

REINTERPRETACIÓ DE LES VARIANTS GENÈTIQUES IDENTIFICADES EN UNA UNITAT ESPECIALITZADA EN CARDIOPATIES FAMILIARS

Anna Fernández Falgueras

Per citar o enllaçar aquest document:
Para citar o enlazar este documento:
Use this url to cite or link to this publication:
<http://hdl.handle.net/10803/687653>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

Universitat
de Girona

TESI DOCTORAL

**REINTERPRETACIÓ de les
VARIANTS GENÈTIQUES
identificades en una
UNITAT especialitzada en
CARDIOPATIES FAMILIARS**

**Anna Fernández Falgueras
2022**



TESI DOCTORAL

**REINTERPRETACIÓ DE LES VARIANTS
GENÈTIQUES IDENTIFICADES EN
UNA UNITAT ESPECIALITZADA EN
CARDIOPATIES FAMILIARS**

Anna Fernández Falgueras

2022



TESI DOCTORAL

**REINTERPRETACIÓ DE LES VARIANTS
GENÈTIQUES IDENTIFICADES EN
UNA UNITAT ESPECIALITZADA EN
CARDIOPATIES FAMILIARS**

Anna Fernández Falgueras

2022

Programa de Doctorat en Biologia Molecular , Biomedicina i Salut

Dirigida per:

Dr. Oscar Campuzano Larrea, Dr Ramon Brugada Terradellas i Dra Geòrgia Sarquella
Brugada

Tutor: Dr Ramon Brugada Terradellas

Memòria presentada per optar al títol de doctora per la Universitat de Girona

3 Annexes



El Dr. Oscar Campuzano Larrea, professor lector de la Facultat de Medicina de la Universitat de Girona; juntament amb el Dr. Ramon Brugada Terradellas, catedràtic de Cardiologia de la Facultat de Medicina de la Universitat de Girona, cap del Servei de Cardiologia de l'Hospital Universitari Dr. Josep Trueta i director del Centre de Genètica Cardiovascular; i la Dra. Geòrgia Sarquella Brugada, cap de la Unitat d'Arrítmies Pediàtriques i Mort Sobtada de l'Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona i professora associada de la Facultat de Medicina de la Universitat de Girona,

DECLAREM:

Que el treball titulat “Reinterpretació de les variants genètiques identificades en una unitat especialitzada en cardiopaties familiars”, que presenta l'Anna Fernández Falgueras per a l'obtenció del títol de doctora, ha estat realitzat sota la nostra direcció.

I, perquè així consti i tingui els efectes oportuns, signem aquest document.

Dr. Oscar Campuzano Larrea Dr. Ramon Brugada Terradellas Dra. Geòrgia Sarquella Brugada

Anna Fernández Falgueras

Girona, 16 d'agost de 2022

Agraïments

Ha arribat, per fi, el moment d'escriure els agraïments. Potser no és el millor plantejament escriure aquest apartat quan ja estàs tan farta de tot plegat, però bé, suposo que encara em queden forces per dedicar algunes paraules boniques a les persones que m'han acompanyat durant aquesta etapa.

Per començar voldria agrair als meus directors, l'Oscar, en Ramon i la Geòrgia, tot el suport rebut en aquesta tesi. Però crec que és just que faci un apartat especial per tu, Ramon. Gràcies per confiar en mi des de literalment el primer dia, quan estava fent les pràctiques del màster a l'ICO i de rebot vaig venir a la consulta. Em vaig prendre al peu de la lletra aquell “segueix venint, que ja farem alguna cosa!”. I sí sí, d'aquí poc en farà 10 anys d'això! I a sobre, pel camí m'he convertit, segons tu, en l'assessora genètica *of the world*. Què més es pot demanar? Gràcies de tot cor per tot el que has fet i continues fent per mi i pel meu creixement professional.

També voldria fer una menció especial a la Coloma, companya d'aventures a la UCF. De tu aprenc cada dia, i ara que no tindrè el cap ple de preocupacions “tesi-related”, no vull ni imaginar-m'ho!! :) Gràcies també per tots els consells i correccions que m'has fet a la tesi. Has sigut la millor directora encoberta.

Ara tocaria el torn a la gent de Gencardio. Com he dit, aviat farà 10 anys que en formo part i no voldria deixar-me ningú així que faré un agraïment col·lectiu a TOOOTs els que en algun moment heu format part d'aquest grup, ja sigui als que seguïu al peu del canó des del principi, als que heu decidit seguir altres camins o als que us hi heu anat sumant mica en mica. Gràcies a tots pels bons moments compartits.

De totes formes, sí que m'agradaria fer un agraïment especial a l'Anna, companya d'informes. Tu em vas ensenyar a classificar variants quan encara no s'havien ni publicat les guies i mica en mica ens hem anat adaptant a tots els canvis i aprenent juntes, déu-n'hi-do quina aventura! Voldria fer una menció especial també a la Mònica, la Marta i la Laura. Us heu convertit en molt més que companyes de feina. Les converses amb vosaltres són terapèutiques, tenen el poder d'alliberar tota l'energia negativa i generar infinites rialles i alegria, i això s'agraeix sempre, però durant una tesi molt més! Gràcies!

Als agraïments no podia oblidar-me de vosaltres, les meves nenes *Free*. No us n'he fet massa partícips d'aquesta tesi, tret d'alguna queixa per aquí i alguna queixa per allà, però res que no

sigui normal venint de mi, no? Del que sí que podeu estar segures és que formareu part de la celebració, perquè aquesta tesi es mereix un Vostra Llar i molts txin-txins!! ;)

Per anar acabant però no per això menys important, al contrari, vull agrair als meus pares tota la dedicació i esforç en la meva educació i per encoratjar-me dia a dia amb aquesta tesi, encara que fos amb un “acabes ja o què?”. Però sobretot, gràcies per cuidar-me tant, per estimar-me incondicionalment i per ser-hi sempre. Us estimo!

I a tu nen, què dir-te? (no crec que calgui ser políticament correctes a aquestes alçades i dir-te pel teu nom, no?). Això de dir-nos coses *carinyoses* no ha anat mai gaire amb nosaltres però volia que sabessis que per mi ets un gran referent i exemple a seguir, em sento molt afortunada i orgullosa de tenir-te com a germà! I tot i que també recordo els *calmantes vitaminados* amb un somriure (que en el seu moment eren llàgrimes), m'encanta la relació que tenim ara.

Finalment, agrair-te a tu, Pep, per aguantar els infinits “no puc, he de fer tesi...”. Espero que -La tesi interminable- sigui només el capítol avorrit del llibre que vam començar quan ens vam conèixer. Del llibre llibre eh, no en plan cursi ;) Lofff!

A tu, iaia, perquè t'arribi allà on siguis.

Sé que l'hauries llegit (i corregit!)

Participació en publicacions durant el període de la tesi

2022

Coll M, Fernández-Falgueras A, Tiron C, Iglesias A, Buxó M, Simón A, Nogué-Navarro L, Moral S, Pérez-Serra A, Puigmulé M, Del Olmo B, Campuzano O, Castellà J, Picó F, Lopez L, Neto N, Corona M, Alcalde M, Brugada R. *Post-mortem toxicology analysis in a young sudden cardiac death cohort*. *Forensic Sci Int Genet*. 2022 Jul;59:102723.

Tiron C, Campuzano O, Fernández-Falgueras A, Alcalde M, Loma-Orsorio P, Zamora E, Caballero A, Sarquella-Brugada G, Cesar S, Garcia-Cuenllas L, García-Álvarez A, Jordà P, Arbelo E, Tomás-Querol C, Pineda V, Martínez D, Brugada R. *Prevalence of Pathogenic Variants in Cardiomyopathy-Associated Genes in Myocarditis*. *Circ Genom Precis Med*. 2022 Jun;15(3):e003408.

Alcalde M, Nogué-Navarro L, Tiron C, Fernandez-Falgueras A, Iglesias A, Simon A, Buxó M, Pérez-Serra A, Puigmulé M, López L, Picó F, Del Olmo B, Corona M, Campuzano O, Moral S, Castella J, Coll M, Brugada R. *Rare variants in genes encoding structural myocyte contribute to a thickened ventricular septum in sudden death population without ventricular alterations*. *Forensic Sci Int Genet*. 2022 May;58:102688.

2021

Sarquella-Brugada G, Fernandez-Falgueras A, Cesar S, Arbelo E, Coll M, Perez-Serra A, Puigmulé M, Iglesias A, Alcalde M, Vallverdú-Prats M, Fiol V, Ferrer-Costa C, Del Olmo B, Picó F, Lopez L, García-Alvarez A, Jordà P, Tiron de Llano C, Toro R, Grassi S, Oliva A, Brugada J, Brugada R, Campuzano O. *Clinical impact of rare variants associated with inherited channelopathies: a 5-year update*. *Hum Genet*. 2021 Sep 21.

Vallverdú-Prats M, Alcalde M, Sarquella-Brugada G, Cesar S, Arbelo E, Fernandez-Falgueras A, Coll M, Pérez-Serra A, Puigmulé M, Iglesias A, Fiol V, Ferrer-Costa C, Olmo BD, Picó F, Lopez L, Jordà P, García-Álvarez A, Llano CT, Toro R, Grassi S, Oliva A, Brugada J, Brugada R, Campuzano O. *Rare Variants Associated with Arrhythmogenic Cardiomyopathy: Reclassification Five Years Later*. *J Pers Med*. 2021 Feb 26;11(3):162.

Sarquella-Brugada G, Fernandez-Falgueras A, Cesar S, Arbelo E, Jordà P, García-Álvarez A, Cruzalegui JC, Merchan EF, Fiol V, Brugada J, Brugada R, Campuzano O. *Pediatric Malignant*

Arrhythmias Caused by Rare Homozygous Genetic Variants in TRDN: A Comprehensive Interpretation. Front Pediatr. 2021 Feb 22;8:601708.

Jordà P, Toro R, Diez C, Salazar-Mendiguchía J, Fernandez-Falgueras A, Perez-Serra A, Coll M, Puigmulé M, Arbelo E, García-Álvarez A, Sarquella-Brugada G, Cesar S, Tiron C, Iglesias A, Brugada J, Brugada R, Campuzano O. *Malignant Arrhythmogenic Role Associated with RBM20: A Comprehensive Interpretation Focused on a Personalized Approach.* J Pers Med. 2021 Feb 15;11(2):130. doi: 10.3390/jpm11020130.

2020

Campuzano O, Sarquella-Brugada G, Fernandez-Falgueras A, Coll M, Iglesias A, Ferrer-Costa C, Cesar S, Arbelo E, García-Álvarez A, Jordà P, Toro R, Tiron de Llano C, Grassi S, Oliva A, Brugada J, Brugada R. *Reanalysis and reclassification of rare genetic variants associated with inherited arrhythmogenic syndromes.* EBioMedicine. 2020 Apr;54:102732.

2019

Campuzano O, Fernandez-Falgueras A, Lemus X, Sarquella-Brugada G, Cesar S, Coll M, Mates J, Arbelo E, Jordà P, Perez-Serra A, Del Olmo B, Ferrer-Costa C, Iglesias A, Fiol V, Puigmulé M, Lopez L, Pico F, Brugada J, Brugada R. *Short QT Syndrome: A Comprehensive Genetic Interpretation and Clinical Translation of Rare Variants.* J Clin Med. 2019 Jul 16;8(7):1035.

Campuzano O, Fernandez-Falgueras A, Sarquella-Brugada G, Cesar S, Arbelo E, García-Álvarez A, Jordà P, Coll M, Fiol V, Iglesias A, Perez-Serra A, Mates J, Del Olmo B, Ferrer C, Alcalde M, Puigmulé M, Mademont-Soler I, Pico F, Lopez L, Tiron C, Brugada J, Brugada R. *Personalized Interpretation and Clinical Translation of Genetic Variants Associated With Cardiomyopathies.* Front Genet. 2019 May 15;10:450.

Campuzano O, Sarquella-Brugada G, Fernandez-Falgueras A, Cesar S, Coll M, Mates J, Arbelo E, Perez-Serra A, Del Olmo B, Jordà P, Fiol V, Iglesias A, Puigmulé M, Lopez L, Pico F, Brugada J, Brugada R. *Genetic interpretation and clinical translation of minor genes related to Brugada syndrome.* Hum Mutat. 2019 Jun;40(6):749-764.

Sarquella-Brugada G, Cesar S, Zambrano MD, Fernandez-Falgueras A, Fiol V, Iglesias A, Torres F, Garcia-Algar O, Arbelo E, Brugada J, Brugada R, Campuzano O. *Electrocardiographic*

Assessment and Genetic Analysis in Neonates: a Current Topic of Discussion. Curr Cardiol Rev. 2019;15(1):30-37.

2018

Campuzano O, Beltramo P, Fernandez A, Iglesias A, García L, Allegue C, Sarquella-Brugada G, Coll M, Perez-Serra A, Mademont-Soler I, Mates J, Del Olmo B, Rodríguez Á, Maciel N, Puigmulé M, Pico F, Cesar S, Brugada J, Cuesta A, Gutierrez C, Brugada R. *Molecular autopsy in a cohort of infants died suddenly at rest.* Forensic Sci Int Genet. 2018 Nov;37:54-63.

Llista d'abreviatures

ACGS: *Association for Clinical Genetic Science*

ACMG/AMP: *American College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology*

AD: Autosòmica dominant

ADN: Àcid desoxiribonucleic

AR: Autosòmica recessiva

B: Benigna

CI: Cardiopatia isquèmica

ClinGen GC WG: *ClinGen Gene curation Working Group*

ClinGen SVI WG: *ClinGen sequence variant interpretation working group*

CNVs: *Copy Number Variants*

DAI: Desfibril·lador automàtic implantable

ECG: Electrocardiograma

EEF: Estudi electrofisiològic

FA: Fibril·lació Auricular

FAF: Freqüència al·lèlica filtrada

FV: Fibril·lació Ventricular

G-/F-: Genotip negatiu/Fenotip negatiu

G-/F+: Genotip negatiu/Fenotip positiu

G+/F-: Genotip positiu/Fenotip negatiu

G+/F+: Genotip positiu/Fenotip positiu

gnomAD: *Genome Aggregation Database*

IMLCFC: Institut de Medicina Legal i Ciències Forenses de Catalunya

LoF: Pèrdua de funció, de l'anglès *loss of function*

MCA: Miocardiopatia Arritmogènica

MCD: Miocardiopatia Dilatada

MCH: Miocardiopatia Hipertròfica

MOSCAT: MOrt Sobtada a CATalunya

MS: Mort Sobtada

MSC: Mort Sobtada Cardíaca

MSI: Mort Sobtada Inexplicada

MSL: Mort Sobtada del Lactant

MSR: Mort Sobtada Recuperada

NGS: *Next Generation Sequencing*

NMD: *Nonsense-mediated decay*

P: Patogènica

PB: Possiblement benigna

PP: Possiblement patogènica

QTc: QT corregit

QTL1: Síndrome de QT Llarg tipus 1

QTL2: Síndrome de QT Llarg tipus 2

QTL3: Síndrome de QT Llarg tipus 3

SAMS: Síndrome Arritmogènica associada a la Mort Sobtada

SBr: Síndrome de Brugada

SQTC: Síndrome de QT Curt

SQTL: Síndrome de QT Llarg

TV: Taquicàrdia ventricular

TVMS: Taquicàrdia ventricular monomòrfica sostinguda

TVP: Taquicàrdia ventricular polimòrfica

TVPC: Taquicàrdia Ventricular Polimòrfica Catecolaminèrgica

UCF: Unitat de Cardiopaties Familiars

VSI: Variant de significat incert

Índex de taules

Taula 1. Gens descrits en associació a la SBr i la seva validesa clínica segons ClinGen.	17
Taula 2. Puntuació de Schwartz per a la diagnosi de la SQTL (1993-2011).....	19
Taula 3. Gens associats a cadascun dels subtipus de la SQTL i la seva corresponent validesa clínica segons ClinGen.....	21
Taula 4. Criteris diagnòstics per la SQTC.....	23
Taula 5. Gens descrits en associació a la SQTC i la seva validesa clínica segons ClinGen..	25
Taula 6. Gens descrits en associació a la TVPC i la seva validesa clínica segons ClinGen..	27
Taula 7. Equivalència utilitzada per a la unificació de les nomenclatures de les classificacions utilitzades en els informes genètics originàris.	53
Taula 8. Criteris ACMG/AMP organitzats en base al tipus i força de les diferents evidències.	54
Taula 9. Valors utilitzats en cadascuna de les miocardiopaties i canalopaties cardíques per al càlcul dels límits de BA1, BS1 i PM2.	58
Taula 10. Límits per a l'aplicació de BA1, BS1 i PM2 segons la cardiopatia familiar.	59
Taula 11. <i>Hot spots</i> o regions enriquides amb variants patogèniques descrites en gens associats a miocardiopaties.	68
Taula 12. <i>Hot spots</i> o regions enriquides amb variants patogèniques descrites en gens associats a canalopaties cardíques.....	69
Taula 13. Evidència de segregació necessària per cada nivell de força en funció de si es disposa de segregació en una o més famílies.....	70
Taula 14. Evidència de segregació necessària per cada nivell de força per a les variants a <i>MYH7</i>	72
Taula 15. Puntuació atorgada en funció de les ocurrencies <i>de novo</i>	73

Taula 16. Nivell de força de l'evidència PS2/PM6 aplicable en funció de la puntuació obtinguda segons les ocurrencies <i>de novo</i>	73
Taula 17. Puntuació atorgada en funció de les ocurrencies de la variant en <i>trans</i> amb una altra variant genètica.	74
Taula 18. Nivell de força de l'evidència PM3 aplicable en funció de la puntuació obtinguda segons les ocurrencies en <i>trans</i>	74
Taula 19. Concordança entre la classificació originària i la classificació actualitzada i taxa de reclassificació global i segons l'any de l'emissió de l'informe originari en la cohort de canalopaties cardíques, en la cohort de miocardiopaties i en la cohort total.	100
Taula 20. Taula comparativa de les causes de la mort dels casos índexs de la cohort de MSI-MOSCAT i MSI-NoMOSCAT.....	109
Taula 21. Variants genètiques identificades a la cohort MSI i classificades inicialment com a patogèniques.....	114
Taula 22. Variants genètiques identificades a la cohort MSI-MOSCAT i classificades com a (possiblement) patogèniques després de la reinterpretació.....	115
Taula 23. Concordança entre la classificació originària i la classificació actualitzada i taxa de reclassificació global i segons l'any de l'emissió de l'informe originari.	116
Taula 24. Característiques clíniques dels individus de la cohort de SBr.....	118
Taula 25. Classificació reportada originàriament i després de la reinterpretació per les variants genètiques identificades a <i>SCN5A</i> a la cohort de SBr.....	123
Taula 26. Característiques clíniques dels individus de la cohort de SQTL.....	127
Taula 27. Classificació reportada originàriament i després de la reinterpretació de les variants genètiques identificades en gens amb alguna validesa clínica a SQTL a la cohort de SQTL.	134
Taula 28. Característiques clíniques dels individus de la cohort de TVPC amb diagnosi de TVPC.....	140

Taula 29. Classificació reportada originàriament i després de la reinterpretació per les variants genètiques identificades a RYR2 a la cohort de TVPC.	145
Taula 30. Taxes de reclassificació obtingudes a cadascuna de les cohorts avaluades.	150

Índex de figures

Figura 1. A) Esquema de la selecció de les variants genètiques incloses a l'estudi. B. Percentatge dels diferents tipus de variants que componen el grup de les 1272 variants genètiques úniques. C. Percentatge de cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació realitzada en les 1272 variants genètiques úniques.....	79
Figura 2. A) Percentatge i número de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació (2383 variants). B) Taxa de reclassificació segons la classificació originària	82
Figura 3. A) Percentatge de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de canalopaties cardíques i a la cohort de miocardiopaties. B) Taxa de reclassificació segons la classificació originària de les variants incloses a la cohort de canalopaties cardíques i les incloses a la cohort de miocardiopaties	85
Figura 4. Taxa de reclassificació de les variants reportades originàriament com a VSI a la cohort de canalopaties cardíques i a la cohort de miocardiopaties.....	88
Figura 5. Comparació dels percentatge de variants per cadascuna de classificació reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació de les 2383 variants genètiques en funció de l'any en què es van reportar originàriament i coeficient Kappa per cadascun dels anys..	90
Figura 6. Taxa de reclassificació segons la classificació originària i l'any en què es van reportar les variants genètiques (2012-2017)	92
Figura 7. Taxa de reclassificació segons la classificació originària i l'any en què es van reportar les variants genètiques (2018-2021).	95
Figura 8. A) Comparació dels percentatges de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de canalopaties cardíques en funció de l'any en què es van reportar originàriament i coeficient Kappa per cadascun dels anys. B) Comparació dels percentatges de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de canalopaties cardíques en funció de l'any en què es van reportar originàriament i coeficient Kappa per cadascun dels anys.	99

Figura 9. Distribució de la cohort de MSI de la Unitat de Cardiopaties Familiars (UCF).	102
Figura 10. A) Proporció de casos de MSI per cadascun dels sexes en global i per rang d'edat. B) Número de casos de MSI per edat de la mort.	103
Figura 11. A) Distribució dels casos de MSI inclosos al projecte MOSCAT en funció de la causa de la mort. B) Distribució dels casos de MSI inclosos al projecte MOSCAT en funció de la causa de la mort per rang d'edat.	105
Figura 12. A) Percentatges de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de MSI-MOSCAT. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants incloses a la cohort MSI-MOSCAT.	113
Figura 13. Arbres familiars de les 11 famílies de la cohort de SBr amb variants genètiques a <i>SCN5A</i> .	120
Figura 14. A) Proporció de variants identificades a <i>SCN5A</i> a la cohort de SBr per cadascuna de les categories de classificació en l'informe originari i després de la reinterpretació. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants a <i>SCN5A</i> de la cohort de SBr.	121
Figura 15. Arbres familiars de les famílies de la cohort de SQTL amb variants genètiques a <i>KCNH2</i> .	129
Figura 16. Arbres familiars de les famílies de la cohort de SQTL amb variants genètiques a <i>KCNQ1</i> i <i>CALM1</i> .	131
Figura 17. A) Proporció de variants identificades a la cohort de SQTL en gens amb una validesa clínica definitiva per SQTL per cadascuna de les categories de classificació en l'informe originari i després de la reinterpretació. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants identificades en gens amb una validesa clínica definitiva a la cohort de SQTL.	132
Figura 18. Arbre familiar de la família de la cohort de SQTC.	137
Figura 19. Arbres familiars de les famílies de la cohort de TVPC amb variants genètiques a <i>RYR2</i> .	141

Figura 20. A) Proporció de variants identificades a RYR2 a la cohort de TVPC per cadascuna de les categories de classificació en l'informe originari i després de la reinterpretació. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants a RYR2 de la cohort de TVPC. 143

Índex

Agraïments	vii
Participació en publicacions durant el període de la tesi	xi
Llista d'abreviatures	xv
Índex de taules	xvii
Índex de figures.....	xx
Índex.....	1
Resum	3
Resumen.....	5
Summary.....	7
I. INTRODUCCIÓ.....	9
1.1- La mort sobtada cardíaca	11
1.1.1- Epidemiologia de la mort sobtada cardíaca.....	11
1.2- Les cardiopaties familiars	14
1.2.1- Les canalopaties cardíques.....	14
I. La síndrome de Brugada.....	14
II. La síndrome de QT llarg	17
III. La síndrome de QT curt.....	22
IV. La taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica	25
1.3- Assessorament genètic.....	29
1.3.1- Assessorament genètic en les cardiopaties familiars	30
1.4- Anàlisis genètiques en les cardiopaties familiars	32
1.4.1- Tipus d'anàlisis genètiques.....	32
1.4.2- Quan realitzar una anàlisi genètica?	33
1.4.3- Possibles resultats de les anàlisis genètiques.....	39
1.5- Interpretació de les variants genètiques	41
II. HIPÒTESIS I OBJECTIUS	45
III. METODOLOGIA	49
3.1- Selecció de la cohort de pacients	51
3.2- Selecció de les variants genètiques per a la reinterpretació	52
3.3- Classificació de les variants genètiques.....	54
3.3.1- Criteris i especificacions per a la classificació de variants genètiques en gens associats a cardiopaties familiars	54
I. Criteris sobre dades poblacionals.....	54
II. Criteris sobre dades computacionals i predictives	60
III. Criteris sobre dades funcionals.....	66
IV. Criteris sobre segregació.....	70

V. Criteris sobre dades de novo	72
VI. Criteris sobre dades al·lèliques	73
VII. Criteris sobre altres bases de dades.....	74
VIII. Criteris sobre altres dades addicionals	75
3.4- Anàlisi estadística	76
IV. RESULTATS I DISCUSSIÓ	77
4.1- Reinterpretació de les variants genètiques.....	79
4.1.1- Diferències en la reinterpretació de les variants genètiques segons el fenotip	84
4.1.2- Diferències en la reinterpretació de les variants genètiques segons l'any de la classificació inicial.....	89
4.2- Cohort de mort sobtada inexplicada	102
4.2.1- Cohort MSI-MOSCAT.....	103
4.2.2- Cohort MSI-NoMOSCAT	108
4.2.3- Caracterització genètica de la cohort de MSI	110
4.2.4- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de MSI.....	112
4.3- Cohort de síndrome de Brugada.....	117
4.3.1- Caracterització genètica de la cohort de síndrome de Brugada.....	118
4.3.2- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de SBr.....	121
4.4- Cohort de síndrome de QT llarg.....	126
4.4.1- Caracterització genètica de la cohort de síndrome de QT llarg	128
4.4.2- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de SQTl....	132
4.5- Cohort de síndrome de QT curt	137
4.5.1- Caracterització clínica i genètica de la cohort de SQTc.....	137
4.6- Cohort de taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica.....	139
4.6.1- Caracterització genètica de la cohort de TVPC	141
4.6.2- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de TVPC....	142
V. DISCUSSIÓ GENERAL.....	147
VI. CONCLUSIONS	157
VII. BIBLIOGRAFIA	161
VIII. ANNEXES	181
Annex 1	183
Annex 2.....	186
Annex 3.....	187

Resum

La mort sobtada cardíaca (MSC) es defineix com una mort natural i inesperada deguda a una alteració cardíaca. A més, en aquells casos en què la mort queda sense una etiologia després de realitzar una autòpsia completa es sospita que la causa més probable de la mort sigui una arrítmia cardíaca sense alteració estructural i el terme utilitzat és el de síndrome arritmogènica associada a la mort sobtada. La malaltia cardíaca coronària és la principal causa de MSC a partir dels 35 anys, representant aproximadament el 75% de les morts. Després d'aquesta, les miocardiopaties són la segona causa més freqüent de MSC, compatibilitzant per un 10-15% del total; seguides de les cardiopaties congènites, representant un 3-5% del total. Finalment, les canalopaties cardíacques representen entre un 2 i un 5% del total de MSC.

Les canalopaties cardíacques constitueixen el paradigma de la MSC ja que són malalties molt rares que sovint no donen cap símptoma abans de la mort sobtada, són difícils de diagnosticar per professionals no experts, i l'autòpsia és, per definició, negativa. L'anàlisi genètica juga un paper fonamental en la diagnosi de les canalopaties cardíacques, en les quals a més, la identificació d'una variant genètica patogènica és sovint un criteri diagnòstic. Així doncs, la classificació de les variants genètiques i la freqüència amb la que aquestes haurien de ser reinterpretades representen un dels principals reptes associats a les anàlisis genètiques, motivant la realització d'aquesta tesi doctoral.

Els objectius plantejats en aquesta tesi van ser l'avaluació de l'impacte de la reinterpretació de les variants genètiques identificades en una unitat especialitzada en cardiopaties familiars durant un període de gairebé 10 anys i la comparació de les taxes de reclassificació entre diferents cohorts de canalopaties cardíacques, miocardiopaties i mort sobtada inexplicada. Finalment, també es pretenia establir la periodicitat més apropiada per a la reinterpretació de les variants genètiques.

Els resultats obtinguts revelen unes taxes de reclassificació superiors al 30% en totes les cohorts avaluades en aquesta tesi (cohorts de cardiopaties familiars, canalopaties cardíacques, miocardiopaties, mort sobtada inexplicada, síndrome de Brugada, síndrome de QT llarg i taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica). Tanmateix, quan existeixen evidències definitives sobre l'associació entre el gen i la malaltia del pacient, la taxa de reclassificació de les variants genètiques és inclús superior. Aquestes altes taxes de reclassificació posen de manifest la necessitat d'implementar el procés de reinterpretació de les variants genètiques de forma periòdica. Segons els resultats de l'avaluació de les taxes de

reclassificació de les variants genètiques en funció de l'any en què havien estat classificades inicialment, s'estima que la freqüència més apropiada per a la reinterpretació seria de 2 anys, deixant oberta la possibilitat d'una reinterpretació amb major freqüència si es considera oportú. Els assessors genètics juguen un paper fonamental en la reinterpretació de les variants genètiques per tal de mantenir les classificacions actualitzades, aportant aquelles evidències clíniques que sovint no estan disponibles a nivell dels laboratoris de diagnòstic genètic i transmetent els canvis produïts en la classificació i les implicacions d'aquestes reclassificacions als pacients i familiars.

Resumen

La muerte súbita cardíaca (MSC) se define como una muerte natural e inesperada debida a una alteración cardíaca. Además, en aquellos casos en los que la muerte queda sin una etiología después de realizar una autopsia completa se sospecha que la causa más probable de la muerte sea una arritmia cardíaca sin alteración estructural y el término utilizado es el de síndrome arritmogénico asociado a la muerte súbita. La enfermedad cardíaca coronaria es la principal causa de MSC a partir de los 35 años, representando aproximadamente el 75% de las muertes. Después de esta, las miocardiopatías son la segunda causa más frecuente de MSC, compatibilizando por un 10-15% del total; seguidas de las cardiopatías congénitas, representando un 3-5% del total. Por último, las canalopatías cardíacas representan entre un 2 y un 5% del total de MSC.

Las canalopatías cardíacas constituyen el paradigma de la MSC ya que son enfermedades muy raras que a menudo no dan ningún síntoma antes de la muerte súbita, son difíciles de diagnosticar por profesionales no expertos, y la autopsia es, por definición, negativa. El análisis genético juega un papel fundamental en el diagnóstico de las canalopatías cardíacas, en las que, además, la identificación de una variante genética patogénica es a menudo un criterio diagnóstico. Así pues, la clasificación de las variantes genéticas y la frecuencia con la que estas deberían ser reinterpretadas representan uno de los principales retos asociados a los análisis genéticos, motivando la realización de esta tesis doctoral.

Los objetivos planteados en esta tesis fueron la evaluación del impacto de la reinterpretación de las variantes genéticas identificadas en una unidad especializada en cardiopatías familiares durante un período de casi 10 años y la comparación de las tasas de reclasificación entre distintas cohortes de canalopatías, miocardiopatías y muerte súbita inexplicada. Finalmente, también se pretendía establecer la periodicidad más adecuada para la reinterpretación de las variantes genéticas.

Los resultados obtenidos revelan unas tasas de reclasificación superiores al 30% en todas las cohortes evaluadas en esta tesis (cohortes de cardiopatías familiares, canalopatías cardíacas, miocardiopatías, muerte súbita inexplicada, síndrome de Brugada, Síndrome de QT largo y taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica). Sin embargo, cuando existen evidencias definitivas sobre la asociación entre el gen y la enfermedad del paciente, la tasa de reclasificación de las variantes genéticas es incluso superior. Estas altas tasas de reclasificación resaltan la necesidad de implementar el proceso de reinterpretación de las

variantes genéticas de forma periódica. Según los resultados de la evaluación de las tasas de reclasificación de las variantes genéticas en función del año en el que habían sido clasificadas inicialmente, se estima que la frecuencia más apropiada para la reinterpretación sería de 2 años, dejando abierta la posibilidad de una reinterpretación con mayor frecuencia si se considera oportuno. Los asesores genéticos juegan un papel fundamental en la reinterpretación de las variantes genéticas para mantener las clasificaciones actualizadas, aportando aquellas evidencias clínicas que a menudo no están disponibles a nivel de los laboratorios de diagnóstico genético y transmitiendo los cambios producidos en la clasificación y las implicaciones de estas reclasificaciones a los pacientes y familiares.

Summary

Sudden cardiac death (SCD) is defined as a natural and unexpected death due to cardiac etiology. In addition, when the cause of death remains unexplained after a complete autopsy, a cardiac arrhythmia is suspected as a potential cause of death. In these cases, the terminology used is sudden arrhythmia death syndrome. Coronary heart disease is the leading cause of SCD after the age of 35, accounting for approximately 75% of deaths. Afterwards, cardiomyopathies are the second most frequent cause of SCD, accounting for 10-15% of the total; followed by congenital heart disease, representing 3-5% of the total. Finally, cardiac channelopathies represent between 2 and 5% of all SCD.

Cardiac channelopathies are extremely rare diseases that are difficult to diagnose by non-expert professionals. The first symptom is often sudden death which is always linked to a negative autopsy. Consequently, cardiac channelopathies constitute the paradigm of SCD. Genetic analysis plays a key role in the diagnosis of cardiac channelopathies, in which the identification of a pathogenic genetic variant is often a diagnostic criterion. Therefore, genetic variant classification and routine reinterpretation as data become available represent one of the main challenges associated with genetic analyses, motivating the execution of this doctoral thesis.

Using the genetic variants identified in an inherited cardiovascular diseases unit during a 10-year period, the objectives set out in this thesis were: 1) to evaluate the impact of genetic variant reinterpretation, 2) to compare the reclassification rates between different cohorts of cardiac channelopathies, cardiomyopathies and sudden unexplained death; and 3) to establish the most appropriate periodicity for genetic variant reinterpretation.

All the evaluated cohorts in this thesis (inherited cardiac disease, cardiomyopathies, sudden unexplained death, Brugada syndrome, long QT syndrome and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia cohorts) showed genetic variant reclassification rates higher than 30%. However, when there is definitive evidence of the association between the gene and the patient's disease, the genetic variant reclassification rate is even higher. These high reclassification rates highlight the need to implement the process of genetic variant reinterpretation regularly. According to the results of the evaluation of genetic variant reclassification rates based on the year of the initial classification, it is estimated that the most appropriate frequency for the reinterpretation would be 2 years, with the possibility of a more frequent reinterpretation if deemed convenient. To keep genetic variant classifications up to

date, genetic counsellors play a critical role in the reinterpretation process, providing clinical evidence that genetic diagnostic laboratories often do not have at their disposal and communicating changes in classification and the potential implications of these reclassifications to patients and relatives.

I. INTRODUCCIÓ

1.1- La mort sobtada cardíaca

La mort sobtada (MS) es defineix com una mort no violenta i inesperada que té lloc durant la primera hora des de l'inici dels símptomes o, si es produeix en absència de testimonis, quan la persona ha estat vista en situació estable durant les 24 hores anteriors a l'episodi letal[1, 2].

En la investigació de l'etiologia de la MS es pot requerir una autòpsia medico-legal. Aquesta es realitza a instància de l'autoritat judicial i té per objectiu determinar si ha estat una mort violenta i per tant, cal precisar si es tracta d'un suïcidi, un homicidi o un accident; o si pel contrari ha estat una mort natural, la qual es defineix com aquella que té un origen intern i en la que no intervenen factors externs ni pot ser atribuïble a terceres persones[3]. La terminologia que envolta la MS és àmplia i complexa i sovint es produeixen solapaments entre els diferents termes. Així, el concepte de mort sobtada inesperada i sense explicació aparent es coneix com MS inexplicada/indeterminada (MSI) o síndrome de la MSI.

Es considera una mort sobtada cardíaca (MSC) si la mort es produeix degut a una alteració cardíaca, ja sigui coneguda prèviament o bé identificada durant el procés d'autòpsia[4]. Quan la causa de la mort queda sense determinar després de realitzar una autòpsia medico-legal completa, incloent l'estudi toxicològic, es denomina autòpsia negativa[5, 6]. En aquests casos, tot i no trobar indicis cardíacs en l'exploració anatomopatològica, es sospita que l'inductor més probable de la mort sigui una arrítmia cardíaca sense alteració estructural i s'utilitza el terme síndrome arritmogènica associada a la mort sobtada (SAMS) o, si la mort es produeix en un infant menor d'1 any, mort sobtada del lactant (MSL)[4, 7]. Tanmateix, en aquestes situacions sovint també s'ha utilitzat el terme MSI.

1.1.1- Epidemiologia de la mort sobtada cardíaca

La incidència de la MSC és difícil d'estimar per la falta d'estandardització en les definicions i, per tant, dels criteris d'inclusió, les diferències en la font d'informació i les metodologies utilitzades per a la verificació dels casos[8]. Tanmateix, els principals registres mostren que les alteracions cardíacques són la principal causa de MS als països occidentals, amb uns percentatges que oscil·len entre el 60 i el 90% del total de MS, segons l'edat[7, 9-11]. Globalment, s'estima que es produeixen unes 5 milions de MSC a l'any, amb una incidència anual de 50-100/100.000 individus en població europea i nord-americana, i menor en països asiàtics[12-14].

La MSC presenta una major incidència en homes que en dones, independentment de l'edat. En individus d'edat adulta jove i de mitjana edat (18-55 anys), la MSC té un major predomini en homes degut a la protecció que confereixen els estrògens a les dones abans de la menopausa en front a l'aterosclerosi coronària[15]. Abans dels 65 anys, la incidència de la MSC en homes és de 4 a 7 vegades superior que en dones. A partir d'aquesta edat, la diferència disminueix tot i que els homes resten amb un major risc al llarg de tot l'espectre d'edats[16, 17].

En referència a les diferències entre ètnies, s'ha observat que la taxa de MSC és menor en població hispànica que en població blanca no hispànica i que existeix un major risc de MSC en població negra en comparació a població blanca, especialment entre les dones. Tot i que molt probablement existeixen factors econòmics i socio-culturals implicats en el risc en les distintes poblacions, existeixen dades que mostren que les diferències persisteixen fins i tot controlant aquestes variables[18-20].

La incidència de MSC presenta una distribució bimodal amb un pic inicial durant el primer any de vida i un altre, molt més ampli, en adults de mitjana edat i majors[14, 21]. Així, en edat pediàtrica s'estima una incidència global d'uns 8/100.000 individus/any amb un pic en infants menors d'un any de 73/100.000 individus/any i que majoritàriament s'associa a malaltia cardíaca congènita[8, 21]. En nens i adolescents, la incidència s'estima de 3 i 6/100.000 individus/any, respectivament[8, 21]. En adults, la incidència de MSC es troba en uns 100/100.000 individus/any, amb un increment continuat del risc ja que la prevalença de malaltia coronària, primera causa de MSC, incrementa a mesura que augmenta l'edat[8, 21].

La malaltia cardíaca coronària és la principal causa de MSC a partir dels 35 anys, representant aproximadament un 75% de les MSC[22]. Els principals factors de risc associats a malaltia coronària són la hipercolesterolèmia, la hipertensió, l'obesitat, la diabetis mellitus i el tabaquisme[22-24]. Tot i això, en les últimes dècades, la proporció de MSC atribuïble a malaltia coronària ha disminuït gràcies a la implantació d'estratègies de prevenció[25, 26]. Després de la malaltia coronària, les miocardiopaties són la segona causa més freqüent de MSC, comptabilitzant per un 10-15% del total[22, 27]. Tanmateix, en autòpsies realitzades en víctimes de MSC menors de 35 anys s'ha descrit que la presència de malaltia coronària és menor (30%) i que la freqüència de miocardiopaties és major, representant entre un 15-30% dels casos[28-30]. Aproximadament un 3-5% de les MSC estan explicades per cardiopaties congènites, arribant a un 10% en menors de 35 anys[27, 28]. Finalment, es creu que les

malalties arrítmiques hereditàries o canalopaties cardíques representen entre un 2 i un 5% del total de MSC[22, 31].

1.2- Les cardiopaties familiars

Les cardiopaties familiars inclouen un gran nombre d'entitats, com les miocardiopaties, les canalopaties cardíques i algunes patologies de l'aorta. Tanmateix, totes elles comparteixen una sèrie de trets comuns: tenen una base genètica, són malalties amb una presentació familiar i un curs clínic heterogeni i, totes elles, poden estar associades a MSC, en ocasions com a primera forma de manifestació de la malaltia[32-34].

D'entre totes les cardiopaties familiars, les canalopaties cardíques constitueixen el paradigma de la MSC: són malalties amb una prevalença molt baixa ($<1/2.000$), difícils de diagnosticar per metges no experts, sovint no han donat cap símptoma abans de la MSC i l'autòpsia és, per definició, negativa. L'anàlisi genètica juga un paper fonamental en el diagnòstic, l'avaluació familiar i l'assessorament dels pacients amb canalopaties cardíques pel que constitueixen l'àmbit d'estudi d'aquesta tesi doctoral.

1.2.1- Les canalopaties cardíques

Les canalopaties cardíques són un grup de malalties hereditàries que s'associen a arrítmies i MSC en presència d'un cor aparentment normal estructuralment, causades per variants genètiques en els gens que codifiquen per les subunitats dels canals iònics cardíacs o les proteïnes que interactuen i regulen els canals iònics. Aquestes variants genètiques alteren l'equilibri de les corrents iòniques a través de la membrana plasmàtica o del reticle sarcoplasmàtic i predisposen a arrítmies malignes[33, 35]. Les principals canalopaties cardíques són la síndrome de Brugada, la síndrome de QT llarg, la síndrome de QT curt i la taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica però en aquest grup també s'hi inclou la malaltia del node sinusal, la malaltia progressiva del sistema de conducció cardíaca o la síndrome de repolarització precoç[4].

I. La síndrome de Brugada

Definició i epidemiologia

L'any 1992 es van descriure 8 individus amb un fenotip comú: MSC recuperada causada per fibril·lació ventricular (FV) documentada i una elevació del segment ST en les derivacions precordials dretes en un cor estructuralment normal[36]. El 1996, es va utilitzar per primera vegada el terme síndrome de Brugada (SBr) per descriure aquest fenotip, fins llavors conegut com "bloqueig de branca dreta, elevació persistent del segment ST i síndrome de mort

sobrada”[37]. Uns anys més tard, es va descriure que la SBr consistia en la mateixa malaltia que la síndrome de mort sobrada inexplicada nocturna[38], també coneguda com *bangungot* a Filipines[39], *pokkuri* a Japó[40] o *lai tai* a Tailàndia[41], les quals eren fenotípicament i funcionalment idèntiques a la SBr.

La prevalença global de la SBr s’estima entre 1/2.000 i 1/5.000 individus[42, 43]. No obstant, aquesta prevalença varia considerablement entre regions i sexes. La prevalença més alta s’ha observat a Tailàndia, amb una estimació d’1/150 individus. Globalment, s’estima una prevalença d’1/550 individus a Àsia, 1/5.000 en població caucàsica i 1/20.000 en hispànics[44]. A més, la SBr és entre 8 i 10 vegades més prevalent en homes que en dones, i aquesta diferència és inclús més àmplia en pacients asiàtics[45, 46]. Es considera que el desequilibri en la prevalença entre els dos sexes podria explicar-se per la influència hormonal, ja que en edat pediàtrica la divergència no és tan marcada[45, 47].

criteris diagnòstics

Inicialment la SBr va ser descrita com una elevació persistent del segment ST amb bloqueig de la branca dreta; no obstant, aquests dos criteris ja no són necessaris per a la seva diagnosi. Actualment, el diagnòstic clínic de la SBr requereix la identificació d’una elevació del segment ST amb morfologia tipus 1 (en anglès *coved-type*) de ≥ 2 mm en ≥ 1 de les derivacions precordials dretes V1 o V2 posicionades en el 2n, 3r o 4t espai intercostal, ja sigui en l’ECG basal o després d’una prova de provocació mitjançant l’administració intravenosa d’un medicament bloquejant del canal de sodi[4, 48-50]. Per desemmascarar la SBr s’ha utilitzat ajmalina, flecaïnida, pilsicaïnida, procaïnamida, disopiramida i propafenona, però la flecaïnida i l’ajmalina són els fàrmacs d’elecció en l’actualitat[43, 51, 52]. El patró tipus 2 de la SBr (en anglès *saddle-back type*) consisteix en una elevació del segment ST $\geq 0,5$ mm (generalment ≥ 2 mm a V2) en ≥ 1 de les derivacions precordials dretes V1 a V3, seguit d’un segment ST convex i d’una ona T positiva a V2 i morfologia variable a V1. El patró tipus 3 de la SBr es caracteritza tant per una aparença “*coved*” com “*saddle-back*” amb una elevació del segment ST < 1 mm[48]. Els ECGs amb patró tipus 2 o 3 són suggestius de SBr però només es podran considerar diagnòstics si adquireixen una morfologia tipus 1 durant la prova de provocació. A més, es recomana que el diagnòstic requereixi també la presència de FV o taquicàrdia ventricular polimòrfica (TVP) documentades, síncope de probable causa cardíaca, història familiar de MSC en menors de 45 anys amb autòpsia negativa, ECGs tipus 1 en familiars o respiració nocturna agònica[48].

Un patró ECG normal no descarta la diagnosi de SBr ja que molts pacients amb diagnòstic confirmat presenten fluctuacions entre ECGs diagnòstics i ECGs no diagnòstics, indicant que el patró ECG de Brugada és dinàmic en el temps, i dificultant la diagnosi de la SBr[53, 54]. També és important destacar que aproximadament un 25% de les proves de provocació mitjançant flecaïnida podrien tenir resultats falsos-negatius, pel que, quan sigui possible, s'hauria de considerar la repetició del test de provocació amb ajmalina[43, 55].

