndrome Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.1869C>A</i>	p.Cys623*
71	Displasia Arritmogénica VD	<i>ANK2</i>	<i>NM_001148.4:c.4373A>G</i>	p.Glu1458Gly
72	Miocardopatía Hipertrófica	<i>RBM20</i>	<i>NM_001134363.1:c.1364C>T</i>	p.Ser455Leu
73	Miocardopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.3392T>C</i>	p.Ile1131Thr
		<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.29239G>A</i>	p.Glu9747Lys
74	Síndrome Marfan	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.4096G>A</i>	p.Glu1366Lys
75	Síndrome Marfan	<i>No variantes</i>		
76	Arritmia	<i>AKAP9</i>	<i>NM_005751.4:c.7438C>T</i>	p.Gln2480*
77	Miocardopatía Hipertrófica	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.15653G>A</i>	p.Arg5218His
78	Síndrome QT largo	<i>KCNQ1</i>	<i>NM_000218.2:c.871_872insA</i>	p.Ser291Tyrfs*172
79	Síndrome QT largo	<i>No variantes</i>		
80	Miocardopatía Hipertrófica	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.58120C>T</i>	p.Arg19374Trp
81	Miocardopatía Dilatada	<i>No variantes</i>		
82	Displasia Arritmogénica VD	<i>PKP2</i>	<i>NM_004572.3:c.1368del</i>	p.Lys456Asnfs*3
83	Muerte Súbita Familiar	<i>PKP2</i>	<i>NM_004572.3:c.1577C>T</i>	p.Thr526Met
84	Miocardopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1090+1G>A</i>	p.?
		<i>VCL</i>	<i>NM_014000.2:c.829C>A</i>	p.Leu277Met
85	Miocardopatía Hipertrófica	<i>No variantes</i>		
86	Displasia Arritmogénica VD	<i>ANK2</i>	<i>NM_001148.4:c.7105G>T</i>	p.Val2369Phe
		<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2210C>T</i>	p.Thr737Met
87	Miocardopatía Familiar	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.68978G>A</i>	p.Arg22993Gln
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.59978C>G</i>	p.Ala19993Gly
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.36400A>G</i>	p.Arg12134Gly
		<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.977G>A</i>	p.Arg326Gln
88	Miocardopatía Hipertrófica	<i>No variantes</i>		
89	Miocardopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.772G>A</i>	p.Glu258Lys
		<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1828G>C</i>	p.Asp610His
90	Displasia Arritmogénica VD	<i>SCNA5</i>	<i>NM_198056.2:c.5851G>T</i>	p.Val1951Leu
91	Miocardopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.772G>A</i>	p.Glu258Lys
92	Miocardopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2905+1G>A</i>	p.?
93	Miocardopatía Hipertrófica	<i>LMNA</i>	<i>NM_170707.2:c.1930C>T</i>	p.Arg644Cys
94	Miocardopatía Hipertrófica	<i>No variantes</i>		
95	Miocardopatía Hipertrófica	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.64406A>T</i>	p.Asp21469Val

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
		<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.3100G>A</i>	p.Val1034Met
96	Síndrome de Brugada	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.5294C>G</i>	p.Ser1765Cys
97	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2369T>C</i>	p.Val790Ala
98	Arritmia	<i>TCAP</i>	<i>NM_003673.3:c.316C>T</i>	p.Arg106Cys
		<i>TMPO</i>	<i>NM_003276.2:c.2068C>T</i>	p.Arg690Cys
99	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>No variantes</i>		
100	Muerte Súbita	<i>TNNT2</i>	<i>NM_001001430.1:c.857G>A</i>	p.Arg286His
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.79894G>C</i>	p.Glu26632Gln
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.4624G>T</i>	p.Val1542Leu
101	Displasia Arritmogénica VD	<i>DSP</i>	<i>NM_004415.2:c.5498A>T</i>	p.Glu1833Val
102	Miocardiopatía Dilatada	<i>JUP</i>	<i>NM_002230.2:c.1942G>A</i>	p.Val648Ile
103	Miocardiopatía Dilatada	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.43015_43028delins TTTACTCTTC</i>	p.Glu14339Phefs*11
		<i>KCNE3</i>	<i>NM_005472.4:c.296G>A</i>	p.Arg99His
104	Miocardiopatía Familiar	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.64981C>T</i>	p.Pro21661Ser
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.20120G>A</i>	p.Arg6707Gln
105	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>MYH7</i>	<i>NM_000257.2:c.4954G>T</i>	p.Asp1652Tyr
		<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1897+3G>A</i>	p.?
106	Aneurisma de Aorta	<i>No variantes</i>		
107	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.51890T>C</i>	p.Met17297Thr
108	Síndrome de Brugada	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2373dup</i>	p.Trp792Valfs*41
109	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>No variantes</i>		
110	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1037G>A</i>	p.Arg346His
		<i>ACTC1</i>	<i>NM_005159.4:c.28C>A</i>	p.Leu10Met
111	Taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica	<i>KCNJ2</i>	<i>NM_000891.2:c.644G>A</i>	p.Gly215Asp
112	Ventrículo izquierdo no compactado	<i>No variantes</i>		
113	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2149-1G>A</i>	p.?
114	Ventrículo izquierdo no compactado	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.30800del</i>	p.His10267Profs*18
115	Muerte Súbita	<i>SCN5A</i>	<i>NM_198056.2:c.274-24C>T</i>	p.?
116	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.772G>A</i>	p.Glu258Lys
		<i>LDB3</i>	<i>NM_001080116.1:c.349G>A</i>	p.Asp117Asn
117	Displasia Arritmogénica VD	<i>DSP</i>	<i>NM_004415.2:c.4588G>T</i>	p.Val1530Phe
118	Miocardiopatía Hipertrófica	<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.166G>A</i>	p.Gly56Arg
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.22132A>G</i>	p.Thr7378Ala
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.61199C>T</i>	p.Ser20400Phe
		<i>FKTN</i>	<i>NM_006731.2:c.1297A>G</i>	p.Thr433Ala
119	Miocardiopatía Dilatada	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.75039_75042del</i>	p.Arg25014Serfs*9
120	Arritmia	<i>GPD1L</i>	<i>NM_015141.3:c.370A>G</i>	p.Ile124Val
		<i>SCN5A</i>	<i>NM_198056.2:c.1099C>T</i>	p.Arg367Cys
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.78592G>T</i>	p.Ala26198Ser
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.78593C>T</i>	p.Ala26198Val
		<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.10324-4A>G</i>	p.?
		<i>CACNA1C</i>	<i>NM_000719.6:c.2449C>T</i>	p.Pro817Ser
		<i>CACNA1C</i>	<i>NM_000719.6:c.5609C>T</i>	p.Thr1870Met
121	Miocardiopatía Dilatada	<i>MYOZ2</i>	<i>NM_016599.3:c.738A>G</i>	p.Ile246Met
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.71195A>G</i>	p.Asn23732Ser
		<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.42021T>G</i>	p.Ile14007Met
		<i>VCL</i>	<i>NM_014000.2:c.1476C>G</i>	p.His492Gln

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
122	Síndrome QT largo	No variantes		
123	Miocardiopatía Dilatada	ABCC9	NM_005691.2:c.2233A>G	p.Arg745Gly
		ACTN2	NM_001103.2:c.893G>A	p.Arg298His
124	Miocardiopatía Dilatada	MYBPC3	NM_000256.3:c.2176C>T	p.Arg726Cys
		TTN	NM_003319.4:c.62424G>C	p.Trp20808Cys
		TTN	NM_003319.4:c.42481A>G	p.Ser14161Gly
		TTN	NM_003319.4:c.20528G>A	p.Arg6843His
		NEXN	NM_144573.3:c.1582_1584del	p.Glu528del
125	Miocardiopatía Hipertrófica	No variantes		
126	Síndrome Marfan	FBN2	NM_001999.3:c.976C>T	p.Pro326Ser
127	Miocardiopatía Hipertrófica	DSC2	NM_024422.3:c.2194T>G	p.Leu732Val
		DSG2	NM_001943.3:c.1174G>A	p.Val392Ile
		FBN1	NM_000138.4:c.3294C>T	p.=
		PKP2	NM_004572.3:c.2055G>A	p.Met685Ile
		MEF2A	NM_005587.2:c.1262_1267del	p.Gln421_Gln422del
		GPD1L	NM_015141.3:c.605G>A	p.Cys202Tyr
128	Miocardiopatía Hipertrófica	MYH6	NM_002471.3:c.166G>A	p.Gly56Arg
		TTN	NM_003319.4:c.58211C>G	p.Ser19404Cys
		TTN	NM_003319.4:c.4184G>C	p.Arg1395Pro
129	Arritmia	DSG2	NM_001943.3:c.1174G>A	p.Val392Ile
		MEF2A	NM_005587.2:c.1262_1267del	p.Gln421_Gln422del
		TTN	NM_003319.4:c.68360T>C	p.Leu22787Pro
		TTN	NM_003319.4:c.44937T>C	p.=
		TTN	NM_133378.4:c.16870G>A	p.Gly5624Arg
		TTN	NM_133379.3:c.14244T>C	p.=
		RYR2	NM_001035.2:c.9519T>C	p.=
130	Miocardiopatía Hipertrófica	MYH7	NM_000257.2:c.5643G>C	p.Gln1881His
		TTN	NM_003319.4:c.79424T>C	p.Ile26475Thr
		ACTC1	NM_005159.4:c.651G>T	p.Lys217Asn
131	Miocardiopatía Hipertrófica	MYBPC3	NM_000256.3:c.2149-1G>A	p.?
		TTN	NM_003319.4:c.33905G>A	p.Arg11302Gln
		MYH7	NM_000257.2:c.3337-3dup	p.?
132	Muerte Súbita Familiar	FBN2	NM_001999.3:c.7903T>C	p.Tyr2635His
		PKP2	NM_004572.3:c.985A>T	p.Ser329Cys
133	Arritmia	PKP2	NM_004572.3:c.505A>G	p.Ser169Gly
		AKAP9	NM_147185.2:c.6037G>A	p.Glu2013Lys
		KCNA5	NM_002234.2:c.1790G>A	p.Arg597Gln
		DSG2	NM_001943.3:c.3040G>A	p.Val1014Ile
134	Aneurisma de Aorta	No variantes		
135	Muerte Súbita	TCAP	NM_003673.3:c.316C>T	p.Arg106Cys
		ACTN2	NM_001103.2:c.580C>T	p.Arg194Trp
		ACTN2	NM_001103.2:c.2678A>G	p.Asp893Gly
		CACNB2	NM_000724.3:c.1651C>G	p.Arg551Gly
		RYR2	NM_001035.2:c.4198A>G	p.Ser1400Gly
		RYR2	NM_001035.2:c.6001G>A	p.Glu2001Lys
		TTN	NM_003319.4:c.36745T>C	p.Ser12249Pro
		TTN	NM_003319.4:c.64378A>G	p.Ile21460Val
		PKP2	NM_004572.3:c.428A>G	p.His143Arg
		FBN2	NM_001999.3:c.3394G>A	p.Val1132Ile
136	Muerte Súbita	RYR2	NM_001035.2:c.13564-41A>G	p.?
		RYR2	NM_001035.2:c.2131G>A	p.Glu711Lys
		TTN	NM_003319.4:c.30247A>G	p.Met10083Val
137	Miocardiopatía Hipertrófica	ACTN2	NM_001103.2:c.2526+1G>A	p.?
		TNNT2	NM_001001430.1:c.416G>A	p.Arg139His
		MYBPC3	NM_000256.3:c.977G>A	p.Arg326Gln
		MYH6	NM_002471.3:c.2387G>T	p.Gly796Val

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido
		MYH6	NM_002471.3:c.3979-8C>T	p.?
138	Miocardopatía Hipertrófica	MYH6	NM_002471.3:c.3010G>T	p.Ala1004Ser
		MYH6	NM_002471.3:c.3979-9_3979-8del	p.?
		TTN	NM_003319.4:c.70565G>A	p.Arg23522His
		TTN	NM_003319.4:c.77381G>A	p.Arg25794Gln
		FKTN	NM_006731.2:c.166-4A>G	p.?
139	Síndrome QT largo	No variantes		
140	Muerte Súbita Familiar	No variantes		
141	Muerte Súbita Familiar	ANK2	NM_001148.4:c.1401A>G	p.=
		CACNA1C	NM_000719.6:c.5097C>T	p.=
142	Síndrome QT largo	KCNE1	NM_001127670.1:c.253G>A	p.Asp85Asn
		SCN5A	NM_198056.2:c.274-24C>T	p.?
143	Miocardopatía Hipertrófica	TTN	NM_003319.4:c.63530T>G	p.Val21177Gly
		TTN	NM_003319.4:c.41935C>T	p.Pro13979Ser
		MYH6	NM_002471.3:c.3979-8C>T	p.?
		MYBPC3	NM_000256.3:c.565G>A	p.Val189Ile
144	Miocardopatía Hipertrófica	TTN	NM_003319.4:c.42626G>A	p.Gly14209Asp
145	Displasia Arritmogénica VD	RYR2	NM_001035.2:c.8448C>T	p.=
146	Displasia Arritmogénica VD	JUP	NM_002230.2:c.1577G>C	p.Arg526Pro
147	Síndrome de Brugada	CACNA1C	NM_000719.6:c.171C>T	p.=
148	Aneurisma de Aorta	FBN2	NM_001999.3:c.2555-7A>G	p.?
149	Miocardopatía Hipertrófica	MYH7	NM_000257.2:c.3153G>A	p.=
		TTN	NM_003319.4:c.37631C>T	p.Thr12544Met
		TTN	NM_003319.4:c.21931C>T	p.Arg7311Cys
		TTN	NM_003319.4:c.53869A>G	p.Met17957Val
150	Síndrome QT largo	KCNJ2	NM_000891.2:c.652C>T	p.Arg218Trp
151	Miocardopatía Hipertrófica	MYH7	NM_000257.2:c.2945T>C	p.Met982Thr
		MYL2	NM_000432.3:c.496G>A	p.Asp166Asn
152	Arritmia	DSP	NM_004415.2:c.5498A>T	p.Glu1833Val
		FBN2	NM_001999.3:c.2150G>A	p.Arg717His
		KCNA5	NM_002234.2:c.1573C>T	p.Arg525Trp
		TTN	NM_003319.4:c.3271G>C	p.Gly1091Arg
		TTN	NM_003319.4:c.78076G>C	p.Glu26026Gln
		TTN	NM_003319.4:c.77381G>A	p.Arg25794Gln
		TTN	NM_003319.4:c.35828C>T	p.Thr11943Ile
		EYA4	NM_004100.4:c.866C>T	p.Thr289Met
		MYBPC3	NM_000256.3:c.1405C>G	p.Gln469Glu
153	Displasia Arritmogénica VD	No variantes		
154	Displasia Arritmogénica VD	No variantes		
155	Displasia Arritmogénica VD	TTN	NM_003319.4:c.25997T>C	p.Ile8666Thr
156	Miocardopatía Dilatada	TTN	NM_003319.4:c.71099C>G	p.Ala23700Gly
		TTN	NM_003319.4:c.34727G>A	p.Arg11576Gln
157	Ventrículo izquierdo no compactado	No variantes		
158	Displasia Arritmogénica VD	TTN	NM_003319.4:c.24692G>A	p.Arg8231His
159	Aneurisma de Aorta	FBN1	NM_000138.4:c.4393C>T	p.Pro1465Ser
160	Miocardopatía Hipertrófica	TTN	NM_003319.4:c.74571G>C	p.Gln24857His
		TTN	NM_003319.4:c.35828C>T	p.Thr11943Ile
		TTN	NM_003319.4:c.11146A>G	p.Ile3716Val
161	Síndrome de Brugada	SCN5A	NM_198056.2:c.2582_2583del	p.Phe861Trpfs*90
162	Ventrículo izquierdo no compactado	TNNT2	NM_001001430.1:c.281G>A	p.Arg94His
163	Miocardopatía Hipertrófica	TTN	NM_003319.4:c.1492G>A	p.Val498Ile

ANEXO VIII

VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO VALIDADAS POR SECUENCIACIÓN SANGER

Tabla 8.a. Variantes de significado desconocido validadas por secuenciación Sanger detectadas en 78 pacientes.

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción Silico	In
1	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.91022T>C</i>	p.Val30341Ala	Incierta	
1	MCH	<i>AKAP9</i>	<i>NM_005751.4:c.10664A>T</i>	p.Asp3555Val	Probablemente patogénica	
2	ARVC	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.80690C>T</i>	p.Ser26897Phe	Incierta	
3	MCH	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.5294C>G</i>	p.Ser1765Cys	Probablemente patogénica	
5	SM	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.6883T>A</i>	p.Cys2295Ser	Probablemente patogénica	
8	SQTL	<i>AKAP9</i>	<i>NM_005751.4:c.3580G>A</i>	p.Ala1194Thr	Probablemente patogénica	
8	SQTL	<i>CACNA1C</i>	<i>NM_000719.6:c.5665C>T</i>	p.Arg1889Cys	Probablemente no patogénica	
12	SM	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.796G>C</i>	p.Val266Leu	Incierta	
14	MS	<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.3979-8C>T</i>	N/A	Incierta	
14	MS	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.370A>G</i>	p.Met124Val	Incierta	
14	MS	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.79337G>A</i>	p.Arg26446Gln	Incierta	
16	SM	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.7774T>C</i>	p.Cys2592Arg	Incierta	
21	SM	<i>FBN2</i>	<i>NM_001999.3:c.8364+7A>T</i>	N/A	Incierta	
24	AA	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.7412C>G</i>	p.Pro2471Arg	Incierta	
27	AA	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.5747G>A</i>	p.Cys1916Tyr	Incierta	
27	AA	<i>FBN2</i>	<i>NM_001999.3:c.1313G>A</i>	p.Gly438Glu	Incierta	
31	MCD/MCH	<i>MYH7</i>	<i>NM_000257.2:c.3153G>A</i>	p.Ala1051Ala	Incierta	
31	MCD/MCH	<i>TNNT2</i>	<i>NM_001001430.1:c.53-11_53-7del</i>	N/A	Incierta	
31	MCD/MCH	<i>NEXN</i>	<i>NM_144573.3:c.613G>A</i>	p.Glu205Lys	Incierta	
31	MCD/MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.8312T>C</i>	p.Ile2771Thr	Incierta	
31	MCD/MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.88933G>A</i>	p.Asp29645Asn	Incierta	
31	MCD/MCH	<i>SCN5A</i>	<i>NM_198056.2:c.209A>G</i>	p.Asn70Ser	Incierta	
35	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.75611A>T</i>	p.Asn25204Ile	Incierta	
39	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.11218G>A</i>	p.Val3740Met	Incierta	
39	MCD	<i>FKTN</i>	<i>NM_001079802.1:c.1297A>G</i>	p.Thr433Ala	Probablemente no patogénica	
40	SM	<i>FBN2</i>	<i>NM_001999.3:c.4495A>C</i>	p.Asn1499His	Probablemente patogénica	
41	SM	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.5442C>T</i>	p.=	Incierta	
43	SM	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.7824A>T</i>	p.Glu2608Asp	Probablemente no patogénica	
50	MSF	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.90098C>T</i>	p.Pro30033Leu	Incierta	