Característiques clíniques

L'expressivitat de la SBr és variable i les presentacions clíniques típiques són les síncope o la MSC durant la tercera o quarta dècada de la vida degudes a TVP o FV, tot i que existeix un alt percentatge de pacients que poden romandre completament asimptomàtics al llarg de la seva vida[51]. Els símptomes solen aparèixer en repòs suggerint que l'increment de l'activitat vagal nocturna i l'aturada de l'activitat simpàtica podrien jugar un paper important en l'arritmogènesi de la SBr[43, 56, 57]. Tot i que menys freqüentment, també es poden produir símptomes durant l'exercici. La febre, el consum excessiu d'alcohol i els àpats abundants poden desemascarar el patró ECG tipus 1 i predisposar a TVP o FV[50]. La TV monomòrfica és una presentació clínica rara en la SBr i és més prevalent en nens, entre els quals el desencadenant més comú és la febre[58-60].

La SBr és una malaltia amb una penetrància incompleta depenent de l'edat i relacionada amb el sexe[50, 61]. S'estima que la SBr és responsable d'un 4% de totes les MSC i d'un 20% d'aquelles MSC sense malaltia cardíaca estructural. Entre un 20 i un 30% dels pacients presenten història familiar de MSC, recolzant l'origen genètic de la patologia[62].

Bases genètiques

L'any 1998, es van identificar les primeres variants genètiques associades a la SBr a *SCN5A*, gen que codifica per la subunitat α del canal de sodi cardíac depenent de voltatge ($Na_v1.5$), el qual és responsable de l'entrada ràpida de ions de sodi que inicia la propagació del potencial d'acció a les cèl·lules del múscul cardíac[63, 64]. A dia d'avui, el gen *SCN5A* segueix sent la principal causa genètica de la SBr, representant aproximadament un 20-25% dels casos[33, 65]. Les variants a *SCN5A* causants de la SBr provoquen una pèrdua de funció de $Na_v1.5$, ja sigui per alteració del tràfic del canal iònic a la membrana plasmàtica i per tant, reduint l'expressió de canals a la superfície de la membrana, o mitjançant una alteració del les propietats del canal[65]. S'han descrit variants genètiques a altres gens suggerits com a

causants de SBr com *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B*, *CACNA1C*, *CACNB2* o *CACNA2D1*, entre altres, però conjuntament no explicarien més del 5% dels casos i la seva associació a la SBr està en discussió ja que no existeixen suficients evidències genètiques i funcionals que recolzin la relació gen-malaltia[66] (Taula 1). Així, *SCN5A* és l'únic gen al que se li ha atorgat una validesa clínica definitiva a SBr. Les variants genètiques rares al gen *SCN5A* segueixen un patró d'herència autosòmic dominant. Tanmateix, la penetrància incompleta i l'expressivitat variable observada a la SBr suggereixen un mode d'herència complex probablement controlat per una combinació de múltiples factors genètics i epigenètics[67].

Taula 1. Gens descrits en associació a la SBr i la seva validesa clínica segons ClinGen.

Gen	Herència	Validesa clínica segons ClinGen
<i>SCN5A</i>	AD	Definitiva
<i>ABCC9</i> , <i>ANK2</i> , <i>CACNA1C</i> , <i>CACNA2D1</i> , <i>CACNB2</i> , <i>GPD1L</i> , <i>HCN4</i> , <i>KCND3</i> , <i>KCNE3</i> , <i>KCNH2</i> , <i>KCNJ8</i> , <i>PKP2</i> , <i>RANGRF</i> , <i>SCN10A</i> , <i>SCN1B</i> , <i>SCN2B</i> , <i>SNC3B</i> , <i>SLMAP</i> , <i>TRPM4</i>	AD	Controvertida
AD: Autosòmica dominant.		

II. La síndrome de QT llarg

Definició i epidemiologia

La síndrome de QT llarg (SQTL) és una malaltia de la repolarització del miocardi ventricular caracteritzada per un interval QT prolongat a l'ECG i que pot donar lloc a arrítmies ventriculars i un risc incrementat de MSC. L'associació entre un interval QT prolongat, sordesa congènita i episodis sincopals deguts a FV amb desencadenants emocionals o físics consisteix en una entitat clínica coneguda com la síndrome de Jervell i Lange-Nielsen[68] i caracteritzada per una herència autosòmica recessiva associada a variants genètiques a *KCNQ1* i *KCNE1*. Les mateixes característiques però en absència de sordesa congènita i seguint una herència autosòmica dominant constitueixen la síndrome de Romano-Ward[69]. Ambdues síndromes s'engloben en la SQTL. A més, la SQTL s'ha subdividit en diferents tipus en base al gen on es troba la variant genètica causal. Les formes més freqüents són la QTL1 (SQTL tipus 1) i la QTL2 (SQTL tipus 2), degudes a variants genètiques als canals de potassi (*KCNQ1* i *KCNH2*, respectivament), i la QTL3 (SQTL tipus 3), deguda a variants genètiques al canal de sodi (*SCN5A*).

Un estudi prospectiu realitzat en prop de 45.000 infants que combinava l'ECG i l'anàlisi genètica va permetre estimar la prevalença de la SQTL en 1/2.000 individus[70]. Tanmateix, tot i que és difícil de quantificar, s'espera que la prevalença de la SQTL incloent individus

amb genotip positiu i fenotip negatiu sigui superior, probablement propera a 1/1.000 individus. La forma autosòmica recessiva de la SQTL, la síndrome de Jervell i Lange-Nielsen, probablement afecta menys d'1/1.000.000 individus[71].

S'ha descrit que el genotip de la SQTL influeix en el risc d'esdeveniments cardíacs de forma diferent en homes que en dones i en nens que en adults. Durant la infantesa, el risc és significativament major en homes amb QTL1 que en dones, mentre que no hi ha diferències entre els pacients pediàtrics amb QTL2 i QTL3. En adults, les dones amb QTL1 i QTL2 presenten intervals QTc més allargats que els homes, així com un major risc a arrítmies ventriculars[72]. En els homes, el risc d'un primer esdeveniment cardíac és major durant la infantesa i disminueix a la pubertat, així com també disminueix la durada de l'interval QT corregit (QTc); mentre que en les dones, el risc d'un primer esdeveniment cardíac no disminueix en edat adulta[73].

En circumstàncies normals, la durada de la repolarització depèn del ritme cardíac. L'interval QT és més llarg a ritmes cardíac lents i més curt a ritmes cardíacs ràpids. S'han desenvolupat fórmules que "corregeixen" l'interval QT en funció del ritme cardíac. La més utilitzada és la coneguda com fórmula de Bazett[74, 75].

Críteris diagnòstics

Els criteris diagnòstic per la SQTL han evolucionant progressivament amb la millora en el coneixent de la malaltia, així com de la seva causa genètica. Els primers van ser publicats l'any 1985, representant una versió simplificada dels aprovats actualment. Es basaven en criteris majors i menors, havent-ne de complir dos de majors o un de major i dos de menors per assolir el diagnòstic de la SQTL. Els criteris majors consistien en un interval QT prolongat (QTc > 440 ms), síncope en situació d'estrès i història familiar de SQTL; mentre que els criteris menors eren sordesa congènita, episodis alternants d'ones T, ritme cardíac lent (en nens) i repolarització ventricular anòmala[76].

Més tard es van proposar els anomenats criteris de Schwartz, que consisteixen en un sistema de punts assignats a troballes electrocardiogràfiques, clíniques i familiars. Des de la primera aproximació publicada l'any 1993, aquests criteris han sofert actualitzacions per tal d'augmentar la seva sensibilitat i especificitat i per tant, reduir el nombre de falsos negatius[77-79]. Inicialment, el diagnòstic era relativament directe en pacients amb prolongació del QTc en repòs o amb símptomes; tanmateix, suposava un repte en aquells

familiars asimptomàtics. Posteriorment, es va proposar que la prolongació de l'interval QTc al minut 4 de la recuperació en una prova d'esforç podria ser d'utilitat per a la diagnosi de la SQTIL en individus asimptomàtics[80], pel que l'any 2011 es va incloure en els criteris de Schwartz[79] (Taula 2). L'aplicació de l'actualització de l'any 2011 dels criteris Schwartz ha estat validada i permet la identificació de portadors silents que no s'identificarien amb els criteris convencionals[81].

Taula 2. Puntuació de Schwartz per a la diagnosi de la SQTIL (1993-2011).

		Punts
Troballes electrocardiogràfiques ^a		
QTc ^b	≥ 480 ms	3
	460-479 ms	2
	450-459 ms (en homes)	1
QTc ^b ≥ 480 ms al 4t minut de recuperació en la prova d'esforç		1
<i>Torsade de pointes</i> ^c		2
Ones T alternants		1
Ona T bimodal en 3 derivacions		1
Ritme cardíac baix per edat ^d		0,5
Història clínica		
Síncope ^c	en estrès	2
	sense estrès	1
Sordesa congènita		0,5
Història familiar		
Familiars amb diagnòstic definitiu de SQTIL ^e		1
MSC inexplicada en familiars de 1r grau menors de 30 anys ^e		0,5
^a En absència de medicaments o malalties conegudes que afecten aquestes característiques electrocardiogràfiques. ^b Calculat segons la fórmula de Bazett. ^c Criteris excloents entre ells. ^d Ritme cardíac en repòs per sota del 2n percentil per edat. ^e No es pot comptabilitzar el mateix familiar en els dos punts. MSC: Mort sobtada cardíaca; SQTIL: Síndrome de QT llarg; QTc: interval QT corregit (fórmula Bazett). Puntuació: ≤ 1 punt: baixa probabilitat de SQTIL; 1,5 – 3 punts: probabilitat intermèdia de SQTIL; ≥ 3,5 punts: probabilitat alta de SQTIL.		

Així mateix, el diagnòstic de la SQTIL pot establir-se no només amb una puntuació de Schwartz superior a 3,5 sinó també amb la presència d'una variant genètica clarament patogènica en un dels gens associats a la SQTIL o amb un interval QTc ≥ 500 ms en varis ECGs i en absència de causes secundàries que puguin explicar la prolongació del QT[4].

Característiques clíniques

La majoria d'individus amb SQTIL es troben asimptomàtics en el moment de la diagnosi i hi romanen al llarg de la seva vida. Tanmateix, els pacients simptomàtics típicament presenten síncope amb o sense convulsions generalitzades o MSC en situacions d'estrès emocional o físic[76]. La MSC és la primera manifestació de la SQTIL en aproximadament un 13% dels casos[82].

La taquicàrdia ventricular (TV) present en els esdeveniments cardíacs associats a la SQTL és la *Torsade de Pointes*, un tipus de TV majoritàriament limitant i que produeix síncope però que també pot degenerar a FV i causar una aturada cardíaca o MSC[83].

Els esdeveniments cardíacs poden ocórrer a qualsevol edat però són més freqüents en edat preadolescent i fins als 30 anys. També s'ha descrit un major risc durant el període post-part en les pacients amb QTL2 respecte les pacients amb QTL1[84]. Aquest major risc probablement està relacionat amb la privació del son, tot i que els canvis hormonals també podrien jugar-hi un paper important ja que les dones amb QTL2 presenten un major risc d'esdeveniments cardíacs durant els períodes de transició a la menopausa i post-menopàusics; mentre que en les dones amb QTL1, l'inici de la menopausa s'associa a una reducció del risc d'esdeveniments cardíacs[85].

Tot i que s'ha descrit que la majoria de pacients desenvolupen els símptomes en situacions d'estrès, una minoria dels casos presenten aquests esdeveniments cardíacs malignes durant el repòs. La majoria dels esdeveniments en pacients amb QTL1 ocorren durant l'exercici o estrès; mentre que en pacients amb QTL2 són més comuns durant l'estrès emocional o els estímuls auditius com sorolls sobtats i en pacients amb QTL3 ocorren durant el son o en repòs[86].

Bases genètiques

La SQTL generalment segueix un patró d'herència autosòmic dominant tot i que existeixen algunes excepcions com la síndrome de Jervell i Lange-Nielsen que presenta una herència autosòmica recessiva.

S'han descrit fins a 17 subtipus de la SQTL, cadascun d'ells associat a un gen diferent (Taula 3). Els subtipus més freqüents són la QTL1, QTL2 i QTL3, els quals en conjunt expliquen aproximadament un 75% dels diagnòstics clínics de SQTL. Els subtipus restants contribueixen en un 5% addicional, pel que el 15-20% de pacients amb diagnòstic establert de SQTL romandran sense una causa genètica identificable[33, 71, 87].

La QTL1 és el subtipus més freqüent, englobant aproximadament un 30-35% dels casos. La QTL1 resulta d'alteracions genètiques causants d'una pèrdua de funció al gen *KCNQ1*, que codifica per la corrent rectificadora de potassi lent (I_{Ks}). La penetrància en aquest subtipus s'ha descrit propera al 62%. Les alteracions que provoquen una pèrdua de funció al gen *KCNH2* són les causants de la QTL2, que representa aproximadament un 25-30% dels casos

i presenta una penetrància del 75%. El gen *KCNH2* codifica per la corrent rectificadora de potassi ràpid (I_{Kr}). Finalment, el subtipus QTL3 representa aproximadament un 5-10% dels casos de SQTL i està causat per variants patogèniques que donen lloc a un guany de funció a *SCN5A* degut a un increment de la corrent de sodi tardana (I_{NaL}). La penetrància de les variants genètiques a *SCN5A* és propera al 90%[71, 88].

Taula 3. Gens associats a cadascun dels subtipus de la SQTL i la seva corresponent validesa clínica segons ClinGen.

Tipus de SQTL	Gen	Mecanisme	Herència	Validesa clínica segons ClinGen
QTL1	<i>KCNQ1</i>	Pèrdua de funció	AD / AR (Síndrome Jervell i Lange-Nielsen)	Definitiva
QTL2	<i>KCNH2</i>	Pèrdua de funció	AD	Definitiva
QTL3	<i>SCN5A</i>	Guany de funció	AD	Definitiva
QTL4	<i>ANK2</i>	Pèrdua de funció	AD	Controvertida
QTL5	<i>KCNE1</i>	Pèrdua de funció	AD	Limitada/ Forta (SQTL adquirida)
QTL6	<i>KNCE2</i>	Pèrdua de funció	AD	Controvertida/ Forta (SQTL adquirida)
QTL7	<i>KCNJ2</i>	Pèrdua de funció	AD	Limitada / Definitiva (Síndrome d'Andersen-Tawil)
QTL8	<i>CACNA1C</i>	Guany de funció	AD	Moderada / Definitiva (Síndrome de Timothy)
QTL9	<i>CAV3</i>	Pèrdua de funció	AD	Limitada
QTL10	<i>SCN4B</i>	Pèrdua de funció	AD	Controvertida
QTL11	<i>AKAP9</i>	Pèrdua de funció	AD	Controvertida
QTL12	<i>SNTA1</i>	Pèrdua de funció	AD	Controvertida
QTL13	<i>KCNJ5</i>	Pèrdua de funció	AD	Controvertida
QTL14	<i>CALM1</i>	Senyalització disfuncional del Ca^{2+}	AD	Definitiva
QTL15	<i>CALM2</i>	Senyalització disfuncional del Ca^{2+}	AD	Definitiva
QTL16	<i>CALM3</i>	Senyalització disfuncional del Ca^{2+}	AD	Definitiva
QTL17	<i>TRDN</i>	Pèrdua de funció	AR	Forta

AD: Autosòmica dominant; AR: Autosòmica recessiva.

Un estudi realitzat per Adler *et al* descriu que dels 17 gens publicats a la literatura científica en associació a la SQTL, únicament els 3 gens principals (*KCNQ1*, *KCNH2* i *SCN5A*) presenten evidències definitives per ser considerats com a causa genètica de la SQTL[89]. A més, van descriure quatre gens addicionals (*CALM1*, *CALM2*, *CALM3* i *TRDN*) amb evidència definitiva o forta pel seu paper en la SQTL associada a característiques fenotípiques

atípiques[89] (Taula 3). La SQTL causada per variants patogèniques a *CALM1*, *CALM2* i *CALM3* mostra una presentació durant la infància (fins a 5 anys) amb una bradicàrdia o bloqueig auriculoventricular associat a una prolongació severa del QT[90]. Les evidències que recolzen la implicació de les variants genètiques a *TRDN* en la SQTL es basen en 5 casos homozigots o heterozigots compostos per variants *frameshift* que van mostrar una presentació clínica a la infància (fins a 3 anys) amb prolongació del QT, ones T negatives en les derivacions precordials i arrítmies induïdes per l'esforç, així com estudis funcionals que demostraven que la pèrdua de funció a *TRDN* pot donar lloc a arritmogènesi però sense mostrar una prolongació de la repolarització, el qual és distintiu de la SQTL[91]. Donat que la prolongació del QT era l'anomalia més discernible, es va decidir considerar aquests casos com SQTL amb un fenotip atípic.

Els gens *CACNA1C* i *KCNJ2* estan associats a afectació multiorgànica (síndrome de Timothy i síndrome d'Andersen-Tawil, respectivament) que inclou un interval QT prolongat i arrítmies ventriculars com a part de l'expressió fenotípica[92-94]. Aquests gens han estat classificats de forma separada segons la seva validesa clínica en les síndromes multiorgàniques i en la SQTL aïllada (Taula 3).

III. La síndrome de QT curt

Definició i epidemiologia

La síndrome de QT curt es va descriure l'any 2000[95] i es caracteritza per presentar un interval QT curt i un alt risc de MSC[96].

Degut a l'escàs nombre de casos descrits al món, és difícil determinar la prevalença real de la SQTC en la població general. S'han descrit varis estudis en grans cohorts que han intentat determinar la freqüència de l'interval QT curt en població general. En cohorts europees s'ha suggerit una prevalença d'entre el 0,02 i el 0,1% en població adulta ($QTc < 320$ ms); mentre que estudis en població pediàtrica han determinat una prevalença del 0,05%[97, 98].

Criteris diagnòstics

El càlcul de l'interval QTc s'ha d'intentar realitzar en absència de taquicàrdia/bradicàrdia per evitar una mala utilització de la fórmula de Bazett que podria donar lloc a una sobreestimació o infraestimació dels valors QTc[4]. Alhora, cal descartar la presència de possibles causes

secundàries d'un interval QT curt tals com la hipercalcèmia, la hipercalièmia, la hipertèrmia, l'acidosi i canvis del to autonòmic[99].

No existeix un consens clar sobre el valor del QTc que s'hauria d'utilitzar com a tall per a la diagnòsi de la SQTC. Diferents guies i documents consens han reportat un valor de tall a partir del qual el diagnòstic de la SQTC s'estableix directament (≤ 330 ms[4] o ≤ 340 ms[50]) i un rang de valors QTc (331-360 ms[4] o 341-360 ms[50]) en els quals la diagnòsi de la SQTC podria realitzar-se en presència d'altres criteris com la identificació d'una variant patogènica, història familiar de SQTC, història familiar de MSC en menors de 40 anys o la supervivència a un episodi de TV/FV en absència de malaltia cardíaca.

Per intentar homogeneïtzar els criteris diagnòstics de la SQTC i facilitar l'avaluació clínica dels casos sospitosos, es va publicar un sistema de puntuació similar als criteris Schwartz per la SQTL[100] (Taula 4). Tanmateix, aquests criteris no han estat aprovats de forma unànime i s'han reportat dubtes sobre els seus fonaments i validació[101, 102].

Taula 4. Criteris diagnòstics per la SQTC.

		Punts
Troballes electrocardiogràfiques		
QTc	< 370 ms	1
	< 350 ms	2
	< 330 ms	3
Interval punt J – pic T < 120 ms		1
Història clínica *		
Història MSC		2
TVP o FV documentada		2
Síncope inexplicada		1
Fibril·lació auricular		1
Història familiar *		
Familiars de 1r o 2n grau amb alta probabilitat de SQTC		2
Familiars de 1r o 2n grau amb MSC i autòpsia negativa		1
MSL		1
Genotip *		
Genotip positiu		2
Variant de significat incert en un gen associat		1
<p>Electrocardiograma: cal fer la valoració en absència de modificadors coneguts que escurcen el QT. L'interval punt J- pic T ha de mesurar-se en la derivació precordial amb la ona T de major amplitud.</p> <p>Història clínica: els esdeveniments han d'ocórrer en absència d'una etiologia identificable, incloent malaltia cardíaca estructural. Únicament podrà atorgar-se puntuació a un episodi de MSC, TVP o síncope.</p> <p>Història familiar: en aquest apartat es podran atorgar punts únicament en una ocasió.</p> <p>* S'ha d'obtenir mínim 1 punt en l'apartat de troballes electrocardiogràfiques per tal d'obtenir punts addicionals.</p> <p>FV: Fibril·lació ventricular; MSC: Mort sobtada cardíaca; MSL: Mort sobtada del lactant; QTc: interval QT corregit (fórmula Bazett); SQTC: Síndrome de QT curt; TVP: Taquicàrdia ventricular polimòrfica;</p> <p>Puntuació: ≤ 2 punts: baixa probabilitat de SQTC, 3 punts: probabilitat intermèdia de SQTC, ≥ 4 punts: probabilitat alta de SQTC.</p>		

Característiques clíniques

La presentació clínica de la SQTC tendeix a ser severa, amb una alta incidència d'aturades cardíques i MSC[98, 103, 104]. L'aturada cardíaca és la manifestació clínica més freqüent, present en aproximadament un 35% dels casos[105]. A diferència del que succeeix en la SQTL, en la SQTC no s'han descrit desencadenants específics, pel que els esdeveniments cardíacs poden ocórrer en qualsevol situació[99].

Les palpitations, síncope i fibril·lació auricular (FA) també són manifestacions freqüents en la SQTC. Les síncope representen el primer símptoma en aproximadament un 24% dels casos i l'arrítmia ventricular autolimitant se'n considera la principal causa. La FA és un dels principals símptomes de la SQTC i s'ha observat inclús a edats joves[98, 105].

L'edat d'aparició dels símptomes és molt variable, des de la primera manifestació ocorrent *in utero* fins als 70 anys. Tanmateix, la susceptibilitat a arrítmies depèn de l'edat, mostrant un pic d'aturades cardíques durant el primer any de vida i un segon pic entre els 20 i 40 anys d'edat[103, 104, 106].

Tot i la representació aparentment major d'homes en les cohorts de SQTC estudiades, l'aturada cardíaca presenta una prevalença similar en ambdós sexes. S'han reportat episodis abans de l'any de vida en ambdós sexes però mentre que en homes més del 90% de les aturades cardíques tenen lloc entre els 14 i els 40 anys d'edat, en les dones els esdeveniments es troben repartits al llarg de la vida[103, 107]. S'ha suggerit que la major prevalença de la SQTC en homes pot ser deguda a nivells alts de testosterona i que certs gens localitzats al cromosoma X podrien estar involucrats en la regulació de l'interval QT[108].

Bases genètiques

La primera variant genètica associada a la SQTC es va publicar l'any 2004 al gen *KCNH2*[109]. Des de llavors s'han descrit variants rares en 8 gens addicionals (*CACNA1C*, *CACNA2D1*, *CACNB2*, *KCNJ2*, *KCNQ1*, *SCN5A*, *SLC22A5* i *SLC4A3*). La SQTC segueix un patró d'herència autosòmic dominant i presenta una alta penetrància[98].

Dels gens publicats en associació a la SQTC, únicament *KCNH2* presenta una validesa clínica definitiva en relació a la SQTC ja que existeixen evidències genètiques i experimentals que recolzen l'associació gen-malaltia[110, 111] (Taula 5). El gen *KCNQ1* s'ha descrit en associació a SQTC però el fet que la majoria d'individus publicats són portadors de la mateixa

variant genètica a *KCNQ1*, fa que la validesa clínica quedi rebaixada a forta. Als gens *KCNJ2* i *SLC4A3* se'ls defineix amb una validesa moderada pel que fa a la seva associació a la SQTC ja que tot i que existeixen estudis funcionals que recolzen l'associació gen-malaltia, les evidències disponibles es consideren insuficients per una classificació més forta. Per contra, els gens que codifiquen per canals de calci (*CACNA1C*, *CACNA2D1*, *CACNB2*), així com *SCN5A*, s'han publicat en associació a SBr amb uns intervals QT curts però sense un diagnòstic concloent de SQTC pel que la validesa clínica de les associacions d'aquests gens a la SQTC és controvertida. Finalment, l'associació del gen *SLC22A5* a la SQTC també es considera controvertida ja que l'interval QT curt observat en portadors homozigots o heterozigots composts que havien patit una MSC recuperada era revertit mitjançant l'administració oral de carnitina[112, 113]. Les variants genètiques a *SLC22A5* s'han descrit en associació a deficiència sistèmica primària de carnitina pel que l'interval QT curt observat en aquests pacients es considera secundari al dèficit de carnitina.

Taula 5. Gens descrits en associació a la SQTC i la seva validesa clínica segons ClinGen.

Gen	Herència	Validesa clínica segons ClinGen
<i>KCNH2</i>	AD	Definitiva
<i>KCNQ1</i>	AD	Forta
<i>KCNJ2</i> , <i>SLC4A3</i>	AD	Moderada
<i>CACNA1C</i> , <i>CACNA2D1</i> , <i>CACNB2</i> , <i>SCN5A</i>	AD	Controvertida
<i>SLC22A5</i>	AR	Controvertida

AD: Autosòmica dominant; AR: Autosòmica recessiva.

IV. La taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica

Definició i epidemiologia

La taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica (TVPC) és una malaltia arritmogènica caracteritzada per la presència de TVP i TV bidireccional causades per estímuls adrenèrgics (estrès emocional o físic)[114]. La TVP es caracteritza per una TV ràpida amb una morfologia canviant del complex QRS, mentre que la TV bidireccional presenta una morfologia o eix alternant de bloqueig de branca[115].

La prevalença de la TVPC és desconeguda. S'ha estimat en 1/10.000-20.000 individus[4, 33] tot i que l'absència de manifestacions a l'ECG en repòs, l'atribució de la causa de les síncope a altres malalties no cardíques o el fet que únicament l'anàlisi molecular pot establir el diagnòstic de TVPC en casos de MS, suggereixen una possible infravaloració de la freqüència real en població general[116].

Críteris diagnòstics

El diagnòstic de TVPC sol ser complex i es basa en la història familiar, els símptomes induïts per l'exercici o estímuls emocionals i la resposta a l'exercici o a la infusió de catecolamina. La diagnosi de la TVPC s'estableix en presència d'un cor estructuralment normal, un ECG normal i TV bidireccionals, batecs ventriculars polimòrfics prematurs o TV inexplicades induïdes per l'exercici o per catecolamina en un individu menor de 40 anys. En aquestes mateixes condicions, i amb unes artèries coronàries normals, el diagnòstic de TVPC podria establir-se en majors de 40 anys[4].

Finalment, el diagnòstic de la TVPC també pot establir-se en aquells casos índexs o familiars portadors d'una variant genètica patogènica i en familiars d'un cas índex amb TVPC que presenten extrasístoles ventriculars o TV bidireccional/polimòrfica induïda per l'exercici.

La prova d'esforç és l'eina diagnòstica més útil en la TVPC, presentant una especificitat del 97% i sensibilitat del 50% en la identificació de portadors en familiars asimptomàtics[117]. Quan no és possible realitzar una prova d'esforç ja sigui per l'edat o perquè els símptomes es relacionen més amb les emocions que amb l'exercici, es pot realitzar una monitorització mitjançant un Holter. Tanmateix, la monitorització amb Holter és menys sensible que la prova d'esforç. Les infusions amb epinefrina, tot i que presenten una sensibilitat baixa, també poden ser útils per establir la diagnosi de TVPC en aquells pacients que no poden realitzar una prova d'esforç[118].

Característiques clíniques

La presentació clínica de la TVPC és variable, incloent pacients asimptomàtics que són identificats durant l'avaluació familiar. Sovint, la primera manifestació clínica de la TVPC és la síncope induïda per l'estrès emocional o físic, tot i que també poden aparèixer símptomes menys freqüents com són les palpitations o marejos[119].

Els pacients amb TVPC sovint presenten un ECG normal en repòs, en ocasions amb una bradicàrdia sinusal. Durant l'exercici, incrementen les extrasístoles ventriculars monomòrfiques i, a continuació, apareixen bigeminismes de contraccions ventriculars prematures polimòrfiques o bidireccionals, seguides de TV bidireccional o polimòrfica. Les arrítmies supraventriculars induïdes per l'exercici (FA, extrasístoles auricular i taquicàrdia auricular) també són comunes en els pacients amb TVPC.

La mitjana d'edat de presentació és entre els 6 i els 10 anys, tot i que s'ha demostrat que la TVPC també pot ser una causa de MSL així com presentar-se a edat adulta. De mitjana, la severitat dels símptomes i el nombre d'episodis són superiors en pacients que han presentat el seu primer episodi cardíac a edats joves[115, 120]. No existeixen dades suficients per assenyalar diferències entre sexes però s'ha suggerit una predominança de dones simptomàtiques amb TVPC no genotipada, mentre que el sexe masculí és un factor de risc de síncope en la TVPC causada per variants genètiques al gen *RYR2*[121].

Bases genètiques

L'any 2001 es va demostrar per primera vegada l'associació entre les variants genètiques a *RYR2* i la TVPC[122]. Des de llavors, aquesta associació ha estat recolzada per múltiples evidències genètiques i funcionals. Tot i que s'han descrit altres gens associats a la TVPC, la *RYR2* n'és el principal gen causal, explicant aproximadament el 65% dels casos de TVPC[33, 71]. La TVPC associada a variants genètiques a la *RYR2* segueix un patró d'herència autosòmic dominant amb una expressivitat variable i una penetrància propera al 80%[123].

S'han descrit sis gens addicionals que presenten una validesa clínica definitiva (*CASQ2*, *TRDN*, *TECRL*) o moderada (*CALM1*, *CALM2*, *CALM3*) a la TVPC[111]; a més de quatre gens amb una associació clínica controvertida a TVPC[111] (Taula 6).

Taula 6. Gens descrits en associació a la TVPC i la seva validesa clínica segons ClinGen.

Gen	Herència	Validesa clínica segons ClinGen
<i>RYR2</i>	AD	Definitiva
<i>CASQ2</i> , <i>TECRL</i> , <i>TRDN</i>	AR	Definitiva
<i>CASQ2</i>	AD	Moderada
<i>CALM1</i> , <i>CALM2</i> , <i>CALM3</i>	AD	Moderada
<i>ANK2</i> , <i>KCNJ2</i> , <i>PKP2</i> , <i>SCN5A</i>	AD	Controvertida
AD: Autosòmic dominant; AR: Autosòmic recessiu.		

Una forma menys freqüent de TVPC i caracteritzada per un patró d'herència autosòmic recessiu és la causada per variants homozigotes o heterozigotes compostes a *CASQ2*[124, 125], explicant aproximadament un 5% dels casos de TVPC[33, 71]. Així mateix, l'any 2016 es va descriure una família on la variant a *CASQ2* segregava amb la TVPC de forma autosòmic dominant[126]. Més tard, es va publicar un estudi on descriuen individus amb TVPC i portadors heterozigots de variants a *CASQ2*, tot i que l'estudi familiar va mostrar una penetrància molt baixa[127]. Les evidències disponibles actualment no són suficients per

establir clarament el paper de les variants heterozigotes a *CASQ2* en la TVPC pel que l'associació es considera moderada[111] (Taula 6).

Les variants a *TRDN* i *TECRL* segueixen un patró d'herència autosòmic recessiu; mentre que les variants a *CALM1*, *CALM2* i *CALM3* mostren un patró d'herència autosòmic dominant. Cadascun d'aquests gens expliquen menys d'un 1% dels casos de TVPC[33, 111].

A part dels gens citats anteriorment com a causants de TVPC, a la literatura científica també s'ha descrit l'associació de la TVPC a variants en els gens *ANK2*, *KCNJ2*, *PKP2* i *SCN5A*. Tanmateix, aquesta associació és controvertida ja que les evidències que recolzen aquestes relacions es basen únicament en la descripció d'un únic individu o família, o individus que mostren un fenotip atípic i dubtós de TVPC[33, 111] (Taula 6).

1.3- Assessorament genètic

El concepte “assessorament genètic” va ser descrit per primera vegada l’any 1947 per Sheldon C. Reed, biòleg especialitzat en genètica humana que va realitzar una gran feina per tal de substituir els termes “consulta genètica” i “consell genètic” que s’havien estat utilitzant fins el moment[128]. Des de llavors, l’assessorament genètic i els seus objectius s’han definit de diverses formes. La definició més citada és la publicada per Fraser FC l’any 1974 i que defineix l’assessorament genètic com “un procés de comunicació que s’ocupa dels problemes humans associats a l’ocurrència, o al risc d’ocurrència, d’una malaltia en una família. Aquest procés inclou l’intent d’un o més professionals correctament formats d’ajudar a l’individu o a la família a: 1) entendre la informació mèdica, incloent el diagnòstic, el curs de la malaltia i la disponibilitat de tractament; 2) entendre com contribueix l’herència a la malaltia i el risc de recurrència en familiars; 3) entendre les opcions que existeixen per fer front al risc de recurrència; 4) escollir el nivell d’actuació més apropiat per a la família en funció del seu punt de vista pel que fa al risc i als objectius familiars, i a actuar en concordança amb aquesta decisió; i 5) realitzar la millor adaptació possible a la malaltia en els individus afectats i/o al risc de recurrència de la malaltia”[129]. Tanmateix, la definició més actual d’assessorament genètic és la que va aprovar l’any 2005 el comitè de la *National Society of Genetic Counselors*, i que pretenia reflectir els canvis mèdics i genètics que s’havien produït en els últims 30 anys, a més d’augmentar la visibilitat dels assessors genètics entre els professionals de la salut i la població general, establint-los com a experts en aquesta àrea. Conseqüentment, l’assessorament genètic es va definir com “el procés d’ajudar a les persones a entendre i adaptar-se a les implicacions mèdiques, psicològiques i familiars de la contribució genètica a una malaltia. Aquest procés inclou: 1) la interpretació de les històries familiars i mèdiques per avaluar el risc d’ocurrència o recurrència d’una malaltia; 2) educar i informar sobre l’herència, les anàlisis genètiques, el seguiment, la prevenció i els recursos i investigacions disponibles; i 3) assessorar per facilitar la presa de decisions informades i l’adaptació al risc o a la malaltia”.

Així doncs, els assessors genètics són professionals de la salut que han de ser capaços de combinar el coneixement en ciències bàsiques, genètica mèdica i principis epidemiològics amb les habilitats per avaluar el risc genètic, educatives i de comunicació interpersonal. Els assessors genètics formen part d’un equip multidisciplinari aportant el coneixement i la capacitat per realitzar o confirmar un diagnòstic basant-se tant en la història familiar o mèdica com en els resultats de l’anàlisi genètica. Els assessors genètics normalment tenen un paper més important respecte a altres membres de l’equip multidisciplinari en quant a la preparació

del pacient per a l'estudi genètic, en facilitar la presa de decisions informades i en proporcionar el suport psicològic tant abans com després de la realització de l'anàlisi genètica.

1.3.1- Assessorament genètic en les cardiopaties familiars

La recopilació de la història familiar és una part important de l'avaluació cardiològica. Els assessors genètics estan formats per recollir aquesta informació de forma detallada en forma d'arbre familiar amb un mínim de tres generacions[130]. L'arbre familiar o arbre genealògic és una representació visual de la informació rellevant de la família que permet identificar ràpidament les relacions familiars, els familiars amb un diagnòstic clínic confirmat, familiars que han patit MSC i/o que s'han sotmès a anàlisis genètiques, entre d'altres. L'anamnesi permet obtenir informació útil i aprofundir en característiques específiques de certs diagnòstics com per exemple, la informació sobre convulsions o sordesa en famílies que estan sent avaluades per SQTL. Així doncs, en l'elaboració de l'arbre familiar cal posar èmfasi en la història familiar de malalties cardíques (si s'han fet algun tipus d'avaluació cardíaca o no), morts sobtades a edats joves o morts en situacions sospitoses com ofecs al mar o a la piscina en individus que sabien nadar i accidents de trànsit sense la intervenció de terceres persones. La història familiar també ha d'incloure informació rellevant com individus amb sordesa, síncope o diagnòstics d'epilèpsia, ja que les arrítmies o pèrdues de coneixement poden ser diagnosticades erròniament com epilèpsia; així com qualsevol altre símptoma o presentació clínica inusual. Si existeix història familiar de síncope i/o MS és important conèixer l'edat i investigar les circumstàncies en les quals va tenir lloc, incloent l'activitat que s'estava realitzant en el moment de la síncope o de la mort i si va ocórrer en una situació de febre, deshidratació o d'emoció forta, així com els símptomes que la van precedir. Sovint, és útil que aquesta informació sigui verificada mitjançant l'obtenció d'informes mèdics o autòpsies per tal de confirmar el diagnòstic correcte. Finalment, en les avaluacions de familiars d'un individu que ha patit una MSI, la valoració de la informació de l'anàlisi forense és crucial i aquesta ha d'incloure l'avaluació macroscòpica i histològica del cor[7, 131, 132].

La recopilació de la història familiar és un procés dinàmic pel que caldrà anar actualitzant l'arbre familiar per tal que reflecteixi l'aparició de nous símptomes, diagnòstics o els resultats de les anàlisis genètiques que es vagin realitzant, entre altres[131].

La incorporació de l'assessorament genètic en l'avaluació i seguiment de pacients amb cardiopaties familiars està altament recomanat en les consultes de cardiopaties familiars, adquirint cada vegada una major importància. Així, els assessors genètics tindran un paper

fonamental no només en la generació de l'arbre familiar sinó també en educar al pacient i familiars sobre l'origen genètic de la cardiopatia familiar, el patró d'herència i el risc de transmissió a familiars, assessorar sobre les anàlisis genètiques disponibles, els seus possibles resultats i les implicacions d'aquests, així com les limitacions de l'estudi o les opcions reproductives, entre d'altres, per tal de promoure la presa de decisions informades. A més, en l'assessorament genètic post-test cal emfatitzar la importància de compartir les recomanacions de seguiment clínic i la disponibilitat de l'anàlisi genètica predictiva amb els familiars[131]. Sovint, la comunicació d'aquesta informació suposa un problema pels pacients, ja sigui per conflictes familiars, relacions llunyanes o simplement per la dificultat d'explicar conceptes mèdics i genètics[133]. Els assessors genètics poden facilitar el trasllat d'aquesta informació als familiars per exemple, proporcionant una carta per tal que el pacient la comparteixi amb els seus familiars i aquests puguin contactar amb la unitat especialitzada en cardiopaties familiars per iniciar el seguiment i rebre l'assessorament genètic adequat[134].

1.4- Anàlisis genètiques en les cardiopaties familiars

Una anàlisi genètica consisteix en l'obtenció d'una mostra biològica, per exemple de sang, saliva o teixit, d'una persona per tal de realitzar-ne l'extracció de l'ADN i la conseqüent anàlisi per intentar determinar la causa genètica de la malaltia que presenta o determinar el seu estat de portador.

1.4.1- Tipus d'anàlisis genètiques

I. Seqüenciació Sanger

L'anàlisi genètica pot anar dirigida a un únic gen si el fenotip del pacient o la història familiar són altament específics per aquell gen. En aquests casos, es pot plantejar la realització de l'anàlisi genètica mitjançant seqüenciació Sanger. Per exemple, en l'anàlisi genètica d'un individu amb diagnòstic de síndrome de Brugada es podria plantejar la seqüenciació Sanger únicament del gen *SCN5A*.

La seqüenciació Sanger d'un o pocs gens era l'aproximació utilitzada abans de l'era de la genòmica actual. S'iniciava l'estudi analitzant el gen més freqüentment alterat associat a la malaltia i, en cas de detectar una variant patogènica, es confirmava el diagnòstic. Per contra, es continuava amb la seqüenciació de diferents gens candidats. Aquesta estratègia presentava limitacions en relació a cost-eficiència especialment en malalties genèticament heterogènies com les cardiopaties familiars, en les quals no existeix un únic gen candidat.

II. Seqüenciació NGS

L'anàlisi genètica d'un panell de gens mitjançant *Next Generation Sequencing* (seqüenciació NGS) consisteix en l'anàlisi simultània de varis gens associats a una mateixa cardiopatia familiar o a diferents tipus. Donada l'heterogeneïtat genètica que existeix en les cardiopaties familiars i el solapament entre entitats, l'aproximació ideal és la de la seqüenciació NGS d'un panell de gens associats a miocardiopaties, un panell de gens associats a canalopaties cardíques o un panell de gens que inclogui tant els gens associats a miocardiopaties com els associats a canalopaties cardíques per aquells casos de MSI.

Tot i que les primeres guies per a l'estudi genètic en canalopaties cardíques i miocardiopaties recomanaven l'anàlisi de 2-4 gens, segons la malaltia[71], les guies actuals per a la diagnosi i tractament de pacients amb cardiopaties familiars recomanen que l'anàlisi genètica dels casos

índexs incloguin mínim aquells gens amb una evidència forta pel que fa a l'associació amb la cardiopatia familiar corresponent[33].

III. Seqüenciació completa de l'exoma i del genoma

La seqüenciació completa de l'exoma consisteix en l'anàlisi de les regions codificants (exons) del genoma. La seqüenciació completa de l'exoma permet identificar possibles variants genètiques presents a les regions codificants de qualsevol dels gens del genoma, a diferència de la seqüenciació NGS per panells de gens que es centra en un conjunt preestablert de gens. Tanmateix, sovint s'utilitza el que s'anomena exoma clínic i que consisteix en l'anàlisi dels exons d'un conjunt de gens coneguts que podrien explicar la patologia d'estudi. Aquesta aproximació és equiparable a la seqüenciació NGS d'un panell de gens i el conjunt de gens analitzats és variable entre laboratoris i en funció de la sospita clínica.

La seqüenciació completa del genoma analitza tant les regions codificants com les regions no codificants del genoma, permetent així la identificació de variants no exòniques i millorar la detecció de variants que alteren el número de còpies de la seqüència d'ADN (CNVs, de l'anglès *Copy Number Variants*).

La seqüenciació completa tant de l'exoma com del genoma poden resultar en la identificació de variants genètiques associades a patologies diferents a la malaltia d'estudi. S'han publicat unes llistes dels gens en els quals, tot i no estar associats a la indicació clínica de l'anàlisi, cal reportar-ne la identificació de variants (possiblement) patogèniques[135]. Actualment, aquesta llista conté 73 gens associats majoritàriament a patologia oncològica, cardiopaties familiars i errors congènits del metabolisme.

1.4.2- Quan realitzar una anàlisi genètica?

Generalment, es considera la realització d'una anàlisi genètica quan un individu presenta un diagnòstic clínic d'una cardiopatia familiar, especialment si existeix història familiar positiva ja que reforça una possible etiologia genètica. A més, l'estudi genètic també està recomanat com a part de la investigació forense en aquells casos de MSI. Finalment, és recomanable la realització de l'anàlisi genètica als familiars a risc quan l'estudi genètic realitzat en el cas índex de la seva família identifiqui una variant genètica causal.

I. Cas índex amb cardiopatia familiar

En les cardiopaties familiars, es recomana la realització d'una anàlisi genètica sempre que hi hagi un diagnòstic clínic establert basat en l'avaluació de la història clínica del pacient, la història familiar i el fenotip electrocardiogràfic i/o ecocardiogràfic, entre altres[7, 33].

La realització d'una anàlisi genètica en un individu amb un diagnòstic poc clar o límit dificultarà la interpretació dels resultats genètics; mentre que factors com l'aparició a edats joves, la severitat de la malaltia, una història familiar positiva i l'absència d'explicacions alternatives per al fenotip incrementen la possibilitat de que la malaltia presenti una base genètica[136]. A més, com que en ocasions podrien existir múltiples variants genètiques que contribueixen a la malaltia en una mateixa família, l'estudi genètic inicial idealment s'hauria de realitzar a la persona que té més probabilitat de presentar la totalitat d'aquestes variants. Així doncs, l'estudi genètic inicial s'ofereix a aquells individus que presenten un diagnòstic clínic definitiu o, en el cas de la presència de varis familiars afectats, a aquell que presenta un fenotip més sever a una edat més jove, per tal de maximitzar les probabilitats de detectar una variant patològica[131].

II. Cas índex amb mort sobtada inexplicada

La MS d'un individu és sempre un esdeveniment tràgic, independentment de la causa. Moltes d'aquestes morts romanen inexplicades després de l'autòpsia. L'autòpsia molecular és clau, no només per identificar la possible causa de la mort sinó també per poder prevenir nous casos de MS a la família, ja que en la majoria de les ocasions, aquestes morts són degudes a malalties cardíques hereditàries.

Actualment, tot i que existeix un consens en la necessitat de realitzar avaluacions extenses en les MSI en individus joves, hi ha una falta general d'estandardització d'aquest procés. Grups multidisciplinaris internacionals i societats específiques de certs països han publicat diverses guies de consens per a la investigació dels casos de MSI. En aquestes recomanacions es descriuen dues línies principals d'actuació: 1) la realització d'una anàlisi genètica ja sigui completa o específica per gens associats a MSC com a part de l'autòpsia, especialment quan existeixin evidències d'un diagnòstic clínic previ a la mort o bé, en algun membre de la família[71, 137, 138]; o 2) la conservació de teixit i/o sang de la persona morta per tal de poder realitzar anàlisis genètiques futures i la coordinació d'una xarxa multidisciplinària gestionada pels serveis de genètica cardiovascular que realitzi una avaluació familiar que pot

incloure la sol·licitud d'una anàlisi genètica a la mostra d'ADN obtinguda de la persona morta[139, 140].