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción Silico	In
50	MSF	<i>CACNA1B</i>	NM_000718.2:c.4166G>A	p.Arg1389His	Incierta	
50	MSF	<i>TCAP</i>	NM_003673.3:c.479T>C	p.Met160Thr	Probablemente no patogénica	
53	MCH	<i>ACTN2</i>	NM_001103.2:c.274A>G	p.Met92Val	Incierta	
54	MCD	<i>TNNT2</i>	NM_001001430.1:c.628_630del	p.Lys210del	Incierta	
57	MCD	<i>DSP</i>	NM_004415.2:c.740C>T	p.Ala247Val	Probablemente patogénica	
57	MCD	<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.88494C>G	p.Ser29498Arg	Incierta	
58	MCR	<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.71381T>C	p.Met23794Thr	Incierta	
58	MCR	<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.41856A>T	p.Lys13952Asn	Probablemente patogénica	
58	MCR	<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.7517G>A	p.Arg2506Gln	Probablemente patogénica	
60	MCD	<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.50908A>G	p.Thr16970Ala	Incierta	
61	SM	<i>FBN1</i>	NM_000138.4:c.1631G>A	p.Gly544Glu	Probablemente patogénica	
62	SCD	<i>DSG2</i>	NM_001943.3:c.1597G>A	p.Val533Ile	Probablemente no patogénica	
63	CPVT	<i>RYR2</i>	NM_001035.2:c.13791G>T	p.Leu4597Phe	Incierta	
66	MCH	<i>AKAP9</i>	NM_005751.4:c.10039_10040delinsTT	p.Glu3347Leu	Probablemente patogénica	
69	MCF	<i>DSP</i>	NM_004415.2:c.3497_3499del	p.Lys1167del	Incierta	
69	MCF	<i>MYH6</i>	NM_002471.3:c.2398C>T	p.Arg800Cys	Probablemente patogénica	
69	MCF	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.69442G>A	p.Asp23148Asn	Incierta	
69	MCF	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.25964T>C	p.Ile8655Thr	Incierta	
73	MCH	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.3392T>C	p.Ile1131Thr	Incierta	
73	MCH	<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.29239G>A	p.Glu9747Lys	Incierta	
77	MCH	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.15653G>A	p.Arg5218His	Incierta	
80	MCH	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.58120C>T	p.Arg19374Trp	Incierta	
83	FSCD	<i>PKP2</i>	NM_004572.3:c.1577C>T	p.Thr526Met	Incierta	
87	MCF	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.68978G>A	p.Arg22993Gln	Incierta	
87	MCF	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.59978C>G	p.Ala19993Gly	Incierta	
87	MCF	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.36400A>G	p.Arg12134Gly	Incierta	
87	MCF	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.977G>A	p.Arg326Gln	Incierta	
95	MCH	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.64406A>T	p.Asp21469Val	Incierta	
95	MCH	<i>TTN</i>	NM_133378.4:c.3100G>A	p.Val1034Met	Incierta	
97	MCH	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.2369T>C	p.Val790Ala	Incierta	
100	MS	<i>TNNT2</i>	NM_001001430.1:c.857G>A	p.Arg286His	Incierta	
100	MS	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.79894G>C	p.Glu26632Gln	Incierta	
100	MS	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.4624G>T	p.Val1542Leu	Incierta	
101	ARVC	<i>DSP</i>	NM_004415.2:c.5498A>T	p.Glu1833Val	Incierta	
104	MCF	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.64981C>T	p.Pro21661Ser	Incierta	
104	MCF	<i>TTN</i>	NM_003319.4:c.20120G>A	p.Arg6707Gln	Incierta	
105	MCH	<i>MYH7</i>	NM_000257.2:c.4954G>T	p.Asp1652Tyr	Incierta	

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción Silico	In
105	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.1897+3G>A	p.?	Incierta	
107	MCH	TTN	NM_003319.4:c.51890T>C	p.Met17297Thr	Incierta	
110	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.1037G>A	p.Arg346His	Incierta	
110	MCH	ACTC1	NM_005159.4:c.28C>A	p.Leu10Met	Incierta	
113	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.2149-1G>A	p.?	Probablemente patogénica	
115	MS	SCN5A	NM_198056.2:c.274-24C>T	p.?	Incierta	
117	ARVC	DSP	NM_004415.2:c.4588G>T	p.Val1530Phe	Incierta	
118	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.166G>A	p.Gly56Arg	Incierta	
118	MCH	TTN	NM_003319.4:c.22132A>G	p.Thr7378Ala	Incierta	
118	MCH	TTN	NM_003319.4:c.61199C>T	p.Ser20400Phe	Incierta	
118	MCH	FKTN	NM_006731.2:c.1297A>G	p.Thr433Ala	Incierta	
120	Arritmia	GPD1L	NM_015141.3:c.370A>G	p.Ile124Val	Incierta	
120	Arritmia	SCN5A	NM_198056.2:c.1099C>T	p.Arg367Cys	Incierta	
120	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.78592G>T	p.Ala26198Ser	Incierta	
120	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.78593C>T	p.Ala26198Val	Incierta	
120	Arritmia	RYR2	NM_001035.2:c.10324-4A>G	p.?	Incierta	
120	Arritmia	CACNA1C	NM_000719.6:c.2449C>T	p.Pro817Ser	Incierta	
120	Arritmia	CACNA1C	NM_000719.6:c.5609C>T	p.Thr1870Met	Incierta	
121	MCD	MYOZ2	NM_016599.3:c.738A>G	p.Ile246Met	Incierta	
121	MCD	TTN	NM_003319.4:c.71195A>G	p.Asn23732Ser	Incierta	
121	MCD	TTN	NM_003319.4:c.42021T>G	p.Ile14007Met	Incierta	
121	MCD	VCL	NM_014000.2:c.1476C>G	p.His492Gln	Incierta	
123	MCD	ABCC9	NM_005691.2:c.2233A>G	p.Arg745Gly	Incierta	
123	MCD	ACTN2	NM_001103.2:c.893G>A	p.Arg298His	Incierta	
124	MCD	MYBPC3	NM_000256.3:c.2176C>T	p.Arg726Cys	Incierta	
124	MCD	TTN	NM_003319.4:c.62424G>C	p.Trp20808Cys	Incierta	
124	MCD	TTN	NM_003319.4:c.42481A>G	p.Ser14161Gly	Incierta	
124	MCD	TTN	NM_003319.4:c.20528G>A	p.Arg6843His	Incierta	
124	MCD	NEXN	NM_144573.3:c.1582_1584del	p.Glu528del	Incierta	
126	SM	FBN2	NM_001999.3:c.976C>T	p.Pro326Ser	Incierta	
127	MCH	DSC2	NM_024422.3:c.2194T>G	p.Leu732Val	Incierta	
127	MCH	DSG2	NM_001943.3:c.1174G>A	p.Val392Ile	Incierta	
127	MCH	PKP2	NM_004572.3:c.2055G>A	p.Met685Ile	Incierta	
127	MCH	GPD1L	NM_015141.3:c.605G>A	p.Cys202Tyr	Incierta	
128	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.166G>A	p.Gly56Arg	Incierta	
128	MCH	TTN	NM_003319.4:c.58211C>G	p.Ser19404Cys	Incierta	
128	MCH	TTN	NM_003319.4:c.4184G>C	p.Arg1395Pro	Incierta	
129	Arritmia	DSG2	NM_001943.3:c.1174G>A	p.Val392Ile	Incierta	
129	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.68360T>C	p.Leu22787Pro	Incierta	

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción Silico	In
129	Arritmia	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.44937T>C</i>	p.=	Incierta	
129	Arritmia	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.16870G>A</i>	p.Gly5624Arg	Incierta	
129	Arritmia	<i>TTN</i>	<i>NM_133379.3:c.14244T>C</i>	p.=	Incierta	
129	Arritmia	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.9519T>C</i>	p.=	Incierta	
130	MCH	<i>MYH7</i>	<i>NM_000257.2:c.5643G>C</i>	p.Gln1881His	Incierta	
130	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.79424T>C</i>	p.Ile26475Thr	Incierta	
130	MCH	<i>ACTC1</i>	<i>NM_005159.4:c.651G>T</i>	p.Lys217Asn	Incierta	
131	MCH	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2149-1G>A</i>	p.?	Incierta	
131	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.33905G>A</i>	p.Arg11302Gln	Incierta	
131	MCH	<i>MYH7</i>	<i>NM_000257.2:c.3337-3dup</i>	p.?	Incierta	
132	MSF	<i>FBN2</i>	<i>NM_001999.3:c.7903T>C</i>	p.Tyr2635His	Incierta	
132	MSF	<i>PKP2</i>	<i>NM_004572.3:c.985A>T</i>	p.Ser329Cys	Incierta	
133	Arritmia	<i>PKP2</i>	<i>NM_004572.3:c.505A>G</i>	p.Ser169Gly	Incierta	
133	Arritmia	<i>AKAP9</i>	<i>NM_147185.2:c.6037G>A</i>	p.Glu2013Lys	Incierta	
133	Arritmia	<i>KCNA5</i>	<i>NM_002234.2:c.1790G>A</i>	p.Arg597Gln	Incierta	
133	Arritmia	<i>DSG2</i>	<i>NM_001943.3:c.3040G>A</i>	p.Val1014Ile	Incierta	
135	MS	<i>TCAP</i>	<i>NM_003673.3:c.316C>T</i>	p.Arg106Cys	Incierta	
135	MS	<i>ACTN2</i>	<i>NM_001103.2:c.580C>T</i>	p.Arg194Trp	Incierta	
135	MS	<i>ACTN2</i>	<i>NM_001103.2:c.2678A>G</i>	p.Asp893Gly	Incierta	
135	MS	<i>CACNB2</i>	<i>NM_000724.3:c.1651C>G</i>	p.Arg551Gly	Incierta	
135	MS	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.4198A>G</i>	p.Ser1400Gly	Incierta	
135	MS	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.6001G>A</i>	p.Glu2001Lys	Incierta	
135	MS	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.36745T>C</i>	p.Ser12249Pro	Incierta	
135	MS	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.64378A>G</i>	p.Ile21460Val	Incierta	
135	MS	<i>PKP2</i>	<i>NM_004572.3:c.428A>G</i>	p.His143Arg	Incierta	
135	MS	<i>FBN2</i>	<i>NM_001999.3:c.3394G>A</i>	p.Val1132Ile	Incierta	
136	MS	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.13564-41A>G</i>	p.?	Incierta	
136	MS	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.2131G>A</i>	p.Glu711Lys	Incierta	
136	MS	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.30247A>G</i>	p.Met10083Val	Incierta	
137	MCH	<i>ACTN2</i>	<i>NM_001103.2:c.2526+1G>A</i>	p.?	Incierta	
137	MCH	<i>TNNT2</i>	<i>NM_001001430.1:c.416G>A</i>	p.Arg139His	Incierta	
137	MCH	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.977G>A</i>	p.Arg326Gln	Incierta	
137	MCH	<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.2387G>T</i>	p.Gly796Val	Incierta	
137	MCH	<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.3979-8C>T</i>	p.?	Incierta	
138	MCH	<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.3010G>T</i>	p.Ala1004Ser	Incierta	
138	MCH	<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.3979-9_3979-8del</i>	p.?	Incierta	
138	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.70565G>A</i>	p.Arg23522His	Incierta	
138	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.77381G>A</i>	p.Arg25794Gln	Incierta	
138	MCH	<i>FKTN</i>	<i>NM_006731.2:c.166-4A>G</i>	p.?	Incierta	
141	MSF	<i>ANK2</i>	<i>NM_001148.4:c.1401A>G</i>	p.=	Incierta	

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción Silico	In
141	MSF	CACNA1C	NM_000719.6:c.5097C>T	p.=	Incierta	
142	SQTL	KCNE1	NM_001127670.1:c.253G>A	p.Asp85Asn	Incierta	
142	SQTL	SCN5A	NM_198056.2:c.274-24C>T	p.?	Incierta	
143	MCH	TTN	NM_003319.4:c.63530T>G	p.Val21177Gly	Incierta	
143	MCH	TTN	NM_003319.4:c.41935C>T	p.Pro13979Ser	Incierta	
143	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.3979-8C>T	p.?	Incierta	
143	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.565G>A	p.Val189Ile	Incierta	
144	MCH	TTN	NM_003319.4:c.42626G>A	p.Gly14209Asp	Incierta	
145	ARVC	RYR2	NM_001035.2:c.8448C>T	p.=	Incierta	
146	ARVC	JUP	NM_002230.2:c.1577G>C	p.Arg526Pro	Incierta	
147	SB	CACNA1C	NM_000719.6:c.171C>T	p.=	Incierta	
148	AA	FBN2	NM_001999.3:c.2555-7A>G	p.?	Incierta	
149	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.3153G>A	p.=	Incierta	
149	MCH	TTN	NM_003319.4:c.37631C>T	p.Thr12544Met	Incierta	
149	MCH	TTN	NM_003319.4:c.21931C>T	p.Arg7311Cys	Incierta	
149	MCH	TTN	NM_003319.4:c.53869A>G	p.Met17957Val	Incierta	
151	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.2945T>C	p.Met982Thr	Incierta	
151	MCH	MYL2	NM_000432.3:c.496G>A	p.Asp166Asn	Incierta	
152	Arritmia	DSP	NM_004415.2:c.5498A>T	p.Glu1833Val	Incierta	
152	Arritmia	KCNA5	NM_002234.2:c.1573C>T	p.Arg525Trp	Incierta	
152	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.3271G>C	p.Gly1091Arg	Incierta	
152	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.78076G>C	p.Glu26026Gln	Incierta	
152	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.77381G>A	p.Arg25794Gln	Incierta	
152	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.35828C>T	p.Thr11943Ile	Incierta	
155	ARVC	TTN	NM_003319.4:c.25997T>C	p.Ile8666Thr	Incierta	
156	MCD	TTN	NM_003319.4:c.71099C>G	p.Ala23700Gly	Incierta	
156	MCD	TTN	NM_003319.4:c.34727G>A	p.Arg11576Gln	Incierta	
158	ARVC	TTN	NM_003319.4:c.24692G>A	p.Arg8231His	Incierta	
159	AA	FBN1	NM_000138.4:c.4393C>T	p.Pro1465Ser	Incierta	
160	MCH	TTN	NM_003319.4:c.74571G>C	p.Gln24857His	Incierta	
160	MCH	TTN	NM_003319.4:c.35828C>T	p.Thr11943Ile	Incierta	
160	MCH	TTN	NM_003319.4:c.11146A>G	p.Ile3716Val	Incierta	
163	MCH	TTN	NM_003319.4:c.1492G>A	p.Val498Ile	Incierta	

ANEXO IX

VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO CON PREDICCIÓN IN SILICO DE TIPO INCIERTO Y PROBABLEMENTE NO PATOGENICAS.

Tabla 9.a. 161 Variantes Significado desconocido con predicción *In silico* inciertas

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción In Silico
1	MCH	TTN	NM_133378.4:c.91022T>C	p.Val30341Ala	Incierta
2	ARVC	TTN	NM_133378.4:c.80690C>T	p.Ser26897Phe	Incierta
12	SM	FBN1	NM_000138.4:c.796G>C	p.Val266Leu	Incierta
14	MS	MYH6	NM_002471.3:c.3979-8C>T	N/A	Incierta
14	MS	FBN1	NM_000138.4:c.370A>G	p.Met124Val	Incierta
14	MS	TTN	NM_133378.4:c.79337G>A	p.Arg26446Gln	Incierta
16	SM	FBN1	NM_000138.4:c.7774T>C	p.Cys2592Arg	Incierta
21	SM	FBN2	NM_001999.3:c.8364+7A>T	N/A	Incierta
24	AA	FBN1	NM_000138.4:c.7412C>G	p.Pro2471Arg	Incierta
27	AA	FBN1	NM_000138.4:c.5747G>A	p.Cys1916Tyr	Incierta
27	AA	FBN2	NM_001999.3:c.1313G>A	p.Gly438Glu	Incierta
31	MCD/MCH	MYH7	NM_000257.2:c.3153G>A	p.Ala1051Ala	Incierta
31	MCD/MCH	TNNT2	NM_001001430.1:c.53-11_53-7del	N/A	Incierta
31	MCD/MCH	NEXN	NM_144573.3:c.613G>A	p.Glu205Lys	Incierta
31	MCD/MCH	TTN	NM_133378.4:c.8312T>C	p.Ile2771Thr	Incierta
31	MCD/MCH	TTN	NM_133378.4:c.88933G>A	p.Asp29645Asn	Incierta
31	MCD/MCH	SCN5A	NM_198056.2:c.209A>G	p.Asn70Ser	Incierta
35	MCH	TTN	NM_133378.4:c.75611A>T	p.Asn25204Ile	Incierta
39	MCD	TTN	NM_133378.4:c.11218G>A	p.Val3740Met	Incierta
41	SM	FBN1	NM_000138.4:c.5442C>T	p.=	Incierta
50	MSF	TTN	NM_133378.4:c.90098C>T	p.Pro30033Leu	Incierta
50	MSF	CACNA1B	NM_000718.2:c.4166G>A	p.Arg1389His	Incierta
53	MCH	ACTN2	NM_001103.2:c.274A>G	p.Met92Val	Incierta
54	MCD	TNNT2	NM_001001430.1:c.628_630del	p.Lys210del	Incierta
57	MCD	TTN	NM_133378.4:c.88494C>G	p.Ser29498Arg	Incierta
58	MCR	TTN	NM_133378.4:c.71381T>C	p.Met23794Thr	Incierta
60	MCD	TTN	NM_133378.4:c.50908A>G	p.Thr16970Ala	Incierta
63	CPVT	RYR2	NM_001035.2:c.13791G>T	p.Leu4597Phe	Incierta
69	MCF	DSP	NM_004415.2:c.3497_3499del	p.Lys1167del	Incierta
69	MCF	TTN	NM_003319.4:c.69442G>A	p.Asp23148Asn	Incierta
69	MCF	TTN	NM_003319.4:c.25964T>C	p.Ile8655Thr	Incierta
73	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.3392T>C	p.Ile1131Thr	Incierta
73	MCH	TTN	NM_133378.4:c.29239G>A	p.Glu9747Lys	Incierta