Concretament, l'Institut de Medicina Legal i Ciències Forenses de Catalunya (IMLCFC) va publicar unes recomanacions específiques per a la unificació de l'autòpsia judicial[138]. En aquestes s'indiquen els protocols específics per les MS en lactants, infants i adolescents, que inclouen la recollida de mostra de sang per a l'anàlisi genètica de malalties hereditàries. A més, en les MS en adults, s'especifica l'obtenció de mostra de sang per a l'autòpsia molecular en aquells casos en què es detecti una hipertròfia ventricular, una miocardiopatia arritmogènica o si s'identifica un cor estructuralment normal en persones menors de 50 anys[30]. A més, des de l'any 2012, l'IMLCFC, el Centre de Genètica Cardiovascular i la Unitat de Cardiopaties Familiars (UCF) de l'Hospital Universitari Dr Josep Trueta de Girona realitzen les autòpsies moleculars dels casos de MSI seguint els protocols exposats i l'avaluació clínica i genètica dels familiars a risc per tal d'intentar proporcionar una explicació a la família, així com poder prevenir nous casos de MS a la família. Aquest projecte de recerca es coneix com MOSCAT (MOrt Sobtada a CATalunya).

III. Familiars a risc

L'anàlisi genètica familiar consisteix en determinar l'estat de portador de la variant o variants genètiques identificades en el cas índex de la família. A aquelles famílies en les quals el resultat de l'anàlisi genètica realitzada en el cas índex és negatiu o no s'ha pogut realitzar l'autòpsia molecular, no serà possible realitzar l'estudi genètic en els familiars i únicament es podrà plantejar la realització d'una anàlisi genètica si algun familiar presenta símptomes o signes d'una malaltia cardíaca hereditària durant el seguiment. Si es produeix aquesta situació, el familiar serà considerat i tractat com un cas índex.

L'estudi de segregació a la família juga un paper molt important en l'intent d'establir l'associació de les variants genètiques identificades en el cas índex com a causa de la malaltia cardíaca hereditària o de la MSC. Els estudis de segregació consisteixen en determinar si la variant possiblement causant de la patologia està present en tots aquells individus que presenten fenotip positiu i no es troba present en aquells individus sans. No sempre és possible concloure la causalitat de la variant genètica en la patologia familiar a partir dels estudis de segregació degut a varis factors com la mida de la família, l'edat dels familiars, l'absència d'altres familiars afectats i, sobretot, la penetrància incompleta i l'expressivitat variable que caracteritzen les malalties cardíques hereditàries. Si la variant no està present

en algun dels individus fenotípicament afectats per la malaltia d'estudi, caldrà valorar la possibilitat de que la variant genètica no sigui la causant de la malaltia familiar. Tanmateix, podria tractar-se d'un modificador del fenotip i per tant, no ser l'única causa genètica de la patologia familiar o podríem estar davant un cas de fenocòpia, és a dir, que el familiar presenti un fenotip semblant al de la malaltia de la família però aquest sigui degut a una altra causa, ja sigui genètica o no. Aquesta última situació ocorre amb més freqüència en les miocardiopaties com per exemple, la miocardiopatia hipertròfica o la miocardiopatia dilatada, ja que la seva prevalença és més alta i existeixen factors no genètics que podrien explicar-les però també pot ocórrer entre la SQTLL i un QT llarg adquirit.

Les recomanacions per a la realització de l'anàlisi genètica en familiars i per tant, de l'estudi de segregació varien en funció de la classificació de les variants genètiques identificades en el cas índex. No obstant, és fonamental que els familiars rebin assessorament genètic independentment del resultat de l'anàlisi genètica realitzada en el cas índex i de la classificació de les variants genètiques.

Variants patogèniques i possiblement patogèniques

L'anàlisi genètica dels familiars està indicada sempre que s'identifica una variant patogènica (P) o possiblement patogènica (PP) en el cas índex. La identificació d'una variant P/PP en un individu que ha patit una MSI proporciona informació sobre la causa de la mateixa. A més, la identificació d'una variant P/PP permet la realització de l'anàlisi genètica als familiars per tal d'identificar els portadors i descartar els familiars que no hauran de realitzar seguiment clínic ja que no tenen risc de patir la malaltia associada a la variant P/PP identificada a la família perquè no en són portadors. Pel contrari, aquells familiars que resultin portadors de la variant P/PP identificada en el cas índex presentaran risc de desenvolupar la malaltia i hauran de realitzar el seguiment clínic i/o tractament que pauti el cardiòleg, en funció de la patologia específica.

La participació en el procés d'assessorament genètic abans i després de la realització de l'anàlisi genètica és molt important per assegurar la presa de decisions informades i la correcta adaptació als possibles resultats, així com preveure i evitar reaccions adverses davant resultats positius o inclús sentiments de culpabilitat en el cas de resultats negatius[141].

En les variants PP, l'avaluació clínica dels familiars i la realització d'estudis de segregació pot aportar evidències suficients per reclassificar la variant com a clarament associada a la

patologia familiar (variant P). Tanmateix, la possibilitat de realitzar estudis de segregació dependrà de les característiques de cada família. Sovint el cas índex és l'únic individu afectat de la família mentre que la resta de familiars no presenten fenotip, pel que no aporten evidències addicionals per a la reclassificació la variant.

Variant de significat incert

La identificació de variants de significat incert (VSI) s'ha de traslladar amb precaució al camp clínic i és important que els familiars rebin un assessorament genètic apropiat pel que fa a aquest tipus de variants. Tot i que sovint no es poden descartar com a causants de la malaltia, les VSI tampoc poden ser tractades com a tals, pel que en la seva pròpia ambigüitat recau la complexitat de la interpretació.

És imprescindible que els familiars del cas índex es sotmetin a una avaluació cardiològica. A priori, l'anàlisi genètica familiar no està recomanada degut a la falta d'informació sobre la causalitat de la variant a la cardiopatia familiar o MSI. Únicament es podrà plantejar la realització de l'estudi genètic familiar per estudiar la segregació en aquelles famílies que presenten familiars amb patologia cardíaca que podria associar-se a les variants genètiques identificades. En aquests casos, és fonamental que el procés d'assessorament genètic posi especial èmfasi en que la finalitat de l'estudi és intentar determinar la patogenicitat de la variant identificada i que no es tracta d'una anàlisi genètica predictiva per conèixer el seu risc ni descartar el seguiment clínic en aquells individus no portadors. En la majoria de casos, les VSI romanen dins aquesta classificació, pel que tots els familiars hauran de realitzar un seguiment clínic periòdic[141].

IV. Familiars a risc menors d'edat

La realització d'anàlisis genètiques de portadors en menors d'edat és una decisió complexa. Quan es tracta de prendre decisions sobre la salut dels infants, el concepte de "els millors interessos del menor" pren un paper més central que el concepte de consentiment informat. Els pares són els responsables dels seus fills i tenen el dret legal de prendre decisions en el seu benefici, incloent la realització d'anàlisis genètiques. L'anàlisi de portadors per malalties autosòmiques dominants no està recomanat de manera rutinària quan l'estat de portador no representa una utilitat mèdica a edats joves. En aquests casos es respecta l'autonomia del menor a prendre decisions informades quan aquest arribi a la majoria d'edat[142]. Tanmateix, la lògica en contra a l'anàlisi de portadors en menors s'altera quan el coneixement de l'estat

de portador presenta implicacions mèdiques abans de la majoria d'edat. Conseqüentment, es recomana que l'anàlisi genètica predictiva es consideri únicament quan es disposi d'intervencions mèdiques efectives per tractar, prevenir o retardar el curs de la malaltia[142-145].

En les cardiopaties familiars, l'anàlisi genètica a edats primerenques es considera acceptable o inclús es recomana com a part del seguiment clínic degut a que són malalties que presenten un risc de MSC a qualsevol edat i el tractament preventiu, així com les modificacions en l'estil de vida poden retardar o inclús prevenir l'aparició dels símptomes. L'*European Society of Cardiology* recomana considerar l'anàlisi genètica predictiva per miocardiopaties entre els 10 i 12 anys[146], mentre que les recomanacions conjuntes de la *Heart Rhythm Society* i l'*European Heart Rhythm Society* recomanen oferir l'anàlisi genètica per canalopaties cardíacques des de la infància[71]. Si no es disposa del genotip, es recomana seguiment periòdic en els menors a risc per totes les cardiopaties familiars. L'anàlisi genètica predictiva descarta l'avaluació clínica en aquells infants no portadors de la variant genètica patogènica identificada a la seva família i que per tant, no estan a risc.

L'assessorament genètic previ a l'anàlisi genètica predictiva és essencial per assegurar que els pares, tutors i menors madurs entenen completament el significat de l'anàlisi genètica que es realitzarà, els possibles resultats que poden derivar-ne i les opcions de tractament i seguiment que existeixen en cada cas. L'assessorament genètic també permet abordar les respostes a cadascun dels possibles resultats abans de la realització de l'anàlisi genètica per minimitzar l'impacte psicològic que pot derivar d'un resultat positiu[144, 147]. Idealment, el menor ha de ser inclòs en el procés d'assessorament genètic i s'ha d'obtenir la seva aprovació[148]. Tot i que és necessari ampliar els estudis sobre l'edat a partir de la qual és apropiat que els nens participin en la presa de decisions mèdiques i genètiques, els resultats preliminars d'un estudi pilot realitzat en 17 pacients pediàtrics amb risc d'una cardiopatia familiar d'entre 6 i 18 anys van demostrar que els nens d'entre 12 i 18 anys poden considerar-se competents per a la participació en el procés del consentiment informat[149].

En el cas de la realització de l'estudi de portadors durant la infància, els pares han de ser conscients que la informació genètica pertany al menor que està sent estudiat i que hauran de compartir els resultats amb el nen, ja sigui en el moment de l'anàlisi genètica o en el futur. Quan es realitzen anàlisis genètiques en menors, és molt important mantenir el contacte amb l'assessor genètic per tal de tractar les diferents situacions i dubtes que puguin sorgir a mesura que el nen creix[142, 150].

1.4.3- Possibles resultats de les anàlisis genètiques

I. Resultats de l'anàlisi genètica en estudis de cas índex

Existeixen tres possibles resultats quan es realitza una anàlisi genètica a un cas índex: positiu, negatiu i no concloent.

Positiu

Un resultat positiu indica la identificació d'una variant genètica P/PP associada a la malaltia d'estudi. Segons s'ha descrit anteriorment[141, 151], una variant genètica classificada com a P o PP atorga una probabilitat molt alta (certesa >99%) o una probabilitat alta (certesa >90%), respectivament, de ser la causant de la malaltia.

Un resultat positiu permet la realització d'una anàlisi genètica predictiva en els familiars a risc per tal de determinar el seu estat de portadors.

Negatiu

Un resultat negatiu indica que l'anàlisi genètica no ha permès identificar cap variant genètica en els gens avaluats o les variants identificades es classifiquen com a possiblement benignes (PB) o benignes (B). Aquest resultat no descarta una etiologia genètica de la malaltia ja que és possible que simplement no hagi estat detectada mitjançant la tecnologia utilitzada o que es trobi en un gen no analitzat. Es pot plantejar una ampliació de l'anàlisi genètica en un futur si es disposa d'informació nova sobre les potencials causes genètiques de la malaltia.

En el cas d'un resultat negatiu en l'anàlisi genètica del cas índex, no és possible oferir un estudi genètic predictiu als familiars a risc per a conèixer el seu risc de desenvolupar la malaltia familiar. Per aquest motiu, caldrà realitzar una avaluació cardiològica i seguiment en els familiars de primer grau.

No concloent

Un resultat no concloent indica que l'anàlisi genètica ha identificat alguna variant genètica en un gen però es desconeix si aquesta és capaç de causar la cardiopatia familiar, si podria modificar la severitat del fenotip o si simplement es tracta d'una variant genètica benigna present en població general. El resultat no concloent s'obté amb la identificació de variants de significat incert.

Un resultat no conclouent o de significat incert no proporciona, a priori, informació addicional a la família. L'estudi de segregació en altres familiars afectats amb la patologia familiar pot ajudar a entendre el paper de la VSI en la malaltia, de manera que si tots els afectats són també portadors de la variant genètica, això proporciona evidència a favor de la causalitat de la variant en la malaltia. Per contra, la VSI no podrà ser considerada com a potencial causant de la cardiopatia familiar si aquesta es troba absent en algun familiar afectat.

No es recomana l'anàlisi genètica predictiva de VSI en familiars ja que no proporcionarà informació útil sobre la potencial causalitat de la variant i el seguiment cardíac dels familiars està indicat inclús si no són portadors de la VSI.

II. Resultats de l'anàlisi genètica predictiva en estudis de familiars

L'anàlisi genètica predictiva en familiars permet conèixer l'estat de portadors de la variant genètica P/PP identificada en el cas índex de la família i els resultats possibles són positiu o negatiu.

Positiu

Un resultat positiu d'una anàlisi genètica predictiva indica que l'individu és portador de la variant genètica P o PP identificada en la família, presentant així risc de desenvolupar la mateixa cardiopatia familiar. Els familiars amb un resultat positiu en l'anàlisi genètica predictiva caldrà que realitzin un seguiment cardiològic.

Negatiu

El resultat negatiu d'una anàlisi genètica predictiva indica que aquell familiar no és portador de la variant genètica P/PP prèviament identificada en la família pel que no presentarà risc de desenvolupar la cardiopatia familiar associada a la variant genètica analitzada. El seguiment cardiològic no és necessari.

Un resultat negatiu obtingut mitjançant un estudi genètic predictiu també indica que la descendència d'aquell individu no serà portadora d'aquesta variant genètica ja que al no ser-ne portador, no pot transmetre-la.

1.5- Interpretació de les variants genètiques

Les anàlisis genètiques tenen com a objectiu la identificació de variants genètiques que difereixen de la seqüència de referència en l'ADN del pacient. El repte apareix en el moment d'interpretar si aquestes variants han de ser considerades causants de malaltia o no. Diversos grups de treball han proposat diferents aproximacions per tractar la classificació de les variants genètiques.

L'any 1998 es van suggerir uns punts a tenir en compte per a la classificació d'una variant genètica com a “modificadora del fenotip” o com a “neutra”[152]. Aquests punts es van ordenar en funció de la seva utilitat i/o accessibilitat per a la designació d'una variant genètica com a causant de malaltia i consistien en: 1) variants que generen codons stop prematurs ja sigui per canvis puntuals en la seqüència codificant o per variants *frameshifts*; 2) anàlisis de segregació; 3) variants genètiques que afecten aminoàcids conservats; 4) freqüència poblacional i 5) estudis funcionals. No obstant, aquests criteris podien ser utilitzats amb diferents graus d'importància entre diferents laboratoris i per tant, donar lloc a discrepàncies en la classificació d'una mateixa variant.

L'*American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) va publicar, inicialment l'any 2000[153] i una revisió l'any 2007[154], unes recomanacions per tal d'estandarditzar la interpretació de les variants genètiques en les que suggerien cinc i sis categories de classificació, respectivament, i en les quals es tenien en compte les dades publicades anteriorment a la literatura científica i el tipus de variant:

- Variant genètica descrita prèviament i reconeguda com a causant de malaltia.
- Variant genètica no descrita prèviament però que s'espera que causi malaltia.
- Variant genètica no descrita prèviament però que podria ser causant de malaltia.
- Variant genètica descrita prèviament i probablement no causant de malaltia.
- Variant genètica descrita prèviament i reconeguda com a variant neutra.
- Variant genètica desconeguda o que no s'espera que sigui causant de malaltia però identificada en associació a una presentació clínica (categoria incorporada a la revisió de 2007[154]).

En aquestes recomanacions, els autors també destacaven que altres paràmetres com la presentació clínica, la història familiar o la segregació de la variant amb el fenotip, entre d'altres, poden influir en la classificació d'una variant genètica com a causant de malaltia[154].

Així mateix, l'*Association for Clinical Genetic Science* (ACGS, Regne Unit) també va publicar l'any 2013 unes guies per tal d'estandarditzar la interpretació de les variants genètiques[155]. En aquestes es descriuen diferents evidències útils per a la classificació de variants com les dades de freqüències poblacionals, de controls, de segregació, de conservació, de predictors *in silico*, i dades d'estudis funcionals. A més, incorporaven la recomanació d'adoptar un sistema de 5 classes per a la descripció de la classificació de variants: clarament no patogènica, probablement no patogènica, variant de significat incert o desconegut, probablement patogènica i clarament patogènica.

L'any 2015, el Centre de Genètica Cardiovascular va proposar un sistema per tal d'estratificar la patogenicitat del variants genètiques associades a canalopaties cardíques[156]. Aquesta escala de patogenicitat es basava en un sistema de punts que analitzava diferents ítems: la determinació de l'associació gen-malaltia, la presència de la variant en bases de dades internacionals, la segregació familiar o variant *de novo*, i l'avaluació *in vitro*, *in vivo* i *in silico*. En funció del sumatori de puntuacions obtingudes en cadascuna de les categories s'assolia la classificació patogènica, possiblement patogènica, variant de significat incert, probablement no patogènica o benigna.

Finalment, també l'any 2015, l'ACMG en col·laboració amb l'*Association for Molecular Pathology* (AMP) van publicar una aproximació qualitativa per a la classificació de variants genètiques que incorpora dades procedents de diverses línies d'evidència: dades poblacionals, computacionals i predictives, funcionals, de segregació, *de novo*, al·lèliques, específiques de fenotip, de co-ocurrència i opinions d'experts[141]. Les guies ACMG/AMP proporcionen dos grups de criteris, uns considerats a favor de la patogenicitat i els altres a favor de la benignitat. Cadascun dels criteris patogènics està ponderat com a *very strong*, *strong*, *moderate* i *supporting*, indicant una força molt forta, forta, moderada o de suport, i cadascun dels criteris benignes està ponderat com a *stand-alone*, indicant que es pot utilitzar de manera autònoma, *strong* o *supporting*. Alhora, cada criteri té un codi assignat que indica la classificació (patogènica o benigna) i el nivell de força. Aquests criteris són seleccionats en funció de les evidències disponibles sobre la variant genètica que s'està analitzant i combinats seguint unes normes de puntuació en un sistema de 5 nivells per tal d'obtenir la classificació de la variant genètica (patogènica, possiblement patogènica, variant de significat incert, possiblement benigna o benigna)[141].

Un estudi publicat l'any 2016[157] va avaluar la implementació de les guies ACMG/AMP en la interpretació de les variants genètiques per part de 9 laboratoris diferents. Els resultats

d'aquest estudi van indicar que únicament en un 34% de les variants s'assolia una concordança en la classificació realitzada per part dels diferents laboratoris, tot i que aquesta incrementava fins un 71% després de discutir les discrepàncies i realitzar certes clarificacions i suggeriments sobre la utilització dels diferents criteris. Aquest estudi va posar de manifest la necessitat de desenvolupar materials de formació i guies específiques per a la utilització dels diferents criteris.

Des de llavors, les guies ACMG/AMP han estat adoptades com a marc de treball i es continua treballant en la publicació de versions específiques per gens i malalties concretes[158], així com guies específiques per a la correcta utilització dels diferents criteris[159-165]. L'ACGS també publica anualment actualitzacions en la interpretació i utilització dels diferents criteris[166-169].

II. HIPÒTESIS I OBJECTIUS

Hipòtesis

A l'inici d'aquest treball es van formular les següents hipòtesis que emmarquen la present tesi doctoral:

- 1- Les variants genètiques reportades durant els anys previs a la publicació de les guies ACMG/AMP (any 2015) mostraran una alta taxa de reclassificació degut a la falta d'uniformitat en la metodologia per a la classificació; en conseqüència, aquesta variabilitat es veurà reduïda exponencialment a partir de l'any 2015 i fins a l'actualitat.
- 2- La majoria de les variants genètiques reportades durant els anys previs a la publicació de les guies ACMG/AMP (any 2015) veuran reduïda la seva classificació després de ser reinterpretades degut especialment a l'actualització de les bases de dades de freqüències al·lèliques en població general.
- 3- La taxa de reclassificació variarà en funció del fenotip associat a les variants genètiques que s'estan interpretant; així com del grau de validesa clínica entre el gen i la malaltia.

Objectius

Per tal de donar resposta a les hipòtesis formulades, es van plantejar els següents objectius:

- 1- Realitzar una avaluació clínica i genètica exhaustiva d'una cohort de 344 pacients i 1146 familiars de 379 famílies amb diagnòstic de canalopaties cardíques.
- 2- Avaluar l'impacte de la reinterpretació de les variants genètiques identificades en els pacients i familiars avaluats a la UCF per diagnòstic de miocardiopaties i canalopaties cardíques entre els anys 2012 i 2021.
- 3- Comprovar si les variants genètiques identificades en diferents cohorts de cardiopaties familiars mostren taxes de reclassificació diferents en funció del fenotip.
- 4- Establir els motius principals pels quals les variants genètiques modifiquen la seva classificació amb el pas del temps.
- 5- Determinar la periodicitat més apropiada per a la reinterpretació de les variants genètiques.

III. METODOLOGIA

3.1- Selecció de la cohort de pacients

En aquesta tesi doctoral s'ha realitzat una inclusió retrospectiva i prospectiva dels pacients i familiars avaluats a la UCF de l'Hospital Universitari Dr. Josep Trueta (Girona, Catalunya) per sospita, diagnòstic o història familiar de canalopatia cardíaca o MSI amb alta sospita de patologia arritmogènica com a causa més probable de la mort. El període d'inclusió cobreix gairebé 10 anys, des de la creació de la UCF l'any 2012 fins al 31 de desembre de 2021.

La cohort d'estudi comprèn 1490 individus (344 casos índexs i 1146 familiars) de 379 famílies. Aquesta cohort s'ha subdividit en base a la diagnosi, sospita o història familiar en: cohort de MSI (255 casos índexs i 984 familiars de 287 famílies), cohort de SBr (79 casos índexs i 166 familiars de 79 famílies), cohort de SQTL (29 casos índexs i 135 familiars de 29 famílies), cohort de SQTC (1 cas índex i 3 familiars d'una família) i cohort de TVPC (5 casos índexs i 25 familiars de 5 famílies). Aquells individus i famílies de la cohort de MSI en els quals s'ha pogut diagnosticar una canalopatia cardíaca en algun dels familiars avaluats, també han estat inclosos a les respectives cohorts de la canalopatia cardíaca concreta, assumint aquesta canalopatia com la causa més probable de la MSI. Així, 7 casos índexs i 45 familiars de la cohort de SBr també formen part de la cohort de MSI; així com, 14 casos índexs i 97 familiars de la cohort de SQTL i 4 casos índexs i 25 familiars de la cohort de TVPC.

Per cadascun dels individus inclosos a l'estudi, s'ha realitzat una revisió retrospectiva de la història mèdica per tal d'obtenir la informació clínica (edat en el moment del diagnòstic o a la primera avaluació clínica, sexe, diagnosi o motiu pel que està sent avaluat, dades electrocardiogràfiques, símptomes, tractament i proves clíniques addicionals), informació genètica (explicat en el següent apartat) i informació familiar (història familiar de MSC o de la patologia d'estudi). La interpretació de les dades electrocardiogràfiques ha estat realitzada per part del Dr. Ramon Brugada i la Dra. Coloma Tiron, cardiólegs de la UCF.

3.2- Selecció de les variants genètiques per a la reinterpretació

Per tal de complir amb l'objectiu d'avaluar l'impacte de la reinterpretació de les variants genètiques reportades a la UCF durant el període d'estudi, es va realitzar una cerca retrospectiva i prospectiva de tots els estudis genètics realitzats en pacients i familiars avaluats a la UCF des de la seva creació l'any 2012 fins a 31 de desembre de 2021. En aquesta part de l'estudi es van incloure les variants genètiques reportades a les 1898 anàlisis genètiques disponibles d'individus avaluats a la UCF per indicació clínica de miocardiopatia, canalopatia cardíaca o MSI. Els diagnòstics de miocardiopatia inclosos a l'estudi comprenen principalment la miocardiopatia hipertròfica (MCH), la miocardiopatia dilatada (MCD), la miocardiopatia arritmogènica (MCA) i la miocardiopatia no compactada (MCNC). Les anàlisis genètiques es van realitzar al Centre de Genètica Cardiovascular, laboratori de referència en genètica cardiovascular i acreditat per la Generalitat de Catalunya segons la instrucció CatSalut 6/2015; exceptuant la seqüenciació completa del genoma d'un dels individus de la cohort de SQTC que es va realitzar en un laboratori extern.

Es va realitzar la revisió dels 1898 informes genètics disponibles per tal d'obtenir la data d'emissió dels resultats, si es tractava d'un estudi de cas índex o de familiar i la metodologia d'estudi utilitzada (NGS, seqüenciació Sanger, MLPA, etc.) i d'aquells informes en què es reportava alguna variant genètica, se'n va extreure la informació següent: el gen en el qual s'havia identificat la variant, la isoforma, el nucleòtid i proteïna afectats, i la classificació reportada. El concepte "variant genètica o variant" utilitzat en aquesta tesi doctoral inclou variants puntuals (canvi que afecta un únic nucleòtid), *indels* (insercions, delecions o duplicacions d'un o més nucleòtid) i variants estructurals (CNVs) amb una freqüència de l'al·lel minoritari – MAF – <1% (de l'anglès, *Minor Allele Frequency*).

Degut a l'ampli període d'estudi, es van detectar diferents nomenclatures en la descripció de la classificació de les variants genètiques indicada als informes de resultats originaris. A la Taula 7 es descriu el sistema d'equivalències adoptat per tal de poder realitzar una comparació entre la classificació originària i la classificació després de la reinterpretació. També es va observar un ampli ventall de panells de gens analitzats per seqüenciació NGS que contenien diferent número de gens. Els diferents panells de gens es van agrupar en 3 grups principals: panell de gens majoritàriament associats a canalopaties cardíques (panell arritmogènic), panell de gens majoritàriament associats a miocardiopaties (panell estructural) i panell de gens associats tant a canalopaties cardíques com a miocardiopaties (panell global). A l'Annex 1

es recullen els diferents panells inclosos a cada grup i el nombre i gens que conformen cadascun dels panells.

Taula 7. Equivalència utilitzada per a la unificació de les nomenclatures de les classificacions utilitzades en els informes genètics originaris.

Nomenclatures reportades en informes originaris	Equivalència utilitzada
Tipus 1 (coneguda) o Tipus 1 (patogènica)	P
Tipus 2 (desconeguda)	VSI
Classe 1 Patogènica	P
Classe 2 Possiblement patogènica	PP
Classe 2 Patogenicitat desconeguda	VSI
I: Variant genètica documentada a la literatura científica i/o bases de dades com a causant de la patologia	P
IIa: Variant genètica no documentada anteriorment a la literatura científica o bases de dades i que es caracteritza per ser del tipus possiblement patogènica	VSI
IIb: Variant genètica documentada a la literatura científica i/o bases de dades com a rara i que es caracteritza per ser del tipus possiblement patogènica	PP
IIIa: Variant no documentada anteriorment a la literatura científica o base de dades i que es caracteritza per ser del tipus possiblement benigna	VSI
IIIb: Variant documentada a la literatura científica i/o base de dades com a rara i que es caracteritza per ser del tipus possiblement benigna	VSI
IV: Variant genètica que s'ha documentat en les bases de dades com a freqüent en població sana i molt probablement no causal de la patologia	PB
Classe I	P
Classe II	PP
Classe III	VSI
Classe IV	PB
Classe V	B
P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.	

3.3- Classificació de les variants genètiques

L'actualització de les 1272 variants genètiques diferents incloses a l'estudi es va realitzar seguint els criteris de les guies ACMG/AMP i les especificacions descrites a continuació.

A la Taula 8 es descriuen els codis dels diferents criteris de les guies ACMG/AMP utilitzats per a la classificació de les variants genètiques i organitzats en funció del tipus d'evidència i de la força amb la que es poden aplicar. La combinació dels criteris aplicats a cadascuna de les variants genètiques generarà la classificació corresponent. A l'Annex 2 es descriuen les diferents combinatòries de criteris que generen cadascuna de les classificacions: patogènica, possiblement patogènica, possiblement benigna i benigna. Quan els criteris aplicats per a la classificació d'una variant genètica no corresponen a cap de les combinacions o els criteris patogènics i els criteris benignes aplicats són contradictoris, la variant es classificarà com a variant de significat incert.

Taula 8. Criteris ACMG/AMP organitzats en base al tipus i força de les diferents evidències.

	CRITERIS BENIGNES		CRITERIS PATOGENICS			
	Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very strong
Dades poblacionals	BA1 BS1		PM2_Sp			
			PS4_Sp	PS4_Md	PS4_St	
Dades computacionals i predictives		BP4 BP1 BP7 BP3	PP3 PM4_Sp PM5_Sp PS1_Sp PVS1_Sp	PM4 PM5 PS1_Md PVS1_Md	PM5_St PS1 PVS1_St	PVS1_VS
Dades funcionals	BS3		PP2	PM1	PS3	
Dades de segregació	BS4		PS4_Sp	PS4_Md	PS4_St	
De novo			PS2_Sp	PS2_Md	PS2_St	PS2_VS
Dades al·lèliques		BP2	PM3_Sp	PM3	PM3_St	PM3_VS
Altres dades		BP5	PP4			

Sp: Supporting, Md: Moderate, St: Strong, VS: Very strong.

3.3.1- Criteris i especificacions per a la classificació de variants genètiques en gens associats a cardiopaties familiars

I. Criteris sobre dades poblacionals

L'avaluació de la freqüència d'una variant en població general o població control pot ajudar a valorar la seva patogenicitat. Per a l'avaluació de la freqüència de les variants genètiques en població general s'ha consultat la base de dades *Genome Aggregation Database* (gnomAD)[170]. GnomAD és la base de dades pública més gran i completa disponible actualment. La majoria dels individus de gnomAD són adults (mitjana de 54 anys) i han intentat descartar aquells

individus amb malalties pediàtriques severes, així com els seus familiars. Pel que fa a malalties d'aparició en edat adulta o penetrància incompleta, els individus de gnomAD han de ser considerats com a població general i no com a controls sans. Així doncs, pels gens associats a cardiopaties familiars es pot assumir que a la base de dades gnomAD hi podria haver variants patogèniques com a mínim, amb la mateixa freqüència que la de la malaltia en població general.

Sempre que ha estat disponible, s'ha consultat la freqüència al·lèlica filtrada (FAF, de l'anglès *filtering allele frequency*) de la població màxima que consisteix en el límit inferior de l'interval de confiança del 95% aplicat a la freqüència al·lèlica de la població amb la freqüència al·lèlica més alta. Per tal d'evitar l'ús incorrecte degut a la diversitat o mida poblacional, la FAF es calcula únicament per poblacions continentals i per tant, queden excloses d'aquest càlcul les subpoblacions finesa i jueva asquenazita. A més, tampoc es calcula en poblacions continentals amb una única observació.

BA1

Segons les guies ACMG/AMP, el criteri BA1 correspon a una freqüència al·lèlica superior al 5% en alguna de les bases de dades de població general i pot utilitzar-se com un filtre excloent. És a dir, si una variant genètica compleix el criteri BA1, aquesta pot considerar-se benigna sense necessitar més evidències.

L'any 2018 el grup de treball de ClinGen sobre la interpretació de variants genètiques (ClinGen SVI WG, de l'anglès *ClinGen sequence variant interpretation working group*) va realitzar algunes modificacions per fer que aquest criteri sigui més acurat[171] i es va publicar un llistat d'excepcions per BA1 en el qual apareixen variants amb una freqüència al·lèlica superior al 5% però de les que existeixen evidències per ser considerades causants de malaltia. Aquesta llista pot ser modificada periòdicament però actualment no hi consta cap variant en gens associats a cardiopaties familiars[172]. Així doncs, van descriure BA1 com una freqüència al·lèlica $>5\%$ en qualsevol grup poblacional continental amb un mínim de 2.000 al·lels, encara que l'origen ètnic de la població utilitzada no coincideixi amb el de l'individu analitzat, i sempre que no existeixi una modificació específica de BA1 per gen o variant.

Tanmateix, una altra problemàtica que va ressaltar el ClinGen SVI WG és que el límit de 5% per anomenar una variant genètica com a benigna es troba com a mínim un ordre de magnitud per sobre del necessari per molts gens i malalties en base a la prevalença,

penetrància i heterogeneïtat genètica de la malaltia[171]. Els límits de BA1 específics de gen o malaltia es poden determinar calculant la freqüència al·lèlica poblacional màxima creïble, que es defineix com: (prevalença × contribució genètica)/penetrància[173]. Així doncs, una variant genètica amb una FAF superior o igual a la freqüència al·lèlica màxima creïble per la malaltia podrà ser considerada benigna (BA1), mentre que una variant amb una FAF per sota de la freqüència al·lèlica màxima creïble segueix considerant-se candidata.

BS1

El criteri BS1 s'aplica quan la freqüència al·lèlica de la variant genètica és superior a l'esperada per la malaltia[141]. Igual que amb BA1, la prevalença, l'heterogeneïtat i la penetrància de la malaltia han de ser considerades per a l'aplicació del criteri BS1 específic per gen o malaltia. En el cas de BS1, s'utilitza la màxima contribució al·lèlica com a mesura d'heterogeneïtat, és a dir, la proporció màxima de casos potencialment atribuïbles a un únic al·lel[173].

BS2 – No aplicable

El criteri BS2 es defineix com “variant genètica observada en un individu adult sa per malalties recessives (homozigot), dominants (heterozigot) o lligades al cromosoma X (hemizigot), amb una penetrància completa a edats joves”[141].

Donat que les cardiopaties familiars no es caracteritzen per presentar una penetrància completa a edats joves, aquest criteri no s'utilitzarà[158, 174].

PM2

Inicialment, es va descriure la utilització del criteri PM2 quan una variant genètica estava “absent en controls (o a una freqüència extremadament baixa en herència recessiva) a ESP, 1000 Genomes o ExAC”[141]. Tanmateix, el ClinGen SVI WG va plantejar-se si en malalties autosòmiques dominants és necessari que sigui absent o pot trobar-se en un rang patogènic. La base de dades gnomAD pot incloure individus amb malalties d'aparició a edat adulta que encara no les havien presentat quan van ser inclosos en l'estudi, com podrien ser les cardiopaties familiars. Així, per malalties autosòmiques dominants, és millor utilitzar gnomAD com una base de dades de població general i no de controls. Els límits de PM2 s'obtindran mitjançant el càlcul de la freqüència al·lèlica màxima creïble utilitzant valors més realistes i menys conservadors que per BA1/BS1[158, 174].

Si la FAF és menor al límit calculat per la freqüència al·lèlica màxima creïble, es podrà aplicar el criteri PM2. És important comprovar que la posició de la variant presenta suficient cobertura de lectures a gnomAD.

Finalment, a finals de l'any 2020, el ClinGen SVI WG va publicar una recomanació en la qual proposava disminuir la força del criteri PM2 a PM2_Supporting[162]. Aquesta decisió va ser recolzada pel fet que el 99% de les variants identificades a ExAC presenten una freqüència inferior a l'1%, i que el 54% de les variants únicament són observades una vegada en el conjunt total de dades, suggerint que tots els individus presenten variants que estan absents en la resta de població[175]. Per tant, es va considerar que s'estava atorgant massa pes a un fet que és comú[162].

Càlculs específics de BA1/BS1/PM2 per cardiopaties familiars

L'aproximació més estricta i realista pels càlculs dels límits pels criteris BA1, BS1 i PM2 consisteix en la utilització de dades específiques per gen. Tanmateix, donat que no es disposa de dades de prevalença, penetrància i sobretot, heterogeneïtat genètica i al·lèlica específiques per cadascun dels gens, la millor aproximació és la de realitzar els càlculs de BA1, BS1 i PM2 específics per malaltia. Aquest càlcul consisteix en l'aplicació de la fórmula (prevalença × heterogeneïtat)/penetrància, utilitzant l'heterogeneïtat genètica pel càlcul de BA1 i l'heterogeneïtat al·lèlica pels càlculs de BS1 i PM2.

En les miocardiopaties, els límits de freqüències poblacionals van ser calculats utilitzant dos estimacions de penetrància, 30% i 50% (Taula 9). La prevalença utilitzada per MCH i MCD va ser de 1/200 i 1/500; mentre que per MCA va ser d'1/2.000 i 1/5.000. Per la MCH, es va utilitzar una heterogeneïtat genètica del 16,02% en base a la contribució de *MYBPC3* en la MCH i una heterogeneïtat al·lèlica del 2% per l'atribució de l'1,68% dels casos (1,36-2%; 104/6179 casos de MCH) a la variant *MYBPC3:c.1504C>T*; p.(Arg502Trp)[176, 177]. Per la MCD, es va emprar una heterogeneïtat genètica de l'11,66% tenint en compte la contribució de *TTN* en la MCD[178] i una heterogeneïtat al·lèlica del 2,1% per la contribució de la variant *TNNT2:c.629_631del*; p.(Lys210del) (18/1254 casos de MCD o 1,44% (0,78-2.1%))[176]. Finalment, per la MCA l'heterogeneïtat genètica utilitzada va ser del 26,3%, per la contribució de *PKP2* en la MCA[176, 177], i l'heterogeneïtat al·lèlica del 9,22% en base a la atribució de 24/361 casos de MCA o el 6,65% (4,1-9,22%) a la variant *PKP2:c.2146-1G>C*[176].

Taula 9. Valors utilitzats en cadascuna de les miocardiopaties i canalopaties cardíques per al càlcul dels límits de BA1, BS1 i PM2.

	Criteri	Prevalença	Heterogeneïtat	Penetrància	Límit
MCH	BA1	1/200	16,02% ^G	30%	≥ 0,001 (≥ 0,1%)
	BS1		2,1% ^A		≥ 0,0002 (≥ 0,02%)
	PM2	1/500		50%	≤ 0,00004 (≤ 0,004%)
MCD	BA1	1/200	11,66% ^G	30%	≥ 0,001 (≥ 0,1%)
	BS1		2,1% ^A		≥ 0,0002 (≥ 0,02%)
	PM2	1/500		50%	≤ 0,00004 (≤ 0,004%)
MCA	BA1	1/2.000	26,30% ^G	30%	≥ 0,0003% (0,03%)
	BS1		9,22% ^A		≥ 0,0001 (≥ 0,01%)
	PM2	1/5.000		50%	≤ 0,00002 (≤ 0,002%)
SBr	BA1	1/1.000	18,96% ^G	10%	≥ 0,001 (≥ 0,1%)
	BS1		1% ^A		≥ 0,00005 (≥ 0,005%)
	PM2			50%	≤ 0,00001% (≤ 0,001%)
SQTL	BA1	1/2.000	41,18% ^G	10%	≥ 0,001 (≥ 0,1%)
	BS1		2,2% ^A		≥ 0,000055 (≥ 0,0055%)
	PM2			50%	≤ 0,000011% (≤ 0,0011%)
SQTC	BA1	1/5.000	20% ^G	10%	≥ 0,0002 (0,02%)
	BS1	1/10.000	10% ^A		≥ 0,00005% (≥ 0,005%)
	PM2				50%
TVPC	BA1	1/10.000	100% ^G	10%	≥ 0,0005 (≥ 0,05%)
	BS1		10% ^A		≥ 0,00005% (≥ 0,005%)
	PM2			50%	≤ 0,00001 (≤ 0,001%)

G: Heterogeneïtat genètica; A: Heterogeneïtat al·lèlica.

En les canalopaties cardíques, es va utilitzar l'aproximació descrita l'any 2021 per Walsh *et al*[174]. Les estimacions utilitzades per la penetrància van ser del 10% i 50% (Taula 9). Per la SBr, es va emprar una prevalença de la malaltia d'1/1.000, una heterogeneïtat genètica del 18,96% per la contribució de *SCN5A* en la SBr[174] i una heterogeneïtat al·lèlica de l'1% per la contribució de la variant *SCN5A:c.4813+5_4813+6insGTGG* (15/2500 casos de SBr o 0,6% (0,3-1,0%))[174] o la variant *SCN5A:c.5350G>A; p.(Glu1784Lys)* (14/2111 casos de SBr o 0,66% (0,32-1,0%))[65]. Per la SQTL, es va utilitzar una prevalença d'1/2.000, una heterogeneïtat genètica del 41,18% per la contribució de *KCNQ1* en la SQTL i una heterogeneïtat al·lèlica del 2,2% en base a la contribució de *KCNQ1:c.1032G>A; p.(Ala217=)* (29/1847 casos de SQTL o 1,6% (1,1-2,2%))[174]. Finalment, per la SQTC i la TVPC no es disposa d'una base de dades de variants, pel que cal utilitzar el coneixement en malalties similars per estimar la seva contribució al·lèlica màxima. La proporció més alta de casos atribuïbles a una variant associada a malaltia cardíaca hereditària és del 6,65% (*PKP2:c.2146-1G>C* identificada en 24/361 casos de MCA; 4,1-9,22%). Per tant, es proposa utilitzar el límit superior de l'interval de confiança arrodonit a l'alça (10%) com una estimació de la contribució al·lèlica màxima per SQTC i TVPC. En la TVPC, per a la contribució genètica de *RYR2* s'utilitza una estimació del 100% i una prevalença d'1/10.000[173]; mentre

que per SQTC s'utilitza una contribució genètica del 20%, utilitzant la taxa estimada de detecció de variants genètiques en la SQTC, i una prevalença d'1/5.000 i 1/10.000[179].

Tenint en compte els resultats d'aquests càlculs i el solapament entre certs gens associats a miocardiopaties i canalopaties cardíques, es van crear quatre grups per a la utilització de diferents límits per als criteris de freqüències poblacionals (Taula 10).

- MCH/MCD/MCR/MCNC
- MCA
- SBr/SQTL/SQTC
- TVPC

Taula 10. Límits per a l'aplicació de BA1, BS1 i PM2 segons la cardiopatia familiar.

	Criteri	Límit (%)
MCH MCD MCR MCNC	BA1	≥ 0,1%
	BS1	≥ 0,02%
	PM2	≤ 0,004%
MCA	BA1	≥ 0,03%
	BS1	≥ 0,01%
	PM2	≤ 0,002%
SBr SQTL SQTC	BA1	≥ 0,1%
	BS1	≥ 0,005%
	PM2	≤ 0,001%
TVPC	BA1	≥ 0,05%
	BS1	≥ 0,005%
	PM2	≤ 0,001%

A les cardiopaties familiars existeixen gens associats a més d'una malaltia i aquests poden pertànyer a més d'un d'aquests grups creats.

Per exemple, *DSP* i *DES* poden estar associats tant a MCA com a MCD. En aquestes

situacions utilitzarem els valors de BA1, BS1 i PM2 més conservadors; és a dir, els de MCD en l'exemple de *DSP* i *DES*. En el cas de gens majoritàriament associats a canalopaties cardíques que poden estar associats de forma minoritària a certes miocardiopaties utilitzarem els valors de BA1, BS1 i PM2 per la canalopatia corresponent. Per exemple, *SCN5A* està majoritàriament associat a la SBr i SQTL però també s'ha descrit en associació a MCD. Tanmateix, la contribució genètica i al·lèlica que representarà *SCN5A* en la MCD és molt menor que la dels gens principals de MCD pel que té més lògica l'aproximació d'utilitzar els valors de BA1, BS1 i PM2 per la SBr.

PS4

El criteri PS4 s'aplicarà quan la prevalença d'una variant genètica en individus afectats està significativament incrementada en comparació a controls. Donat que per a la majoria de malalties o variants genètiques no es disposa de dades suficients per realitzar estudis significatius de cas-control, les guies ACMG/AMP van considerar la utilització del criteri PS4_Strong si la variant està absent en controls (PM2) i s'ha observat prèviament en múltiples pacients no emparentats i amb el mateix fenotip[141].

A les guies ACMG/AMP, els autors no van especificar a partir de quin nombre d'individus afectats podia aplicar-se el criteri PS4_Strong. Tanmateix, en les actualitzacions que publica anualment l'ACGS indiquen que PS4 pot utilitzar-se com a PS4_Moderate si prèviament s'han identificat dos o més individus afectats i no emparentats, i com a PS4_Supporting si s'ha identificat en un individu afectat, i compleix PM2[166]. A més, en l'actualització de l'any 2019 van afegir l'ús de PS4_Supporting si la variant genètica s'ha identificat prèviament en múltiples individus afectats no emparentats però no està absent en controls[168].

S'han publicat estipulacions específiques per a la utilització de PS4 per miocardiopaties associades a *MYH7*[158, 180] i per SBr i SQTL[174], que poden ser extrapolables a la resta de miocardiopaties i canalopaties cardíques, respectivament. Així doncs, en les miocardiopaties, s'aplicarà PS4_Supporting, PS4_Moderate o PS4_Strong si el nombre d'individus afectats és ≥ 2 , ≥ 6 o ≥ 15 , respectivament; mentre que en les canalopaties cardíques els valors utilitzats són ≥ 5 , ≥ 10 o ≥ 20 , respectivament.

El criteri PS4, en qualsevol dels seus nivells de força, únicament pot aplicar-se en aquelles variants genètiques que també compleixin PM2, i es comptabilitzen ambdós criteris.

II. Criteris sobre dades computacionals i predictives

PVS1

El criteri PVS1 és específic del grup de variants denominades variants nul·les i que inclou les variants *nonsense*, les variants *frameshift*, les variants al lloc de *splicing* +/- 1 i 2, les variants en el codó d'inici o codó stop i les delecions o duplicacions d'un o més exons[141]; tot i que les variants en el codó stop i les duplicacions d'un o més exons no van ser considerades dins aquest criteri fins la posterior publicació de recomanacions i actualitzacions per a la utilització d'aquest criteri[160, 168].

Sovint s'assumeix que les variants nul·les causen una alteració en la funció del gen conduït a una absència completa de producte gènic, ja sigui per falta de transcripció o per la degradació de l'àcid ribonucleic missatger (ARNm) guiada per variants *nonsense* (NMD, de l'anglès *nonsense-mediated decay*) d'un transcrit alterat[141]. La NMD consisteix en un mecanisme cel·lular que elimina l'ARNm que conté codons stop prematurs i ajuda a eliminar la síntesi de proteïnes anòmales. Aquesta funció protectora de la NMD pot beneficiar als portadors heterozigots o contribuir a una deficiència proteica mitjançant la inhibició de

proteïnes parcialment funcionals[181]. La NMD ha de distingir entre una codó stop normal i un de prematur. La traducció d'un codó stop generalment s'interpreta com a normal si no el segueix cap intró a més de 50 parelles de bases (pb) *downstream*[182]. Per tant, el coneixement actual del mecanisme de NMD dona lloc a la predicció de que els transcrits que contenen un codó stop prematur a 5' de les últimes 50 pb del penúltim exó, haurien de ser dianes per la NMD[15, 183].

Richards *et al* remarcaven a les guies ACMG/AMP que existeixen una sèrie d'especificacions a tenir en compte abans de considerar que una variant nul·la és causant de malaltia[141]:

- Cal assegurar que les variants nul·les siguin un mecanisme conegut de patogenicitat coherent amb el patró d'herència establert per la malaltia.
- Cal prestar especial atenció en la interpretació de variants truncades *downstream* de la variant truncada localitzada més a 3' i considerada patogènica a la literatura. Aquest punt té particular importància si la variant té lloc a partir de les últimes 50 pb del penúltim exó ja que no es prediu la NMD i la proteïna podria expressar-se.
- En les variants en llocs d'*splicing*, la variant pot donar lloc a un salt de l'exó o a l'escurçament o inclusió de material intrònic degut a la utilització de llocs de donador/acceptor alternatius o a la creació de llocs nous. Tot i que es considera que les variants d'*splicing* produeix un efecte nul, la confirmació del seu impacte requereix l'anàlisi funcional a nivell d'ARN o proteïna.
- Cal considerar la presència de transcrits alternatius i entendre quins són biològicament rellevants i en quins teixits s'expressaran.
- Cal ser curós en assumir que una variant nul·la serà causant de malaltia si aquesta es troba en un exó sense altres variants patogèniques descrites ja que l'exó podria presentar un *splicing* alternatiu.

L'any 2018, Abou Tayoun *et al*[160] van publicar un arbre de decisió per a l'adjudicació de diferents nivells de força del criteri PVS1 segons el tipus de variant i les seves característiques. La utilització d'aquest criteri està condicionada al fet que l'associació gen/malaltia tingui mínim una validesa clínica forta i que les variants de pèrdua de funció (LoF, de l'anglès *loss of function*) siguin un mecanisme establert de la malaltia[184].

Juntament amb l'arbre de decisió per a la utilització del criteri PVS1, Abou Tayoun *et al* van publicar uns criteris generals per a orientar en la ponderació del mecanisme de malaltia d'un

gen. Així doncs, únicament es podrà utilitzar els criteris PVS1 en la predicció de variants de LoF en gens amb una associació definitiva o forta a la malaltia. A més, es recomana que únicament s'apliqui si les variants de LoF representen un mínim del 10% de les variants patogèniques descrites en el gen i un mínim de 3 variants han estat classificades com a patogèniques sense utilitzar el criteri PVS1. Per les variants que no compleixin aquests requisits, es proposa reduir el grau de força final del criteri PVS1 en un o dos nivells[160].

Per a l'aplicació del criteri PVS1 s'ha utilitzat AutoPVS1[185], una eina disponible online que utilitza l'arbre de decisió per PVS1 descrit per Abou Tayoun[160], les dades disponibles de ClinGen sobre la validesa clínica i pèrdua de funció dels diferents gens i dades d'altres bases de dades per determinar si és possible aplicar el criteri PVS1 i amb quin nivell de força.

Cal tenir en compte que si AutoPVS1 no indica la validesa clínica entre el gen i la malaltia que estem avaluant o si les LoF són un mecanisme de malaltia per aquell gen, caldrà avaluar si es pot utilitzar el criteri PVS1. En aquests casos existeixen uns predictors disponibles a gnomAD que poden ser d'ajuda per determinar si un gen és o no intolerant a les variants de LoF: la puntuació pLI i la puntuació oe.

La puntuació pLI és la probabilitat de ser intolerant a la pèrdua de funció i per tant, pertànyer a la classe de gens haploinsuficients. Les puntuacions de pLI properes a 1 indiquen més intolerància a variants de LoF. Els gens amb una puntuació $pLI \geq 0,9$ es consideraran intolerants a les variants de LoF[175]. Tanmateix, es recomana la utilització de la puntuació oe ja que és més fàcil d'interpretar. La puntuació oe és la mesura de la tolerància d'un gen a un tipus específic de variants, en aquest cas les variants de LoF, i consisteix en la ràtio de número de variants de LoF observades / número de variants de LoF esperades. Donat que els recomptes depenen de la mida del gen i de la mostra, la precisió dels valors oe varia entre gens i per això s'incorpora un interval de confiança del 90% a cadascun dels valors oe. Per determinar la tolerància d'un gen a variants de LoF es suggereix assignar el llindar del límit superior de l'interval de confiança de oe a valors inferiors a 0,35. Aquest llindar indica que a gnomAD s'han observat menys del 35% de les variants de LoF esperades i per tant, el gen és intolerant a variants de LoF[170].

PS1

El criteri PS1 podrà aplicar-se quan s'identifica un canvi de nucleòtid que a nivell de proteïna resulta en el mateix canvi d'aminoàcid que una variant classificada prèviament com a

patogènica[141]. Caldrà avaluar que el mecanisme de patogenicitat sigui a través de l'alteració de la funció proteica ja que existeix la possibilitat de que la variant actui directament a través del canvi específic de nucleòtid enlloc del canvi d'aminoàcid i en aquest cas, podria no ser vàlid assumir la patogenicitat d'ambdues variants[141].

L'any 2019, l'ACGS proposava la utilització de PS1 en dues situacions addicionals: 1) com a PS1_Moderate en variants al codó d'inici en les quals un canvi de nucleòtid diferent s'ha classificat com a (possiblement) patogènica; i 2) com a PS1_Supporting en variants d'*splicing* en les quals un canvi nucleotídic diferent s'han classificat com a (possiblement) patogènics i els predictors *in silico* de la variant que s'està avaluant prediuen un impacte similar o major als de l'altra variant[168].

PM5

Segons les guies ACMG/AMP, PM5 s'aplica en l'avaluació d'una variant genètica *missense* nova que ocorre a la mateixa posició d'aminoàcid que una altra considerada patogènica[141]. Les actualitzacions de l'ACGS van eliminar la condició de que la variant avaluada hagués de ser nova, van incloure la possibilitat de que l'altra variant estigui classificada com a possiblement patogènica i no només com a patogènica, i afegien variacions en el nivell de força: PM5_Strong si existeixen múltiples observacions de diferents variants patogènics al mateix residu; i PM5_Supporting si la variant es classifica com a possiblement patogènica i hi ha un únic cas reportat[168].

PM4 i BP3

La deleció o inserció d'un o més aminoàcids (*inframe*) en regions no repetitives, així com l'extensió d'una proteïna degut a la pèrdua del codó stop presenten una probabilitat més alta d'alterar la funció de la proteïna que un simple canvi *missense* degut als canvis en la llargada de la proteïna[141]. En aquests casos s'aplicarà el criteri PM4. Les guies ACMG/AMP no especifiquen la mida de les delecions o insercions ja que l'impacte dependrà de la mida del gen i la seva arquitectura. No obstant, en l'actualització de l'any 2018, l'ACGS recomanava tenir especial cura amb les delecions o insercions d'un sol aminoàcid i disminuir un nivell de força (PM4_Supporting) a no ser que es existeixi evidència específica del gen per garantir l'apropiat ús de PM4 amb un nivell de força moderat[167]. A més, en la següent actualització indicaven la utilització de PM4 en delecions *inframe* d'exons sencers petits enlloc d'aplicar

PVS1, però no indicaven a partir de quin límit haurien de ser considerats en un o altre criteri[168].

Finalment, PM4 també podrà ser aplicat en aquelles variants que es produeixen en el codó stop i causen una pèrdua d'aquest quan existeix un codó stop *inframe* a 3'UTR i per tant, la conseqüència que se'n prediu és una proteïna amb aminoàcids addicionals (no s'activa la NSD)[168].

Cal tenir en compte que la condició per aplicar PM4 és que la variant *inframe* no estigui localitzada en una regió repetitiva, en cas contrari, s'aplicarà BP3. Per tal de comprovar si la variant *inframe* està present en una zona no repetitiva del gen, es pot avaluar la regió mitjançant RepeatMasker, disponible al *UCSC genome browser*[186].

PP3 i BP4

PP3 serà aplicable si múltiples línies de predictors computacionals (*in silico*) coincideixen en la predicció d'un efecte deletori en el gen o en el producte gènic (conservació, evolució, impacte en l'*splicing*, etc.), mentre que si coincideixen en suggerir que la variant no té impacte en el gen, s'aplicarà BP4. Tanmateix, si els predictors *in silico* no es posen d'acord en les seves prediccions, PP3 i BP4 no podran ser utilitzats com a evidència en la classificació de la variant[141].

S'ha proposat que per a la utilització d'aquest criteri probablement és més útil emprar una eina de meta-predicció com podria ser REVEL o GAVIN enlloc d'utilitzar múltiples eines de predicció, cadascuna de les quals avalua subconjunts d'evidència que poden solapar-se. Així, per a l'avaluació dels predictors computacionals en variants *missense*, ClinGen proposa la utilització de REVEL, tot i que també enumera una sèrie d'eines individuals destacant que la majoria d'elles estan incloses en la meta-predicció de REVEL[187].

REVEL és un mètode per a la predicció de patogenicitat de variants *missense* que agrupa diverses eines individuals: MutPred, FATHMM, VEST, Poly-Phen, SIFT, PROVEAN, MutationAssessor, MutationTaster, LRT, GERP, SiPhy, phyloP i phastCons. La puntuació de REVEL per una variant genètica va de 0 a 1, essent 1 més suggeriu de patogenicitat[188]. En general, valors $\geq 0,75$ es consideren evidència de patogenicitat (PP3) i valors $\leq 0,4$ són considerats evidència de benignitat (BP4)[168, 188]; tot i que alguns grups d'experts de ClinGen han recomanat diferents talls, específics per certes malalties i gens[189].

A data d'avui no s'han realitzat recomanacions específiques per a la utilització d'eines predictives *in silico* ni per a l'aplicació dels talls PP3 i BP4 en les cardiopaties familiars. En aquest estudi s'han utilitzat el meta-predictor REVEL per a l'obtenció del criteri PP3/BP4 en variants *missense*, aplicant PP3 per valors $\geq 0,75$ i BP4 per valors $\leq 0,4$.

Per a les variants en llocs d'*splicing*, els predictors utilitzen eines bioinformàtiques i les seqüències en llocs consens d'*splicing* per predir els efectes de la variant. ClinGen proposa la utilització de quatre predictors: MaxEntScan, NNSPLICE, SpliceAI i VarSEAK[187]. No obstant, també destaquen la dificultat en la utilització de les eines de predicció per *splicing* i la falta d'estandardització en la interpretació; i insten a que cada grup d'experts determini i validi quines són les eines més útils en cada cas. En aquest estudi, per a determinar la utilització dels criteris PP3/BP4 en les variants d'*splicing* es van utilitzar els predictors MaxEntScan, FSPLICE i GeneSplicer i si els 3 coincidien en una predicció patogènica s'ha aplicat PP3, si coincidien en una predicció benigna s'ha aplicat BP4 i si mostraven discordances no s'ha aplicat cap dels dos.

BP7

Aquest criteri s'aplica en les variants sinònimes. Més enllà de l'alteració de la seqüència consens, els defectes en l'*splicing* poden ser un important mecanisme de patogenicitat, especialment en aquells gens en què la pèrdua de funció és un mecanisme comú de la malaltia. Per això, s'ha de tenir cura al assumir que una variant sinònima no tindrà efecte. Tanmateix, si la posició del nucleòtid no està conservada evolutivament i els algorismes no prediuen un impacte en la seqüència consens d'*splicing* ni la creació d'una seqüència consens alternativa, és menys probable que hi hagi un impacte en l'*splicing*. Així, les variants sinònimes (BP7) podran classificar-se com a possiblement benignes si tenen el recolzament de l'evidència computacional (BP4)[141].

BP1

El criteri BP1 s'aplica en l'avaluació de variants *missense* identificades en gens en els quals el principal mecanisme de patogenicitat són les variants truncades[141]. No obstant, no és necessari que únicament s'hagin reportat variants patogèniques truncades sinó que és possible utilitzar BP1 inclús si hi ha algunes variants *missense* descrites[168]. Amendola *et al* van suggerir aplicar BP1 en aquells gens on les variants truncades representen $> 90\%$ de les variants causants de la malaltia[157].

La pàgina web de Simple ClinVar pot ser d'ajuda per obtenir una estimació del principal tipus de variants que causen malaltia en un gen[190]. Així, per exemple, veiem que hi ha 1480 variants patogèniques/possiblement patogèniques a *TTN* seleccionant els filtres corresponents a “Clinical Significance”. D'aquestes, únicament 23 són variants *missense* mentre que més del 95% són variants truncades (*nonsense*, *frameshift* i llocs d'*splicing*) (data d'accés: 7/06/2022). Per tant, les variants *missense* a *TTN* complirien BP1.

El criteri BP1 també pot utilitzar-se en l'avaluació de variants de pèrdua de funció en gens on la malaltia està causada per variants de guany de funció o variants de pèrdua de funció dominant negatives[166].

III. Criteris sobre dades funcionals

PS3 i BS3

Els estudis funcionals proporcionen una gran evidència per a la determinació de la patogenicitat d'una variant. Tanmateix, cal avaluar el grau amb el que l'estudi funcional reflexa l'ambient biològic. A més, cal considerar factors importants com la validació, reproductibilitat i robustesa de les dades obtingudes a partir d'estudis funcionals[141].

Els estudis funcionals poden incloure assajos funcionals *in vitro* per variants específiques, la mesura de proteïnes *in vivo*, anàlisis d'ARNm o altres estudis el resultat dels quals sigui patogènomic d'una causa genètica específica per la malaltia[166]. No podran ser utilitzats com a evidència aquells estudis funcionals que indiquin un efecte quan aquest no sigui específic d'una patologia en concret com per exemple, estudis de biòpsia muscular que indiquen canvis miopàtics no específics[166].

Les guies ACMG/AMP indicaven la utilització de PS3 o BS3 si existeixen estudis *in vitro* o *in vivo* “ben establerts” que demostrin una funció anòmala o normal del gen/proteïna, respectivament[141]. Tanmateix, en aquestes guies no es detallava com calia avaluar l'evidència funcional, fet que genera diferències en l'aplicació de PS3 i BS3 entre laboratoris[157, 191]. Per aquest motiu, el ClinGen SVI WG va publicar unes recomanacions per determinar la validesa clínica, aplicabilitat i nivell de força de l'evidència dels estudis funcional[161]. Aquestes recomanacions consisteixen en un procés de 4 punts per avaluar la validesa clínica de l'estudi funcional: 1) definir el mecanisme de la malaltia; 2) avaluar l'aplicabilitat dels assajos generals utilitzats en aquest camp; 3) avaluar la validesa d'exemples específics d'assajos; i 4) aplicar l'evidència a la interpretació de la variant individual. Un cop

s'ha avaluat la validesa clínica de l'assaig, els resultats d'aquests per a una variant concreta poden utilitzar-se com evidència per a la interpretació de la variant amb el nivell de força obtingut en la validació[161].

L'aplicació d'aquestes recomanacions no elimina completament les discrepàncies entre laboratoris ja que aquests han de prendre decisions pel que fa al rigor, reproductibilitat i validació clínica per cada evidència funcional disponible i determinar la seva força.

Diferents grups d'experts han publicat els estudis funcionals específics que poden ser utilitzats com a evidència funcional en l'estudi de variants en gens concrets.

Pel que fa a miocardiopaties, el grup d'experts en miocardiopaties de ClinGen va determinar que per *MYH7* l'evidència funcional forta (PS3) únicament pot adquirir-se mitjançant un model de mamífer *knock-in* per la variant específica. No s'accepten altres models *in vivo* que alteren la dosi normal de la proteïna, com ratolins transgènics o *knock-out*, ja que no proporcionen evidència de la importància d'una variant concreta. Actualment, els models *in vitro* no es consideren una evidència funcional forta degut al seu baix valor predictiu[158].

També s'han publicat especificacions per a la utilització dels criteris PS3/BS3 en variants a *SCN5A* en un context de SBr[192]. Així doncs, els estudis electrofisiològics cel·lulars que demostren un efecte de pèrdua de funció són considerats una evidència forta (PS3). L'evidència funcional es considera insuficient per PS3 si l'estudi electrofisiològic demostra una reducció inferior al 50% en el pic I_{Na} sense anomalies significatives d'obertura que pronostiquin una disminució de la corrent en condicions fisiològiques. Finalment, els estudis funcionals que no demostren un efecte en el pic I_{Na} es consideren com una evidència a favor de la benignitat de la variant (BS3).

Si existeixen discrepàncies entre estudis, els autors recomanen no utilitzar el criteri per l'evidència funcional[192].

PM1

PM1 pot aplicar-se com a criteri de patogenicitat quan una variant es localitza en dominis de la proteïna coneguts per ser crítics en la funció de la proteïna i en els quals totes les variants *missense* identificades són patogèniques. A més, s'han reportat *hotspot* mutacional en regions menys caracteritzades en les quals s'han observat variants patogèniques amb una alta

frequència en un o varis dels residus propers[141]. Aquest criteri únicament és aplicable a variants *missense* i delecions i insercions *inframe*.

Les especificacions per PM1 necessiten una avaluació gen a gen per determinar aquelles regions que són intolerants a variants. Per a les cardiopaties familiars, s'han publicat estudis cas-control amb l'objectiu d'identificar regions específiques dels gens enriquides amb variants (possiblement) patogèniques. Per definir aquest enriquiment relatiu de variants en casos respecte a controls, s'ha utilitzat la fracció etiològica (EF) que en un context de malaltia mendeliana, estima la proporció de casos amb una variant rara en els quals aquesta és causant de malaltia. Aquests càlculs permeten determinar aquelles regions en les quals és possible aplicar PM1 i amb quin nivell de força és adequat aplicar-lo. Els talls establerts són $0,8 \leq EF < 0,9$ (PM1_Supporting), $0,9 \leq EF < 0,95$ (PM1_Moderate) i $EF \geq 0,95$ (PM1_Strong)[174, 193].

Per la MCH, es van identificar regions en les quals les variants formaven clústers significatius en pacients en els 6 gens estudiats (Taula 11): *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNI3*, *TNNT2*, *MYL3* i *CSRP3*[193]. En *MYH7* aquest resultat difereix mínimament del reportat anteriorment a l'adaptació de les guies ACMG/AMP per aquest gen (residus 181-937)[158].

Taula 11. *Hot spots* o regions enriquides amb variants patogèniques descrites en gens associats a miocardiopaties.

Gen (Malaltia)	Residus d'aminoàcid	Codi aplicable (EF)
MYH7 (MCH)	167-937 ^a	PM1_Strong (0,976)
MYBPC3 (MCH)	485-502 i 1248-1266	PM1_Strong (0,979)
TNNI3 (MCH)	141-209	PM1_Strong (0,958)
TNNT2 (MCH)	79-179	PM1_Moderate (0,974)
MYL3 (MCH)	143-180	PM1_Strong (0,925)
CSRP3 (MCH)	44-71	PM1_Supporting (0,882)
RBM20	632-654	PM1_Moderate (-)
DES	296-412	PM1_Moderate (-)

^a Combinació dels resultats publicats per Kelly *et al*[158] i Walsh *et al*[193].

Pel que fa a l'estudi de l'enriquiment de variants rares en casos respecte controls en regions de gens associats a canalopaties cardíques, es va estudiar *KCNQ1*, *KCNH2* i *SCN5A* en relació a SQTl i *SCN5A* en relació a SBr. En ambdues malalties reportaven els càlculs de la EF en una cohort europea i una cohort japonesa[174]. Els resultats mostrats a la Taula 12 corresponen a població europea.

En *hot spots* o regions enriquides amb variants patogèniques descrites mitjançant altres mètodes i dels que per tant, no es disposa d'un valor de la EF, s'utilitzarà PM1 amb un nivell de força moderat (PM1_Moderate).

Taula 12. *Hot spots* o regions enriquides amb variants patogèniques descrites en gens associats a canalopaties cardíagues.

Gen (Malaltia)	Residus d'aminoàcid	Codi aplicable (EF)
SCN5A (SBr)	1-131	PM1_Moderate (0,908)
	132-410, 718-938, 1207-1466 i 1530-1771	PM1_Strong (0,974)
KCNQ1 (SQTL)	392-508, 576-584 i 608-676	PM1_Supporting (0,879)
	71-121	PM1_Moderate (0,940)
	122-348	PM1_Strong (0,997)
	349-391, 509-575 i 585-607	PM1_Strong (0,995)
KCNH2 (SQTL)	131-156 i 306-403	PM1_Supporting (0,878)
	660-741 i 843-1159	PM1_Moderate (0,906)
	1-130 i 404-659	PM1_Strong (0,994)
	742-842	PM1_Strong (0,981)
SCN5A (SQTL)	132-410, 718-938, 1207-1466 i 1530-1771	PM1_Supporting (0,818)
	1772-2016	PM1_Supporting (0,879)
RYR2	77-466, 2246-2534, 3778-4201 i 4497-4959	PM1_Moderate (-)

PP2

PP2 pot utilitzar-se com a evidència de suport en l'avaluació de variants *missense* identificades en gens en els quals aquest tipus de variants són una causa comuna de la malaltia i la presència de variants *missense* benignes és molt baixa[141].

Existeix una puntuació a gnomAD que pot utilitzar-se com a ajuda per determinar si un gen és intolerant a les variants *missense*. El ClinGen SVI WG va establir que puntuacions Z (Z score) $\geq 3,09$ indiquen una major probabilitat de que el gen sigui intolerant a variants genètiques *missense* i per tant, permeten l'aplicació de PP2[175, 194]. La puntuació Z és calculada comparant el nombre de variants *missense* esperades respecte les observades. Com major sigui la puntuació Z, més intolerant serà el gen a variants *missense*; mentre que els valors negatius s'adjudiquen a aquells gens que tenen més variants *missense* de les esperades.

Cal tenir en compte que la puntuació Z estableix una probabilitat d'intolerància a variants *missense* en la totalitat del gen. Tanmateix, és possible que una puntuació Z alta derivi d'un clúster estadísticament significatiu de variants *missense* patogèniques en una regió concreta del gen i no al llarg de tot ell. Per aquest motiu, el ClinGen SVI WG recomana filtrar únicament per les dades d'ExAC, on es defineix el càlcul de variants *missense* esperades versus observades limitat a regions del gen[195]. D'aquesta manera es pot observar si una puntuació Z alta és deguda a l'alta presència de variants *missense* en una regió específica del gen. Aquest valor especificat per regions del gen també es pot consultar a la web de DECIPHER[196].

IV. Criteris sobre segregació

PP1 i BS4

La informació clínica i genètica dels individus de diverses generacions és útil per realitzar unes anàlisis de segregació i establir si una variant segrega amb la malaltia en la família. Així doncs, per poder ser evidència de patogenicitat (PP1), la variant genètica hauria d'estar present en els familiars afectats però no en aquells no afectats. Al contrari, la falta de segregació d'una variant amb el fenotip proporciona evidències en contra de la patogenicitat (BS4)[141].

Cal tenir en compte que la segregació d'una variant genètica amb un fenotip en una família proporciona evidència del lligament del locus amb la malaltia, però no de la variant en concret ja que aquesta podria estar en desequilibri de lligament amb la veritable variant patogènica causant de la malaltia en la família. És important incloure familiars llunyans en l'anàlisi de segregació ja que és menys probable que ambdós presentin la malaltia i la variant per casualitat que en el cas de familiars de primer grau. A més, si s'observa segregació d'una variant genètica en múltiples familiars afectats i en múltiples famílies de diferents orígens ètnics, el desequilibri de lligament té menys possibilitats de confondre les evidències de patogenicitat. En aquest cas, PP1 podria utilitzar-se amb un nivell de força moderat o fort, segons l'extensió de la segregació[141]. Per altra banda, per a l'aplicació de BS4 cal disposar d'una avaluació clínica que descarti símptomes lleus en els individus aparentment no afectats així com possibles fenocòpies (individus afectats per la malaltia per una etiologia diferent, ja sigui genètica o no). A més, cal confirmar les relacions familiars per descartar adopcions, no paternitat, donacions de gàmetes i altres relacions no biològiques. Finalment, la penetrància dependent de l'edat juga un paper clau en l'anàlisi de segregació d'una variant genètica[141].

Taula 13. Evidència de segregació necessària per cada nivell de força en funció de si es disposa de segregació en una o més famílies.

	PP1_Supporting	PP1_Moderate	PP1_Strong
1 família	$N \leq 1/8$ (3 meiosis)	$N \leq 1/16$ (4 meiosis)	$N \leq 1/32$ (5 meiosis)
> 1 família	$N \leq 1/4$ (2 meiosis)	$N \leq 1/8$ (3 meiosis)	$N \leq 1/16$ (4 meiosis)

A les guies ACMG/AMP, no es reportaven talls específics per a la utilització de PP1 com a evidència de patogenicitat en cadascun dels nivells de força, donant lloc a discrepàncies entre laboratoris[157]. Per adreçar aquesta problemàtica, el *Clinical Sequencing Exploratory Research consortium* va proposar unes guies quantitatives fàcils d'implementar sense la necessitat d'un coneixement estadístic avançat[197] (Taula 13).

En aquestes guies, els autors van calcular la probabilitat simple de que l'estat variant/afectació (o genotip positiu/fenotip positiu) es produeixi per casualitat. S'assumeix que el proband té la variant, penetrància completa i que l'al·lel és suficientment rar com perquè totes les observacions de la variant en la família provinguin del mateix ascendent, i no que la mateixa variant genètica hagi entrat a la família per més d'un ancestre. En un model dominant, aquesta probabilitat es calcula mitjançant la fórmula $N = (1/2)^m$, on m és el nombre de meiosis informatives de cosegregació per a la variant d'interès[197]. Cal tenir en compte que l'absència de la variant en un individu no afectat també és informació sobre cosegregació. Tanmateix, cal determinar si la malaltia d'estudi presenta una penetrància incompleta o dependent de l'edat. En les cardiopaties familiars, donat que es caracteritzen per una penetrància incompleta, s'ha tingut inclòs únicament la informació sobre individus afectats per tal de no sobreestimar la segregació i incórrer en errors.

Aquest sistema quantitatiu també ha tingut en compte el fet que per a un mateix nivell de força es necessitin més meiosis informatives si aquestes ocorren en una única família, degut al fet que l'evidència dins una sola família pot ser deguda al desequilibri de lligament entre la variant observada i una variant causal no observada[197].

Igual que en les guies ACMG/AMP, el nivell de força màxim assolible mitjançant segregació és fort. No obstant, Jarvik GP i Browning BL[197] exposaven la necessitat de reconsiderar la possibilitat de que hi hagi un nivell de segregació que representi una evidència molt forta (PP1_VeryStrong).

Tot i que el ClinGen SVI WG encara no ha publicat unes recomanacions generals per a l'avaluació de la segregació, el grup de treball de ClinGen sobre l'avaluació de gens (ClinGen GC WG, de l'anglès *ClinGen Gene curation Working Group*) recomanen avaluar la segregació mitjançant el càlcul logarítmic de probabilitats (LOD score)[198]. Aquesta aproximació ja ha estat utilitzada per grups de treball específics de gens i/o malaltia.

En les recomanacions publicades pel grup d'experts en miocardiopaties de ClinGen sobre miocardiopaties associades a *MYH7*[158], proposaven utilitzar 3, 5 i 7 meiosis pels nivells de força PP1_Supporting, PP1_Moderate, PP1_Strong, respectivament (Taula 14). A més, únicament comptabilitzen aquells individus amb genotip positiu i fenotip positiu degut a l'edat variable d'aparició i la penetrància incompleta característica de les miocardiopaties, i eliminen la diferenciació entre segregació en una o més famílies. Aquests han estat els límits utilitzats en aquest estudi per a l'avaluació de la segregació en les miocardiopaties (Taula 14);

mentre que per l'avaluació en canalopaties cardíques s'han utilitzat les recomanacions generals[197] (Taula 13).

Taula 14. Evidència de segregació necessària per cada nivell de força per a les variants a *MYH7*.

	PP1_Supporting	PP1_Moderate	PP1_Strong
≥ 1 famílies	N ≤ 1/8 (3 meiosis)	N ≤ 1/32 (5 meiosis)	N ≤ 1/128 (7 meiosis)

Així, en aquest estudi per a l'avaluació de la segregació en les miocardiopaties s'han utilitzat els límits descrits per ClinGen.

V. Criteris sobre dades *de novo*

PS2 i PM6

Aquests criteris s'apliquen quan la variant que està sent avaluada ha aparegut *de novo*, és a dir, quan els pares són genotip negatiu per a aquesta variant genètica. L'única diferència entre PS2 i PM6 recau en si s'ha confirmat mitjançant anàlisi d'identitat que ambdues mostres corresponen als pares biològics del pacient (PS2) o si s'assumeix la identitat però no s'ha confirmat (PM6)[141]. La confirmació de la paternitat no és suficient per assumir que ambdues mostres corresponen als pares biològics ja que factors com la donació d'òvuls, la subrogació de l'embaràs o errors en la transferència d'embrions poden contribuir a la no-maternitat[168]. A més, no s'ha de descartar un possible mosaïcisme germinal i per tant, la potencial afectació en més d'un germà del cas índex[141].

Per tal d'aplicar PS2 o PM6, la història familiar del pacient ha de ser compatible amb una herència *de novo*, és a dir, pares no afectats en una malaltia dominant o, en malalties lligades al cromosoma X, si la mare és portadora no afectada i no presenta història familiar d'afectació en homes a part del cas índex[141, 168]. En l'ocurrència *de novo* en gens associats a malalties autosòmiques recessives sense identificació d'una variant (possiblement) patogènica addicional, el nivell de força de l'evidència ha de disminuir-se en un nivell.

A més, per considerar l'aplicació de PS2 o PM6, el fenotip del pacient ha de presentar una especificitat raonable amb la malaltia associada al gen.

El ClinGen SVI WG va proposar un sistema de puntuació per determinar el nivell de força apropiat per aplicar a l'ocurrència *de novo* (Taula 15 i Taula 16). Aquest sistema consisteix en la combinació de les puntuacions concedides a cadascun dels probands portadors d'una variant genètica *de novo*, per obtenir el nivell de força aplicable a l'evidència[163].

Taula 15. Puntuació atorgada en funció de les ocurrencies *de novo*.

Especificitat fenotípica	Punts per proband	
	Ocurrencia <i>de novo</i> amb paternitat i maternitat confirmada	Ocurrencia <i>de novo</i> amb paternitat i maternitat assumida
Fenotip altament específic pel gen	2	1
Fenotip consistent amb el gen però no altament específic	1	0,5
Fenotip consistent amb el gen però no altament específic i alta heterogeneïtat genètica	0,5	0,25
Fenotip inconsistent amb el gen	0	0

Taula 16. Nivell de força de l'evidència PS2/PM6 aplicable en funció de la puntuació obtinguda segons les ocurrencies *de novo*.

PS2_Supporting o PM6_Supporting	PS2_Moderate o PM6	PS2 o PM6_Strong	PS2_VeryStrong o PM6_VeryStrong
0,5	1,0	2,0	4,0

VI. Criteris sobre dades al·lèliques

PM3 i BP2

En les malalties autosòmiques recessives, la presència d'una variant en *cis* (mateix al·lel) o *trans* (diferents al·lells) amb una variant patogènica coneguda, pot considerar-se com a evidència d'un rol benigne (BP2) o d'un rol patogènic (PM3), respectivament, pel que fa a la variant que estem avaluant. L'anàlisi genètica dels pares és imprescindible per determinar si la variant ocorre en *cis* o en *trans*. A més, aquesta evidència pot ser utilitzada amb un nivell de força fort si existeixen múltiples observacions de la variant en *trans* amb altres variants patogèniques[141].

En la revisió que va proposar el ClinGen SVI WG afegixen la possibilitat de que la variant en *cis* o en *trans* pugui estar classificada com a patogènica o possiblement patogènica (classificació obtinguda sense utilitzar com a evidència la variant que s'està avaluant). A més, proposen un sistema de puntuacions per assegurar que PM3 s'aplica amb el nivell de força correcta. Aquest sistema concedeix a cada proband una puntuació en base a la fase en què es troben les dues variants i la classificació de la variant present en l'altre al·lel (Taula 17). La sumatòria dels valors obtinguts per cada proband permet determinar el nivell de força apropiat per PM3[164] (Taula 18).

La utilització de PM3 està condicionada a la freqüència al·lèlica de la variant avaluada i de la variant en l'altre al·lel. Ambdues han de complir el criteri PM2 per tal d'evitar l'aplicació de

PM3 en variants amb freqüències al·lèliques altes i que per tant, és probable que ocorrin en *trans* amb altres variants[164].

En la confirmació de la fase, si únicament s'analitza un dels pares i aquest és portador d'un dels al·lells, es pot considerar que les variants es troben en *trans*[164].

En variants homozigotes, la puntuació baixa a 0,5 punts, ja que la ocurrència en homozigosi podria ser deguda a consanguinitat. Així doncs, es recomana una puntuació màxima d'un punt per tots els probands homozigots per evitar sobreclassificar les ocurrències en homozigosi[164].

Taula 17. Puntuació atorgada en funció de les ocurrències de la variant en *trans* amb una altra variant genètica.

Classificació/Zigositat de l'altra variant	Punts per proband	
	Fase en <i>trans</i> confirmada	Fase desconeguda
Variant patogènica o possiblement patogènica	1,0	0,5 (Patogènica) 0,25 (Possiblement patogènica)
Ocurrència en homozigosi (puntuació màxima 1,0)	0,5	NA
Variant de significat incert	0,25	0,0

Taula 18. Nivell de força de l'evidència PM3 aplicable en funció de la puntuació obtinguda segons les ocurrències en *trans*.

PM3_Supporting	PM3	PM3_Strong	PM3_VeryStrong
0,5	1,0	2,0	4,0

VII. Criteris sobre altres bases de dades

PP5 i BP6 – No aplicable

Inicialment, les guies ACMG/AMP van descriure la utilització dels criteris PP5 i BP6 en aquelles variants que laboratoris clínics experimentats publicaven en bases de dades, com per exemple ClinVar, juntament amb la seva classificació. Així doncs, si el registre havia estat fet recentment i proporcionaven una classificació encara que no s'especificuessin els criteris utilitzat per assolir-la, les guies ACMG/AMP proposaven utilitzar PP5 o BP6 en funció de si la classificació recolzava la patogenicitat o la benignitat de la variant, respectivament[141].

Les guies ACGS de l'any 2017 recomanaven aplicar aquests criteris de forma excepcional i preferiblement, instaven a contactar amb els laboratoris que havien publicat la classificació per tal de conèixer els criteris utilitzats per aquesta, així com l'herència i el fenotip del pacient en el qual aquella variant havia estat identificada[166].

Finalment, l'any 2018, el ClinGen SVI WG va proposar aturar la utilització dels criteris PP5 i BP6 per tal d'evitar la duplicació de criteris ja que podia donar lloc a errors en la classificació[165].

VIII. Criteris sobre altres dades addicionals

PP4

El criteri PP4 serà aplicable si es compleixen les següents condicions: 1) la sensibilitat clínica de l'anàlisi és alta amb la majoria de pacients positius per variants patogèniques en aquell gen; 2) el pacient presenta una malaltia ben definida amb poc solapament amb altres presentacions clíniques; 3) el gen no presenta alta presència de variants benignes; i 4) la història familiar és consistent amb el patró d'herència de la malaltia[141]. Aquest criteri no està necessàriament limitat a malalties amb una única etiologia genètica sinó que pot aplicar-se si el pacient presenta una sèrie de característiques fenotípiques per les que el nombre d'etiologies genètiques conegudes és limitat i tots aquests gens són analitzats[168].

PP4 rarament podrà ser considerat en la classificació de variants en gens associats a cardiopaties familiars donat que presenten heterogeneïtat genètica i, especialment en les miocardiopaties, existeixen etiologies no genètiques. En aquest treball PP4 s'ha aplicat a variants a *SCN5A* en un context de SBr i a variants a *RYR2* en un context de TVPC.

BP5 – No aplicable

En les malalties amb herència autosòmica dominant, la presència d'una variant en un cas amb una causa genètica alternativa clara de malaltia proporciona evidències per classificar la primera com a benigna i per tant, aplicarem el criteri BP5. No obstant, existeixen malalties en les quals la presència de múltiples variants pot contribuir a un fenotip més sever en el proband per tant, caldrà tenir especialment cura a l'hora d'avaluar aquesta situació i tenir en compte per exemple, la història familiar de la malaltia en familiars amb fenotips lleus[141].

En les cardiopaties familiars s'han descrit casos en els quals la combinació de dos o més variants causen fenotips més severs pel que no s'aplicarà aquest criteri[199-201].

3.4- Anàlisi estadística

S'ha realitzat una anàlisi descriptiva de les característiques clíniques dels pacients inclosos a aquesta tesi. Les variables contínues s'han expressat com a mitjana \pm desviació estàndard. Les variables categòriques s'han expressat com a freqüència absoluta i relativa.

La comparació de les proporcions de les variants reclassificades entre diferents cohorts es va realitzar mitjançant el test de Xi quadrat. En aquells casos en què es van determinar diferències estadísticament significatives, es va aplicar a posteriori un contrast de comparacions múltiples amb la funció `pairwise_prop_test` del software R per determinar quins grups presentaven les diferències.

Per a l'anàlisi de concordança entre les classificacions reportades originàriament i les classificacions efectuades en el treball d'aquesta tesi s'ha utilitzat el coeficient kappa ponderat de Cohen. Els valors utilitzats per a la interpretació són els següents: sense concordança (≤ 0), una concordança pobre (0,01-0,20), lleu (0,21-0,40), baixa (0,41-0,60), bona (0,61-0,80), molt bona (0,81-0,92) o excel·lent (0,92-1,00)[202].

Tots els resultats s'han considerat estadísticament significatius amb un valor de $p < 0,05$.

Les dades s'han analitzat mitjançant el software R (R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>).

IV. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1- Reinterpretació de les variants genètiques

En aquesta tesi doctoral s'han revisat de manera retrospectiva i prospectiva les anàlisis genètiques realitzades en individus avaluats a la UCF des de la creació d'aquesta unitat l'any 2012 i fins al desembre de 2021. Aquests individus consistien en casos índexs i familiars que van ser avaluats per cardiopaties familiars (canalopaties cardíques i miocardiopaties). S'han revisat 1898 anàlisis genètiques. El 38,09% de les anàlisis genètiques consistien en estudis de casos índexs (723 anàlisis genètiques) mentre que la resta eren estudis de familiars (1175 anàlisis genètiques) (Figura 1A).

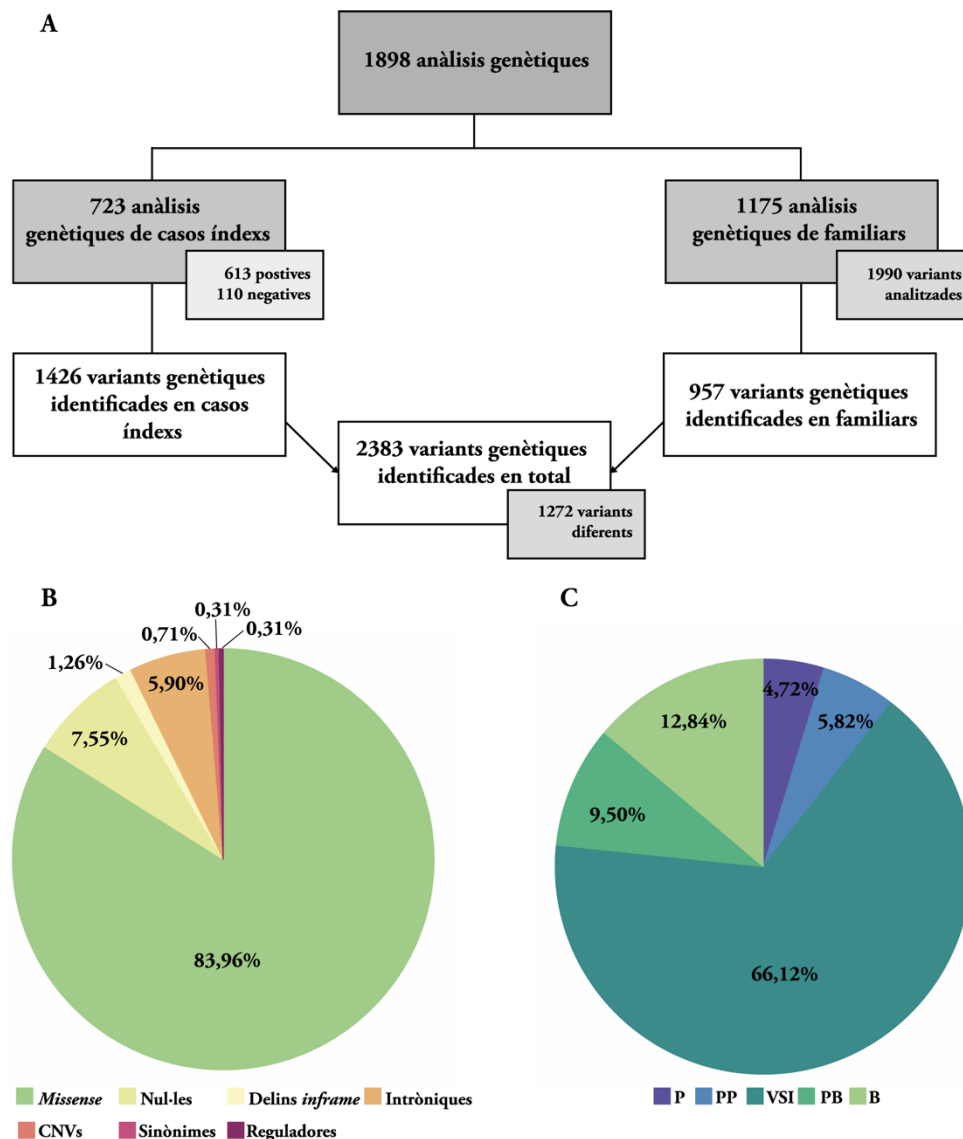


Figura 1. A) Esquema de la selecció de les variants genètiques incloses a l'estudi. B. Percentatge dels diferents tipus de variants que componen el grup de les 1272 variants genètiques úniques. C. Percentatge de cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació realitzada en les 1272 variants genètiques úniques. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

Entre els 723 casos índexs avaluats genèticament, 613 van resultar positius per alguna variant genètica (84,79% dels casos índexs avaluats), identificant un total de 1426 variants (1261 variants úniques). En els 1175 familiars es van analitzar un total de 1990 variants genètiques resultant en un resultat positiu per l'anàlisi de 957 variants i negatiu per les 1033 restants. Així, tot i que es van identificar o analitzar un total de 3416 variants que corresponien a 1279 variants diferents, es disposa de la classificació reportada a l'informe originari de 2383 variants genètiques (1426 reportades en casos índexs i 957 reportades en familiars), que corresponen a 1272 variants diferents (Figura 1A). La diferència de 7 variants genètiques entre les 1279 variants identificades o analitzades i les 1272 variants de les que es disposa de la classificació s'explica pel resultat negatiu en l'anàlisi genètica familiar d'aquestes 7 variants i per tant, donat que a l'informe de resultats no s'indicava la classificació s'han exclòs de les anàlisis realitzades en aquest treball.

Es parlarà de “variants identificades” en referència a aquelles variants descrites a les anàlisis genètiques de casos índexs així com a les variants analitzades a les anàlisis genètiques de familiars i amb resultat positiu.

Pel que fa a les 2383 variants genètiques identificades, representen 1272 variants diferents que corresponen a 1068 variants *missense* (83,96%), 96 variants nul·les (7,55%; 35 *nonsense*, 40 *frameshift* i 21 variants d'*splicing* a +/- 1 i 2), 16 delecions, duplicacions o delins *inframe* (1,26%), 75 variants intròniques (5,90%), 9 CNVs (0,71%), 4 variants sinònimes (0,31%) i 4 variants reguladores a 5'UTR (0,31%) (Figura 1B).

La reinterpretació de les 1272 variants genètiques úniques identificades a la UCF va resultar en 60 variants P (4,72%), 74 de PP (5,82%), 841 de VSI (66,12%), 121 de PB (9,51%) i 176 de B (13,84%) (Figura 1C). Així, la majoria de les variants adquireixen una classificació VSI i per tant, es desconeix actualment el seu rol en la malaltia. Un 23,35% són variants genètiques que a dia d'avui no es reportarien ja que es consideren PB/B, i un 10,54% són variants genètiques que es consideren potencialment causants de la patologia (P/PP) i permeten la realització d'una anàlisi genètica als familiars per tal de determinar aquells que presenten risc de patir la malaltia identificada a la família i aquells als que no serà necessari realitzar seguiment.

Per tal de determinar l'efecte de la reinterpretació es va comparar la classificació reportada a l'informe originari amb l'actualització de la classificació efectuada en aquesta tesi doctoral. La revisió dels informes originaris va identificar que 408 variants estaven descrites en

múltiples (entre 2-18) anàlisis genètiques, ja fos en diversos casos índexs o en varis familiars. Algunes d'aquestes variants s'havien reportat amb classificacions diferents en les diverses anàlisis genètiques on es reportava la mateixa variant. Per tenir en consideració aquest fet, en l'anàlisi de l'impacte de la reinterpretació efectuat en aquesta tesi doctoral s'han inclòs totes les variants reportades durant el període d'estudi, inclús aquelles identificades múltiples vegades (2383 variants).