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción In Silico
77	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.15653G>A</i>	p.Arg5218His	Incierta
80	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.58120C>T</i>	p.Arg19374Trp	Incierta
83	FSCD	<i>PKP2</i>	<i>NM_004572.3:c.1577C>T</i>	p.Thr526Met	Incierta
87	MCF	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.68978G>A</i>	p.Arg22993Gln	Incierta
87	MCF	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.59978C>G</i>	p.Ala19993Gly	Incierta
87	MCF	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.36400A>G</i>	p.Arg12134Gly	Incierta
87	MCF	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.977G>A</i>	p.Arg326Gln	Incierta
95	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.64406A>T</i>	p.Asp21469Val	Incierta
95	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_133378.4:c.3100G>A</i>	p.Val1034Met	Incierta
97	MCH	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.2369T>C</i>	p.Val790Ala	Incierta
100	MS	<i>TNNT2</i>	<i>NM_001001430.1:c.857G>A</i>	p.Arg286His	Incierta
100	MS	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.79894G>C</i>	p.Glu26632Gln	Incierta
100	MS	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.4624G>T</i>	p.Val1542Leu	Incierta
101	ARVC	<i>DSP</i>	<i>NM_004415.2:c.5498A>T</i>	p.Glu1833Val	Incierta
104	MCF	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.64981C>T</i>	p.Pro21661Ser	Incierta
104	MCF	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.20120G>A</i>	p.Arg6707Gln	Incierta
105	MCH	<i>MYH7</i>	<i>NM_000257.2:c.4954G>T</i>	p.Asp1652Tyr	Incierta
105	MCH	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1897+3G>A</i>	p.?	Incierta
107	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.51890T>C</i>	p.Met17297Thr	Incierta
110	MCH	<i>MYBPC3</i>	<i>NM_000256.3:c.1037G>A</i>	p.Arg346His	Incierta
110	MCH	<i>ACTC1</i>	<i>NM_005159.4:c.28C>A</i>	p.Leu10Met	Incierta
115	MS	<i>SCN5A</i>	<i>NM_198056.2:c.274-24C>T</i>	p.?	Incierta
117	ARVC	<i>DSP</i>	<i>NM_004415.2:c.4588G>T</i>	p.Val1530Phe	Incierta
118	MCH	<i>MYH6</i>	<i>NM_002471.3:c.166G>A</i>	p.Gly56Arg	Incierta
118	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.22132A>G</i>	p.Thr7378Ala	Incierta
118	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.61199C>T</i>	p.Ser20400Phe	Incierta
118	MCH	<i>FKTN</i>	<i>NM_006731.2:c.1297A>G</i>	p.Thr433Ala	Incierta
120	Arritmia	<i>GPD1L</i>	<i>NM_015141.3:c.370A>G</i>	p.Ile124Val	Incierta
120	Arritmia	<i>SCN5A</i>	<i>NM_198056.2:c.1099C>T</i>	p.Arg367Cys	Incierta
120	Arritmia	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.78592G>T</i>	p.Ala26198Ser	Incierta
120	Arritmia	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.78593C>T</i>	p.Ala26198Val	Incierta
120	Arritmia	<i>RYR2</i>	<i>NM_001035.2:c.10324-4A>G</i>	p.?	Incierta
120	Arritmia	<i>CACNA1C</i>	<i>NM_000719.6:c.2449C>T</i>	p.Pro817Ser	Incierta
120	Arritmia	<i>CACNA1C</i>	<i>NM_000719.6:c.5609C>T</i>	p.Thr1870Met	Incierta
121	MCD	<i>MYOZ2</i>	<i>NM_016599.3:c.738A>G</i>	p.Ile246Met	Incierta
121	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.71195A>G</i>	p.Asn23732Ser	Incierta
121	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.42021T>G</i>	p.Ile14007Met	Incierta
121	MCD	<i>VCL</i>	<i>NM_014000.2:c.1476C>G</i>	p.His492Gln	Incierta
123	MCD	<i>ABCC9</i>	<i>NM_005691.2:c.2233A>G</i>	p.Arg745Gly	Incierta

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción In Silico
123	MCD	ACTN2	NM_001103.2:c.893G>A	p.Arg298His	Incierta
124	MCD	MYBPC3	NM_000256.3:c.2176C>T	p.Arg726Cys	Incierta
124	MCD	TTN	NM_003319.4:c.62424G>C	p.Trp20808Cys	Incierta
124	MCD	TTN	NM_003319.4:c.42481A>G	p.Ser14161Gly	Incierta
124	MCD	TTN	NM_003319.4:c.20528G>A	p.Arg6843His	Incierta
124	MCD	NEXN	NM_144573.3:c.1582_1584del	p.Glu528del	Incierta
126	SM	FBN2	NM_001999.3:c.976C>T	p.Pro326Ser	Incierta
127	MCH	DSC2	NM_024422.3:c.2194T>G	p.Leu732Val	Incierta
127	MCH	DSG2	NM_001943.3:c.1174G>A	p.Val392Ile	Incierta
127	MCH	PKP2	NM_004572.3:c.2055G>A	p.Met685Ile	Incierta
127	MCH	GPD1L	NM_015141.3:c.605G>A	p.Cys202Tyr	Incierta
128	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.166G>A	p.Gly56Arg	Incierta
128	MCH	TTN	NM_003319.4:c.58211C>G	p.Ser19404Cys	Incierta
128	MCH	TTN	NM_003319.4:c.4184G>C	p.Arg1395Pro	Incierta
129	Arritmia	DSG2	NM_001943.3:c.1174G>A	p.Val392Ile	Incierta
129	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.68360T>C	p.Leu22787Pro	Incierta
129	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.44937T>C	p.=	Incierta
129	Arritmia	TTN	NM_133378.4:c.16870G>A	p.Gly5624Arg	Incierta
129	Arritmia	TTN	NM_133379.3:c.14244T>C	p.=	Incierta
129	Arritmia	RYR2	NM_001035.2:c.9519T>C	p.=	Incierta
130	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.5643G>C	p.Gln1881His	Incierta
130	MCH	TTN	NM_003319.4:c.79424T>C	p.Ile26475Thr	Incierta
130	MCH	ACTC1	NM_005159.4:c.651G>T	p.Lys217Asn	Incierta
131	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.2149-1G>A	p.?	Incierta
131	MCH	TTN	NM_003319.4:c.33905G>A	p.Arg11302Gln	Incierta
131	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.3337-3dup	p.?	Incierta
132	MSF	FBN2	NM_001999.3:c.7903T>C	p.Tyr2635His	Incierta
132	MSF	PKP2	NM_004572.3:c.985A>T	p.Ser329Cys	Incierta
133	Arritmia	PKP2	NM_004572.3:c.505A>G	p.Ser169Gly	Incierta
133	Arritmia	AKAP9	NM_147185.2:c.6037G>A	p.Glu2013Lys	Incierta
133	Arritmia	KCNA5	NM_002234.2:c.1790G>A	p.Arg597Gln	Incierta
133	Arritmia	DSG2	NM_001943.3:c.3040G>A	p.Val1014Ile	Incierta
135	MS	TCAP	NM_003673.3:c.316C>T	p.Arg106Cys	Incierta
135	MS	ACTN2	NM_001103.2:c.580C>T	p.Arg194Trp	Incierta
135	MS	ACTN2	NM_001103.2:c.2678A>G	p.Asp893Gly	Incierta
135	MS	CACNB2	NM_000724.3:c.1651C>G	p.Arg551Gly	Incierta
135	MS	RYR2	NM_001035.2:c.4198A>G	p.Ser1400Gly	Incierta
135	MS	RYR2	NM_001035.2:c.6001G>A	p.Glu2001Lys	Incierta
135	MS	TTN	NM_003319.4:c.36745T>C	p.Ser12249Pro	Incierta
135	MS	TTN	NM_003319.4:c.64378A>G	p.Ile21460Val	Incierta

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción In Silico
135	MS	PKP2	NM_004572.3:c.428A>G	p.His143Arg	Incierta
135	MS	FBN2	NM_001999.3:c.3394G>A	p.Val1132Ile	Incierta
136	MS	RYR2	NM_001035.2:c.13564-41A>G	p.?	Incierta
136	MS	RYR2	NM_001035.2:c.2131G>A	p.Glu711Lys	Incierta
136	MS	TTN	NM_003319.4:c.30247A>G	p.Met10083Val	Incierta
137	MCH	ACTN2	NM_001103.2:c.2526+1G>A	p.?	Incierta
137	MCH	TNNT2	NM_001001430.1:c.416G>A	p.Arg139His	Incierta
137	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.977G>A	p.Arg326Gln	Incierta
137	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.2387G>T	p.Gly796Val	Incierta
137	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.3979-8C>T	p.?	Incierta
138	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.3010G>T	p.Ala1004Ser	Incierta
138	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.3979-9_3979-8del	p.?	Incierta
138	MCH	TTN	NM_003319.4:c.70565G>A	p.Arg23522His	Incierta
138	MCH	TTN	NM_003319.4:c.77381G>A	p.Arg25794Gln	Incierta
138	MCH	FKTN	NM_006731.2:c.166-4A>G	p.?	Incierta
141	MSF	ANK2	NM_001148.4:c.1401A>G	p.=	Incierta
141	MSF	CACNA1C	NM_000719.6:c.5097C>T	p.=	Incierta
142	SQTL	KCNE1	NM_001127670.1:c.253G>A	p.Asp85Asn	Incierta
142	SQTL	SCN5A	NM_198056.2:c.274-24C>T	p.?	Incierta
143	MCH	TTN	NM_003319.4:c.63530T>G	p.Val21177Gly	Incierta
143	MCH	TTN	NM_003319.4:c.41935C>T	p.Pro13979Ser	Incierta
143	MCH	MYH6	NM_002471.3:c.3979-8C>T	p.?	Incierta
143	MCH	MYBPC3	NM_000256.3:c.565G>A	p.Val189Ile	Incierta
144	MCH	TTN	NM_003319.4:c.42626G>A	p.Gly14209Asp	Incierta
145	ARVC	RYR2	NM_001035.2:c.8448C>T	p.=	Incierta
146	ARVC	JUP	NM_002230.2:c.1577G>C	p.Arg526Pro	Incierta
147	SB	CACNA1C	NM_000719.6:c.171C>T	p.=	Incierta
148	AA	FBN2	NM_001999.3:c.2555-7A>G	p.?	Incierta
149	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.3153G>A	p.=	Incierta
149	MCH	TTN	NM_003319.4:c.37631C>T	p.Thr12544Met	Incierta
149	MCH	TTN	NM_003319.4:c.21931C>T	p.Arg7311Cys	Incierta
149	MCH	TTN	NM_003319.4:c.53869A>G	p.Met17957Val	Incierta
151	MCH	MYH7	NM_000257.2:c.2945T>C	p.Met982Thr	Incierta
151	MCH	MYL2	NM_000432.3:c.496G>A	p.Asp166Asn	Incierta
152	Arritmia	DSP	NM_004415.2:c.5498A>T	p.Glu1833Val	Incierta
152	Arritmia	KCNA5	NM_002234.2:c.1573C>T	p.Arg525Trp	Incierta
152	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.3271G>C	p.Gly1091Arg	Incierta
152	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.78076G>C	p.Glu26026Gln	Incierta
152	Arritmia	TTN	NM_003319.4:c.77381G>A	p.Arg25794Gln	Incierta

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción In Silico
152	Arritmia	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.35828C>T</i>	p.Thr11943Ile	Incierta
155	ARVC	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.25997T>C</i>	p.Ile8666Thr	Incierta
156	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.71099C>G</i>	p.Ala23700Gly	Incierta
156	MCD	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.34727G>A</i>	p.Arg11576Gln	Incierta
158	ARVC	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.24692G>A</i>	p.Arg8231His	Incierta
159	AA	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.4393C>T</i>	p.Pro1465Ser	Incierta
160	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.74571G>C</i>	p.Gln24857His	Incierta
160	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.35828C>T</i>	p.Thr11943Ile	Incierta
160	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.11146A>G</i>	p.Ile3716Val	Incierta
163	MCH	<i>TTN</i>	<i>NM_003319.4:c.1492G>A</i>	p.Val498Ile	Incierta

Tabla 9.b. 5 Variantes Significado desconocido con predicción *In silico* probablemente no patogénicas

Código	Diagnóstico	Gen	Nucleótido	Aminoácido	Predicción In Silico
8	SQTL	<i>CACNA1C</i>	<i>NM_000719.6:c.5665C>T</i>	p.Arg1889Cys	Probablemente no patogénica
39	MCD	<i>FKTN</i>	<i>NM_001079802.1:c.1297A>G</i>	p.Thr433Ala	Probablemente no patogénica
43	SM	<i>FBN1</i>	<i>NM_000138.4:c.7824A>T</i>	p.Glu2608Asp	Probablemente no patogénica
50	MSF	<i>TCAP</i>	<i>NM_003673.3:c.479T>C</i>	p.Met160Thr	Probablemente no patogénica
62	SCD	<i>DSG2</i>	<i>NM_001943.3:c.1597G>A</i>	p.Val533Ile	Probablemente no patogénica

ANEXO X

ACTIVIDAD CIENTIFICAEN SECUENCIACIÓN MASIVA DESARROLLADA POR SONIA SANTILLÁN GARZÓN.

1. *PONENTE INVITADA A CONGRESOS INTERNACIONALES O SIMPOSIOS INTERNACIONALES.*

Ponente en XXXIX Congreso Nacional de Genética Humana: Discapacidad Intelectual: Nuevas opciones de diagnóstico a través de secuenciación masiva. 12 a 15 noviembre 2014. Juriquilla, Querétaro, México.

Ponente en Simposio de Cardiología Hospital Médica Sur: Diagnóstico de enfermedades genéticas cardíacas a través de secuenciación masiva. 10 de noviembre 2014. México DF, México.

Ponente en Simposio de Cardiología Hospital Santa María Chapalita: Resultados por NGS de diagnóstico de enfermedades cardiogenéticas. 6 de noviembre 2014. Guadalajara, México.

Ponente en XVI Congreso Internacional Avances En Medicina 2014 OPD Hospital Civil De Guadalajara: Genómica y Genética clínica: “Diagnóstico por Secuenciación masiva. Nuevo paradigma de conocimiento”. 27 febrero a 1 marzo 2014. Guadalajara, México.

Ponente en XVI Congreso Internacional Avances En Medicina 2014 OPD Hospital Civil De Guadalajara: Genómica y Genética clínica: “Nuevas Estrategias de Diagnóstico Molecular en Cáncer Hereditario: Secuenciación masiva”. 27 febrero a 1 marzo 2014. Guadalajara, México.

Ponente en III Congreso Latinoamericano de Genética Humana y XXXVIII Congreso Nacional de Genética Humana: “Nuevo Paradigma en el Diagnóstico Genético por Secuenciación masiva”. 20-23 noviembre 2013. Cancún, México.

Ponente en Programa de Actualización en Genética Clínica Las Condes. “Diagnóstico de Enfermedades Genéticas: Desde la Citogenética a la Secuenciación masiva”. 13 de Noviembre 2013. Santiago de Chile.

Ponente en Curso Internacional de Genética Hospital Almenara: “Nuevas estrategias de diagnóstico molecular: la Secuenciación masiva”. Octubre 2013. Lima.

Ponente en Curso Internacional de Actualización en Arritmias y Trastornos de Conducción 2012. 5ª Reunión Anual Instituto de Cardiología Ignacio Chávez: “Diagnóstico de Enfermedades Cardiovasculares por Secuenciación Masiva”. Noviembre 2012. México, D.F.

2. PONENTE INVITADA EN CONGRESOS NACIONALES, CONFERENCIAS, CURSOS MONOGRÁFICOS O SIMPOSIOS NACIONALES

Ponente en I Jornada sobre Displasias Óseas y Anomalías Esqueléticas en la Infancia. Hospital Universitario y Politécnico La Fé de Valencia: “Paneles de secuenciación masiva de genes en Displasias óseas”. 7 de marzo 2014. Valencia.

Ponente en Curso de Genética para Mutuas Comunidad Valenciana: “Diagnóstico Genético de Enfermedades Heterogéneas: Secuenciación masiva”. 17 febrero 2014. Castellón.

Ponente en XXIII Jornadas de Sociedad Valenciana de Hipertensión Arterial y Riesgo Vascular: “Nuevos enfoques en el abordaje de la enfermedad cardiometabólica a través de Genómica”. 13-15 febrero 2014. Alcoy.

Ponente en VI Congreso Nacional De Enfermedades Raras, I Encuentro Iberoamericano De Asociaciones Enfermedades Raras y 1er Simposium Internacional De Lipodistrofias: “Diagnóstico de Enfermedades Raras mediante secuenciación masiva: un nuevo modelo de conocimiento y prevención”. Octubre 2013. Totana, Murcia.

Ponente en la Primera Jornada Cardio-deportiva Información y Recomendaciones sobre la Muerte Súbita: “Utilidad del diagnóstico genético en la identificación y prevención de muerte súbita mediante secuenciación masiva”. Junio 2013. Barcelona.

Ponente en el XVI Congreso de la Sociedad Valenciana de Reumatología: “Nuevos Abordajes Diagnósticos en Osteodisplasias y Colagenopatías a través de Secuenciación Masiva”. 27 abril 2013. Castellón.

Ponente en el XXVII Congreso Nacional de la Asociación Española de Genética Humana en el Simposio: “Secuenciación Masiva y Paneles de Genes en el Diagnóstico de Enfermedades con Heterogeneidad Genética”. Abril 2013. Madrid.

Ponente en Reunión Clínica de actualización de la Unidad de Neurología Hospital Quirón: “Secuenciación masiva en Neurología”. Abril 2013. Madrid.

Ponente en Jornada de actualización de la Unidad de Neurología Hospital Clínico San Carlos: “Secuenciación masiva en Neurología”. Abril 2013. Madrid.

Ponente en Reunión ASEBIO: “Secuenciación masiva aplicada al Diagnóstico de leucemia linfocítica crónica”. Marzo 2013. Madrid.

Conferenciante en Reunión Oncológica Consorcio Hospital Quirón: “Nuevas estrategias de Diagnóstico Molecular en cáncer familiar”. Febrero 2013. Valencia.

Conferenciante en Reunión Oncológica Mexicano-Española: “Cáncer de Mama Familiar: utilidad de MamaGeneProfile y OncoGeneProfile”. Septiembre 2012. Valencia.

Conferenciante en Reunión Clínica de Unidades de Genética y Cardiología Hospital Universitario de Móstoles: “Secuenciación masiva en el diagnóstico de Enfermedades Cardiogenéticas Heterogéneas”. Mayo 2012. Móstoles, Madrid.

Conferenciante en Reunión Clínica Unidad de Cardiología Hospital de Bellvitge: “Diagnóstico de Muerte Súbita a través de Secuenciación masiva”. Noviembre 2011. Barcelona

Conferenciante en Reunión Clínica Unidad de Cardiología Hospital de Universitario Dr. Peset: “Diagnóstico de Muerte Súbita a través de secuenciación masiva”. Noviembre 2011. Valencia

Ponente en Jornada Unidad Funcional de Mama Consorcio Hospital General Universitario de Valencia: “Abordaje integral del Cáncer de mama Genómica: últimas novedades tecnológicas”. Octubre 2011. Valencia.

Ponente en XV Congreso Asociación Española de Médicos de Equipos de Fútbol: Diagnóstico genético en Muerte Súbita. Mayo 2011. Cádiz.