Les variants amb una classificació P/PP es consideren significatives clínicament o clínicament rellevants, mentre que les VSI i les PB/B es consideren de significat clínic desconegut i sense significat clínic, respectivament. Els següents canvis en la classificació comporten un impacte en la rellevància clínica: variant P/PP reclassificada a VSI, variant P/PP/VSI reclassificada a PB/B i variant VSI reclassificada a P/PP.

Pel que fa a les 2383 variants genètiques identificades en aquest estudi, 178 s'havien reportat originàriament com a P (7,47%), 442 com a PP (18,55%), 1755 com a VSI (73,65%) i 8 com a PB (0,34%) (Figura 2A). Les variants genètiques informades com a variants PB a l'informe originari corresponen a variants identificades en anàlisis genètiques de familiars, de manera que quan se'n va fer l'informe de l'anàlisi genètica familiar ja van ser reavaluades i es van considerar PB.

La reinterpretació de les 2383 variants genètiques va resultar en 245 variants classificades com a P (10,28%), 175 variants PP (7,34%), 1444 variants VSI (60,60%), 199 variants PB (8,35%) i 320 variants B (13,43%) (Figura 2A). De les 2383 variants genètiques reavaluades, el 37,81% van obtenir una classificació diferent a l'originària (901 variants) i en un 33,40% el canvi en la classificació era clínicament rellevant (796 variants; P/PP a VSI o a PB/B i VSI a P/PP o a PB/B) (Figura 2B). La taxa global de reclassificació observada en aquesta tesi doctoral és similar a la reportada recentment per Davies B *et al*[203] en un estudi on avaluaven 129 variants genètiques identificades en individus que havien sobreviscut a una aturada cardíaca inexplicada, obtenint una taxa de reclassificació del 37,98% i una taxa de reclassificació amb impacte sobre la rellevància clínica del 32,56%. Un altre estudi realitzat en 185 pacients amb diagnòstic d'epilèpsia pediàtrica també descrivia unes taxes similars tant de la reclassificació de les variants com de l'impacte en la rellevància clínica (36,20% i 31,1%)[204]. Tanmateix, la nostra taxa de reclassificació és lleugerament superior a la reportada per Quiat D *et al*[205] en el seu estudi sobre la reinterpretació de les variants genètiques identificades en una cohort de 114 pacients amb diagnòstic de MCD. En aquest estudi descriuen una taxa de reclassificació del 29,82% amb un impacte en la rellevància

clínica del 26,32%. La taxa de reclassificació obtinguda en aquesta tesi també és superior a les taxes de reclassificació reportades a estudis on realitzen una reinterpretació de les variants genètiques identificades en pacients amb càncer hereditari (3,60%-12,40%)[206-210].

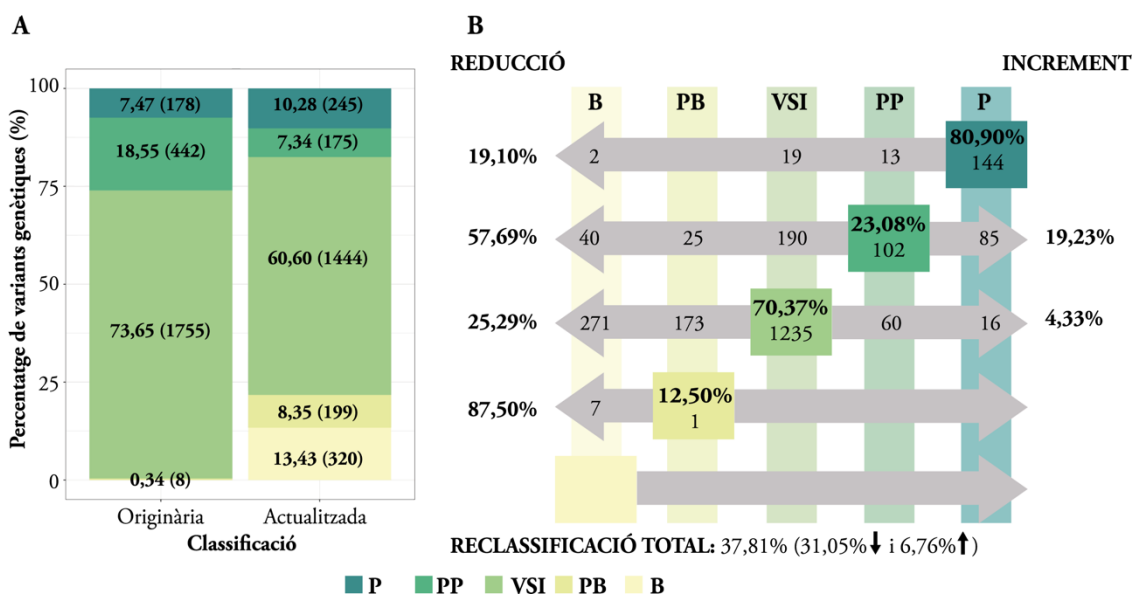


Figura 2. A) Percentatge i número de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació (2383 variants). B) Taxa de reclassificació segons la classificació originària. A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

De forma general i tal i com s'ha descrit en altres dels estudis mencionats anteriorment, en aquesta tesi doctoral s'observa que l'actualització de la classificació de les variants genètiques majoritàriament provoca una reducció en la classificació. La proporció de variants genètiques classificades com a PP i com a VSI disminueix (18,55% vs 7,34% i 73,65% vs 60,60%, respectivament) i augmenten les variants classificades com a tipus PB i B (0,34% vs 8,35% i 0% vs 13,43%). L'únic nivell de classificació al que s'observa un augment de la proporció de variants és al de les variants classificades originàriament com a P, que passa del 7,47% al 10,28% (Figura 2B).

Donat que la comparació entre les proporcions de les classificacions inicials i les proporcions després de la reinterpretació no és representativa dels canvis produïts en la classificació, es va realitzar una anàlisi estadística de concordança utilitzant el coeficient kappa de Cohen[202]. Així, l'anàlisi de concordança entre la classificació reportada als informes originaris i la classificació actualitzada de les 2383 variants genètiques mostra una

concordança lleu ($k=0,3575$; Figura 5). A continuació, es va avaluar quins són els canvis en la classificació pels que s'obté una concordança lleu entre ambdues classificacions.

Pel que fa a les variants classificades inicialment com a P, el 80,90% mantenen aquesta classificació (144 variants) mentre que el 19,10% pateixen una disminució (34 variants). L'11,80% de les variants classificades inicialment com a P (21 variants) pateixen una reclassificació clínicament rellevant, disminuint la classificació en 2 o més nivells i per tant, obtenint una classificació actualitzada de VSI o B (Figura 2B). El 57,69% de les variants classificades a l'informe originari com a PP perden rellevància clínica en la reclassificació, obtenint una classificació de VSI (42,99%) o PB/B (14,71%); mentre que el 42,31% conserven la rellevància clínica ja que mantenen la classificació o l'incrementen a P (23,08% i 19,23%, respectivament) (Figura 2B). El 70,37% de les variants genètiques classificades inicialment com a VSI conserven aquesta classificació mentre que el 29,62% restant sofreixen una reclassificació que alhora afecta el seu significar clínic: el 25,29% de les variants redueixen la classificació a PB/B i el 4,33% adquireixen una classificació P/PP (Figura 2B). Finalment, el 12,50% de les variants genètiques que van ser reportades com a PB (8 variants) mantenen la classificació i el 87,50% la veuen rebaixada a B (Figura 2B).

Així, les variants classificades originàriament com a PP són les que sofreixen una major proporció de reclassificacions amb un 57,69% de disminució en la classificació i un 19,23% d'augment. Aquesta major reclassificació de les variants originàriament classificades com a PP (76,92%) respecte les classificades com a VSI (29,62%) també s'ha descrit en altres estudis com el de Davies *et al*[203]. Tot i que no es disposa dels criteris o evidències utilitzades per a establir la classificació reportada als informes originaris, l'elevada proporció de variants genètiques que perden patogenicitat en la reclassificació probablement es deu al fet que abans de la publicació i implementació de les guies ACMG/AMP i de la publicació de bases de dades com ExAC i gnomAD, s'atorgava un pes molt elevat i suficient per considerar una variant com a PP, a evidències com l'absència de la variant a bases de dades poblacionals com Exome Variant Server i 1000Genomes i als predictors *in silico*. A més, la implementació de bases de dades com ExAC i gnomAD i especialment, la freqüència al·lèlica filtrada de la població amb la major freqüència al·lèlica, ha permès establir els límits de la freqüència al·lèlica als quals una variant pot classificar-se directament com a B (BA1) o en els quals es considera superior a l'esperada per la malaltia (BS1) i s'ha pogut reclassificar aquelles variants que no presenten una rellevància clínica degut a la seva alta freqüència al·lèlica en població general. La majoria de les variants en les quals l'aplicació d'un d'aquests dos criteris ha causat

la seva classificació a PB/B són variants originàriament classificades com a VSI, tot i que també hi ha algunes variants originàriament classificades com a P/PP. A totes les variants que han estat reclassificades a PB/B se'ls hi ha aplicat el criteri BA1 o el criteri BS1 juntament amb altres que en recolzen la benignitat.

En resum, la taxa de reclassificació de les variants genètiques identificades en aquest estudi és del 37,81%, representant un augment de la classificació en el 6,76% i una reducció en el 31,05% (Figura 2B). La taxa de reclassificació que provoca un canvi en la rellevància clínica és del 33,40%. Específicament, el 14,44% (344/2383 variants) i el 3,19% (76/2383 variants) del total de variants genètiques avaluades mantenen o adquireixen rellevància clínica com a variants P/PP, respectivament. El 8,77% de les variants disminueixen la rellevància clínica degut a la reclassificació de P/PP a VSI (209/2383 variants), passant a una significació clínica incerta. El 51,83% de les variants mantenen la classificació de VSI (1235/2383 variants) i per tant, la rellevància clínica incerta; i el 21,78% restant (519/2383 variants) consisteix en variants genètiques sense rellevància clínica (PB/B). En aquest últim grup de variants trobem canvis en la classificació des de totes les categories: P a B, PP a PB/B, VSI a PB/B (pèrdua de rellevància clínica) i PB a B (mantenen la falta de rellevància clínica).

4.1.1- Diferències en la reinterpretació de les variants genètiques segons el fenotip

Donat que el conjunt de variants genètiques a les que es va realitzar l'actualització de la classificació incloïa variants identificades en pacients tant de canalopaties cardíques com de miocardiopaties i observant les diferències en la taxa de reclassificació reportades en estudis de diferents patologies com el càncer hereditari o inclús per una miocardiopatia concreta com la MCD, es va suggerir la hipòtesi que la taxa de reclassificació podria variar en funció del fenotip associat a les variants genètiques que s'estan reinterpretant. Per avaluar aquesta hipòtesi es va realitzar una selecció de les variants que havien estat identificades en pacients amb canalopaties cardíques i aquelles identificades en pacients amb miocardiopaties. Amb l'objectiu d'evitar desviacions en la interpretació, per a la cohort de canalopaties cardíques es van incloure únicament aquelles variants identificades en gens associats a canalopaties cardíques a les famílies avaluades a la UCF que presentaven un diagnòstic de canalopatia cardíaca i es van excloure aquells casos de MS i MSR en què l'anàlisi molecular i familiar no va permetre la diagnosi d'una canalopatia cardíaca, així com els seus familiars. Per la cohort de miocardiopaties es van incloure únicament aquelles variants identificades en gens associats

a miocardiopaties a les famílies avaluades a la UCF pel diagnòstic i/o història familiar d'una miocardiopatia, així com en els casos i famílies inclosos al projecte MOSCAT als que se'ls va poder establir la diagnòstic de miocardiopatia després de l'avaluació familiar. Aquesta selecció va incloure 1369 variants genètiques: 316 variants a la cohort de canalopaties cardíques i 1053 variants a la cohort de miocardiopaties.

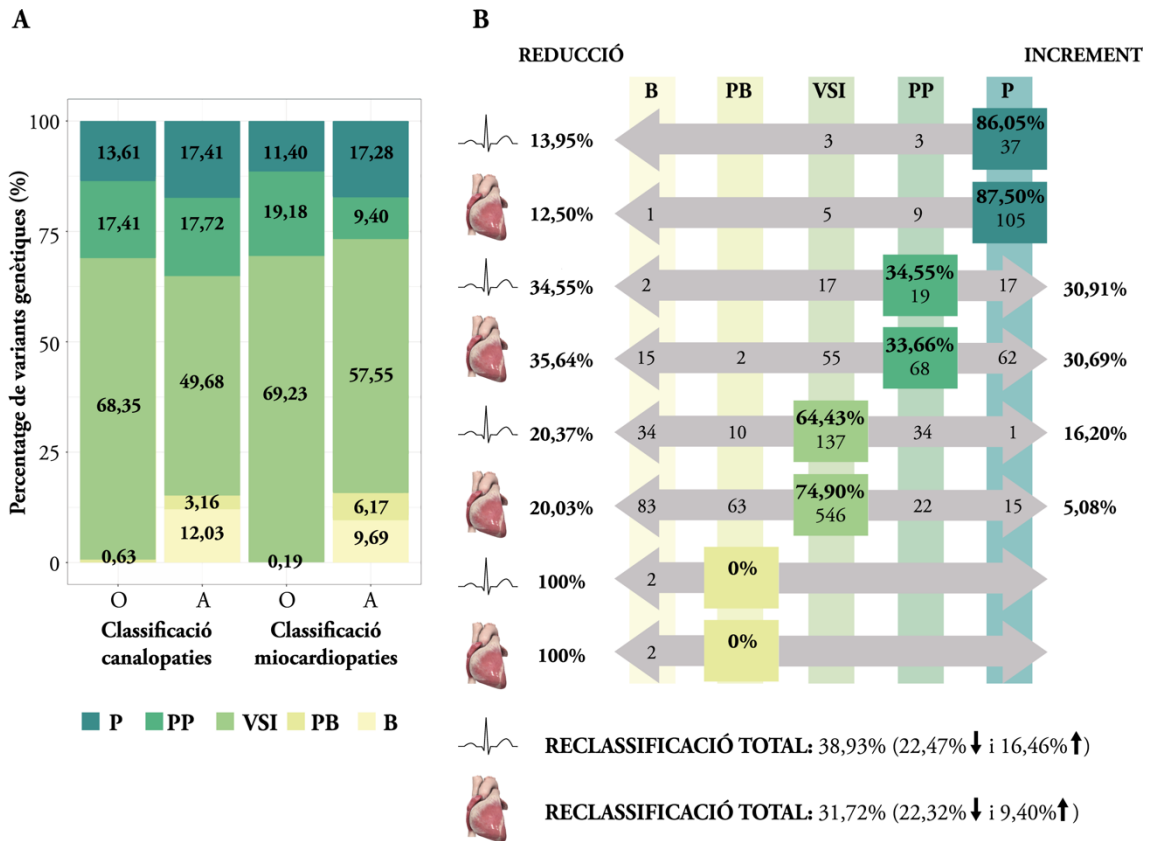


Figura 3. A) Percentatge de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de canalopaties cardíques i a la cohort de miocardiopaties. B) Taxa de reclassificació segons la classificació originària de les variants incloses a la cohort de canalopaties cardíques (representades amb la imatge d'un ECG) i les incloses a la cohort de miocardiopaties (representades amb la imatge d'un cor). A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

A la Figura 3A es representen les proporcions de variants per cadascuna de les classificacions reportades originàriament i les proporcions de variants que constitueixen cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació realitzada en aquesta tesi per les cohorts de canalopaties cardíques i miocardiopaties. De forma general, es va observar que a la cohort de canalopaties cardíques, el 61,08% de les variants mantenen la classificació, el 22,47% sofreixen una reducció de la classificació i el 16,46% presenten un augment en la classificació; mentre que a la cohort de miocardiopaties, el 68,28% de les variants mantenen la classificació,

el 22,32% sofreixen una reducció de la classificació i el 9,40% presenten un augment de la classificació. Aquests resultats representen una taxa de reclassificació del 38,93% de les variants de la cohort de canalopaties cardíques i del 31,72% de les variants de la cohort de miocardiopaties (Figura 3B).

L'anàlisi comparativa ha demostrat que existeixen diferències significatives en les proporcions de reclassificació de les variants genètiques entre la cohort de canalopaties cardíques i la cohort de miocardiopaties ($p=1,61e^{-3}$). S'observa que la proporció de variants genètiques que augmenta la classificació és significativament superior a la cohort de canalopaties cardíques respecte la cohort de miocardiopaties ($p=6,54e^{-4}$; 16,46% vs 9,40%), mentre que la proporció de variants genètiques en les quals es manté la classificació després de la reinterpretació és major a la cohort de miocardiopaties ($p=0,0207$; 61,08% vs 68,28%). No s'observen diferències significatives en la proporció de variants genètiques que sofreixen una disminució de la classificació entre les dos cohorts avaluades ($p=1$; 22,47% vs 22,32%).

Pel que fa a la rellevància clínica, a la cohort de canalopaties cardíques, el 68,03% de les variants mantenen la rellevància clínica inicial (el 24,05% són rellevants, el 43,35% tenen una rellevància desconeguda i el 0,63% no presenten rellevància clínica), el 20,89% sofreixen una reducció de la rellevància clínica (6,33% passen de tenir rellevància clínica a presentar una rellevància desconeguda i un 14,56% passen d'una rellevància desconeguda a no presentar rellevància clínica), mentre que l'11,08% incrementen la rellevància de desconeguda a rellevància clínica. A les miocardiopaties, el 75,21% de les variants mantenen la rellevància clínica inicial (el 23,17% són rellevants clínicament, el 51,85% tenen una rellevància desconeguda i el 0,19% no presenten rellevància clínica), el 21,27% sofreixen una reducció en la rellevància clínica (5,70% passen de ser rellevants clínicament a una rellevància desconeguda i un 15,57% passen d'una rellevància desconeguda a l'absència de rellevància clínica), i un 3,51% incrementen la rellevància de desconeguda a rellevància clínica. Així, en l'avaluació de l'impacte de la reclassificació en la rellevància clínica s'observa la mateixa tendència que en la reclassificació de les variants: a la cohort de canalopaties cardíques la proporció de variants que augmenten la rellevància clínica és significativament superior respecte la cohort de miocardiopaties ($p=2,78e^{-7}$; 11,08% vs 3,51%), la proporció de variants que mantenen la rellevància clínica és significativament superior a la cohort de miocardiopaties ($p=0,0317$; 68,03% vs 75,21%) i no s'observen diferències significatives entre les dos cohorts pel que fa a les variants genètiques que veuen disminuïda la seva rellevància clínica ($p=0,945$; 20,89% vs 21,27%) (Figura 3B).

Per tal de determinar si les diferències entre ambdues cohorts afectaven a totes les classificacions, es va procedir a avaluar la taxa de reclassificació en funció de la classificació inicial de les variants genètiques a cadascuna de les cohorts. Pel que fa a les variants classificades originàriament com a P, el 86,05% i el 87,50% de les variants de la cohort de canalopaties cardíques i de la cohort de miocardiopaties, respectivament, van mantenir la classificació P; mentre que el 13,95% i el 12,50%, respectivament, van ser reclassificades rebaixant la classificació en un o més nivells. Així, no s'observen diferències significatives entre la reclassificació de les variants originàriament reportades com a P entre la cohort de canalopaties cardíques i la cohort de miocardiopaties ($p=1$) (Figura 3B).

Tampoc s'observen diferències significatives en la reclassificació de les variants reportades a l'informe originari com a PP ni en les reportades com a PB entre les dues cohorts estudiades ($p=0,9874$ i $p=1$, respectivament). A la cohort de canalopaties cardíques, un 34,55% de les variants reportades inicialment com a PP disminuïen la classificació, un 34,55% la mantenien i un 30,91% l'augmentaven a P; mentre que a la cohort de miocardiopaties, el 35,64% de les variants classificades originàriament com a PP reduïen la classificació, el 33,66% la mantenien i en el 30,69% es veia incrementada a P. En ambdues cohorts, la totalitat de les variants reportades originàriament com a PB es reclassifiquen a B (Figura 3B).

Finalment, s'observen diferències significatives entre la cohort de canalopaties cardíques i la cohort de miocardiopaties en la reclassificació de les variants que a l'informe inicial van ser reportades com a VSI ($p=2,871e^{-7}$). En les VSI, qualsevol classificació comporta un canvi en la rellevància clínica, ja sigui perquè passen a ser considerades rellevants clínicament (P/PP) o sense rellevància clínica (PB/B). Concretament, en el 20,37% de les variants originàriament classificades com a VSI de la cohort de canalopaties cardíques i en el 20,03% de les de la cohort de miocardiopaties es produeix una disminució de la classificació a PB/B, passant a la categoria de variants genètiques sense rellevància clínica. No s'observen diferències significatives entre les dues cohorts en la proporció de VSI que disminueixen la classificació i que per tant, esdevenen variants sense rellevància ($p=0,989$). La majoria de les variants genètiques reportades inicialment com a VSI conserven aquesta classificació en ambdues cohorts (63,43% en la cohort de canalopaties cardíques i 74,90% en la cohort de miocardiopaties), observant una proporció significativament major a la cohort de miocardiopaties ($p=1,28^{-3}$). Un 16,20% de les VSI de la cohort de canalopaties cardíques i un 5,08% de les VSI de la cohort de miocardiopaties augmenten la classificació a P/PP, esdevenint variants amb rellevància clínica (Figura 4). La cohort de canalopaties cardíques

mostra una proporció significativament superior de VSI que incrementen la seva classificació respecte la cohort de miocardiopaties ($p=1,38e^{-7}$). Específicament, s'observa que únicament existeixen diferències significatives entre la cohort de canalopaties cardíques i la cohort de miocardiopaties en les VSI que són reclassificades a PP ($p=1,11e^{-11}$, 15,74% vs 3,02%, respectivament); mentre que la diferència entre les proporcions de variants VSI que adquireixen una classificació P no és significativa ($p=0,195$; 0,46% vs 2,06%, respectivament) (Figura 4). El motiu principal pel que les variants VSI de la cohort de canalopaties cardíques van adquirir una classificació PP va ser per l'aplicació del criteri PP1 (segregació de la variant amb la malaltia) i/o del criteri PM1 (variants identificades en un *hot spot* mutacional). En un article publicat per Walsh *et al* a principis de 2021 es descriuen aquelles regions enriquides de variants genètiques patogèniques en els gens *KCNQ1*, *KCNH2* i *SCN5A* en pacients amb SQTLL, i a *SCN5A* en pacients amb SBr, aportant noves dades per a l'aplicació de l'evidència sobre *hot spot* i regions enriquides[174].

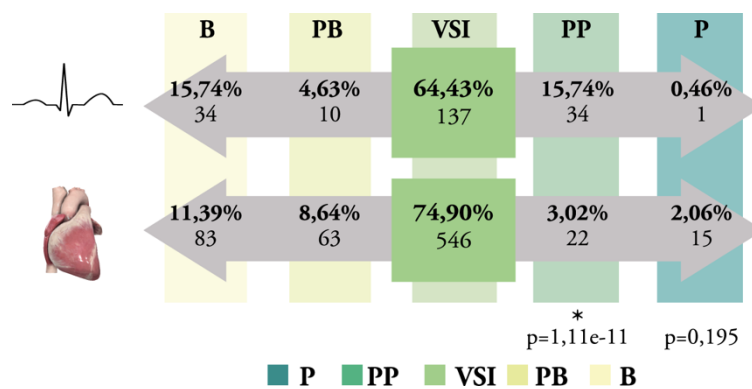


Figura 4. Taxa de reclassificació de les variants reportades originàriament com a VSI a la cohort de canalopaties cardíques (representades amb la imatge d'un ECG) i a la cohort de miocardiopaties (representades amb la imatge d'un cor). P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

Aquest fet ens reafirma que les guies ACMG/AMP publicades l'any 2015 per a la classificació de les variants genètiques són unes guies dinàmiques i en constant evolució i representen únicament la base per a les diferents especificacions i recomanacions que es van publicant per a una aplicació més apropiada de cadascun dels criteris. La descripció de dades específiques per a la utilització de cadascun dels criteris és fonamental per tal d'assolir una major objectivitat en la classificació. S'han realitzat varis estudis que demostren una alta subjectivitat en la classificació de les variants genètiques tant entre laboratoris com entre professionals d'un mateix laboratori[157, 203] Aquesta característica dinàmica de les pròpies guies en dificulta la utilització ja que cal realitzar una cerca constant de noves actualitzacions i recomanacions i alhora, confereix una major importància a la reinterpretació de les variants.

Tot i això, és difícil determinar amb quina freqüència caldria realitzar la reinterpretació de les variants genètiques identificades.

4.1.2- Diferències en la reinterpretació de les variants genètiques segons l'any de la classificació inicial

En la comparació de la classificació originària i la classificació actualitzada de les 2383 variants genètiques s'ha observat una concordança lleu ($k=0,3575$). Tanmateix, es parteix de la hipòtesi que la concordança entre la classificació originària i la classificació actual serà major com menor sigui el temps des de que s'ha realitzat la classificació inicial. Amb l'objectiu d'intentar establir el temps més apropiat per a la reinterpretació de les variants genètiques, es va avaluar l'impacte que té l'actualització de la classificació en funció del temps que fa que es va reportar originàriament la variant genètica.

En 6 dels individus avaluats a la UCF durant el període d'estudi, l'informe de l'anàlisi genètica va ser emès durant l'any 2011. Entre les variants reportades a aquests informes hi havia 3 variants diferents, totes classificades com a variants P. Aquesta classificació es manté després de l'actualització de les classificacions i per tant, la taxa de reclassificació de les variants classificades originàriament l'any 2011 és del 0%. Tanmateix, el nombre reduït de variants reportades durant aquest any fa que aquests resultats no puguin ser utilitzats per establir les conclusions.

L'any 2012 es van identificar 18 variants en les anàlisis genètiques realitzades a 16 individus diferents (8 casos índexs i 8 familiars). Als informes originaris, el 33,33% de les variants es van reportar com a P (6 variants), l'11,11% com a PP (2 variants) i el 55,56% com a VSI (10 variants). Després de la reinterpretació de les variants, el 44,44% es van considerar P (8 variants), el 5,56% es van considerar PP (1 variant), el 44,44% es van considerar VSI (8 variants) i el 5,56% restant es van considerar B (1 variant) (Figura 5). Concretament, un 83,33% de les variants reportades com a P l'any 2012 van mantenir la classificació mentre que el 16,67% es va reclassificar a VSI. Les dos variants reportades originàriament com a PP van rebaixar la classificació a VSI. Finalment, la meitat de les variants classificades inicialment com a VSI van mantenir aquesta classificació mentre que el 40% es va reclassificar a P/PP (10% a PP i 30% a P) i el 10% a PB. L'anàlisi comparativa entre la classificació originària de i la classificació després de la reinterpretació de les variants reportades l'any 2012 va resultar en una concordança lleu ($k=0,3390$). En global, la taxa de reclassificació de les variants reportades en informes emesos l'any 2012 és del 44,44%, amb la mateixa proporció de

reduccions en la classificació que d'increments. Totes les reclassificacions realitzades corresponen a reinterpretacions clínicament rellevants (P/PP a VSI i VSI a P/PP o B) (Figura 6A).

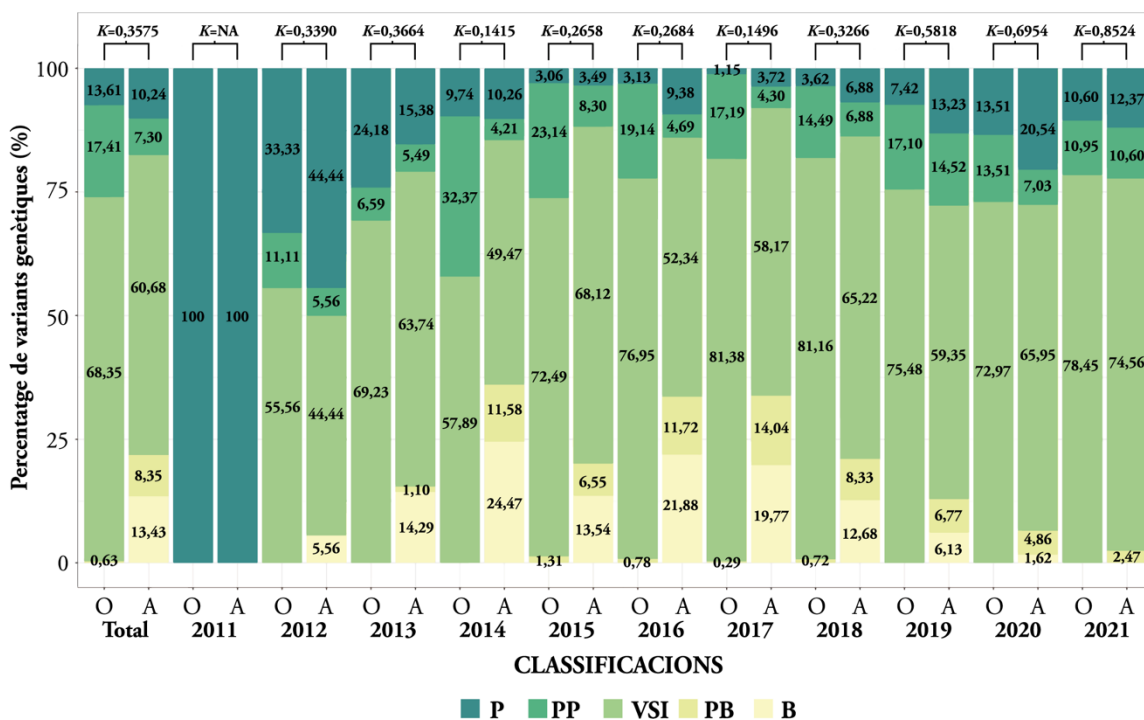


Figura 5. Comparació dels percentatge de variants per cadascuna de classificació reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació de les 2383 variants genètiques en funció de l'any en què es van reportar originàriament i coeficient Kappa per cadascun dels anys. O: classificació originària; A: classificació actualitzada; P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

L'any 2013 es van identificar 91 variants genètiques en 77 individus (28 casos índexs i 49 familiars). En global, un 24,18% d'aquestes variants genètiques van ser reportades a l'informe originari com a P (22 variants), un 6,59% com a PP (6 variants) i un 69,23% com a VSI (63 variants). La reinterpretació d'aquestes variants va resultar en un 15,38% de les variants classificades com a P (14 variants), un 5,49% com a PP (5 variants), un 63,74% com a VSI (58 variants), un 1,10% com a PB (1 variant) i 14,29% com a B (13 variants) (Figura 5). Pel que fa a les variants inicialment reportades com a P l'any 2013 (22 variants), un 45,45% van veure reduïda la seva classificació després de la reinterpretació realitzada en aquest estudi (2 PP i 8 VSI); mentre que el 54,54% van romandre amb la mateixa classificació (12 variants). El 100% de les variants classificades inicialment com a PP van patir una reducció de la classificació (5 VSI i 1 B). Finalment, el 20,63% de les variants classificades originàriament com a VSI van patir una disminució en la classificació (1 PB i 12 B) i el 79,4% van ser reclassificades a classificacions superiors (3 PP i 2 P), mentre que el 71,43% de les variants d'aquest grup van restar com a VSI (43 variants). En la comparació de la classificació

originària i la classificació actualitzada de les variants reportades en informes emesos l'any 2013 es va observar una concordança lleu ($k=0,3664$). En general, la classificació assignada a les variants genètiques identificades l'any 2013 mostra una taxa de reclassificació del 37,36%, representada per un 31,87% de reduccions en la classificació i un 5,49% d'increments. En el 35,16% de les variants reportades l'any 2015 l'actualització de la classificació repercuteix a la rellevància clínica (P/PP a VSI o B i VSI a P/PP o PB/B) (Figura 6B).

L'any 2014 es van identificar 380 variants genètiques en 212 individus (92 casos índexs i 120 familiars). El 9,74% d'aquestes van ser reportades originàriament com a P (37 variants), el 32,37% com a PP (123 variants) i el 57,89% com a VSI (220 variants), mentre que la reinterpretació va modificar les proporcions de cadascuna de les classificacions quedant en un 10,26% de les variants classificades com a P (39 variants), un 4,21% com a PP (16 variants), un 49,47% com a VSI (188 variants), un 11,58% com a PB (44 variants) i un 24,47% com a B (93 variants) (Figura 5). Concretament, a la reinterpretació s'observa que un 32,43% de les variants classificades originàriament com a P perden aquesta classificació (1 PP, 9 VSI i 2 B), el 92,68% de les variants classificades l'any 2014 com a PP són reclassificades a una classificació menor (52 VSI, 24 PB i 38 B), mentre que el 5,69% passen a ser considerades variants P (7 variants). Pel que fa a les variants classificades com a VSI l'any 2014, el 33,18% veuen aquesta classificació reduïda a PB (20 variants) i B (53 variants) i el 9,09% la veu incrementada a PP (13 variants) i P (7 variants). El 67,57% de les variants que l'any 2014 van ser classificades com a P (25 variants) i el 57,73% de les variants que van classificar-se com a VSI (127 variants) mantenen aquesta classificació, mentre que només un 1,63% de les variants classificades l'any 2014 com a PP segueixen considerant-se PP (2 variants). L'avaluació de l'acord entre la classificació reportada l'any 2014 i la classificació realitzada en aquest estudi mostra una concordança pobre ($k=0,1415$). En global, la taxa de reclassificació de les variants genètiques reportades als informes emesos l'any 2014 va ser del 59,47%, amb un 52,37% de variants reclassificades a una categoria inferior i un 7,10% a categories superiors. Considerant les classificacions que impliquen canvis en la rellevància clínica, la taxa de reinterpretació clínicament rellevant va ser del 57,37% en aquelles variants identificades l'any 2014 (Figura 6C).

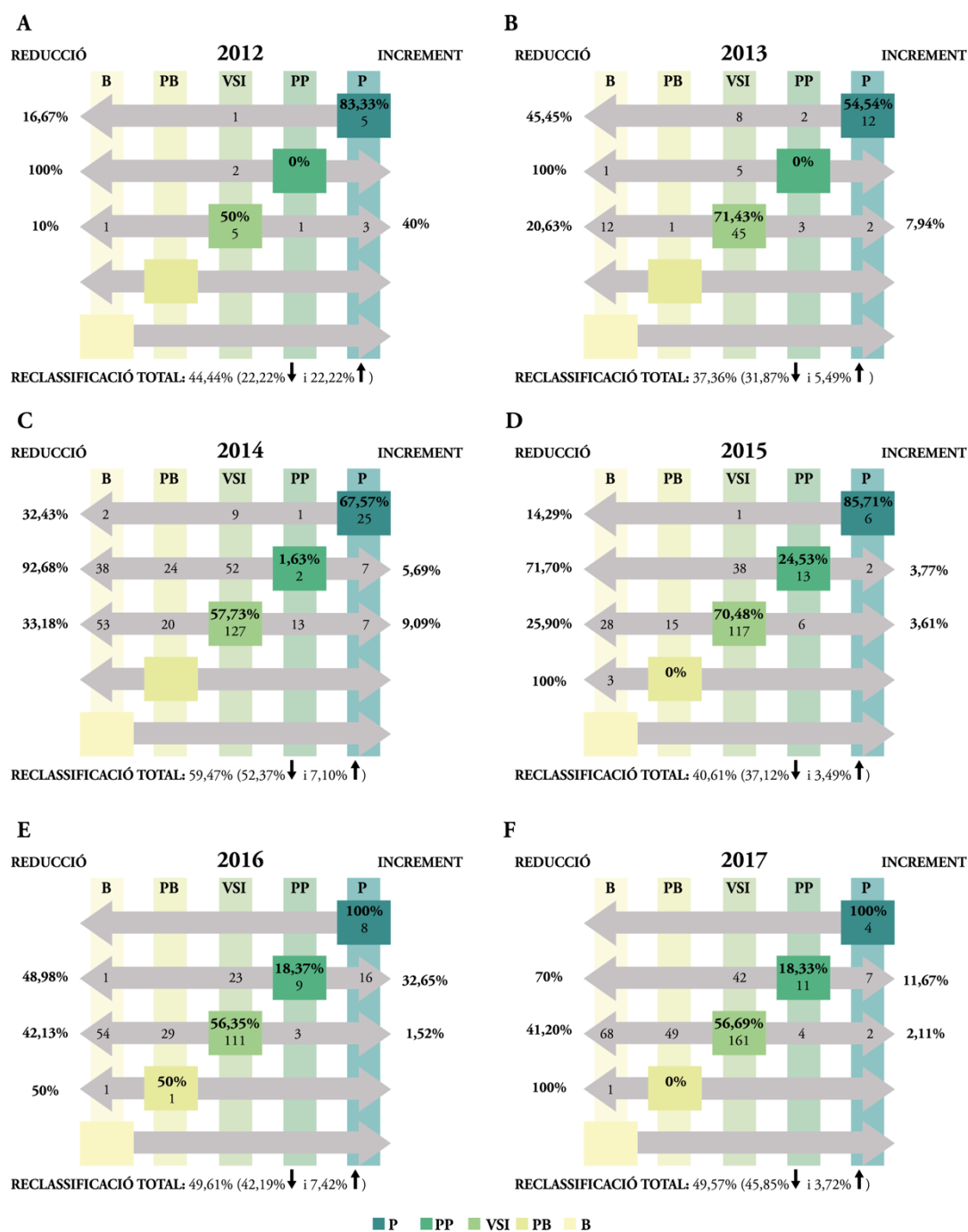


Figura 6. Taxa de reclassificació segons la classificació originària i l'any en què es van reportar les variants genètiques (2012-2017). A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

L'any 2015 es van reportar un total de 229 variants genètiques en 134 individus (54 casos índex i 80 familiars). Un 3,06% d'aquestes variants van ser reportades com a P (7 variants), un 23,14% com a PP (53 variants), un 72,49% com a VSI (166 variants) i un 1,31% com a PB (3 variants). La reinterpretació va comportar la redistribució d'aquestes proporcions

quedant en: 3,49% P (8 variants), 8,30% PP (19 variants), 69,12% VSI (156 variants), 6,55% PB (15 variants) i 13,54% B (31 variants) (Figura 5). Específicament, el 14,29% de les variants classificades l'any 2015 com a P van ser considerades VSI (1 variant) després de la reinterpretació. Pel que fa a les variants reportades l'any 2015 com a PP, el 71,70% es van veure reduïdes a VSI (38 variants) i el 3,77% van augmentar la classificació a P (2 variants). Finalment, un 25,90% de les variants classificades com a VSI l'any 2015 van disminuir la classificació a PB (15 variants) i a B (28 variants) i un 3,61% es va reclassificar a PP (6 variants). L'anàlisi de la concordança entre la classificació que presentaven les variants genètiques en les anàlisis genètiques reportades l'any 2015 i la que adquireixen després de la reinterpretació realitzada en aquest estudi mostra una concordança lleu ($k=0,2658$). En general, la taxa de reclassificació de les variants reportades en informes emesos l'any 2015 és del 40,61%, amb una major proporció de variants que veuen reduïda la seva classificació (37,12%) respecte les variants que la veuen incrementada (3,49%). Tanmateix, la taxa de reclassificacions considerades clínicament rellevants és del 38,43% (Figura 6D).

L'any 2016 es van reportar 256 variants genètiques en 110 individus (62 casos índexs i 48 familiars). Segons la classificació que consta als informes de les anàlisis genètiques emeses l'any 2016, un 3,13% eren P (8 variants), un 19,14% eren PP (49 variants), un 76,95% eren VSI (197 variants) i un 0,78% eren PB (2 variants). Un cop realitzada l'actualització de la classificació, el 9,38% de les variants reportades l'any 2016 es consideren P (24 variants), el 4,69% es consideren PP (12 variants), el 52,34% són VSI (134 variants), l'11,72% es consideren PB (30 variants) i el 21,88% són B (56 variants) (Figura 5). Totes les variants reportades l'any 2016 com a P (8 variants) van mantenir aquesta classificació després de la reinterpretació. Per contra, el 48,98% de les variants considerades PP l'any 2016 van reduir aquesta classificació (23 VSI i 1 B) i el 32,65% van elevar-se a P (16 variants). La classificació va patir una reducció en el 42,13% (29 PB i 54 B) de les variants reportades l'any 2016 com a VSI i es va augmentar en l'1,52% (3 variants). De les 2 variants reportades com a PB en l'informe emès l'any 2016, 1 va ser reclassificada a B. L'avaluació del consens entre la classificació de les variants genètiques que apareix als informes de l'any 2016 i la classificació actualitzada mostra una concordança lleu ($k=0,2684$). En general, la taxa de reclassificació de les variants genètiques descrites l'any 2016 és del 49,61% amb un 42,19% sent reduccions en la classificació i un 7,42% suposant increments. Considerant únicament aquelles reclassificacions que també repercuteixen en la rellevància clínica de les variants, la taxa de

reinterpretació clínicament rellevant va ser del 42,97% en les variants reportades l'any 2016 (Figura 6E).

De les 349 variants genètiques reportades l'any 2017 en 163 individus (66 casos índexs i 97 familiars), un 1,15% van ser descrites com a P (4 variants), un 17,19% es van com a PP (60 variants), un 81,38% com a VSI (284 variants) i el 0,29% restant es van considerar variants PB (1 variant). Després de la reinterpretació realitzada en aquesta tesi, el 3,72% de les variants es van classificar com a P (13 variants), el 4,30% com a PP (15 variants), el 58,17% com a VSI (203 variants), el 14,04% com a PB (49 variants) i el 19,77% com a B (69 variants) (Figura 5). En l'anàlisi específica de l'efecte produït per la reinterpretació es va observar que cap de les variants reportades l'any 2017 com a P van modificar la classificació (4 variants), el 70% de les variants classificades l'any 2017 com a PP es van reclassificar a VSI (42 variants) i l'11,67% van incrementar la classificació a P (7 variants). Pel que fa a les variants reportades com a VSI l'any 2017, el 41,20% de les variants van disminuir la classificació (49 PB i 48 B), mentre que únicament el 2,11% es reclassifiquen a una classificació superior (4 PP i 2 P). L'avaluació de la concordança entre la classificació de les variants genètiques reportades en les anàlisis genètiques emeses l'any 2017 i la classificació actualitzada d'aquestes variants evidencia una concordança pobre ($k=0,1496$). Globalment, la taxa de reclassificació en les variants genètiques reportades en informes emesos l'any 2017 és del 49,57%, representada per una 45,85% de disminucions en la classificació i un 3,72% d'increments. Pel que fa a les reinterpretacions clínicament rellevants, la taxa va ser del 47,28% (Figura 6F).

L'any 2018 es van reportar 276 variants genètiques en 136 individus (68 casos índexs i 70 familiars). El 3,62% d'aquestes es van reportar amb una classificació P (10 variants), el 14,49% amb classificació PP (40 variants), el 81,16% com a VSI (224 variants) i el 0,72% com a PB (2 variants). L'actualització de la classificació va generar una redistribució de les proporcions: 6,88% P (19 variants), 6,88% PP (19 variants), 65,22% VSI (180 variants), 8,33% PB (23 variants) i el 12,68% B (35 variants). El 30% de les variants reportades com a P a les anàlisis genètiques realitzades l'any 2018 es van reclassificar a PP (3 variants) (Figura 5). Pel que fa a les variants inicialment reportades com a PP, el 47,50% van disminuir la classificació a VSI (19 variants) i el 27,5% van incrementar-la a P (11 variants). Finalment, un 25% de les variants descrites l'any 2018 com a VSI van veure reduïda la seva classificació (23 PB i 33 B), un 3,13% van augmentar-la (6 PP i 1 P) i el 100% de les variants reportades com a PB van veure la seva classificació rebaixada a B (2 variants). La valoració de l'acord entre les classificacions reportades a les anàlisis genètiques emeses l'any 2018 i la classificació

obtinguda després de la reinterpretació va demostrar una concordança lleu ($k=0,3266$). En general, les variants genètiques reportades l'any 2018 van mostrar una taxa de reclassificació del 35,51% amb un 28,99% de les variants que disminuïen la classificació i un 6,52% que l'augmentaven. Tanmateix, la taxa de variants en les quals la reclassificació suposa un canvi en la classificació clínicament rellevant és del 29,71% (Figura 7G).