Ponente en Reunión Clínica Unidad de Cardiología Hospital de Vitoria: Secuenciación masiva aplicada a la Medicina. Marzo 2011. Vitoria

Ponente en Reunión Clínica Unidad de Cardiología Hospital de San Sebastián: Secuenciación masiva en Cardiología. Marzo 2011. San Sebastián

Ponente en Reunión Clínica Unidad de Cardiología Fundación Xenómica: Secuenciación masiva aplicada en el diagnóstico genético. Marzo 2011. Santiago de Compostela.

Ponente en Reunión Clínica Unidad de Cardiología Hospital de Cruces. Muerte Súbita. Marzo 2011. Bilbao

Ponente en Reunión Clínica Unidad de Genética Hospital de Vigo: Muerte Súbita. . Febrero 2011. Vigo

Ponente en Reunión Clínica Unidad de Neurología Hospital Clínico Universitario de Valencia: Aplicaciones de la Secuenciación masiva en Neurología. Mayo 2010. Valencia.

3. COMUNICACIONES A CONGRESOS INTERNACIONALES.

***THE EUROPEAN HUMAN GENETICS CONFERENCE 2014. MILAN, ITALY,
MAY 31 - JUNE 3, 2014***

Next step in collagenopathies and osteodysplasies diagnosis: NGS Targeted re-sequencing

DM. Valero-Hervás¹, A. Romera-López¹, C. Camprubí¹, D. Cantalapiedra¹, L. Pérez-Cabornero¹, V. Felipe¹, G. Hernández¹, D. Diego¹V. Fernández-Pedrosa¹, S. Zúñiga-Trejos¹, JC. Triviño¹, S. Santillán¹

¹Sistemas Genómicos, Paterna, Spain

Presentación tipo Poster.

Genetic diagnosis of neurological diseases using NGS: first year of experience

A. Romera López¹, V. Volpini², A. Matilla³, C. Collado¹, R. Rodríguez-De Pablos¹, V. Fernández-Pedrosa¹, Valero D¹, D. Cantalapiedra¹, L. Pérez-Cabornero¹, J. C. Triviño¹, S. Zúñiga-Trejos¹, R. Miñambres¹, M. Gil¹, S. Santillán¹.

¹Sistemas Genómicos, Paterna, Spain, ²Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge, Barcelona, Spain, ³Hospital GermansTrias i Pujol, Barcelona, Spain.

Presentación tipo Poster.

THE 2014 AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS ANNUAL CLINICAL GENETICS MEETING. NASHVILLE, TENNESSEE, MARCH 25-29, 2014.

Next Generation Sequencing in the Diagnosis of Diseases Associated with Sudden Cardiac Death: Report of 222 Cases,”

David Garcia Alfonso, Diego Cantalapiedra, Alejandro Romera, Lucia G Pérez-Carbonero, Vanesa Felipe , Diana Valero, G G Hernández, Raquel Rodriguez, Celia Buades, AngelaArilla, Carmen Collado, Victoria Fernandez-Pedrosa, Oscar Rodriguez,

Jordi Durban, Juan Carlos Triviño, Álda Ballester, Rebeca Miñambres, Mayte Gil, Margarita Martínez-Atienza, MF Márquez-Murillo, Sonia Santillán.

Sistemas Genómicos, Paterna, Valencia

Presentación tipo Poster.

**AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS 2013 ANNUAL MEETING.
BOSTON, MASSACHUSETTS, USA, 22-26 OCTOBER 2013.**

Advantages of Next Generation Sequencing in the diagnosis of diseases associated with sudden cardiac death.

D. Cantalapiedra, A. Romera, L. Pérez-Cabornero, V. Felipe, D. Valero, G. Hernández, C. Buades, A. Arilla, C. Rodríguez, C. Collado, V. Fernández-Pedrosa, O. Rodríguez, J. Durbán, JC. Triviño, S. Zúñiga, A. Ballester, R. Miñambres, M. Gil, A. Forteza-Gil, M. Martínez-Atienza, MF. Márquez-Murillo, S. Santillán.

Sistemas Genómicos, Paterna, Valencia

Presentación tipo Poster.

EUROPEAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS 2013. 8-11 June 2013. Paris, France.

Massive targeted re-sequencing for the diagnosis of neurological diseases: a 200-gene panel

Romera-López A1, Volpini V2, Matilla A3, Collado C1, Rodríguez-De Pablos R1, Fernández-Pedrosa V1, Cantalapiedra D1, Pérez-Cabornero L1, Rosa-Rosa JM1, Triviño JC1, Zúñiga-Trejos S1, Miñambres R1, Gil M1 and Santillán S1

Presentación tipo Poster.

Fundamental data analysis controls in massive parallel sequencing of gene panels for genetic diagnostics purposes

Rosa-Rosa J.1, Trivino J.1, Rodríguez-Cruz O.1, Cantalapiedra D.2, Santillán S.2, Carrero R.3, Rodríguez-dePablos R.4, Collado C.4, Fernández-Pedrosa V.4, Zúñiga S1*

Presentación tipo Poster.

Novel Strategies for Non-Canonical and Novel Isoform Identification in Human Genomes

J. Trivino, R. Minambres, R. Claramunt, C. Buades, M. Gil, S. Santillan, S. Zuniga.

Sistemas Genómicos, Valencia, Spain.

Presentación tipo Poster.

XXXVII CONGRESO NACIONAL DE GENÉTICA HUMANA GUADALAJARA, JALISCO. 20 A 23 DE NOVIEMBRE DE 2012

Ballester-De Matías A, Gómez-Rosas E, Romera A, Collado C, Rodríguez-De Pablos R, Fernández-Pedrosa V, Cantalapiedra D, Pérez-Cabornero L, Lázaro M, Fernández P, Buades C, Rosa-Rosa Jm, Triviño Jc, Zúñiga-Trejos S, Gil M, Del Castillo I y Santillán S. Massive targeted resequencing for the diagnosis of hearing impairment: a 69-gene panel.

Presentación tipo oral.

5th BIENNIAL MEETING OF THE ASSOCIATION FOR EUROPEAN CARDIOVASCULAR PATHOLOGY. CADIZ 4-6 OCTOBER 2012

Indirect molecular autopsy of sudden cardiac death victims in affected first-degree relatives, using targeted NGS resequencing of 72 genes

Cantalapiedra D1, Felipe V1, Lázaro M1, De la Rosa J1, Zuñiga S1, Gil M1, Miñambres R1, Ballester A1, Santos M2, Rico A2, Lucena J2, Santillán S1

Presentación tipo Poster.

EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY CONGRESS 2012. 25 Aug 2012 - 29 Aug 2012, Munich – Germany

Next generation sequencing approach for the diagnosis of heart disease patients using a panel of 72 genes.

D Cantalapiedra, P Chevalier, A Forteza, L Moreno, A Jamsheer, M Martínez-Atienza, V Fernández-Pedrosa, S Zúñiga-Trejos, M Gil, S Santillán.

Presentación tipo Poster.

EUROPEAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS 2012. 23-26 June 2012. Nuremberg, Germany.

Sudden death and next generation sequencing: characterization of heart disease using a 72-gene NGS panel.

D. Garcia-Alfonso, D. Cantalapiedra, C. Collado, V. Fernández-Pedrosa, A. Romera, V. Felipe, J. Triviño, S. Zúñiga-Trejos, A. Forteza, L. Moreno, B. Pérez-Ortega, P. Chevalier, B. Gerull, M. Martínez-Atienza, A. Pereira, G. Millat, A. Jamsheer, M. Gil, R. Sáez-Villaverde, A. Repáraz, S. Santillán

Presentación tipo Poster.

Massive targeted resequencing for the diagnosis of Hearing Impairment: a 69-gene panel.

Miñambres R1, Gómez-Rosas E2,3, Romera A1 , Collado C1 , Rodríguez-De Pablos R1 , Fernández-Pedrosa V1, Cantalapiedra D1 , Pérez-Cabornero L1 , Lázaro M1, Fernández P1 , Buades C1 ,Rosa-Rosa JM1 , Triviño JC1 , Zúñiga-Trejos S1, Ballester A1 , Gil M1, del Castillo I2,3 , Santillán S1

Presentación tipo Poster.

BRCA1 and BRCA2 diagnosis by next-generation sequencing: A highly efficient methodology

Lucía Pérez-Cabornero, Francisco Ruiz-Espejo, Amparo Sarabia Meseguer, Isabel Tovar Zapata, M. Calle Marto, Inmaculada Trigo Sanchez, Luis de la Cruz, Carmen Castellanos Maroto, Beatriz Sánchez-Vega, Natalia ChavarriaPiudo, Encarnación Jimenez Orozco, Pedro Sánchez Rovira, M Sánchez Hombre, María Teresa Vargas de los Monteros, Ana Fontalba, Raquel Serrano Blanch, M. Orera Clemente, Vanesa Felipe, M. Lázaro, Carmen Collado, Victoria FernándezPedrosa, Juan Manuel Rosa Rosa, Sheila ZúñigaTrejos, Mayte Gil-Borja, Sonia Santillán.

Presentación tipo Poster.

WORLD CONGRESS OF CARDIOLOGY. 18-21 April 2012. Dubai.

A new 72 gene panel for the diagnosis of heart disease patients using Next Generation Sequencing.

D. Cantalapiedra 1,* , M. Tuson 1, A. Forteza 2, A. Maceira 3, J. Zumalde 4, V. Fernández-Pedrosa 5, S. Zúñiga-Trejos 6, M. Lázaro 1, C. Buades 1, S. Santillán 1

Presentación tipo Poster.

NHS 2012 CONFERENCE. PEDIATRIC AUDIOLOGY AND ADULT HEARING 5 - 9 JUNE 2012. VILLA ERBA CONGRESS CENTER, CERNOBBIO ITALY.

Massive targeted resequencing for the diagnosis of Hearing Impairment: a 67-gene panel

Romera-López A1, Gómez-Rosas E2,3, Collado C1 , Rodríguez-De Pablos R1 , Fernández-Pedrosa V1, Cantalapiedra D1 , Pérez-Cabornero L1 , Lázaro M1, Rosa-Rosa JM1 , Triviño JC1 , Zúñiga-Trejos S1, Miñambres R1 , Gil M1, del Castillo I2,3 , Santillán S1

Presentación tipo Poster.

FRONTIERS IN CARDIOVASCULAR BIOLOGY 2012. 30 Mar 2012- 01 Apr 2012, London.

Next-generation sequencing used to discover novel genetic variants predisposing to heart disease.

Lucía Pérez-Cabornero, Diego Cantalapiedra, Alberto Forteza, Raquel Sáez-Villaverde, Javier Zumalde, Victoria Fernández-Pedrosa, Sheila Zúñiga-Trejos, Mayte Gil-Borja, Marian Lázaro, Sonia Santillán.

Presentación tipo Poster.

THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCE, LA CAIXA FOUNDATION, INTERNATIONAL CENTER OF SCIENTIFIC DEBATE. Evolving Challenges in promoting Cardiovascular Health. November 4-5, 2011. Barcelona

Next-Generation Sequencing Used to Discover novel genetic variants predisposing to Sudden Death.

Lucía Pérez-Cabornero¹, D. Cantalapiedra¹, A. Quesada², A. Forteza³, R. Sáez-Villaverde⁴, J. Zumalde⁵, C. Martínez⁶, R. Marín Iglesias⁷, V. Fernández-Pedrosa¹, C. Collado¹, R. Rodríguez-de Pablos¹, JC. Triviño¹, S. Zúñiga-Trejos¹, M. Gil-Borja¹, R. Miñambres¹, M. Lázaro¹, P. Fernández¹, M. Tuson¹, S. Santillán¹.

Presentación tipo Poster.

CNIC CONFERENCES: At the heart of the genome. Frontiers in cardiovascular genomics. October 6-7, 2011. Madrid.

Next Generation sequencing approach for the diagnosis of heart disease patients using a panel of 72 genes.

Cantalapiedra D1, Pérez-Cabornero L1, , Quesada A2, Forteza A3, Dra. Sáez-Villaverde R4, Zumalde J5, Martínez C6, Pedrinaci S7, Calero M8, Fernández-Pedrosa V9, Collado C9, Rodríguez-de Pablos R9, Triviño JC10, Zúñiga-Trejos S10, Gil M, Miñambres R11, Lázaro M1, Felipe V1, Torres-Puente M1, Santillán S1.

Presentación tipo Poster.

EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY 2011.27 Aug 2011- 31 Aug 2011- Paris, France.

Genetic study of hypertrophic cardiomyopathy using next generation sequencing

García D, Santillán S, Fernández-Pedrosa V, Lázaro MA, Zúñiga S.

Presentación tipo Poster.

4. COMUNICACIONES A CONGRESOS NACIONALES.

CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CARDIOLOGÍA 2013. VALENCIA, 24-26 OCTUBRE 2013.

Ventaja de la secuenciación masiva en el diagnóstico de enfermedades relacionadas con muerte súbita cardíaca.

Diego Cantalapiedra De La Fuente, Alejandro Romera López, Diana Valero Hervás, Carmen Collado Micó, Ángela ArillaCodoñer, Sheila Zúñiga Trejos, Mayte Gil Borja y Sonia Santillán Garzón.

Presentación tipo Poster.

XXVII CONGRESO NACIONAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE GENÉTICA HUMANA. MADRID, 10-12 DE ABRIL DE 2013.

Superioridad de la secuenciación masiva en el diagnóstico de enfermedades heterogéneas: muerte súbita cardiaca.

D. Cantalapiedra, L. Pérez Cabornero, A. Romera, D. Valero, V. Felipe, P. Fernández Ibáñez, MA Lázaro, V. Fernández Pedrosa, S. Zúñiga Trejos, S. Santillán.

Presentación tipo Poster.

Nueva estrategia para abordar el estudio genético de los genes *BRCA1* y *BRCA2* mediante secuenciación masiva.

L.Pérez-Cabornero, F. Ruiz-Espejo, I. Tovar Zapata, M. Vargas de los Monteros, A. Fontalba, S. Pedrinaci, J.M. Rosa-Rosa, V.Fernández-Pedrosa, S. Zúñiga-Trejos, S. Santillán.

Presentación tipo Poster.

***IX SIMPOSIO INTERNACIONAL DE GEICAM: INVESTIGACIÓN Y CLÍNICA. MIRANDO HACIA EL FUTURO* 17-19 ABRIL 2013. VALENCIA**

Desafío integral al cáncer de mama: hacia una medicina personalizada basada en el análisis de miRNAs

Matamala Zamarro, N.; Vargas de los Monteros, M.T.; González-Campora, R.; Gil-Borja, M.T.; Ballester de Matías, A.; Miñambres Herráiz, R.; Santillán Garzón, S.; Yanowsky Ruiz, K.; Martínez-Delgado, B.; Benítez Ortiz, J.

Presentación tipo Poster.

VIII JORNADA INTERHOSPITALARIA DE GENÉTICA CLÍNICA. GETAFE, 22 DE MARZO DE 2013

Diagnóstico de las enfermedades neurológicas. Utilidad de las secuenciación masiva

Romera-López A, Volpini V, Matilla A, Collado C, Rodríguez-De Pablos R, Fernández-Pedrosa V, Cantalapiedra D, Pérez-Cabornero L, Rosa-Rosa JM, Triviño JC, Zúñiga-Trejos S, Miñambres R, Gil M and Santillán S. Presentación tipo oral.

2º SIMPOSIO NACIONAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ONCOLOGÍA MÉDICA SEOM. 24 A 26 DE OCTUBRE 2012. MADRID

Nueva estrategia para abordar el estudio genético del cáncer de mama y ovario hereditario mediante secuenciación masiva.

Lucía Pérez-Cabornero, F. Ruiz-Espejo, I. Tovar Zapata, M. Vargas de los Monteros, A. Fontalba, N. ChavarriaPiudo, S. Pedrinaci, V.Fernández-Pedrosa, S. Zúñiga-Trejos, S. Santillán.

Presentación tipo oral

XXI CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIRUGÍA TORÁCICA-CARDIOVASCULAR 13-16 JUNIO 2012. SEVILLA.

CARDIOGENEPROFILEv2 en aneurisma de aorta torácica familiar. Estudio genético y prevención.

Santillán S1*, Cantalapiedra D1, Pérez-Cabornero L1, Romera A1, Fernández-Pedrosa V2, Collado C2, Rodríguez-de Pablos R2, Zúñiga-Trejos S3, Triviño JC3, Rosa-Rosa JM3, Gil M4, Miñambres R4, Felipe V1, Fernández P1, Buades C1, Lázaro M1.

Presentación tipo Poster.

5TH ESO-CNIO FAMILIAL CANCER CONFERENCE 7-8 JUNE 2012. MADRID, SPAIN

Mutational analysis of BRCA1/BRCA2 genes using next-generation sequencing technology: a comprehensive analysis protocol.

Lucía Pérez-Cabornero¹, Francisco Ruiz-Espejo², Amparo Sarabia Meseguer², Isabel Tovar Zapata², Ma Teresa Vargas de los Monteros³, Manuel La Calle Marto³, Inmaculada Trigo Sanchez³, Luis de la Cruz³, Carmen Castellanos Maroto⁴, Beatriz Sánchez Vega⁴, Ana Fontalba⁵, Raquel Serrano Blanch⁶, Natalia Chavarria Piudo⁷, Encarnación Jimenez Orozco⁷, Pedro Sánchez Rovira⁸, M Sánchez-Hombre⁹, M Orera Clemente⁹, Vanesa Felipe¹, Marián Lázaro¹, Vicky Fernández-Pedrosa¹, Carmen Collado¹, Sheila Zúñiga-Trejos¹, Juan Manuel Rosa-Rosa¹, Mayte Gil¹, Sonia Santillán¹

Presentación tipo oral

JORNADAS DE BIOINFORMÁTICA 2012.26-27 ENERO 2012. BARCELONA.

SG-VarHunter: An efficient strategy for variant calling and annotation applied to color-space data.

Triviño JC1, Rosa-Rosa JM1, Rodríguez-Cruz O1, Cabo-Díez M1, Collado C2, Fernández-Pedrosa V2, Pérez-Cabornero L3, Santillán S3, Zúñiga S1*
Presentación tipo Poster.

XXVI CONGRESO NACIONAL DE GENÉTICA HUMANA. 30 MARZO 1 DE ABRIL 2011. MURCIA.

Diagnóstico genético de enfermedades cardiovasculares por ultrasecuenciación.

Santillán S*, Lázaro MA, Molero M, Collado C, Rodríguez-De Pablos R, García-Ruíz

MJ, Fernández-Pedrosa V, Jiménez-Almazán J, Zúñiga S.

Presentación tipo oral

Análisis del exoma completo, una realidad.

Almazán-Jiménez J1, Collado C2, Rodríguez-De Pablos R2, García-Ruíz MJ2, Fernández-Pedrosa V2, Molero M3, Lázaro MA3, Santillán S3, Zúñiga, S.*1 Presentación tipo Poster.

La secuenciación masiva en el diagnóstico de enfermedades con heterogeneidad genética.

Collado, C1, Rodríguez-De Pablos, R1, García-Ruíz, MJ1, Jiménez-Almazán, J2, Zúñiga, S2, Molero, M3, Lázaro, MA3, Santillán, S3, Fernández-Pedrosa, V.*1

Presentación tipo Poster.