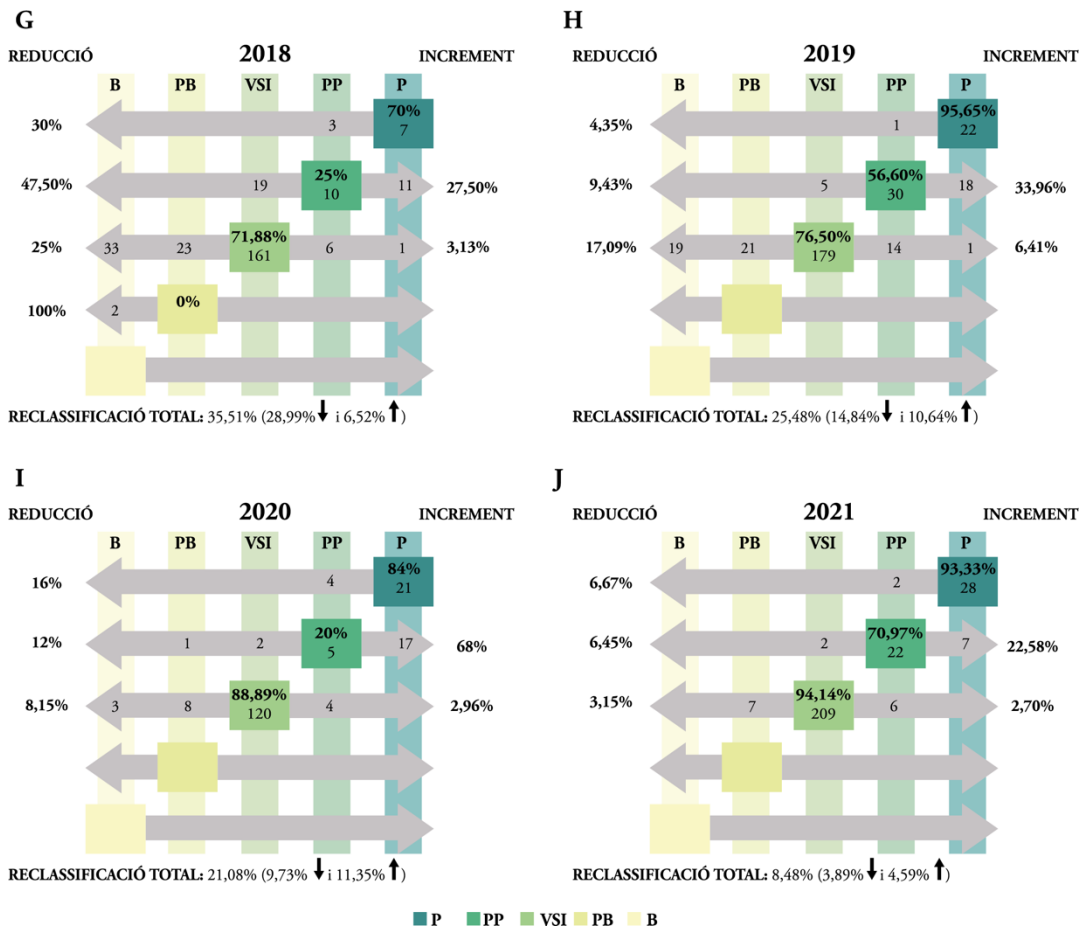


Figura 7. Taxa de reclassificació segons la classificació originària i l'any en què es van reportar les variants genètiques (2018-2021). A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

L'any 2019 es van identificar 310 variants genètiques en 182 individus (60 casos índexs i 112 familiars). Segons la classificació reportada als informes genètics originaris, un 7,42% de les variants eren P (23 variants), un 17,10% eren PP (53 variants) i un 75,48% eren VSI (234 variants). L'actualització de la classificació de les variants reportades l'any 2019 va redistribuir aquestes proporcions en un 13,23% de les variants considerades com a P (41 variants), un 14,52% com a PP (45 variants), 59,35% com a VSI (184 variants), 6,77% com a PB (21 variants) i 6,13% com a B (19 variants) (Figura 5). En les variants reportades l'any 2019 com

a P, un 4,35% redueixen la classificació a PP (1 variant), mentre que el 9,43% de les variants classificades com a VSI veuen la seva classificació reduïda a PP (5 variants) i el 17,09% augmentada a P (18 variants). Finalment, el 17,09% de les variants que l'any 2019 es van reportar com a VSI es reclassifiquen a una classificació menor (21 PB i 19 B) i el 6,41% a una classificació superior (14 PP i 1 P). L'estudi de la concordança entre les classificacions emeses en les anàlisis genètiques realitzades l'any 2019 i les classificacions actualitzades ha demostrat una concordança baixa ($k=0,5818$). En general, la taxa de reclassificació de les variants genètiques reportades l'any 2019 és del 25,48% amb un 14,84% i un 10,64% de reduccions i increments en la classificació, respectivament. Tanmateix, la taxa de reclassificació que suposa un canvi en la rellevància clínica és lleugerament inferior, sent del 19,35% (Figura 7H).

L'any 2020 es van identificar 185 variants genètiques en 124 individus (64 casos índexs i 60 familiars). La revisió dels informes de les anàlisis genètiques ha permès determinar que un 13,51% de les variants reportades l'any 2020 eren variants P (25 variants), un 13,51% eren PP (25 variants) i un 72,97% eren VSI (135 variants). Posteriorment, la reinterpretació va donar lloc a les següents proporcions de les classificacions: 20,54% P (38 variants), 7,03% PP (13 variants), 65,95% VSI (122 variants), 4,86% PB (9 variants) i 1,62% B (3 variants) (Figura 5). En concret, el 16% de les variants reportades l'any 2020 com a P es reclassifiquen a PP (4 variants). En el 12% de les variants descrites com a PP se'n rebaixa la classificació (2 PP i 1 VSI) i en el 68% s'augmenta a P (17 variants). Finalment, el 8,15% de les variants reportades l'any 2020 com a VSI disminueixen la classificació (8 PB i 3 B) i el 2,96% l'augmenten a PP (4 variants). La valoració del consens entre la classificació reportada als informes emesos l'any 2020 i la classificació actualitzada mostra una concordança bona ($k=0,6954$). En global, s'observa una taxa de reclassificació del 21,08% de les variants genètiques reportades l'any 2020, amb una disminució en la classificació en el 9,73% i un augment en l'11,35%. Tanmateix, la taxa de reclassificació disminueix en més de la meitat (9,73%) si es consideren únicament aquelles reclassificacions que suposen una alteració en la rellevància clínica (Figura 7I).

Finalment, l'any 2021 es van identificar 283 variants genètiques en 166 individus (102 casos índexs i 64 familiars). Segons la classificació indicada als informes de l'any 2021, el 10,60% eren variants P (30 variants), el 10,95% eren PP (31 variants) i el 78,45% eren VSI (222 variants). La reinterpretació de les variants realitzada a aquest estudi va permetre redistribuir la proporció de les classificacions en un 12,37% de les variants considerades P (35 variants),

un 10,60% considerades PP (30 variants), un 74,56% considerades VSI (211 variants) i un 2,47% considerades PB (7 variants) (Figura 5). En concret, la reinterpretació va causar que un 6,67% de les variants reportades com a P durant l'any 2021 rebaixessin la classificació a PP (2 variants), un 6,45% de les variants descrites com a PP passessin a considerar-se VSI (2 variants) i un 3,15% de les variants reportades com a VSI disminuïssin la classificació a PB (7 variants). A més, un 22,58% de les variants reportades com a PP durant l'any 2021 van incrementar la classificació a P (7 variants) i el 2,70% de les variants descrites com a VSI van pujar a PP (6 variants). L'anàlisi de concordança realitzat entre les classificacions reportades l'any 2021 i l'actualització de la classificació ha demostrat una concordança molt bona ($k=0,8524$). En general, les variants reportades als informes emesos l'any 2021 mostren una taxa de reclassificació del 8,48%, representada per un 3,89% de disminucions en la reclassificació i un 5,59% d'increments (Figura 7J).

Així, s'observa que, exceptuant les variants reportades l'any 2013 en les quals la taxa de reclassificació va ser del 37,36%, en les variants reportades fins l'any 2017 la taxa de reclassificació va ser superior al 40%; mentre que a partir de l'any 2018 aquesta comença a disminuir, partint d'un 35,51% en les variants reportades l'any 2018 i arribant al 8,48% en les variants reportades l'any 2021. Aquests resultats mostren una taxa de reclassificació superior a la reportada en altres estudis que també van avaluar l'efecte de la reinterpretació de les variants genètiques en base a l'any inicial de la classificació originària. En dos estudis publicats per Sarquella-Brugada *et al* i Vallverdú *et al*, del nostre grup, s'avaluava la reinterpretació de variants genètiques reportades l'any 2016 en una cohort de canalopaties cardíques[211] i en una cohort de MCA[212], obtenint una taxa de reclassificació del 18,36% i del 30,77%, respectivament; mentre que en la reinterpretació realitzada en aquesta tesi doctoral de les variants reportades l'any 2016 s'obté una taxa de reclassificació del 49,61%. Aquestes diferències podrien ser degudes a les limitacions en la quantitat de variants genètiques incloses en aquests estudis (39 i 49 variants genètiques, respectivament), al fet que es tractin de cohorts de pacients amb canalopaties familiars diferents, o a la disponibilitat de les dades de segregació utilitzades per a la reinterpretació de les variants genètiques avaluades en aquesta tesi i disponibles gràcies a l'avaluació clínica dels familiars que es realitza a la UCF. En un altre estudi també publicat pel nostre grup, Campuzano *et al* avaluàvem l'impacte de la reinterpretació de les variants genètiques reportades l'any 2010 en una cohort de canalopaties cardíques i casos de MS[213], obtenint una taxa de reclassificació del 71,87%. Tot i que en el treball d'aquesta tesi no es disposa de dades de variants genètiques reportades l'any 2010, exceptuant les reportades l'any 2011, que mantenen la classificació en un 100%,

la taxa de reinterpretació descrita per Campuzano *et al* és molt superior a les taxes de reclassificació obtingudes a les variants reportades durant els primers anys del període d'estudi d'aquesta tesi, les quals mostren unes taxes de reclassificació properes al 40%. La taxa màxima de reinterpretació obtinguda en aquest estudi es va produir l'any 2014 i és del 59,47%. De totes formes, en acord amb el que es conclou a l'estudi publicat per Campuzano *et al* es considera imprescindible realitzar la reinterpretació de totes les variants reportades amb anterioritat a la publicació de les guies ACMG/AMP.

A més, en el treball d'aquesta tesi doctoral es va realitzar l'avaluació de la concordança entre la classificació originària i l'actualitzada en funció de l'any en què s'havien reportat originàriament les variants genètiques obtenint uns resultats de concordança que oscil·len entre lleu i pobra fins l'any 2019. En les variants reportades l'any 2019 la concordança entre ambdues classificacions incrementa a “baixa” ($k=0,5818$) i segueix augmentant fins a “bona” en la comparació de les variants reportades l'any 2020 ($k=0,6954$) i a “molt bona” en les variants reportades l'any 2021 ($k=0,8524$). Els resultats de l'any 2021 no obtenen una concordança excel·lent ja que en alguns casos es disposa de dades de segregació posteriors a l'emissió de l'informe originari. Tanmateix, en la majoria de les variants reportades l'any 2021 la classificació difereix després de la reinterpretació perquè en la classificació efectuada en aquesta tesi s'ha utilitzat un meta-predictor per al càlcul del criteri PP3/BP4 per a les variants *missense*, mentre que per la classificació originària s'havia aplicat aquest criteri quan la predicció de 3 predictors *in silico* individuals coincidien en la patogenicitat o benignitat de la variant.

Com a part de l'estudi d'aquesta tesi doctoral també es va comparar l'efecte de la reclassificació en funció de l'any de la classificació inicial entre les cohorts de canalopaties cardíques i miocardiopaties. De forma global, tant la cohort de canalopaties cardíques com la cohort de miocardiopaties presenten una concordança “baixa” entre la classificació originària i la classificació després de realitzar la reinterpretació ($k=0,4687$ i $k=0,5083$, respectivament) amb una taxa de reclassificació del 38,92% en les variants genètiques incloses a la cohort de canalopaties cardíques i del 31,72% en les variants de la cohort de miocardiopaties (Figura 8 i Taula 19).

En l'avaluació de la concordança entre les classificacions originàries i les actualitzades, així com de la taxa de reclassificació en funció de l'any que van ser reportades les variants genètiques en cadascuna de les dues cohorts, s'observa que la taxa de reclassificació de les

variants de la cohort de miocardiopaties presenta valors d'entre el 50-60% i pròxims al 40% en anys alternants fins l'any 2016, que s'assoleix un pic de taxa de reclassificació del 54,88%

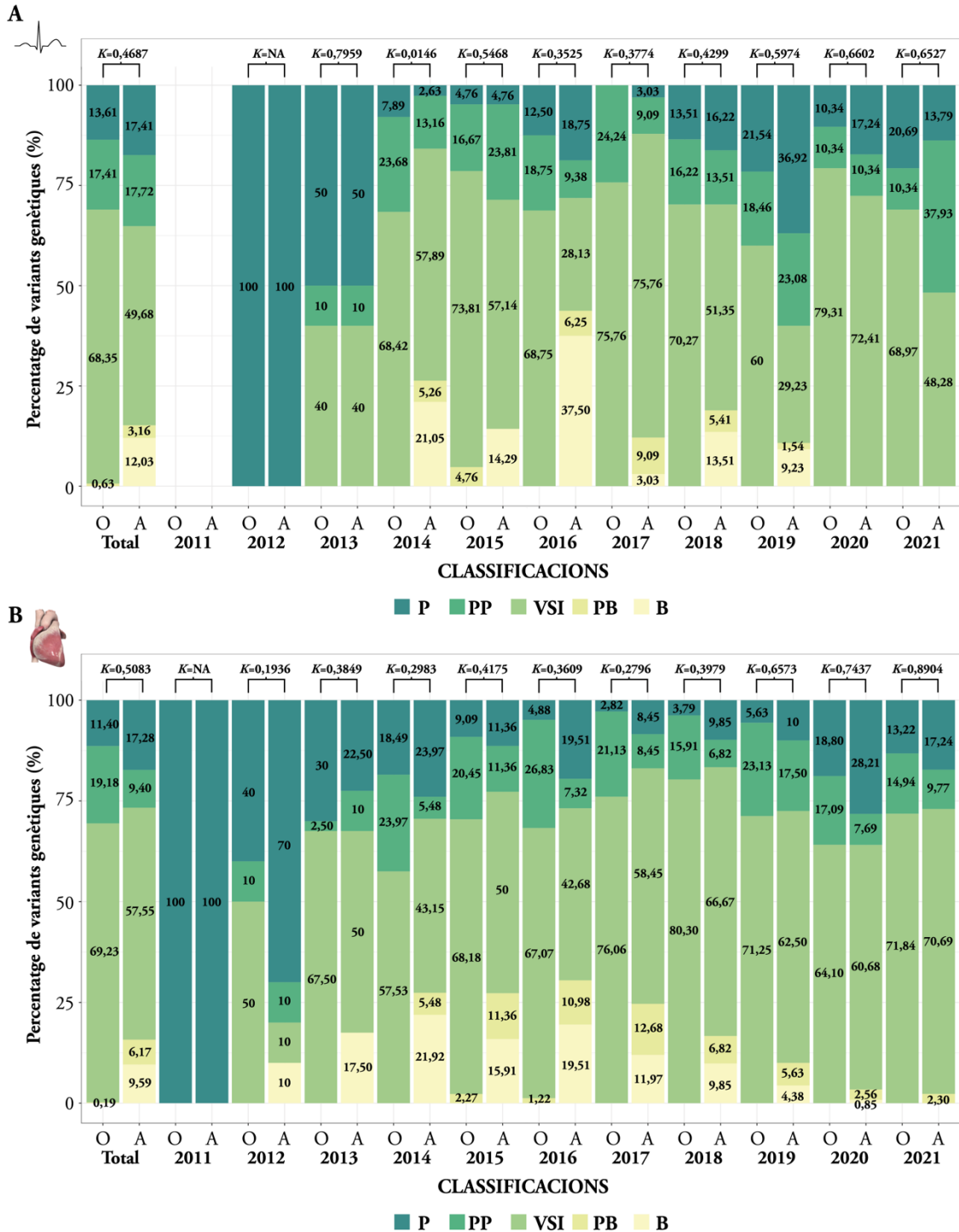


Figura 8. A) Comparació dels percentatges de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de canalopaties cardíques en funció de l'any en què es van reportar originàriament i coeficient Kappa per cadascun dels anys. B) Comparació dels percentatges de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de canalopaties cardíques en funció de l'any en què es van reportar originàriament i coeficient Kappa per cadascun dels anys. O: classificació originària; A: classificació actualitzada; P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

i a partir d'aquest any va disminuint fins arribar al 7,47% observat en la reclassificació de les variants reportades l'any 2021 (Taula 19). Pel que fa a la concordança entre la classificació originària i la classificació actualitzada de les variants de la cohort de miocardiopaties, en general és “lleu” o “pobra” fins l'any 2019, que apareixen els primers resultats de concordança “bona” ($k=0,6573$), aquesta concordança es manté l'any 2020 ($k=0,7437$) i augmenta a “molt bona” l'any 2021 ($k=0,8904$) (Taula 19). Tanmateix, en la reinterpretació de les variants identificades a la cohort de canalopaties cardíques la progressió de la concordança és més lenta i no s'assoleix la concordança de “molt bona” en la reinterpretació de les variants genètiques reportades en cap dels anys. La concordança màxima obtinguda entre les classificacions de les variants genètiques de la cohort de canalopaties cardíques s'observa en les reportades l'any 2020 ($k=0,6602$), amb una taxa de reclassificació del 20,69%. En els anys anteriors la concordança va alternant entre “pobra”, “lleu” i “baixa”. En la taxa de reclassificació també s'observa aquesta fluctuació, alternant anys amb una taxa de reclassificació propera al 60% i anys amb taxes de reclassificacions pròximes al 25% (Figura 5 i Taula 19). Aquestes divergències probablement estan lligades a les diferències significatives observades entre les variants que augmenten la classificació després de la seva reinterpretació entre les cohorts de canalopaties cardíques i miocardiopaties.

Taula 19. Concordança entre la classificació originària i la classificació actualitzada i taxa de reclassificació global i segons l'any de l'emissió de l'informe originari en la cohort de canalopaties cardíques, en la cohort de miocardiopaties i en la cohort total.

Any	TOTAL		CANALOPATIES CARDÍAQUES		MIOCARDIOPATIES	
	Concordança	Taxa de reclassificació	Concordança	Taxa de reclassificació	Concordança	Taxa de reclassificació
2011	NA	0%	NA	.	Excel·lent	0%
2012	Lleu	44,44%	Excel·lent	0%	Pobra	60%
2013	Lleu	37,36%	Bona	20%	Lleu	42,5%
2014	Pobra	59,47%	Pobra	60,53%	Lleu	50%
2015	Lleu	40,61%	Baixa	26,19%	Baixa	45,45%
2016	Lleu	49,61%	Lleu	59,38%	Lleu	54,88%
2017	Pobra	49,57%	Lleu	27,27%	Lleu	44,37%
2018	Lleu	35,51%	Baixa	40,54%	Lleu	31,82%
2019	Baixa	25,48%	Baixa	46,15%	Bona	18,75%
2020	Bona	21,08%	Bona	20,69%	Bona	21,37%
2021	Molt bona	8,48%	Bona	27,59%	Molt bona	7,47%
TOTAL	Lleu	37,81%	Baixa	38,92%	Baixa	31,72%

La periodicitat més apropiada per a la reavaluació de la classificació de les variants genètiques és difícil de determinar. Un temps massa ampli entre la classificació originària i la reinterpretació pot repercutir en un seguiment i tractament inapropiat dels pacients i alhora, a mesura que passa el temps, és més probable que es perdi el seguiment dels pacients i dels familiars, ja sigui per errors en la gestió de les programacions o per trasllats dels propis

pacients. Els resultats obtinguts en aquest treball indiquen que únicament s'obté una concordança "bona" en les reinterpretacions realitzades en aquelles variants genètiques reportades amb màxim de 2 anys d'anterioritat, pel que aquest podria ser el límit màxim a establir. Tanmateix, alguns casos podrien beneficiar-se d'una reinterpretació inclús més freqüent.

4.2- Cohort de mort sobtada inexplicada

A la UCF s'han avaluat 1239 individus de 287 famílies amb història de mort sobtada inexplicada (54,48% homes; mitjana d'edat de la MSI/avaluació 38 ± 20 anys) (Figura 9).

De les 287 famílies estudiades per història familiar de MSI, 209 són famílies incloses al projecte MOSCAT (cohort MSI-MOSCAT amb 211 casos de MSI i 831 familiars) i 78 són famílies amb història familiar de MSI, recuperada (MSR) o no, però que no van ser incloses al projecte MOSCAT (cohort MSI-NoMOSCAT amb 44 casos estudiats de MSI/MSR i 153 familiars) (Figura 9).

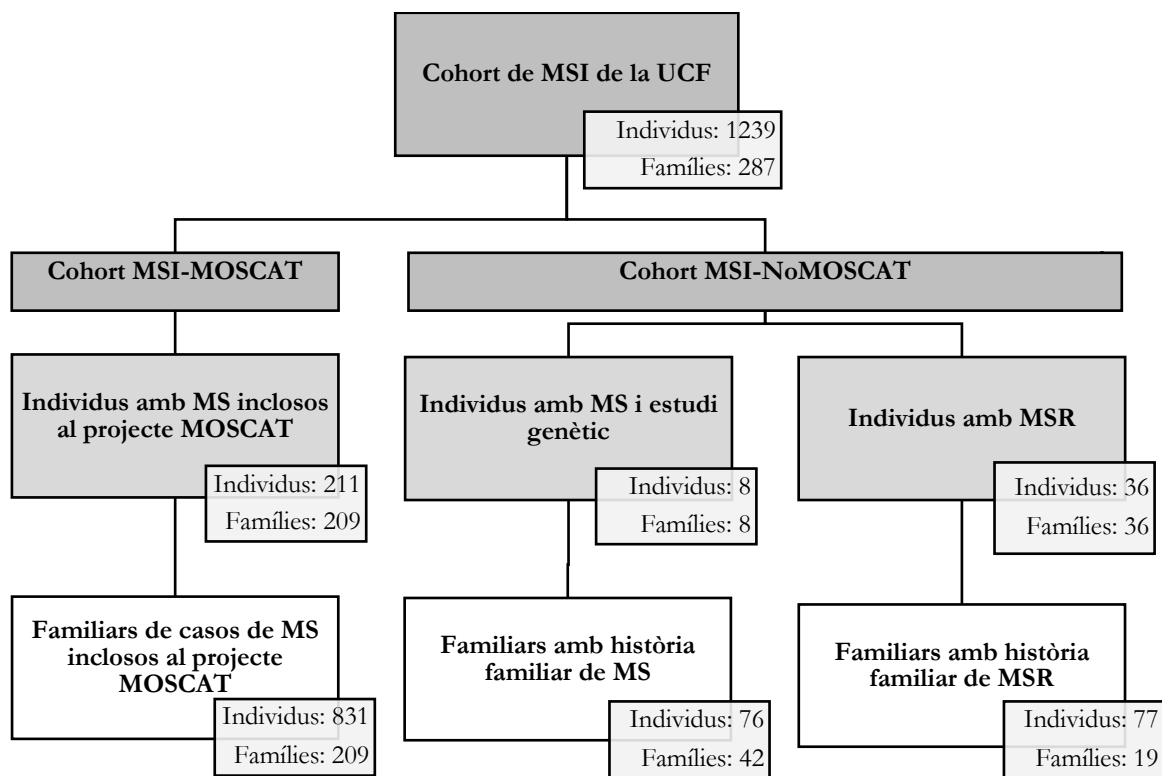


Figura 9. Distribució de la cohort de MSI de la Unitat de Cardiopaties Familiars (UCF).

A la cohort de MSI de la UCF es va realitzar una anàlisi genètica a 248 casos índex: a 209 dels 211 casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT com a part de l'autòpsia medico-legal i a 37 dels 44 casos índexs de la cohort MSI-NoMOSCAT. En els casos índexs no estudiats, l'anàlisi genètica no estava indicada ja que l'autòpsia medico-legal o l'avaluació clínica posterior a la MSR va identificar una causa no genètica que podria explicar la mort.

4.2.1- Cohort MSI-MOSCAT

La cohort de MSI-MOSCAT està formada per un total de 1042 individus de 209 famílies: 211 casos de MSI i 831 familiars (48,86%, 40 ± 21 anys). En dues de les famílies d'aquesta cohort es van produir 2 casos de MSI.

Els casos índexs de MSI inclouen 162 homes (76,78%) i 49 dones (23,22%). Aquesta major proporció es manté en tots els grups d'edat excepte en aquells casos amb MS abans de l'any de vida, on s'observa una distribució pràcticament equivalent entre ambdós sexes (55,56% homes vs 44,44% dones) (Figura 10A). Aquesta distribució per sexes és la mateixa que es va observar en un estudi publicat pel nostre grup en el qual es descrivien les característiques de prop de 800 casos de MSI produïdes durant un període de 3 anys en individus inclosos al projecte MOSCAT[214]. D'acord als criteris d'inclusió al projecte MOSCAT, la cohort MSI-MOSCAT inclou casos índexs que han patit una MSI entre els 0 i els 50 anys de vida (mitjana 29 ± 16 anys). Tanmateix, un dels casos d'aquesta cohort va patir la MSI amb 57 anys i tot i això, va ser inclòs degut als resultats positius obtinguts a l'autòpsia. La mitjana d'edat en homes és de 31 ± 16 anys i de 22 ± 17 anys en dones.

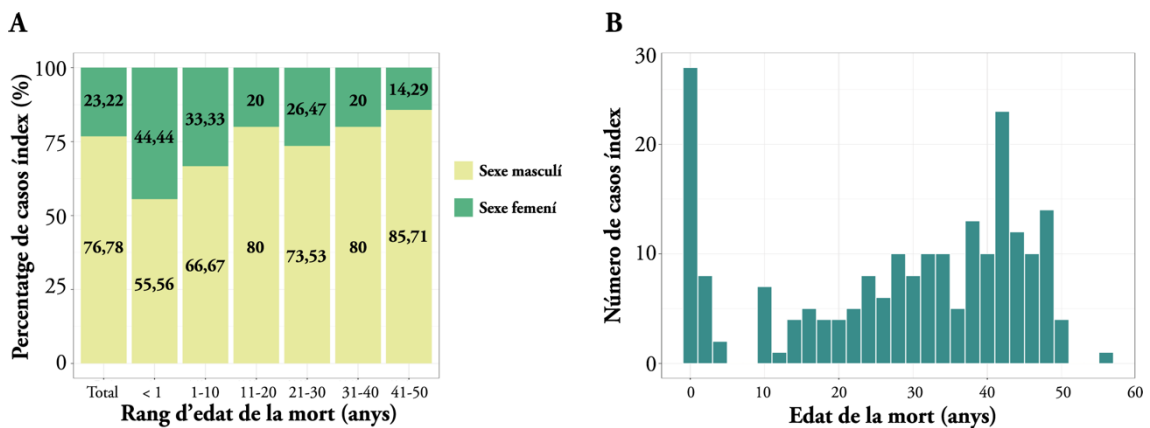


Figura 10. A) Proporció de casos de MSI per cadascun dels sexes en global i per rang d'edat. B) Número de casos de MSI per edat de la mort.

Poc més de la meitat dels casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT van patir una MSI entre els 31 i els 50 anys de vida (115/211; 54,50%). Un 12,80% dels casos van presentar l'episodi de MS durant el primer any de vida mentre que el 32,70% restant el formen els casos que van patir la MSI a partir de l'any de vida i fins als 30 anys (Figura 10B). Així, en quant a la distribució de l'edat a la que van ocórrer les MSI, podem observar una distribució bimodal, tal i com s'ha descrit anteriorment[8, 14, 21], amb un pic al primer any de vida i un altre a partir dels 40 anys (Figura 10B). En l'estudi publicat per Sanchez O *et al*[214] sobre casos de

MSI inclosos al projecte MOSCAT durant un període de 3 anys es va descriure una proporció molt superior de morts produïdes a edats per sobre dels 30 anys (83,27%) respecte a la que s'ha observat a la cohort MSI-MOSCAT d'aquesta tesi doctoral. Aquest fet s'explica per les característiques de la cohort MSI-MOSCAT de la UCF. El protocol d'actuació del projecte MOSCAT consisteix en que quan es realitza una autòpsia molecular i en l'autòpsia macroscòpica i histopatològica no s'identifica una causa clara que expliqui la mort, els metges forenses contacten als familiars de la persona que ha patit la MSI i els ofereixen la possibilitat d'acudir a la UCF. L'objectiu d'aquesta visita és proporcionar a les famílies una informació especialitzada sobre les variants genètiques identificades a l'anàlisi genètica i intentar, juntament amb la valoració clínica dels familiars, determinar la causa de la MSI i adoptar les mesures preventives i de seguiment més adequades en cada cas. Així, la diferència en les edats de les MSI observades entre la cohort MSI-MOSCAT d'aquesta tesi doctoral i la cohort d'individus inclosos al projecte MOSCAT de l'estudi publicat per Sanchez O *et al*[214] podria explicar-se pel fet que la cohort MSI-MOSCAT està formada per aquelles famílies que han acudit a la UCF. Aquest fet ja restringeix la franja a casos més joves ja que, com s'ha descrit, la majoria de les MS en individus majors de 35 anys són degudes a malaltia coronària[22], de manera que les famílies d'aquests casos ja no acudirán a la UCF. A més, donat que la incidència de MS degudes a malaltia coronària augmenta a partir dels 35 anys, en els menors de 35 anys l'anàlisi genètica com a part de l'autòpsia es realitza de forma immediata mentre que en els majors de 35 anys únicament es procedirà a realitzar l'anàlisi genètica si l'avaluació macroscòpica, histopatològica i toxicològica no ha permès determinar una causa de la mort. Per aquest motiu, en alguns casos no es disposaran dels resultats de l'anàlisi genètica fins força temps després de la MS i en ocasions això pot ocasionar que les famílies no vulguin realitzar la visita a la UCF, ja sigui perquè ja estan realitzant el seguiment en algun altre centre hospitalari o perquè per l'estructura familiar no ho consideren rellevant, entre altres. A més, la MSI en menors i adults joves genera un gran impacte psicosocial i una alta percepció de que podria tractar-se d'una malaltia hereditària pel que les famílies tenen la necessitat d'obtenir respostes per entendre perquè ha passat i de rebre informació mèdica i adoptar les mesures necessàries per prevenir que torni a succeir a la família[215], pel que en general, les famílies d'aquells casos que han patit MS a edats joves són més receptives i inclús, més proactives a l'hora de cercar aquest suport i intentar aconseguir respostes al tràgic esdeveniment.

Així, a la UCF s'han avaluat 831 familiars de les 209 famílies de la cohort MSI-MOSCAT amb una mitjana de 4 familiars per família. L'avaluació clínica i, si escau, genètica dels

familiars, juntament amb les dades disponibles sobre els resultats de l'autòpsia medico-legal i l'autòpsia molecular van permetre classificar els 211 casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT segons la causa més plausible de la mort. En la MSI, la realització de l'anàlisi genètica com a part de l'autòpsia així com l'avaluació clínica i, en ocasions, genètica dels familiars pren un paper fonamental per a establir la causa de la MSI donat que en la majoria de les ocasions no es disposa de proves cardiològiques prèvies a la mort i l'única avaluació possible de la persona que ha patit la mort és mitjançant l'autòpsia. Aquesta informació va ser utilitzada per definir la causa més probable de la mort en els casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT.

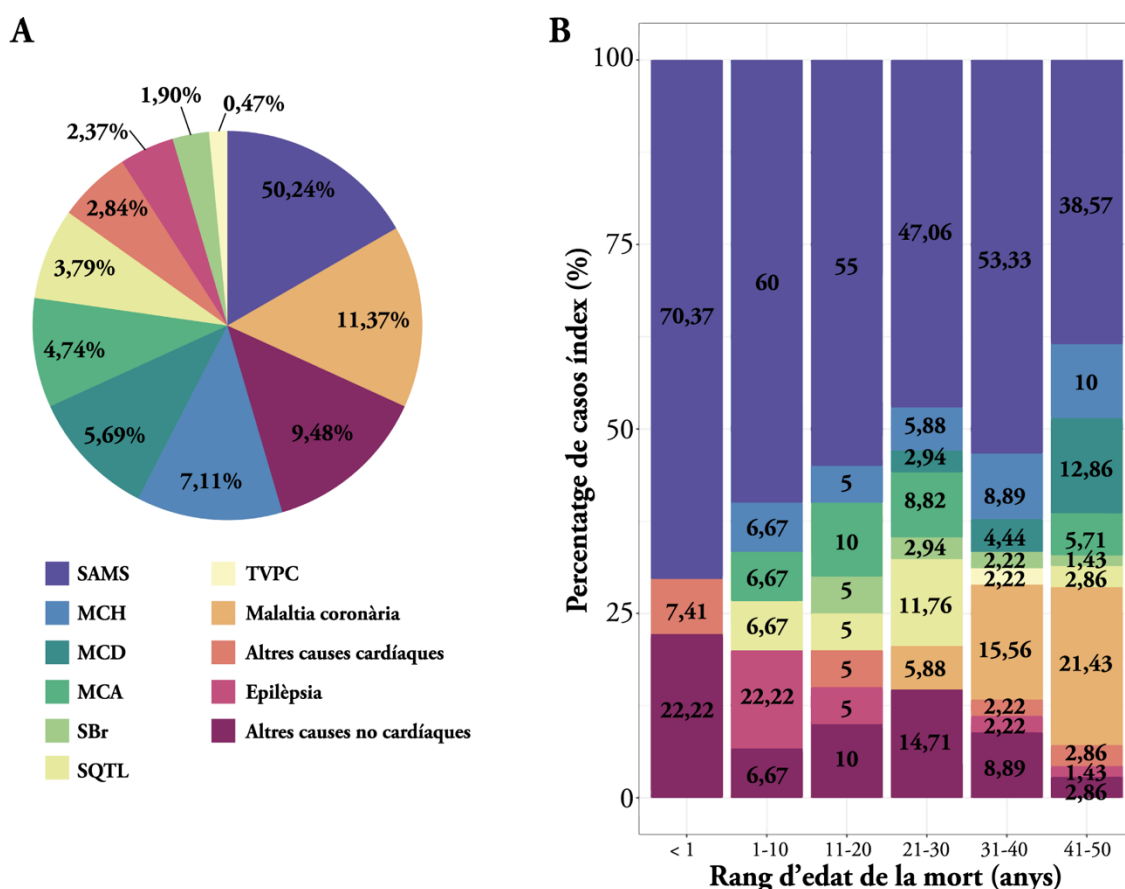


Figura 11. A) Distribució dels casos de MSI inclosos al projecte MOSCAT en funció de la causa de la mort. B) Distribució dels casos de MSI inclosos al projecte MOSCAT en funció de la causa de la mort per rang d'edat. SAMS: Síndrome arritmogènica associada a la mort sobtada; MCH: Miocardiopatia hipertròfica; MCD: Miocardiopatia dilatada; MCA: Miocardiopatia arritmogènica; SBr: Síndrome de Brugada; SQTL: Síndrome de QT llarg; TVPC: Taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica. CI: Cardiopatia isquèmica.

En un 88,15% dels casos, la causa de la mort es va orientar com a cardíaca, ja fos per cardiopatia isquèmica (11,37%), cardiopaties familiars (23,70%), altres patologies cardíques (2,84%) o SAMS (50,24%); mentre que en el 9,48% els resultats de l'autòpsia van identificar una causa no cardíaca que potencialment podria explicar la causa de la mort com episodis trombòtics, afectacions pulmonars, lesions neurològiques o la detecció de tòxics, entre altres;

i el 2,37% presentaven antecedents previs d'epilèpsia pel que es sospita que la mort es podria haver produït en un context de crisi epilèptica (Figura 11A i Taula 20). Tanmateix, només en un dels casos índexs es va presenciar una crisi convulsiva amb reanimació sense èxit i en un altre individu, els resultats de l'autòpsia medico-legal eren compatibles amb una asfíxia per crisi epilèptica (mossegada de la llengua, trencament d'un queixal i lesions isquèmiques cerebrals). Per tant, en els 3 casos índexs restants del 2,37% als quals se'ls va assignar l'epilèpsia com a causa de la mort, tot i que es sospita que els antecedents previs d'epilèpsia podrien explicar la mort, no es pot confirmar rotundament. El motiu pel que a la cohort MSI-MOSCAT de la UCF hi ha inclosos alguns casos índexs amb patologies no cardíques o en els quals la mort no s'explica per una cardiopatia familiar és perquè en menors de 35 anys es procedeix a realitzar l'autòpsia molecular quan encara no es disposa de les dades de l'avaluació anatomopatològica pel que tot i que posteriorment l'autòpsia demostrï una causa no cardíaca de la mort, els metges forenses prefereixen oferir a la família la possibilitat d'acudir a la UCF per tal d'aclarir qualsevol dubte sobre el significat de les variants genètiques que es puguin haver identificat. A més, inicialment es realitzava l'anàlisi molecular a tots els casos i sovint els resultats estaven disponibles abans que l'avaluació histopatològica pel que els metges forenses procedien a contactar a la família per transmetre aquesta informació i proposar la possibilitat d'una visita a la UCF.

Del 23,70% de les morts totals assignades a cardiopaties familiars: un 17,54% corresponen a miocardiopaties (7,11% MCH, 5,69% MCD i 4,74% MCA) i un 6,16% corresponen a canalopaties cardíques (3,79% SQTL, 1,90% SBr i 0,47% TVPC). La causa de mort associada a canalopatia cardíaca es va establir únicament mitjançant el diagnòstic clínic de la canalopatia cardíaca corresponent en algun dels familiars i la determinació de l'estat de portador de la variant genètica associada en aquest familiar. Per tant, es va assumir que la mort havia estat causada amb una alta probabilitat per la canalopatia cardíaca diagnosticada a la família. En 8 dels casos índexs als que la causa de la mort es va associar a una miocardiopatia (21,62%; 3 MCD, 3 MCA i 2 MCH) l'avaluació clínic de la família va permetre identificar altres familiars afectats per la miocardiopatia identificada en el cas índex. Tanmateix, en el 78,38% restant de les morts associades a miocardiopaties, la causa de la mort va ser assignada únicament a partir dels resultats de l'autòpsia medico-legal i cap dels familiars avaluats presentava manifestacions clíniques de la patologia detectada.

Les causes de la MSI identificades a la cohort de MSI-MOSCAT varien en funció de l'edat a la que es va produir la mort (Figura 11B). Així, s'observa que la malaltia coronària apareix

únicament a partir de la franja d'edat d'entre 21-30 anys; que durant el primer any de vida la gran majoria (70,37%) resten sense una causa identificada, mentre que la resta s'expliquen per malalties cardíques congènites i altres causes no cardíques; o que exceptuant els casos sense una causa identificada de la mort, en el rang d'edat entre 21-30 anys la majoria de les morts es van assignar a la diagnosi de la SQTL i en el rang d'edat entre 41-50 anys a la diagnosi de MCD.

Pels mateixos motius pels que la cohort de MSI-MOSCAT és una cohort jove en comparació a altres cohorts de MSI, en termes generals s'observa un percentatge més baix de malaltia coronària (11,37%) del que s'ha descrit en estudis anteriors (75%[22]). A més, exceptuant un cas, la cohort MSI-MOSCAT tampoc inclou individus majors de 50 anys, recolzant que s'observi aquest menor percentatge de MSI degudes a cardiopatia isquèmica ja que la incidència de MS degudes a malaltia coronària incrementa amb l'edat. Si es prenen de referència les causes de MSC descrites en infants i adults joves, a la nostra cohort de MSI-MOSCAT s'ha pogut establir alguna cardiopatia familiar com la causa de mort en proporcions concordants a les descrites en estudis previs (23,70% vs 7-28%)[11, 29, 216]. Tanmateix, cal tenir en compte que en la majoria d'estudis no inclouen les canalopaties cardíques al percentatge de cardiopaties familiars ja que generalment no és possible obtenir-ne una diagnosi definitiva sense l'avaluació clínica dels familiars; en canvi, la cohort MSI-MOSCAT es caracteritza per ser una cohort de MSI en la qual s'ha pogut avaluar clínicament a una mitjana de 4 familiars de primer grau per cada cas índex. L'avaluació clínica dels familiars és de gran utilitat en els casos de MSI per aconseguir determinar-ne la causa de la mort, especialment en els casos de canalopaties cardíques ja que l'autòpsia no serà informativa. Tanmateix, la meitat dels casos índexs (50,24%) van romandre sense una causa de la mort. Aquests són casos en què l'avaluació anatomopatològica i toxicològica no ha permès identificar cap anomalia que pugui explicar la mort, l'anàlisi genètica no és concloent i l'anàlisi clínica dels familiars és completament normal pel que no és possible establir, però tampoc descartar, que hi hagi una causa cardíaca hereditària subjacent. S'ha de ser molt curós en el diagnòstic d'una MSI ja que d'això en dependrà el seguiment i l'aplicació de mesures preventives als seus familiars. Un mal diagnòstic pot suposar un risc pels familiars, que podrien no ser tractats correctament. L'avaluació clínica dels familiars és crucial i sempre que no sigui possible confirmar la segregació de la variant genètica identificada amb un fenotip positiu en altres familiars, caldrà realitzar el seguiment de tots ells, sense possibilitat de descartar de la revisió periòdica a aquells familiars no portadors de la variant.

En el 2,84% dels casos índexs amb patologies cardíaques no pròpiament incloses dins les cardiopaties familiars es va identificar una anomalia de l'artèria caròtida amb trencament d'aquesta, malalties congènites cardíaques com la síndrome del cor esquerre hipoplàstic, o el cas d'una família amb dos casos de MSI, ambdós inclosos a la cohort de MSI-MOSCAT, en la qual la primera mort es va produir en un nadó de 3 mesos en el qual l'avaluació anatomopatològica va detectar una massa cardíaca que no deixava espai als pulmons i en l'estudi histopatològic es va detectar una fibroelastosi endomiocàrdica i la segona mort es va produir en el seu pare que, tot i presentar un seguiment ecocardiogràfic completament normal durant poc més de 3 anys, a l'autòpsia es va detectar una hipertròfia ventricular severa i teixit adipós que infiltrava la paret del ventricle dret, alterant la disposició de les fibres miocàrdiques. Aquest desenvolupament extremadament ràpid (menys d'un any) i l'antecedent familiar fa dubtar que es tracti d'una MCH típica. El cas d'aquesta família resta en estudi en el moment de la finalització d'aquesta tesi. L'objectiu principal del projecte MOSCAT és la prevenció de més MSI a la família. Malauradament, en aquesta família, tot i que s'estava realitzant el seguiment cardiològic dels familiars a risc, no es va poder prevenir la segona mort.

4.2.2- Cohort MSI-NoMOSCAT

La cohort de MSI-NoMOSCAT està formada per un total de 197 individus de 78 famílies (54,31% homes; mitjana d'edat de la MSI/avaluació 39 ± 19 anys). Aquesta cohort es pot dividir en dos grans grups de famílies: 36 famílies amb casos índexs que han patit una MSR (36 casos índexs i 77 familiars) i 42 famílies amb història de MS en familiars que no han estat inclosos al projecte MOSCAT (8 casos índexs i 76 familiars). Només en 8 de les famílies d'aquest últim grup es va poder obtenir informació clínica i/o genètica del cas índex; mentre que en les 34 famílies restants no va ser possible realitzar una anàlisi genètica al familiar que havia patit la MS. Els casos de MSR presenten un avantatge respecte els altres casos índexs de la cohort MSI-NoMOSCAT així com dels casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT i és la possibilitat de realitzar totes les avaluacions clíniques necessàries per tal d'intentar determinar la causa de la MSR.

Entre els casos índexs que van patir una MSR trobem 24 homes (66,67%; mitjana d'edat 44 ± 15) i 12 dones (33,33%; mitjana d'edat 51 ± 15). Gairebé un 70%, de les MSR es van produir en individus majors de 40 anys (25/36; 69,44%) i l'individu més jove va patir la MSR amb 13 anys.

Taula 20. Taula comparativa de les causes de la mort dels casos índexs de la cohort de MSI-MOSCAT i MSI-NoMOSCAT.

n	TOTAL	MSI-MOSCAT	MSI-NoMOSCAT	
			Casos de MS	Casos de MSR
	255	211	8	36
Home/Dona, (% homes)	194/62	162/49 (76,78)	7/1 (87,50)	24/12 (66,67)
Edat, anys	32 ± 17	29 ± 16	35 ± 20	46 ± 15
Causa de la MS				
SAMS, n (%)	117 (45,88)	106 (50,24)	2 (25)	9 (25)
MCH, n (%)	16 (6,27)	15 (7,11)	1 (12,50)	.
MCD, n (%)	14 (5,49)	12 (5,69)	.	2 (5,56)
MCA, n (%)	16 (6,27)	10 (4,74)	2 (25)	4 (11,11)
SBr, n (%)	7 (2,75)	4 (1,90)	.	3 (8,33)
SQTL, n (%)	14 (5,49)	8 (3,79)	1 (12,50)	5 (13,89)
TVPC, n (%)	4 (1,57)	1 (0,47)	.	3 (8,33)
CI, n (%)	33 (12,94)	24 (11,37)	1 (12,50)	8 (22,22)
Altres cardíaques, n (%)	8 (3,14)	6 (2,84)	1 (12,50)	1 (2,78)
Epilèpsia, n (%)	5 (1,96)	5 (2,37)	.	.
Altres no cardíaques, n (%)	21 (8,24)	20 (9,48)	.	1 (2,78)

MS: Mort sobtada; MSR: Mort sobtada recuperada; SAMS: Síndrome arritmogènica associada a la mort sobtada; MCH: Miocardiopatia hipertròfica; MCD: Miocardiopatia dilatada; MCA: Miocardiopatia arritmogènica; SBr: Síndrome de Brugada; SQTL: Síndrome de QT llarg; TVPC: Taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica. CI: Cardiopatia isquèmica.

L'avaluació clínica dels casos índexs de la cohort MSI-NoMOSCAT que havien patit una MSR va permetre la diagnosi d'una canalopatia cardíaca en el 30,56% dels casos índexs (13,89% SQTL, 8,33% SBr i 8,33% TVPC), de miocardiopatia en el 16,67% (11,11% MCA i 5,56% MCD), de cardiopatia isquèmica en el 22,22%, d'altres patologies cardíaques en el 2,78% i de patologies no cardíaques en el 2,78%; mentre que el 27,78% van romandre sense una etiologia clara.

Entre els casos índexs que van patir una MS i dels quals disposem d'informació clínica i/o genètica trobem 7 homes (87,50%; mitjana d'edat 40 ± 16) i una bebè de 10 dies. La majoria de les MS de la cohort MSI-NoMOSCAT es van produir en individus majors de 35 anys (6/8; 75%), exceptuant la bebè de 10 dies i un infant de 2 anys. Les morts dels casos índexs inclosos a la cohort MSI-NoMOSCAT van ser morts produïdes en un context hospitalari pel que, donat que no es va requerir una autòpsia medico-legal, no van ser inclosos al projecte MOSCAT. Tanmateix, les dades clíniques disponibles dels moments previs a la mort, els resultats de la necròpsia, si es disposa, i/o l'avaluació clínica de la família va permetre determinar la causa de la mort en el 75% dels casos, mentre que en el 25% restant, la causa va resultar indeterminada. Així, en un 37,50% dels casos la MS es va associar a una miocardiopatia (12,50% MCH i 25% MCA); en un 12,50% es va poder realitzar la diagnosi de SQTL; mentre que en els casos restants, la MS es va associar a cardiopatia isquèmica o cardiopatia congènita severa, representant cadascun d'aquests grups un 12,50% dels casos de MS de la cohort MSI-NoMOSCAT (Taula 20). A Catalunya, igual que en altres països, existeixen protocols ben establerts que inclouen l'autòpsia molecular en aquells casos en els

quals es realitza una autòpsia medico-legal[138]. Tanmateix, quan l'individu que pateix la MSI acaba morint en un hospital, la realització d'una anàlisi genètica depèn del criteri dels professionals que l'atenen. A més, si no existeix un equip especialitzat que gestioni el procés, inclús si es sol·licita l'anàlisi genètica, aquesta podria acabar no realitzant-se degut a l'anul·lació de les peticions pendents que es produeix a nivell administratiu quan una persona mor o es podria no transmetre la informació dels resultats als familiars. Les guies recomanen l'estudi genètic en els casos de MSI pel que caldria incorporar aquestes recomanacions als protocols d'actuació dels serveis d'urgències, a les unitats de cures intensives i als serveis de cardiologia, entre altres, per tal que com a mínim es reculli sempre una mostra de sang i es faci la derivació dels familiars de primer grau a una unitat especialitzada en cardiopaties familiars per tal que es valori la necessitat de realitzar una anàlisi genètica en el cas índex i es gestioni l'avaluació clínica dels familiars, incloent l'assessorament genètic apropiat.

4.2.3- Caracterització genètica de la cohort de MSI

Es va realitzar una anàlisi genètica a 246 dels casos índexs de la cohort de MSI de la UCF. Concretament, es va realitzar una anàlisi genètica a 209 dels 211 casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT (99,05%) com a part de l'autòpsia medico-legal i a 37 dels casos índexs de la cohort de MSI-NoMOSCAT (a 30 individus que havien patit una MSR i a 7 individus que havien patit una MSI). En els dos casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT que no van ser estudiats genèticament, l'autòpsia medico-legal havia identificat una causa no genètica de la mort, concretament una trombosi aguda oclusiva de l'artèria circumflexa esquerra i el trencament de l'artèria caròtida. Pel que fa a la cohort MSI-NoMOSCAT, en dos dels casos índexs no es va realitzar l'anàlisi genètica de cas índex en ells sinó que aquesta va ser realitzada en un membre de la seva família que, després de ser avaluat per l'antecedent de MS, va ser diagnosticat amb SQTL o trastorn de la conducció cardíaca, respectivament. A més, en un dels casos de MS de la cohort de MSI-NoMOSCAT en el qual no s'havia pogut realitzar l'anàlisi genètica, l'avaluació clínica i genètica de la família va permetre determinar que era portador obligat de la variant genètica identificada en un familiar estudiat per MCH. Finalment, 6 casos índexs de la cohort MSI-NoMOSCAT no van ser estudiats genèticament ja que es va identificar o cardiopatia isquèmica o patologia cardíaca congènita.

Per l'anàlisi genètica dels 246 casos índexs de la cohort de MSI es van seguir cinc aproximacions diferents: seqüenciació Sanger dels principals gens associats a canalopaties cardíques –*SCN5A*, *KCNQ1*, *KCNH2*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNE3*, *RYR2*– (18/246; 8,61%), seqüenciació NGS d'un panell de gens associats a canalopaties cardíques –panell

aritmogènic– (8/246; 3,25%), seqüenciació NGS d'un panell de gens associats a miocardiopaties –panell estructural– (5/246 2,03%), seqüenciació NGS d'un panell de gens associats tant a canalopaties cardíques com a miocardiopaties –panell global– (213/246; 86,59%) i seqüenciació Sanger/MLPA per a la determinació de la variant genètica i CNV identificada en un altre membre de la família, respectivament (2/246; 0,81%). En 13 casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT inicialment s'havia realitzat una anàlisi genètica mitjançant seqüenciació Sanger i posteriorment es va realitzar l'ampliació a un panell global. En els casos que van ser estudiats únicament mitjançant seqüenciació Sanger, l'ampliació de l'anàlisi genètica a seqüenciació NGS no estava indicada o no va ser possible perquè l'autòpsia medico-legal definitiva havia identificat una causa no genètica, perquè la seqüenciació Sanger ja havia permès identificar una causa genètica que segregava en familiars afectats o perquè no es disposava de mostra d'ADN suficient.

L'anàlisi genètica va ser negativa per variants genètiques en 14 casos índexs, 7 de la cohort MSI-MOSCAT i 7 de la cohort MSI-NoMOSCAT (5,69%); mentre que en els 232 casos índexs restants (94,31%) es van identificar un total de 594 variants genètiques: 546 variants úniques i 24 variants cadascuna d'elles identificades en 2 individus aparentment no emparentats, excepte la variant *NEXN* p.(Ser596Arg) que es va identificar en dos casos índexs de la mateixa família. Aquesta taxa de detecció de variants genètiques no és comparable a la d'altres estudis ja que el 84,96% dels casos genotipats de la cohort de MSI de la UCF són casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT en els quals s'ha identificat alguna variant genètica i per tant, els familiars sol·liciten una visita a la UCF per valorar-ne el significat. Les famílies de casos índexs de la cohort MSI-MOSCAT amb anàlisi genètica negativa que van ser avaluades corresponen a famílies que van sol·licitar la visita a la UCF abans de disposar dels resultats de l'anàlisi genètica, excepte un dels casos, que es tractava de la segona mort que es produïa en aquella família i malauradament, l'anàlisi genètica no va aportar informació addicional sobre la causa de la mort.

Entre les 594 variants genètiques identificades, 536 són variants *missense* (90,24%), 21 són variants nul·les (3,54%; variants *nonsense*, *frameshift* i variants d'*splicing* a +/- 1 i 2), 9 són delecions, duplicacions o delins *inframe* (1,52%), 23 són variants intròniques (3,87%), 4 són CNVs (0,67%) i 1 és una variant reguladora a 5'UTR (0,17%).

Es van identificar variants genètiques en 90 gens diferents. El 65,49% de les variants genètiques es van identificar en gens majoritàriament associats a miocardiopaties (389 variants) i el 34,51% en gens majoritàriament associats a canalopaties cardíques (205

variants). El gen *TTN* va ser el que va agrupar un percentatge més alt de variants genètiques (167 variants; 28,11%), seguit de *RYR2* (29 variants), *ANK2* (24 variants) i *DSP* (24 variants) representant un 4,88%, 4,04% i 4,04% del total de variants identificades, respectivament. Entre els gens amb un percentatge de variants identificades per sobre de l'1% trobem gens com *MYBPC3* (19 variants), *KCNH2* (17 variants), *SCN5A* (16 variants), *DSG2* (12 variants), *DSC2* i *PKP2* (11 variants cadascun), *MYH7* (10 variants) o *KCNQ1* (9 variants), entre altres. Un total de 155 variants es van repartir entre 68 gens, cadascun d'ells representant menys d'un 1% de les variants identificades.

4.2.4- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de MSI

Segons la classificació reportada als informes originaris, 12 variants es van classificar com a P (2,02%), 112 com a PP (18,86%) i 470 com a VSI (79,12%) (Figura 12A i Taula 21). La reinterpretació de les 594 variants genètiques identificades a la cohort de MSI de la UCF ha resultat en la reclassificació de 265 variants, corresponent a una taxa de reclassificació del 44,61%. El 42,42% de les variants van patir una disminució en la classificació i un 2,19% van augmentar-la. La reclassificació de les variants genètiques de la cohort de MSI va suposar un canvi en la rellevància clínica en el 43,60% de les variants: el 42,25% patien una reducció de la rellevància clínica mentre que un 1,35% l'augmentaven (Figura 12B). Després de la reinterpretació, 9 variants es van classificar com a P (1,52%), 18 com a PP (3,03%), 386 com a VSI (64,98%), 79 com a PB (13,30%) i 102 com a B (17,17%) (Figura 12A).

Es va avaluar l'efecte de la reinterpretació en funció de la classificació originària de les variants genètiques. Pel que fa a les 12 variants reportades originàriament com a P, únicament 3 mantenen la classificació (25%) mentre que la resta veuen la seva classificació reduïda (75%): 1 passa a PP, 7 a VSI i 1 a B (Figura 12B i Taula 21). En quant a les tres variants que mantenen la classificació P, dos eren variants a *PKP2* i una a *LMNA*. Una de les variants a *PKP2* es va identificar en una família (MSI/MCA-19) en la qual ja existia història de MSI als 15 anys en un tiet del cas índex i l'avaluació anatomopatològica i familiar va permetre el diagnòstic de MCA a la família. En canvi, en el cas índex portador de la variant P a *LMNA* (MSI-55), tot i que s'ha descrit que les anomalies progressives de la conducció i les arrítmies auriculars i ventriculars poden precedir la disfunció sistòlica en individus amb aquest tipus de variants, i per tant, la variant identificada en aquest cas índex es considera potencialment responsable de la mort, donat que l'avaluació anatomopatològica i l'avaluació clínica dels

familiars va ser completament normal, es va considerar dins la categoria de morts sense causa identificada. L'altra variant P a *PKP2* es va identificar en un cas índex que va patir una MSR i va ser diagnosticat de SQT. Aquesta variant a *PKP2* va ser considerada una troballa secundària i l'avaluació clínica mitjançant ecocardiografia i ressonància cardíaca magnètica per descartar MCA va ser completament normal.

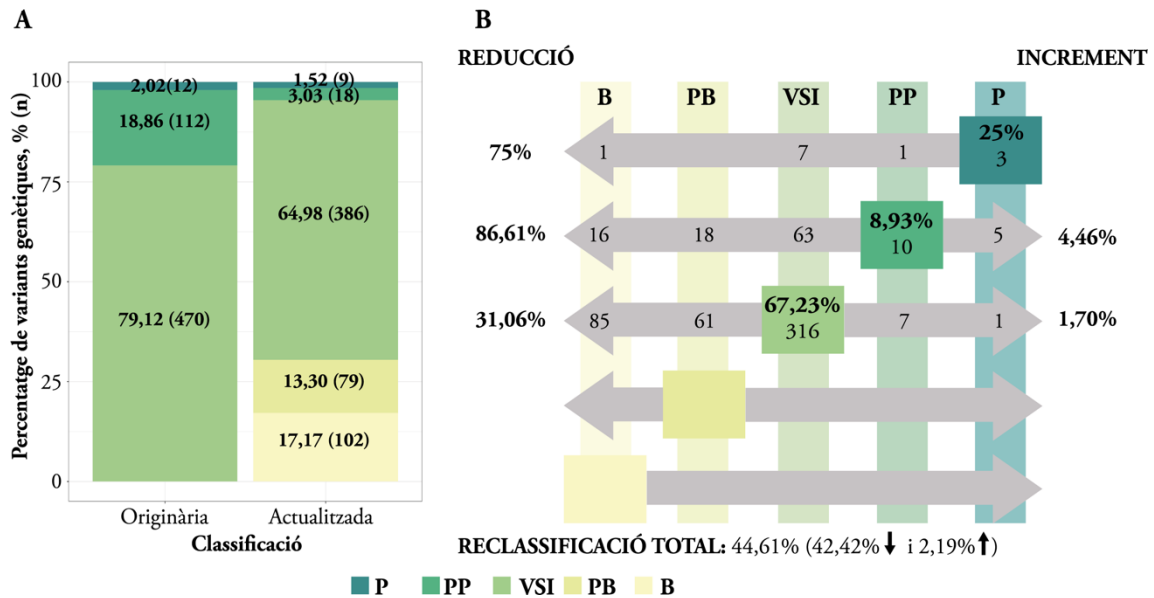


Figura 12. A) Percentatges de variants per cadascuna de les classificacions reportades a l'informe originari i després de la reinterpretació a la cohort de MSI-MOSCAT. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants incloses a la cohort MSI-MOSCAT. A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patògena; PP: Possiblement patògena; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

De les 112 variants classificades inicialment com a PP, 5 d'elles incrementen la seva classificació a P (4,46%), 10 mantenen la classificació (8,93%) mentre que les 97 variants restants disminueixen la classificació en un o més graus (86,61%): 63 passen a VSI, 18 a PB i 16 a B. Finalment, en referència a les 470 variants reportades a l'informe originari com a VSI, 8 es reclassifiquen a major categoria (1,70%), 316 mantenen la classificació (67,23%) i 146 redueixen la classificació (31,06%). Així, observem que de les 265 variants genètiques que modifiquen la classificació, el 96,91% d'elles pateixen una disminució en la classificació i únicament el 3,09% incrementa la classificació a P/PP. A més, en 21 individus, l'anàlisi genètica es considera negativa després de la reinterpretació ja que s'havien identificat únicament variants genètiques que actualment es classifiquen com a PB/B, de manera que la taxa de casos índexs amb anàlisi genètica negativa augmenta del 5,69% al 14,23% (35/246 casos índexs) (Figura 12B).

Taula 21. Variants genètiques identificades a la cohort MSI i classificades inicialment com a patogèniques.

Família	Relació	Classificació originària	Classificació actualitzada	Motiu principal per la reclassificació
MSI/MCH-3	<i>TNNT2</i> :c.857G>A; p.(Arg286His)	P	VSI	↓ Freqüència al·lèlica
MSI-4	<i>KCNE2</i> :c.29C>T; p.(Thr10Met)	P	VSI	↓ Freqüència al·lèlica
MSI/SQTL-12	<i>KCNQ1</i> :c.875G>A; p.(Gly292Asp)	P	VSI	↓ Freqüència al·lèlica
MSI-14	<i>MYH7</i> :c.3056C>A; p.(Thr1019Asn)	P	VSI	↓ Falta d'evidències
MSI/MCA-19	<i>PKP2</i> :c.1237C>T; p.(Arg413*)	P	P	=
MSI-29	<i>KCNH2</i> :c.2860C>T; p.(Arg954Cys)	P	VSI	↓ Falta d'evidències
MSI/MCD-43	<i>MYBPC3</i> :c.2176C>T; p.(Arg726Cys)	P	VSI	↓ Falta d'evidències
MSI/MCH-44	<i>SCN5A</i> :c.1127G>A; p.(Arg376His)	P	PP	↓ Falta d'evidències
MSI/CI-50	<i>SCN5A</i> :c.1333C>G; p.(His445Asp)	P	VSI	↓ Falta d'evidències
MSI-55	<i>LMNA</i> :c.1580G>A; p.(Arg527His)	P	P	=
	<i>TGFBR2</i> :c.1159G>A; p.(Val387Met)	P	B	↓ Freqüència al·lèlica
MSI/SQTL-227	<i>PKP2</i> :c.2146-1G>C	P	P	=

CI: Cardiopatia isquèmica. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

En general, s'observa que la classificació reportada inicialment estava sobreestimada en gairebé la meitat de les variants genètiques identificades en els casos índexs de la cohort MSI (42,42%), pel que la major taxa de reclassificació s'observa tant en les variants P (75%) com en les variants PP (86,61%); mentre que les variants classificades inicialment com a VSI, tot i que també sofreixen una disminució de la classificació, la taxa no és tan alta (31,06%).

Les variants genètiques de la cohort MSI que augmenten la seva classificació després de la seva reinterpretació ho fan principalment per l'adquisició d'evidències sobre la segregació de la variant amb la malaltia, mentre que els motius principals pels que les variants han patit una disminució de la classificació són la seva alta freqüència al·lèlica en bases de dades de població general i la falta d'evidències suficients per mantenir la classificació originària.

A la Taula 22 es descriuen les 27 variants genètiques que van assolir una classificació P/PP després de la reinterpretació efectuada en aquest estudi. Un 48,15% d'aquestes (13 variants), mantenen la classificació reportada a l'informe originari (3 P i 10 PP); en una variant la classificació passa de P a PP per falta d'evidències que recolzin aquesta classificació (3,70%); mentre que les variants restants (48,15%) veuen la classificació augmentada de VSI a P/PP (8 variants) o de PP a P (5 variants). A més d'evidències sobre segregació, en 3 famílies es va demostrar que la variant genètica identificada en el cas índex era una variant *de novo* ja que els pares no n'eren portadors. Es tracta de les famílies MSI/SQTL-173 i MSI-212 en les quals els casos índexs havien presentat característiques clíniques de SQTL i MCD, respectivament, pel que es consideren variants en gens específics pel fenotip; i la família MSI/SQTL-110, en què tot i que es va demostrar que la variant a *KCNH2* era *de novo* i aquesta s'estima potencialment P i causal de la MSI, no es va aplicar el criteri PS2/PM6 corresponent ja que per la seva aplicació cal que el gen on s'ha identificat la variant genètica sigui altament

específica pel fenotip i no existeixi una alta heterogeneïtat genètica, el qual no succeeix en la MSI i a més, en aquest cas no va ser possible confirmar la paternitat.

Taula 22. Variants genètiques identificades a la cohort MSI-MOSCAT i classificades com a (possiblement) patogèniques després de la reinterpretació.

Família	Variant genètica	Classificació originària	Classificació actualitzada	Motiu principal per la reclassificació
MSI-16	<i>TTN</i> :c.29295T>A; p.(Tyr9765*)	VSI	PP	↑ Variant LoF
MSI/MCA-19	<i>PKP2</i> :c.1237C>T; p.(Arg413*)	P	P	=
MSI/SQTL-25	<i>KCNQ1</i> :c.(921+1_922-1)_(1128+1_1129-1)del	PP	PP	=
MSI/MCA-27	<i>DSP</i> :c.868G>A; p.(Glu290Lys)	VSI	PP	↑ Segregació
MSI/MCH-44	<i>SCN5A</i> :c.1127G>A; p.(Arg376His)	P	PP	↓ Falta d'evidències
MSI-55	<i>LMNA</i> :c.1580G>A; p.(Arg527His)	P	P	=
MSI/MCH-71	<i>MYBPC3</i> :c.1505G>A; p.(Arg502Gln)	PP	P	↑ Segregació i <i>hot spot</i>
MSI-80	<i>SCN5A</i> :c.4651G>C; p.(Asp1551His)	VSI	PP	↑ <i>Hot spot</i> (SBr)
MSI/SQTL-89	<i>KCNH2</i> :c.1810G>A; p.(Gly604Ser)	PP	P	↑ Segregació
MSI/SBr-90	<i>SCN5A</i> :c.1140+2T>C	VSI	PP	↑ Variant LoF
MSI/Altres-96	<i>DSG2</i> :c.484del; p.(Asp162Metfs*10)	PP	PP	=
MSI/SQTL-110	<i>KCNH2</i> :c.1312G>T; p.(Glu438*)	PP	PP	=
MSI-126	<i>KCNQ1</i> :c.646_647del; p.(Gly216Leufs*68)	PP	PP	=
MSI/SQTL-142	<i>KCNQ1</i> :c.649T>A; p.(Ser217Thr)	VSI	PP	↑ <i>Hot spot</i>
MSI/TVPC-156	<i>RYR2</i> :c.1259G>A; p.(Arg420Gln)	PP	P	↑ Segregació
MSI/SQTL-173	<i>CALM1</i> :c.307G>A; p.(Ala103Thr)	VSI	PP	↑ <i>de novo</i>
MSI-183	<i>DSP</i> :c.423-2A>G	VSI	PP	↑ Variant LoF
MSI-193	<i>TTN</i> :c.83847_83848del; p.(Asp27951*)	PP	PP	=
MSI/SQTL-200	<i>KCNQ1</i> :c.512A>C; p.(Tyr171Ser)	VSI	P	↑ Segregació
MSI/MCA-204	<i>DSP</i> :c.2631_2652del; p.(Leu878Serfs*4)	PP	PP	=
MSI-208	<i>TTN</i> :c.63442_63452del; p.(Gly21148Hisfs*6)	PP	PP	=
MSI/MCD-212	<i>LMNA</i> :c.931A>T; p.(Lys311*)	PP	P	↑ <i>de novo</i>
MSI/SQTL-216	<i>KCNH2</i> :c.1969G>A; p.(Gly657Ser)	PP	P	↑ Segregació
MSI/SQTL-227	<i>PKP2</i> :c.2146-1G>C	P	P	=
MSI/Altres-243	<i>FLNA</i> :c.5146dup; p.(Gln1716Profs*77)	PP	PP	=
MSI/MCH-250	<i>KCNQ1</i> :c.1097G>A; p.(Arg366Gln)	PP	PP	=
MSI/SQTL-253	<i>KCNH2</i> :c.221_242del; p.(Thr74Argfs*35)	PP	PP	=

Altres: Altres causes cardíques; LoF: Pèrdua de funció. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

L'anàlisi estadística de la concordança entre les classificacions originàries de les variants identificades a la cohort MSI i la reclassificació realitzada a aquest estudi indica una concordança pobra tant en la comparació de les classificacions reportades a les anàlisis genètiques de casos índexs (k=0,2329) com si a la comparació s'hi inclouen les anàlisis genètiques de familiars (k=0,3982).

Adicionalment, es va avaluar també la taxa de reclassificació en funció de l'any en què van ser reportades les variants (Taula 23). La taxa de reclassificació de les variants reportades abans del 2015 és propera o superior al 65-70%. Les variants reportades entre els anys 2015 i 2019 presenten taxes de reclassificació que fluctuen entre valors al voltant del 40% i valors propers al 60%. No és fins la reinterpretació de les variants reportades l'any 2019 que mostra

una reducció en la taxa de reclassificació (15,56%), tot i que, l'any 2020 torna a augmentar lleugerament fins al 20,83% i únicament s'observa una reducció significativa en la taxa de reclassificació d'aquelles variants genètiques reportades l'any 2021 (2,38%). La comparació de les classificacions originàries i les classificacions actualitzades en funció de l'any en què es van reportar les variants genètiques mostra una concordança pobra o lleu, que només assoleix una concordança molt bona en aquelles variants reportades inicialment l'any 2021. Així, s'observa que les majors taxes de reclassificació es produeixen en aquelles variants reportades els anys previs a la publicació de les guies ACMG/AMP[141], tot i que després de l'aplicació d'aquestes guies es segueixen observant taxes de reclassificació elevades.

Taula 23. Concordança entre la classificació originària i la classificació actualitzada i taxa de reclassificació global i segons l'any de l'emissió de l'informe originari.

Any	TOTAL	
	Concordança	Taxa de reclassificació
2012	NA	100%
2013	Sense	64,71%
2014	Pobra	69,18%
2015	Pobra	37,33%
2016	Pobra	44,05%
2017	Sense	56,06%
2018	Pobra	34,18%
2019	Lleu	15,56%
2020	Lleu	20,83%
2021	Molt bona	2,38%
TOTAL	Pobra	44,61%

4.3- Cohort de síndrome de Brugada

A la UCF s'han avaluat 245 individus de 79 famílies amb diagnòstic de SBr (56,73% homes; mitjana d'edat al diagnòstic/avaluació de 40 ± 20 anys). D'aquestes, 4 són famílies amb diagnòstic de SBr després de ser incloses al projecte MOSCAT degut a la MS i posterior anàlisi molecular d'un familiar (43 individus) i 3 són famílies en les quals s'ha establert la diagnosi de SBr després de la MSR del cas índex com a primer símptoma (9 individus). Així, el diagnòstic de SBr s'ha pogut establir en l'1,90% dels individus avaluats per MSI i inclosos al projecte MOSCAT (4/211 casos índex) i en un 8,33% dels casos que van presentar MSR com a primera manifestació de la malaltia (3/36 casos índex).

En total, la cohort de la UCF amb diagnòstic de SBr està formada per 79 casos índex i 166 dels seus familiars. Entre els 79 casos índex, 75 són individus vius i els 4 restants són individus inclosos dins el projecte MOSCAT. A la Taula 24 es resumeixen les característiques clíniques dels casos índex vius i dels familiars avaluats.

Pel que fa als 75 casos índex vius, 27 van presentar un ECG tipus I espontani (36%), 14 el van mostrar en condicions de febre (18,67%), en 6 es va induir després de l'administració, per altres motius, d'algun fàrmac (8%) com per exemple, la flecaïnida en el tractament d'una FA; i en 28 es va mostrar després de l'estudi farmacològic de provocació (37,33%). L'estudi farmacològic de provocació es va realitzar en un total de 36 casos índex, mostrant un patró tipus I en 35 d'ells. En 52 dels casos índex es va realitzar un estudi electrofisiològic (EEF) per determinar el risc d'inducció d'arrítmies ventriculars resultant positiu en 9 dels casos (12% del total de la cohort de casos índex). Un 14,67% (11 casos índex) van presentar símptomes clínics de la SBr: 3 van patir una MSR, 7 havien presentat episodis de síncope i 1, clínica de palpitations. Un 21,33% dels casos índex de la cohort de SBr són portadors de DAI i un 16% tenien antecedents familiars de MS (Taula 24).

Es va avaluar clínicament a 166 familiars de 42 famílies amb diagnòstic clínic de SBr (52,41% dones; mitjana d'edat a l'avaluació 37 ± 22 anys), assolint un diagnòstic de SBr en 25 familiars de 17 famílies diferents. En 9 familiars es va detectar un ECG tipus I espontani (5,42%), en 1 familiar l'ECG tipus I va aparèixer en condicions de febre i en un altre induït pel tractament amb antidepressiu tricíclic. L'estudi farmacològic de provocació es va realitzar en 52 familiars, resultant positiu en 14 d'ells. Es van realitzar 16 EEFs que van induir arrítmies ventriculars en 2 familiars. Cinc familiars (3,01%) van presentar símptomes de síncope o

MSR i un 36,14% dels familiars tenien antecedents familiars de MS (Taula 24). Tot i que aquest percentatge es redueix fins al 12,65% si s'exclouen els 39 familiars dels casos índexs inclosos al projecte MOSCAT per MS.

En total, la cohort de SBr de la UCF està formada per 100 individus vius amb diagnòstic de SBr de 79 famílies aparentment no emparentades (75 casos índexs i 25 familiars). Les característiques clíniques d'aquests individus amb diagnòstic de SBr estan resumides a la Taula 24.

Taula 24. Característiques clíniques dels individus de la cohort de SBr.

Característiques clíniques	Casos índexs vius (n=75)	Familiars (n=166)	Individus amb diagnòstic de SBr (n=100)
Home/Dona	56/19	79/87	66/34
Edat, anys	48 ± 14	37 ± 22	45 ± 15
Diagnòstic clínic de SBr, n/total (%)	75/75 (100%)	25/166 (15,06%)	100/100 (100%)
ECG tipus I espontani, n (%)	27 (36%)	9 (5,42%)	36 (36%)
ECG tipus I amb febre/induït, n (%)	14 (18,67%) / 6 (8%)	1 (0,60%) / 1 (0,60%)	15 (15%) / 7 (7%)
ECG tipus I amb provocació farmacològica, n/total	35/36	14/52	49/50
EEF positiu per TV/FV, n/total	9/52	2/16	11/68
DAI, n (%)	16 (21,33%)	5 (3,01%)	21 (21%)
Síntomes, n (%)	11 (14,67%)	5 (3,01%)	16 (16%)
Història familiar de MSC, n (%)	12 (16%)	60 (36,14%)	25 (25%)

SBr: Síndrome de Brugada; EEF: Estudi electrofisiològic; TV: Taquicàrdia ventricular; FV: Fibril·lació ventricular; DAI: Desfibril·lador automàtic implantable; MSC: Mort sobtada cardíaca.

4.3.1- Caracterització genètica de la cohort de síndrome de Brugada

Es va realitzar una anàlisi genètica de cas índex a 62 dels 79 casos índexs amb diagnòstic de SBr (79,03% homes; mitjana d'edat del diagnòstic 46 ± 15 anys) seguint tres aproximacions diferents: seqüenciació Sanger de *SCN5A* (7/62; 11,29%), seqüenciació NGS d'un panell de gens associats a canalopaties cardíques (–panell arritmogènic– (43/62; 69,35%) i seqüenciació NGS d'un panell de gens associats tant a canalopaties cardíques com a miocardiopaties –panell global– (12/62; 19,35%).

L'estudi genètic va identificar un total de 70 variants genètiques a 43 dels 62 casos índexs analitzats genèticament. Es van identificar 14 variants genètiques a *SCN5A*, l'únic gen considerat causant de la SBr de manera definitiva, a 11 dels 62 casos índexs (17,74%). Aquesta taxa de detecció de variants a *SCN5A* concorda amb els percentatges publicats, que oscil·len entre el 15-30% dels casos amb SBr[33, 43]. A més, a 24 casos índexs es van identificar 28 variants genètiques a gens que tot i que històricament havien estat descrits com a gens minoritaris en la SBr, actualment es considera que no existeixen evidències suficients que suportin aquesta associació[66] (22 casos índexs presentaven només variants genètiques

a aquests gens; 35,48%). Finalment, es van identificar 28 variants genètiques a gens que no han estat descrits en associació a la SBr en 18 casos, 10 dels quals eren portadors únicament de variants a aquests gens, pel que van ser considerats com a resultat negatiu per a l'anàlisi genètica de la SBr. A més, en 19 dels casos índexs l'estudi genètic va ser completament negatiu de manera que, un total de 29 dels casos índexs de SBr analitzats genèticament no presentaven cap variant associada a la SBr (46,77%).

Pel que fa a les 14 variants genètiques identificades a *SCN5A*, originàriament 7 van considerar-se P/PP i 7 VSI; mentre que tant les variants genètiques identificades en gens amb una associació controvertida a SBr com les identificades en gens no associats a la SBr es van reportar com a VSI.

Entre els 11 casos índexs portadors de variants genètiques a *SCN5A*, 2 eren portadors únicament de variants P/PP, 6 ho eren només de VSI i 3 eren portadors de dos variants genètiques en heterozigosi composta a *SCN5A*. En els casos índexs de les famílies SBr-290 i SBr-314 es van identificar les variants *SCN5A* c.3840+1G>A i *SCN5A* p.(Asp1690Asn) en *cis* (classificades originàriament com a P i VSI o PP, respectivament) i en el cas índex de la família MSI/SBr-53 es van identificar les variants *SCN5A* p.(Ala2Thr) i *SCN5A* p.(Leu619Phe) en *trans* (ambdues classificades originàriament com a PP en el cas índex).

A la Figura 13 es representen els arbres genealògics de les 11 famílies amb variants genètiques a *SCN5A*. Es van avaluar genèticament a 68 familiars de 9 famílies per les variants genètiques a *SCN5A* identificades en el cas índex de la seva família, resultant en 12 individus genotip i fenotip positiu (G+/F+), 31 individus genotip positiu i fenotip negatiu (G+/F-), 24 individus genotip i fenotip negatiu (G-/F-) i 1 individu genotip negatiu i fenotip positiu (G-/F+).

Finalment, també van ser avaluats 24 familiars de 7 famílies amb variants a gens amb associació controvertida a la SBr, observant segregació en 2 familiars (G+/F+) de dos famílies i descartant l'associació de la variant genètica amb la SBr per no segregació amb el fenotip en 3 familiars (G-/F+) de tres famílies.

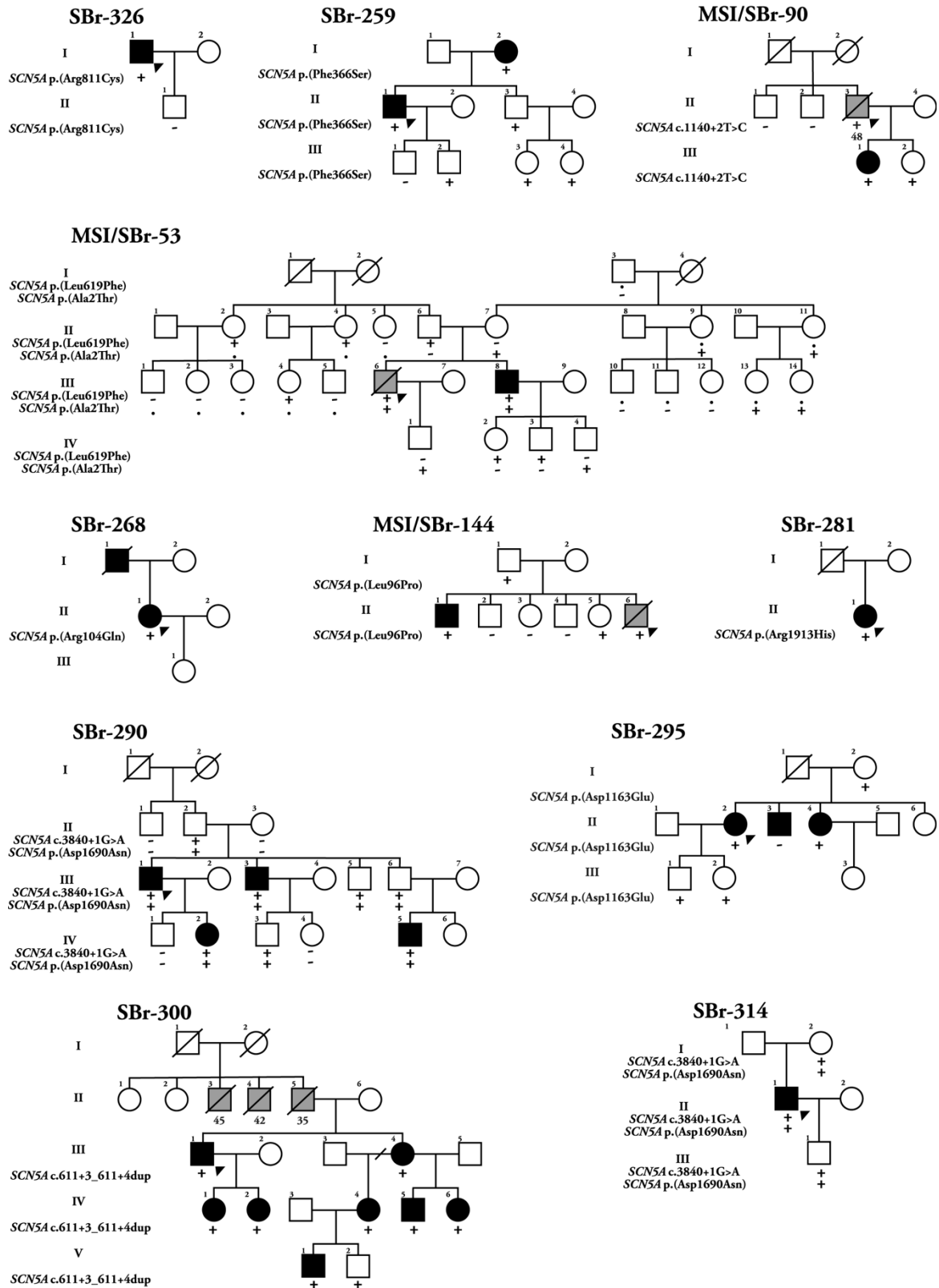


Figura 13. Arbres familiars de les 11 famílies de la cohort de SBr amb variants genètiques a *SCN5A*. Cercle: dona; Quadrat: home; Línia diagonal: individu mort; Fletxa: proband; Símbol negre: individu amb diagnòstic de SBr; Símbol gris: individu que ha patit mort sobtada; +: portador de la variant genètica analitzada; -: no portador de la variant genètica analitzada; ●: variant genètica no analitzada.

4.3.2- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de SBr

Segons la classificació de les variants a *SCN5A* reportada als informes originaris, 2 variants es van classificar com a P (14,29%), 5 com a PP (37,51%) i 7 com a VSI (50%) (Figura 14A). La reinterpretació de les 14 variants genètiques identificades a *SCN5A* en els casos índex amb diagnòstic de SBr de la UCF ha resultat en la reclassificació de 8 variants genètiques, corresponent a una taxa de reclassificació de les variants genètiques a *SCN5A* del 57,14%. Tres variants pateixen una reducció en la classificació ja que passen de PP a VSI (21,43%) i 5 variants veuen augmentada la seva classificació, passant de VSI a PP (35,71%). Les 4 variants genètiques restants mantenen la classificació (42,86%) (Figura 14B).

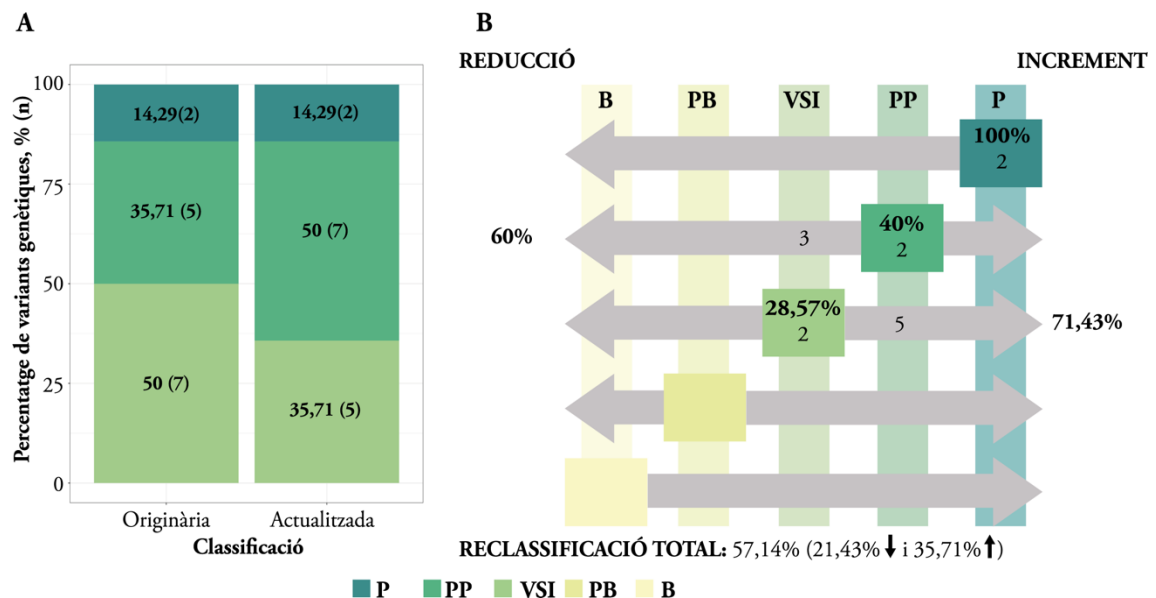


Figura 14. A) Proporció de variants identificades a *SCN5A* a la cohort de SBr per cadascuna de les categories de classificació en l'informe originari i després de la reinterpretació. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants a *SCN5A* de la cohort de SBr. A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

Igual que es va observar en la reinterpretació de les variants genètiques de la cohort general de cardiopaties familiars, la taxa de reclassificació de les variants a *SCN5A* observada a la cohort de SBr de la UCF és significativament superior a la taxa publicada per Sarquella-Brugada *et al* en l'estudi que avaluava la reclassificació de les variants genètiques identificades l'any 2016 cinc anys més tard (57,14% vs 16,67%)[211]. A més, en aquest estudi únicament es descrivia un augment de la classificació mentre que a la cohort de SBr de la UCF s'observa

que un 21,43% de les variants sofreixen una disminució de la classificació i un 35,71% l'augmenten. Les diferències entre aquests valors poden ser deguts al nombre tan reduït de variants d'ambdós grups, a les dades de segregació disponibles gràcies a l'avaluació clínica i genètica realitzada a la UCF, i també al fet que en l'estudi de Sarquella-Brugada *et al* les variants genètiques reinterpretades ja havien estat classificades seguint les guies ACMG/AMP mentre que a la cohort de SBr d'aquesta tesi també hi ha variants classificades abans de la publicació d'aquestes guies.

Totes les reclassificacions realitzades a les variants identificades a *SCN5A* a la cohort de SBr de la UCF implicaven un canvi en la rellevància clínica. No obstant, donat que alguns casos índexs eren portadors de dues variants genètiques a *SCN5A*, la reclassificació de les variants va suposar un canvi en la rellevància clínica únicament en 6 de les 11 famílies (54,55%). Quatre d'elles eren famílies amb variants anteriorment classificades com a VSI que actualment adquireixen una classificació PP (36,36%) i per tant, incrementen la seva rellevància clínica; mentre que dos d'elles eren famílies que sofreixen una disminució de la rellevància clínica ja que les variants es reclassificaven de PP a VSI (18,18%). Així, després de la reinterpretació, 2 variants es van classificar com a P (14,29%), 7 com a PP (50%), 5 com a VSI (35,71%) (Figura 14A). Tot i que aquests percentatges no són representatius de la reclassificació causada per la reinterpretació de les variants realitzada en aquesta tesi doctoral, comparant-los amb els descrits per Denham *et al*[192] podem observar que en la nostra cohort de SBr s'ha identificat una major proporció de variants P/PP (64,29% vs 37%). La resta de variants genètiques les classifiquen com a VSI (60%) i PB/B (3%); mentre que a la nostra cohort de SBr el 35,71% restant el formen variants classificades com a VSI. Aquestes divergències podrien explicar-se per 1) la diferència en el número de variants avaluades ja que a la nostra cohort de SBr disposem únicament de 14 variants genètiques a *SCN5A* mentre que en l'estudi de Denham *et al* reavaluen 480 variants genètiques prèviament descrites a la literatura científica en associació a la SBr[192]; 2) per la utilització de diferents criteris i/o la manera d'aplicar-los per a la classificació de les variants; i 3) per les diferències inherents en la classificació de les variants genètiques entre diferents laboratoris[157].

L'anàlisi estadística de la concordança entre les classificacions originàries de les variants identificades a *SCN5A* a la nostra cohort de SBr i la reclassificació realitzada en aquest estudi indica una concordança lleu tant en la comparació de les classificacions reportades en les anàlisis genètiques de casos índexs ($k=0,2329$) com si a la comparació s'hi inclouen les anàlisis genètiques de familiars ($k=0,3982$).

Els principals motius pels que s'ha rebaixat la classificació de les 3 variants PP a VSI són la freqüència al·lèlica en bases de dades de població general i la falta d'evidències suficients per classificar-se com a PP. Altrament, en les 5 variants que han incrementat la classificació de VSI a PP els motius principals de la reclassificació són la localització de la variant en un *hot spot*, que la variant és del tipus de variant de pèrdua de funció, i la disponibilitat de dades de segregació (Figura 13) o d'estudis funcionals que indiquen una pèrdua de funció del canal de sodi (Taula 25).

Taula 25. Classificació reportada originàriament i després de la reinterpretació per les variants genètiques identificades a *SCN5A* a la cohort de SBr.

Família	Variant genètica	Classificació originària	Classificació actualitzada	Motiu principal per la reclassificació
SBr-326	<i>SCN5A</i> c.2431C>T; p.(Arg811Cys)	VSI	PP	↑↑ <i>Hot spot</i>
SBr-259	<i>SCN5A</i> :c.1097T>C; p.(Phe366Ser)	VSI	PP	↑↑ <i>Hot spot</i>
MSI/SBr-53	<i>SCN5A</i> :c.1855C>T; p.(Leu619Phe)	PP	VSI	↓ Freqüència al·lèlica
	<i>SCN5A</i> :c.4G>A; p.(Ala2Thr)	PP	VSI	↓ Falta d'evidències
MSI/SBr-90	<i>SCN5A</i> :c.1140+2T>C	VSI	PP	↑↑ Variant de pèrdua de funció
SBr-268	<i>SCN5A</i> :c.311G>A; p.(Arg104Gln)	PP	PP	=
MSI/SBr-144	<i>SCN5A</i> :c.287T>C; p.(Leu96Pro)	PP	VSI	↓ Falta d'evidències
SBr-281	<i>SCN5A</i> :c.5738G>A; p.(Arg1913His)	VSI	VSI	=
SBr-290	<i>SCN5A</i> :c.3840+1G>A	P	P	=
	<i>SCN5A</i> :c.5068G>A; p.(Asp1690Asn)	VSI	PP	↑↑ Estudis funcionals
SBr-295	<i>SCN5A</i> :c.3489C>A; p.(Asp1163Glu)	VSI	VSI	=
SBr-300	<i>SCN5A</i> :c.611+3_611+4dup	VSI	PP	↑ Segregació
SBr-314	<i>SCN5A</i> :c.3840+1G>A	P	P	=
	<i>SCN5A</i> :c.5068G>A; p.(Asp1690Asn)	PP	PP	=

P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

A la família MSI/SBr-53, les dos variants identificades a *SCN5A* van classificar-se originàriament com a PP però, una per falta d'evidències i l'altra per presentar una freqüència al·lèlica en bases de dades de població general massa elevada per la SBr, van reclassificar-se a VSI. Tanmateix, l'anàlisi clínica i genètica dels familiars d'aquesta família va demostrar que cadascuna d'aquestes variants havia estat heretada d'un dels pares i que el germà, que havia estat diagnosticat de SBr, era també portador d'ambdues variants, pel que es va considerar que únicament la presència d'ambdues variants causava el fenotip de SBr. En els últims anys s'ha plantejat que la SBr lluny de tractar-se d'una malaltia monogènica causada per una única variant genètica, podria estar causada per la interacció entre variants rares i múltiples variants comunes. S'han descrit estudis que identifiquen variants compostes en pacients amb SBr, com succeeix a la família MSI/SBr-53, així com estudis d'associació del genoma complet (GWAS, de l'anglès *genome-wide association studies*) que reporten la influència de variants comunes en la susceptibilitat a la SBr[217-219]. A més, en estudis de grans famílies amb SBr s'han descrit individus amb fenotip positiu i no portadors de la variant familiar, suggerint que

les variants a *SCN5A* no són suficients per causar la SBr i que el *background* genètic és un important modulador de l'expressió de la malaltia[220], tal i com ocorre a la família SBr-295 en la qual podem observar 2 familiars G+/F+ i 1 familiar G-/F+ (Figura 13). La classificació d'aquesta variant s'ha mantingut com a VSI tot i complir BS4 degut a la no segregació.

De les 28 variants reportades com a VSI en gens amb evidències controvertides sobre la seva associació a la SBr, 3 es van reclassificar com a variants PB i 5 com a B. De manera que únicament 15 casos índex resten portadors de VSI en aquests gens (24,19%, 15/62 casos índex). Pel que fa a les 28 variants reportades com a VSI en gens no associats a la SBr, 18 mantenen aquesta classificació, 9 passen a PB/B i una adquireix la classificació PP.

La reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de la SBr ha causat un augment en el nombre de casos índex que adquireixen un resultat genètic negatiu per a l'anàlisi de la SBr ja que després de la reinterpretació sols són portadors de variants classificades com a PB/B (58,06%, 36/62 casos índex). No obstant, un dels casos índex considerats negatius per a l'anàlisi genètica de la SBr era portador d'una variant en un gen no associat a la SBr que després de la reinterpretació va adquirir la classificació de PP en un context de SCTL (*KCNQ1* p.(Ala287Ser)). Quan es realitzen anàlisis genètiques utilitzant seqüenciació NGS d'un panell de gens existeix la possibilitat d'identificar variants en gens que tot i estar inclosos al panell, no estan associats a la patologia específica d'estudi. Aquestes variants s'anomenen troballes secundàries i si es troben en un dels gens considerats susceptibles d'intervenció clínica, caldrà que es reporti a l'informe genètic. El gen *KCNQ1* és un d'aquests gens pel que aquesta variant haurà de ser reportada[135].

Si s'inclouen totes les variants genètiques identificades a la cohort de SBr, tant les identificades a *SCN5A* com a gens amb associació controvertida i gens no associats, s'obté una taxa de reclassificació del 37,14% amb un 28,57% de variants que disminueixen la classificació i un 8,57% que l'augmenten, entre les quals únicament s'hi troben variants a *SCN5A* i la variant a *KCNQ1* classificada com a PP en un context de SCTL. Així, observem que la taxa de reclassificació varia substancialment en funció de les variants incloses a la reinterpretació. D'aquesta manera, s'observa una major taxa de reclassificació (57,14%) i especialment d'una reclassificació a classificacions superiors (35,71%) quan es reinterpreten variants a *SCN5A*, l'únic gen clarament associat a la SBr. Aquest fet s'explica per la disponibilitat d'un major nombre d'evidències en el cas de variants en gens clarament associats a la patologia d'estudi ja que per exemple, en *SCN5A* i la SBr es disposa dades sobre les regions enriquides amb variants P/PP identificades en pacients amb SBr o es coneix

que el mecanisme de patogenicitat de *SCN5A* és la pèrdua de funció i per tant, podrà aplicar-se el criteri PVS1 en les variants nul·les. Per contra, en gens amb una associació controvertida o no associats a la SBr, no es disposarà d'informació per poder aplicar aquestes evidències de manera que majoritàriament es classifiquen com a VSI i inclús durant la reinterpretació poden passar a classificar-se com a PB/B per l'adquisició de dades sobre la no segregació amb la patologia o sobre la freqüència al·lèlica en població general.

4.4- Cohort de síndrome de QT llarg

A la UCF s'han avaluat 164 individus de 33 famílies amb diagnòstic de SQTL (53,66% dones; mitjana d'edat al diagnòstic/avaluació de 39 ± 21 anys). D'aquestes, 8 són famílies amb diagnòstic de SQTL després de ser incloses al projecte MOSCAT degut a la MS i posterior anàlisi molecular del cas índex (73 individus), 1 és una família amb diagnòstic de SQTL després de la MS d'un familiar de primer grau no inclòs al projecte MOSCAT (9 individus) i 5 són famílies en les quals s'ha establert la diagnosi de SQTL després de la MSR del cas índex com a primer símptoma (29 individus). Així, la diagnosi de SQTL s'ha pogut establir en el 4,11% de les famílies avaluades per història familiar de MS, i en un 13,89% dels casos que van presentar MSR com a primera manifestació de la malaltia.

En total, la cohort de la UCF amb diagnòstic de SQTL està formada per 29 casos índexs (58,625 dones; mitjana d'edat al diagnòstic de 37 ± 18 anys) i 135 familiars (52,59% dones; mitjana d'edat al diagnòstic/avaluació de 40 ± 22 anys) de 28 famílies. En 5 dels casos índexs no va ser possible l'estudi dels seus familiars i en 4 famílies, el cas índex no havia estat estudiat a la UCF. A la Taula 26 es resumeixen les característiques clíniques dels casos índexs vius i dels familiars.

Pel que fa als 21 casos índexs vius, 11 van presentar un interval QTc ≥ 480 ms a l'EKG (52,38%), 8 van mostrar un interval QTc entre 460 i 476 ms (38,10%) i dos casos índexs masculins van presentar un QTc de 450 ms (9,52%). Es disposa d'una prova d'esforç de 13 dels casos índexs, i 5 d'ells mostren un interval QTc superior a 480 ms en el minut 4 de la recuperació. Un 57,14% (12 casos índex) van presentar símptomes clínics de la SQTL: 4 van patir una MSR, 7 havien presentat episodis de síncope i 1, clínica de palpitations. En la majoria dels casos índexs (66,67%), els símptomes no mostraven un desencadenant clar. Únicament dos dels casos índexs van patir un episodi de síncope en una situació d'exercici. Un 71,43% dels casos índexs de la cohort de SQTL estan en tractament amb betabloquejants, un 23,81% són portadors de DAI i un 14,29% tenien antecedents familiars de MS (Taula 26).

Es va avaluar clínicament a 135 familiars de 28 famílies amb diagnòstic clínic de SQTL, assolint un diagnòstic definitiu (puntuació superior a 3,5 dels criteris Schwartz) de SQTL en 17 familiars de 7 famílies diferents i una probabilitat intermèdia segons els criteris de Schwartz en 9 familiars de 8 famílies. Dos familiars de dos famílies diferents, van obtenir una probabilitat baixa de SQTL segons els criteris de Schwartz. A 11 familiars es va detectar un

interval QTc ≥ 480 ms a l'ECG (8,09%), 14 van mostrar un interval QTc entre 460 i 476 ms (10,29%) i tres familiars masculins van presentar un QTc entre 450 i 459 ms (2,21%). Únicament 2 dels familiars havien patit algun episodi de síncope, ambdós en un context d'exercici; mentre que 3 familiars havien presentat símptomes de convulsions, palpitations o epilèpsia. Específicament, a la família MSI/SQTL-89, tant la cas índex que va patir la MS com la seva germana presentaven història mèdica d'epilèpsia per episodis de convulsions desencadenades per sorolls sobtats. La MS es va produir en el context d'una d'aquestes convulsions. Un 13,97% dels familiars estan sota tractament amb betabloquejants i en un d'ells s'ha implantat un DAI després de detectar un episodi de TV polimòrfica al Holter subcutani que portava implantat. Un 54,81% dels familiars avaluats presenta història familiar de MS en un familiar menor de 30 anys (Taula 26).

Taula 26. Característiques clíniques dels individus de la cohort de SQTL.

Característiques clíniques	Casos índexs vius (n=21)	Familiars (n=135)
Home/Dona	9/12	71/64
Edat, anys	40 \pm 18	40 \pm 22
Diagnòstic de SQTL (criteris Schwartz)		
Probabilitat alta, n (%)	12 (57,14)	17 (12,59)
Probabilitat intermèdia, n (%)	8 (38,10)	9 (6,67)
Probabilitat baixa, n (%)	1 (4,76)	2 (1,48)
NA, n (%)	0 (0)	107 (79,26)
Interval QTc		
≥ 480 ms, n (%)	11 (52,38)	11 (8,09)
460 – 479 ms, n (%)	8 (38,10)	14 (10,29)
450-459 ms en ♂, n (%)	2 (9,52)	3 (2,21)
<460 ms en ♀ i <450 ms en ♂, n (%)	0 (0)	107 (79,26)
Prova d'esforç amb QTc ≥ 480 ms al 4t minut de la recuperació, n/total estudiats	5/13	6/32
Símptomes		
Asintomàtic, n (%)	9 (42,86)	130 (96,30)
Síncope, n (%)	7 (33,33)	2 (1,47)
MSR, n (%)	4 (19,05)	0 (0)
Altres, n (%)	1 (4,76)	3 (2,21)
Desencadenants dels símptomes		
Inespecífic, n (%)	8 (66,67)	3 (60)
Exercici, n (%)	2 (16,67)	2 (40)
Repòs, n (%)	2 (16,67)	0 (0)
Tractament		
Sense tractament, n (%)	5 (23,81)	116 (85,93)
Betabloquejants, n (%)	15 (71,43)	19 (13,97)
DAI, n (%)	5 (23,81)	1 (0,74)
Història familiar de MS (<30 anys), n (%)	3 (14,29)	74 (54,81)

SQTL: Síndrome de QT llarg; NA: No aplica; QTc: QT corregit; MSR: Mort sobtada recuperada; DAI: Desfibril·lador automàtic implantable; MS: Mort sobtada.

En total, la cohort de SQTL de la UCF està formada per 29 individus de 18 famílies (12 casos índexs i 17 familiars) amb una alta probabilitat de SQTL segons els criteris diagnòstics de Schwartz, 17 individus de 14 famílies (8 casos índexs i 9 familiars) amb una probabilitat

intermèdia de SQTTL i 3 individus de 2 famílies (1 cas índex i 2 familiars) amb una probabilitat baixa de SQTTL.

4.4.1- Caracterització genètica de la cohort de síndrome de QT llarg

Es va realitzar una anàlisi genètica de cas índex a 26 dels 29 casos índexs de la cohort de SQTTL (65,38% dones; mitjana d'edat del diagnòstic 36 ± 18 anys) seguint tres aproximacions diferents: seqüenciació Sanger dels principals gens associats a SQTTL (*KCNQ1*, *KCNH2* i *SCN5A*), (2/26; 7,69%), seqüenciació NGS d'un panell de gens associats a canalopaties cardíques (–panell arritmogènic– (11/26; 42,31%) i seqüenciació NGS d'un panell de gens associats tant a canalopaties cardíques com a miocardiopaties –panell global– (13/26; 50%).

L'estudi genètic va permetre identificar 62 variants genètiques amb una mitjana de 3 variants genètiques/cas índex (rang 1-7) en 24 d'ells. Es van identificar 18 variants en gens amb una validesa clínica definitiva a SQTTL (*KCNH2*, *KCNQ1*, *SCN5A* i *CALM1*), 1 en un gen amb validesa clínica moderada a SQTTL (*CACNA1C*), 1 en un gen amb validesa clínica limitada a SQTTL (*KCNE1*), 4 en un gen amb una validesa clínica controvertida a SQTTL (*ANK2*) i 38 en gens no associats a la SQTTL.

Pel que fa a les 18 variants genètiques en gens amb una validesa clínica definitiva a SQTTL identificades en 18 probands no emparentats (69,23%; 18/26 casos índex): 10 són variants genètiques a *KCNH2* (38,46%; 10/26 casos índex), 6 a *KCNQ1* (23,08%; 6/26 casos índex), 1 a *SCN5A* (3,85%; 1/26 casos índex), i 1 a *CALM1* (3,85%; 1/26 casos índex). Aquesta taxa de detecció de variants a la cohort de SQTTL és lleugerament inferior als percentatges descrits a la literatura científica, que es troben al voltant del 75% per a la identificació de variants genètiques en aquells gens amb una validesa clínica definitiva a SQTTL[5, 87].

Segons la classificació reportada als informes originaris, 8 casos índexs eren portadors de variants PP a *KCNH2* (30,77% de la cohort de SQTTL), 3 casos índexs presentaven variants P/PP a *KCNQ1* (11,54% de la cohort de SQTTL); mentre que en els 7 casos índexs restants en els quals s'havien identificat variants genètiques en gens amb validesa clínica definitiva a SQTTL, aquestes es van reportar originàriament com a VSI: 2 a *KCNH2*, 3 a *KCNQ1*, 1 a *SCN5A* i 1 a *CALM1* (26,92% de la cohort de SQTTL).

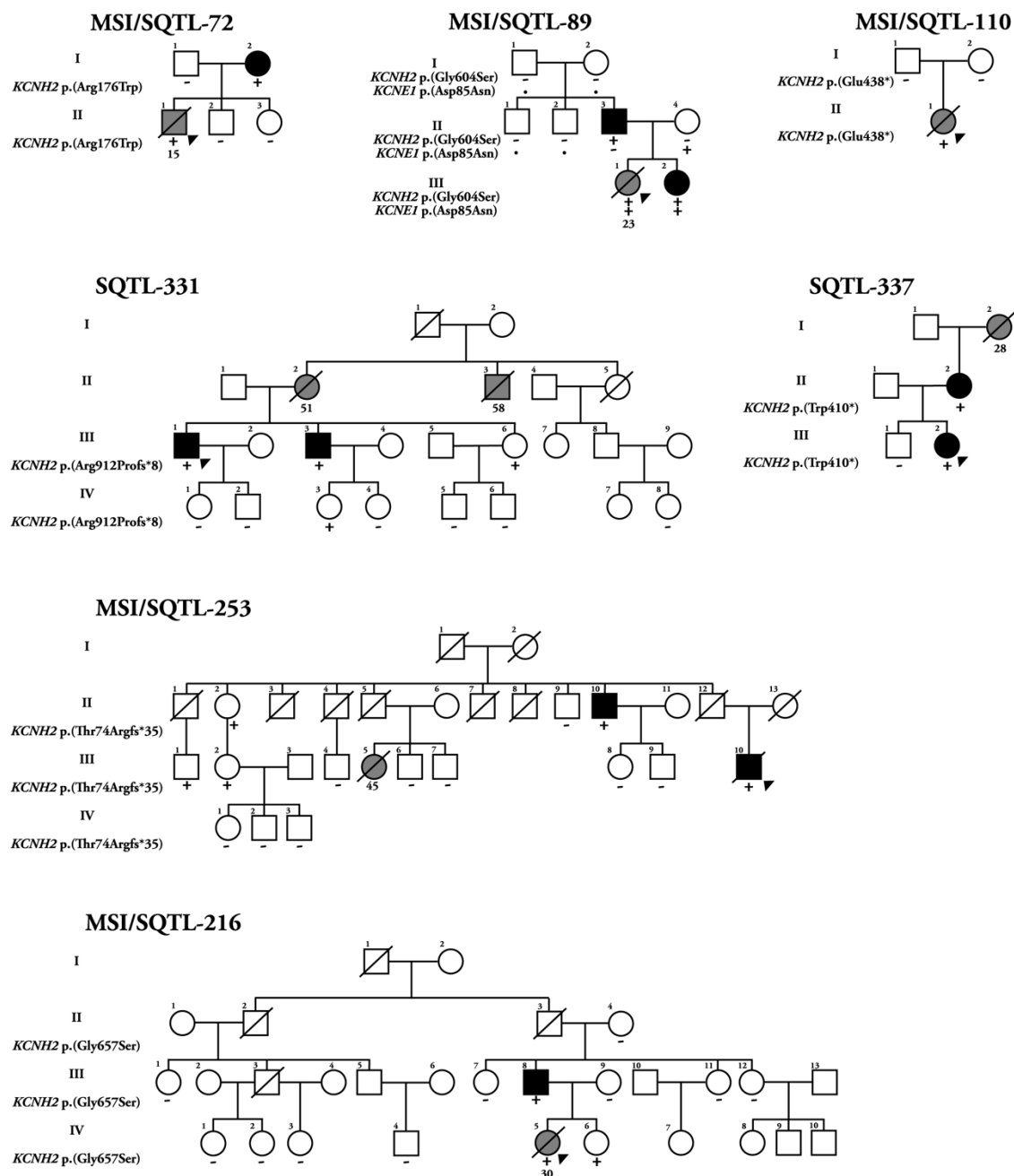


Figura 15. Arbres familiars de les famílies de la cohort de SQTL amb variants genètiques a *KCNH2*. Cercle: dona; Quadrat: home; Línia diagonal: individu mort; Fletxa: proband; Símbol negre: individu amb diagnòstic de SQTL; Símbol gris: individu que ha patit mort sobtada; +: portador de la variant genètica analitzada; -: no portador de la variant genètica analitzada; •: variant genètica no analitzada. En els casos de mort sobtada s'indica l'edat de l'esdeveniment.

Adicionalment, a 6 casos índexs es van identificar 6 variants genètiques en gens en els quals les evidències que suporten la seva associació amb la SQTL són moderades (1 variant a *CACNA1C*), limitades (1 variant a *KCNE1*) o contradictòries (4 variant a *ANK2*). Totes van ser informades originàriament com a VSI, excepte una de les variants a *ANK2*, que es va reportar com a PP. Quatre d'aquestes variants genètiques (la variant a *CACNA1C*, la variant a *KCNE1* i 2 de les variants a *ANK2*) es van identificar en casos índexs portadors també

d'una variant a *KCNH2* o a *KCNQ1*, mentre que 2 casos índexs eren portadors únicament d'una de les variants identificades a *ANK2* (7,69%; 2/26 casos índexs).

A 17 casos índexs es van identificar 38 variants genètiques en gens que no han estat descrits en associació a la SQTL, cinc d'elles classificades a l'informe originari com a P/PP i la resta com a VSI. Quatre casos índexs eren portadors únicament de variants a gens no associats a la SQTL pel que van ser considerats com a resultat negatiu per a l'anàlisi genètica de la SQTL. Un d'aquests era portador d'una variant P a *PKP2* (c.2146-1G>C), i tot i que l'avaluació clínica d'aquest individu era clarament diagnòstica per SQTL i no mostrava cap afectació clínica suggestiva de MCA, aquesta variant es troba en un dels gens considerats susceptibles d'intervenció clínica pel que calia que fos reportada a l'informe genètic[135]. A més, en 2 dels casos índexs l'estudi genètic va ser completament negatiu. Així doncs, en 6 dels casos índexs analitzats genèticament no es va identificar cap variant associada a la SQTL (23,08%; 6/26 casos índex).

Per l'avaluació genètica dels familiars, aquells amb una puntuació alta o intermèdia en els criteris diagnòstics de Schwartz van ser considerats com a fenotip positiu (F+) mentre que els que presentaven una puntuació inferior es van considerar fenotip negatiu (F-). Es van avaluar 61 familiars de les 10 famílies amb variants genètiques a *KCNH2*, 44 familiars de les 6 famílies amb variants genètiques a *KCNQ1*, 3 familiars de la família amb la variant a *CALM1* i 3 familiars de la família amb la variant a *SCN5A*, observant segregació de les variants amb el fenotip de SQTL en 24 familiars (G+/F+) d'11 famílies amb variants a *KCNH2* i *KCNQ1* i demostrant que la variant era *de novo* en una de les famílies amb una variant a *KCNH2* i a la família amb la variant a *CLAM1*; mentre que la resta de familiars avaluats van resultar en 16 G+/F- i 71 G-/F-. A la Figura 15 i a la Figura 16 es representen els arbres genealògics de les famílies en les quals l'avaluació clínica i genètica dels familiars va aportar evidències de segregació o va demostrar que es tractava d'una variant *de novo*.

A la família MSI/SQTL-25, es va poder realitzar l'anàlisi genètica de la variant familiar a la bebè que havia patit una MS amb 10 dies de vides mitjançant l'ADN extret de la mostra de sang seca obtinguda al cribratge neonatal. L'anàlisi genètica va resultar positiva per la variant familiar però s'ha considerat dins els familiars G+/F- ja que no disposa de cap ECG previ a la mort que pugui demostrar un interval QTc llarg.

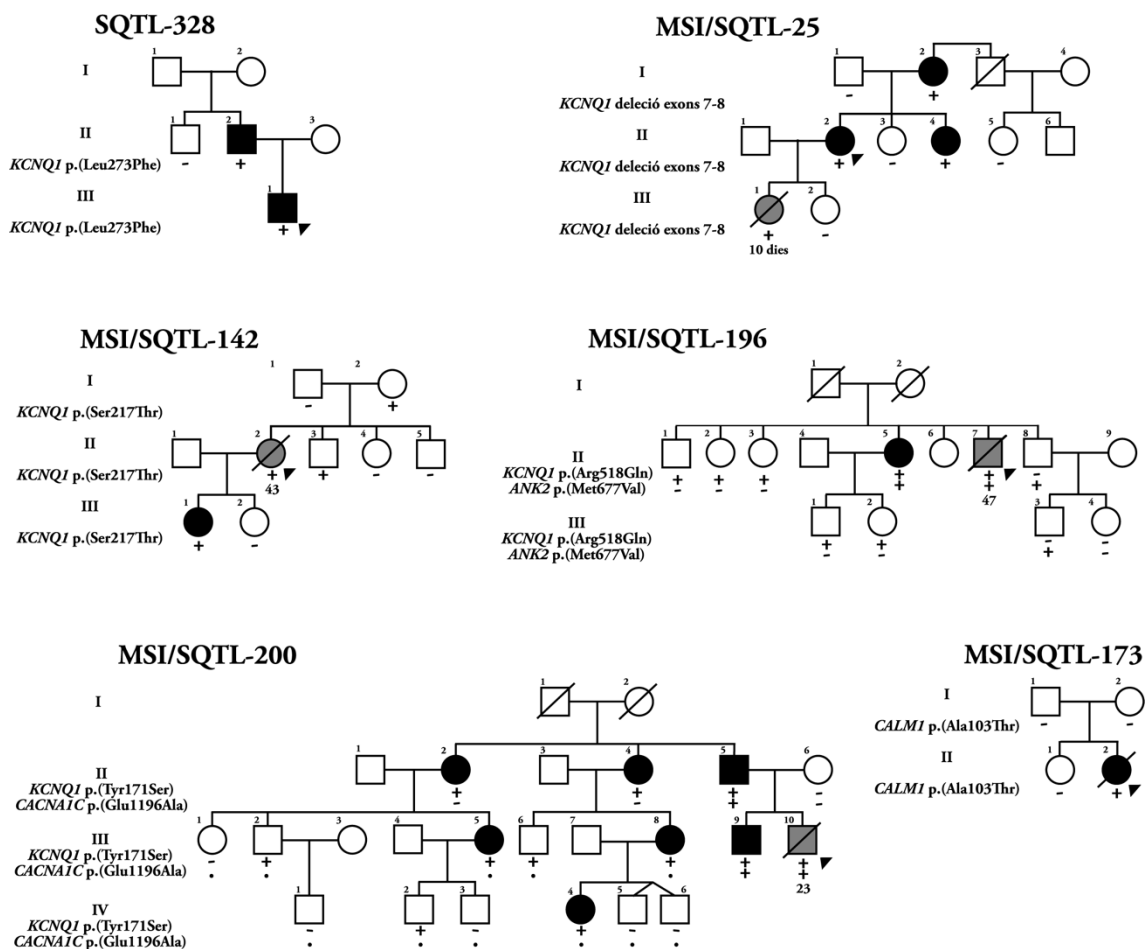


Figura 16. Arbres familiars de les famílies de la cohort de SQTL amb variants genètiques a *KCNQ1* i *CALM1*. La variant *KCNQ1* c.(921+1_922-1)_(1128+1_1129-1)del de la família MSI/SQTL-25 està representada a la figura com a deleción dels exons 7 i 8, segons l'efecte d'aquesta variant. Cercle: dona; Quadrat: home; Línia diagonal: individu mort; Fletxa: proband; Símbol negre: individu amb diagnòstic de SQTL; Símbol gris: individu que ha patit mort sobtada; +: portador de la variant genètica analitzada; -: no portador de la variant genètica analitzada; •: variant genètica no analitzada. En els casos de mort sobtada s'indica l'edat de l'esdeveniment.

Finalment, també es va avaluar genèticament a 28 familiars de 5 famílies a les que s'havien identificat variants genètiques a gens amb una validesa clínica moderada (*CACNA1C*), limitada (*KCNE1*) o controvertida (*ANK2*). L'anàlisi genètica dels familiars va demostrar que cap d'aquestes variants segregava en tots els familiars amb fenotip de SQTL però sí que va ser possible demostrar no segregació en 6 familiars (G-/F+) de 2 de famílies (MSI/SQTL-200 i MSI/SQTL-89).

A més, a la família MSI/SQTL-227, un familiar va ser avaluat per la variant P a *PKP2*, resultant no portador i sense fenotip (G-/F-), ni de SQTL ni d'ACM.

4.4.2- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de SQTL

Segons la classificació reportada als informes originaris de les variants identificades a la cohort de SQTL de la UCF en gens amb una associació clínica definitiva a la SQTL, 2 variants es van classificar com a P (11,11%), 1 com a PP (50%) i 7 com a VSI (38,89%) (Figura 17A). La reinterpretació de les 18 variants genètiques identificades en gens amb una associació clínica definitiva a SQTL en els casos índexs amb diagnòstic de SQTL de la UCF ha resultat en la reclassificació de 9 variants, corresponent a una taxa de reclassificació de les variants a gens amb associació definitiva a SQTL del 50%. Dos variants pateixen una reducció de la classificació ja que passen de P/PP a VSI (11,11%) i 5 variants augmenten la classificació passant de PP a P o de VSI a P/PP (38,89%) (Figura 17B). Les 9 variants restants mantenen la classificació (50%). Així, després de la reinterpretació, 5 variants es van classificar com a P (27,78%), 8 com a PP (44,44%) i 5 com a VSI (27,78%) (Figura 17A).

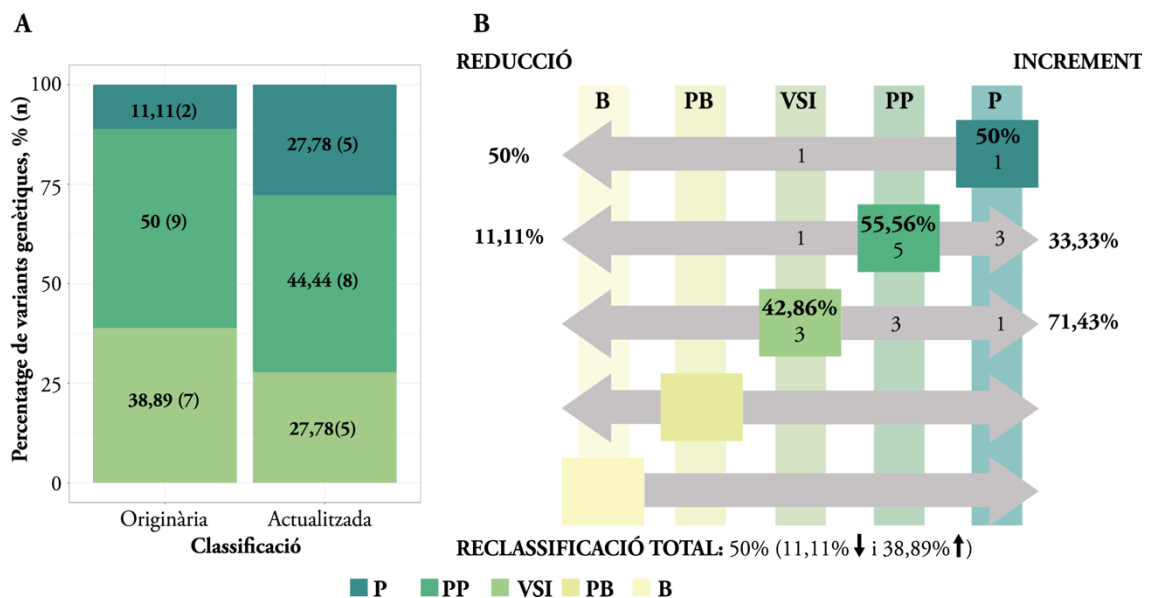


Figura 17. A) Proporció de variants identificades a la cohort de SQTL en gens amb una validesa clínica definitiva per SQTL per cadascuna de les categories de classificació en l'informe originari i després de la reinterpretació. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants identificades en gens amb una validesa clínica definitiva a la cohort de SQTL. A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patògena; PP: Possiblement patògena; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

A la cohort de SQTL de la UCF seguim observant una taxa de reclassificació de les variants genètiques superior a la descrita per Sarquella-Brugada *et al* a l'estudi en el qual s'avaluava la reclassificació les variants genètiques reportades l'any 2016[211]. De fet, la taxa de

reclassificació de les variants genètiques identificades en pacients amb SCTL descrita en aquest estudi és del 8% però si es prenen únicament aquelles variants en gens amb una associació clínica definitiva a la SCTL tal i com s'ha realitzat en aquesta tesi, la taxa de reclassificació passa a ser del 0%. Aquesta notable diferència en ambdues taxes de reclassificació (50% vs 0%) podria deure's, tal i com ja s'ha comentat anteriorment, a la escassa quantitat de variants avaluades (18 vs 17 variants) o al fet que, a diferència de les variants avaluades en aquesta tesi, totes les variants reportades a l'estudi de Sarquella-Brugada *et al* ja havien estat classificades originàriament seguint els criteris ACMG/AMP. No obstant, també cal destacar que l'avaluació clínica i genètica dels familiars realitzada en el treball d'aquesta tesi aporta una informació extremadament valuosa per a la reinterpretació de les variants genètiques que podria explicar una gran part d'aquestes diferències. En un altre estudi publicat per Bennett *et al* van realitzar la reinterpretació de variants anteriorment reportades com a VSI obtenint una taxa de reclassificació del 77,78%[221]. Aquests valors són similars als obtinguts en les variants reportades originàriament com a VSI a la cohort de SCTL, en les quals es va obtenir una taxa de reclassificació del 71,43%. Tanmateix, totes les VSI reclassificades de la cohort de SCTL ho feien a una categoria superior (P/PP) (Figura 17B); mentre que a l'estudi publicat per Bennet *et al* un 66,67% de les variants eren reclassificades a PP i un 11,11% es reclassificaven a PB.

La reinterpretació ha suposat un canvi en la rellevància clínica de 6 de les 9 variants genètiques reclassificades i per tant, afecta a 6 de les 18 famílies amb variants genètiques en gens amb una associació clínica definitiva a la SCTL (33,33%). Quatre d'elles eren famílies amb variants anteriorment classificades com a VSI que actualment adquireixen una classificació P/PP (22,22%) i per tant, incrementen la seva rellevància clínica; mentre que dos famílies sofreixen una disminució de la rellevància clínica de les variants identificades ja que passen P/PP a VSI (11,11%) i per tant, passen de ser considerades clínicament rellevants a presentar una rellevància clínica incerta. En un estudi publicat per Westphal *et al* descriuen que de 84 variants genètiques originàriament classificades com a P/PP, 12 d'elles eren reclassificades a VSI (14,3%)[222]. Donat que no indiquen si es produeixen reclassificacions de variants P a PP o viceversa, no podem prendre aquests valors per realitzar una comparació de la taxa de reclassificació però sí que s'observa que el percentatge de variants que originàriament són considerades clínicament rellevants i perden aquesta categoria després de realitzar una reinterpretació és similar a l'observada a la cohort de SCTL de la UCF (18,18%).

L'anàlisi estadística de la concordança entre les classificacions originàries de les variants identificades en els gens amb una validesa clínica definitiva a SQTIL (*KCNH2*, *KCNQ1*, *SCN5A* i *CALM1*) a la cohort de SQTIL de la UCF i la reclassificació realitzada en aquest estudi indica una concordança lleu tant en la comparació de les classificacions reportades a les anàlisis genètiques de casos índexs (k=0,2143) com si a la comparació s'hi inclouen les anàlisis genètiques realitzades en familiars (k=0,2914).

Els principals motius pels que s'ha augmentat la classificació de les 7 variants són la disponibilitat de dades sobre casos, de dades de la segregació de la variant amb el fenotip, ja sigui a la literatura científica o a la pròpia família, o dades d'estudis funcionals, així com informació sobre la localització de la variant en un *hot spot*, o la combinació de vèries d'aquestes evidències. Altrament, en les 2 variants que han disminuït la classificació, els principals motius són la freqüència al·lèlica en bases de dades de població general o la falta d'evidències suficients per mantenir la classificació originària (Taula 27).

Taula 27. Classificació reportada originàriament i després de la reinterpretació de les variants genètiques identificades en gens amb alguna validesa clínica a SQTIL a la cohort de SQTIL.

Família	Variant genètica	Classificació originària	Classificació actualitzada	Motiu principal per la reclassificació
MSI/SQTIL-1	<i>KCNH2</i> :c.52A>G; p.(Ile18Val)	VSI	VSI	=
SQTIL-328	<i>KCNQ1</i> :c.817C>T; p.(Leu273Phe)	P	P	=
MSI/SQTIL-12	<i>KCNQ1</i> :c.875G>A; p.(Gly292Asp)	P	VSI	↓ Freqüència al·lèlica
MSI/SQTIL-25	<i>KCNQ1</i> :c.(921+1_922-1)_(1128+1_1129-1)del	PP	PP	=
SQTIL-331	<i>KCNH2</i> :c.2734dup; p.(Arg912Profs*8)	VSI	PP	↑ Variant de pèrdua de funció
MSI/SQTIL-72	<i>KCNH2</i> :c.526C>T; p.(Arg176Trp)	PP	VSI	↓ Freqüència al·lèlica
	<i>ANK2</i> :c.7397G>A; p.(Arg2466His)	VSI	B	↓ Freqüència al·lèlica
MSI/SQTIL-89	<i>KCNH2</i> :c.1810G>A; p.(Gly604Ser)	PP	P	↑ Segregació i estudis funcionals
	<i>KCNE1</i> :c.253G>A; p.(Asp85Asn)	VSI	B	↓ Freqüència al·lèlica
MSI/SQTIL-110	<i>KCNH2</i> :c.1312G>T; p.(Glu438*)	PP	PP	=
SQTIL-333	<i>KCNH2</i> :c.215C>G; p.(Pro72Arg)	PP	PP	=
SQTIL-334	<i>KCNH2</i> :c.1681G>A; p.(Ala561Thr)	PP	P	↑ Segregació i <i>hot spot</i>
MSI/SQTIL-142	<i>KCNQ1</i> :c.649T>A; p.(Ser217Thr)	VSI	PP	↑ <i>Hot spot</i>
MSI/SQTIL-253	<i>KCNH2</i> :c.221_242del; p.(Thr74Argfs*35)	PP	PP	=
MSI/SQTIL-254	<i>ANK2</i> :c.110G>A; p.(Arg37His)	PP	VSI	↓ Falta d'evidències
MSI/SQTIL-173	<i>CALM1</i> :c.307G>A; p.(Ala103Thr)	VSI	PP	↑ Variant <i>de novo</i>
MSI/SQTIL-196	<i>KCNQ1</i> :c.1553G>A; p.(Arg518Gln)	VSI	VSI	=
	<i>ANK2</i> :c.2029A>G; p.(Met677Val)	VSI	VSI	=
MSI/SQTIL-200	<i>KCNQ1</i> :c.512A>C; p.(Tyr171Ser)	VSI	P	↑ Segregació i <i>hot spot</i>
	<i>CACNA1C</i> :c.3587A>C; p.(Glu1196Ala)	VSI	VSI/PB	↓ No segregació
SQTIL-337	<i>KCNH2</i> :c.1229G>A; p.(Trp410*)	PP	PP	=
MSI/SQTIL-216	<i>KCNH2</i> :c.1969G>A; p.(Gly657Ser)	PP	P	↑ Casos i <i>hot spot</i>
SQTIL-338	<i>ANK2</i> :c.3303T>G; p.(Asn1101Lys)	VSI	VSI	=
SQTIL-339	<i>SCN5A</i> :c.4930C>T; p.(Arg1644Cys)	VSI	VSI	=

P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

La reinterpretació de les variants genètiques efectuada en aquest estudi ha incrementat fins a 13 les variants P/PP identificades en gens amb una associació clínica definitiva a SQTL (50%; 13/26 casos índex) i ha disminuït a 5 el nombre de variants genètiques considerades VSI en aquests mateixos gens (19,23%; 5/26 casos índex). Pel que fa a les 6 variants identificades a gens amb una associació clínica moderada, limitada o controvertida a la SQTL, tres d'elles disminueixen la seva classificació després de la reinterpretació realitzada en aquest estudi, passant de PP a VSI i de VSI a B; mentre que les 3 restants mantenen la classificació de VSI. Tanmateix, únicament 2 casos índexs eren portadors només de variants a aquests gens (7,69%) i en ambdós, la variant a *ANK2* és considerada com a VSI després de la reinterpretació (Taula 27). La taxa de reclassificació considerant únicament les variants identificades en els gens amb una associació clínica moderada, limitada o controvertida a la SQTL és també del 50%, tot i que en aquest cas, totes les variants reclassificades ho fan a una classificació inferior.

A la família MSI/SQTL-200, l'anàlisi de la variant a *CACNA1C* en els familiars va mostrar que aquesta no segrega amb el fenotip de SQTL (5 G-/F+) pel que es podria considerar PB (Figura 16). Tanmateix, es va identificar en el cas índex (III.10), que havia patit una MS, i en un familiar (III.9) amb història de síncope pel que podria estar actuant com un modificador, agreujant el fenotip. A la família MSI/SQTL-89 es va analitzar la variant identificada a *KCNE1* a 3 dels familiars demostrant que aquesta havia estat heretada de la mare (II.4), la qual no presentava fenotip de SQTL; mentre que el pare, que sí que presentava diagnòstic de SQTL no n'era portador. Tant el cas índex de la família MSI/SQTL-89 (III.1) com la seva germana (III.2) eren portadores de la variant a *KCNE1* i ambdues havien presentat història d'episodis convulsius en situacions d'estrès auditiu, pel que es sospita que la variant a *KCNE1* actui com a modificador del fenotip. Aquesta variant ha estat identificada en bases de dades de població general amb una alta freqüència al·lèlica pel que es considera una variant B (BA1), tanmateix, s'ha descrit a la literatura com un factor de risc per la SQTL.

Finalment, després de reclassificar les 38 variants identificades en gens no associats a la SQTL, les 4 variants classificades originàriament com a PP adquireixen la classificació de VSI, i 11 de les variants reportades a l'informe originari com a VSI es reclassifiquen a variants PB/B, suposant una taxa de reclassificació del 39,47%. La variant identificada a *PKP2* manté la classificació de variant P.

La reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de la SQTL ha mantingut el nombre de casos índexs que presenten un resultat genètic negatiu per a l'anàlisi de la SQTL (19,23%; 5/26 casos índex).

Si s'inclouen totes les variants genètiques identificades a la cohort de SQTL, tant les identificades en gens amb diferents graus d'associació a la SQTL i gens no associats, s'obté una taxa de reclassificació del 38,71% amb un 32,26% de variants que disminueixen la classificació i un 6,45% que l'augmenten, entre les quals únicament s'hi troben variants a gens amb una associació definitiva a SQTL. Així, tal i com es va observar a la cohort de SBr, la taxa de reclassificació és superior quan s'avaluen variants amb una associació definitiva a SQTL (50%) i aquesta és l'única situació en la qual es produeixen increments de la classificació ja que les variants a gens amb associacions moderada, limitada o controvertida a la SQTL i les variants a gens no associats a la SQTL només sofreixen disminucions de la classificació.

4.5- Cohort de síndrome de QT curt

4.5.1- Caracterització clínica i genètica de la cohort de SQTC

A la UCF únicament s'ha avaluat 1 individu amb diagnòstic de síndrome de QT curt (SQTC-352; III.3) (Figura 18). Es tracta d'un home que amb 35 anys presenta un síncope conduït i pateix un accident de trànsit. Sis mesos abans havia presentat dos síncoptes al domicili. A l'avaluació electrocardiogràfica es detecta un interval QTc de 310 ms pel que s'estableix la diagnòsi de la síndrome de QT curt (probabilitat alta de SQTC segons els criteris diagnòstics: QTc <330ms i síncope inexplicat) i s'implanta un DAI.

L'avaluació clínica dels tres fills (IV.1, IV.2, IV.3) va mostrar un interval QTc normal (424 ± 38 ms). No ha sigut possible avaluar cap altre familiar degut a conflictes familiars. Tanmateix, en l'anamnesi el cas índex refereix que existeix història de MS en l'oncle del pare, que va morir sobtadament als 25 anys assegut a una cadira (I.3), i que un cosí (III.1) presenta història de síncoptes de repetició. No es disposa d'informació addicional d'aquests dos antecedents familiars.

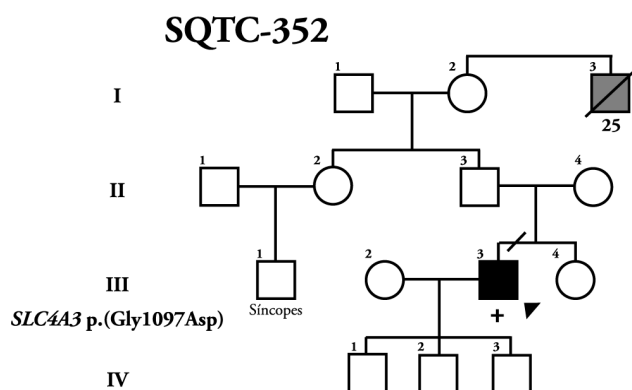


Figura 18. Arbre familiar de la família de la cohort de SQTC. Cercle: Dona; Quadrat: Home; Línia diagonal: individu mort; Fletxa: proband; Símbol negre: individu amb diagnòstic de SQTC; Símbol gris: individu que ha patit una mort sobtada; +: portador de la variant genètica analitzada. En els casos de mort sobtada s'indica l'edat de l'esdeveniment.

L'avaluació genètica del cas índex es va realitzar inicialment mitjançant seqüenciació NGS d'un panell arritmogènic i va identificar una variant intrònica de significat incert a *RANGRF* (c.437+9G>T) que es va considerar no associada a la SQTC d'aquest pacient. Posteriorment, es va realitzar una seqüenciació completa del genoma que va permetre identificar una variant *missense* a *SLC4A3* (c.3290G>A; p.(Gly1097Asp)). L'associació entre la SQTC i el gen *SLC4A3* s'ha considerat moderada pel que es considera que podria ser causant de la patologia. L'associació entre la SQTC i *SLC4A3* està recolzada per una publicació en què es va realitzar una seqüenciació completa de l'exoma a dos famílies, identificant una mateixa variant genètica a *SLC4A3* que segregava entre els múltiples familiars afectats[223]. A més, van realitzar estudis funcionals *in vitro* i en models animals demostrant una localització

reduïda a la membrana que provoca un escurçament de la durada del potencial d'acció dels cardiomiòcits.

La variant a *SLC4A3* identificada en el cas índex de la família SQTC-352 es va classificar inicialment com a VSI i aquesta classificació es manté després de la reinterpretació realitzada en aquesta tesi doctoral donat que les úniques evidències disponibles per a la classificació són l'absència de la variant a bases de dades de població general i la predicció patogènica per part del meta-predictor REVEL. La variant identificada a *RANGRF* tampoc modifica la seva classificació després de la reinterpretació (VSI).

La negativa per part dels pacients d'informar als seus familiars d'un diagnòstic clínic i/o genètic suposa un dilema ètic pels cardiòlegs i assessors genètics implicats en el cas ja que es troben entre el deure de preservar la privacitat del pacient i el deure d'informar als familiars a risc[224-226]. Les raons principals per no voler transmetre la informació genètica als familiars són la voluntat d'evitar causar ansietat, dinàmiques familiars pobres o conflictives, la por de ser culpats o causar una disrupció de la relació, l'assumpció de que els familiars no hi estaran interessats i aspectes de privacitat[224]. La comunicació del diagnòstic d'una cardiopatia familiar als familiars a risc és crucial per tal que aquests es puguin beneficiar de mesures de prevenció ja que el primer símptoma podria ser una MSC[133]. Tanmateix, la falta de comunicació de la informació genètica als familiars implica també que no serà possible realitzar estudis de segregació que podrien ser fonamentals per a la reinterpretació i determinació del rol patogènic de la variant genètica identificada.

S'han descrit diferents maneres d'informar als familiars a risc, tals com deixar la responsabilitat d'informar als seus familiars al pacient, proporcionar cartes familiars als pacients per tal que les puguin fer arribar als familiars o contactant directament als familiars[134, 227, 228]. L'estratègia utilitzada a la UCF és la de proporcionar una carta per tal que la distribueixin als seus familiars, promovent així l'autonomia del pacient però acompanyant-lo en el procés.

4.6- Cohort de taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica

La cohort de TVPC de la UCF està formada per 30 individus de 5 famílies diferents (50% dones; mitjana d'edat al diagnòstic/avaluació de 36 ± 20 anys). D'aquestes, 1 és una família amb diagnòstic de TVPC després de ser inclosos al projecte MOSCAT degut a la MS i posterior anàlisi molecular d'un familiar (6 individus), 3 són famílies amb diagnòstic de TVPC després de la MSR del cas índex de la família en un context d'emoció o estrès (23 individus), i el cas índex restant va ser diagnosticat després de ser avaluat per clínica de palpitations (1 individu, TVPC-347). Així, el diagnòstic de TVPC s'ha pogut establir en el 0,47% de les famílies avaluades degut a la MS d'un familiar inclòs al projecte MOSCAT (1/211) i en un 8,33% dels casos que van presentar MSR com a primera manifestació de la malaltia (3/36).

En total, la cohort de la UCF amb diagnòstic de TVPC està formada per 5 casos índexs i 25 familiars d'aquests. A la Taula 28 es resumeixen les característiques clíniques dels casos índexs de cadascuna de les famílies i dels familiars amb diagnosi de TVPC.

A la família MSI/TVPC-10, el cas índex és una noia amb història d'episodis previs de síncope en situacions d'estrès o exercici que va patir una MSR als 30 anys en una situació d'estrès. L'avaluació clínica dels familiars va ser normal i segueixen asimptomàtics durant el seguiment. No existeixen altres antecedents familiars de MS ni malalties cardíques hereditàries.

A la família MSI/TVPC-127, el cas índex és una noia que va patir una MSR als 25 anys en una situació d'emoció. L'avaluació clínica dels familiars de primer grau va detectar arrítmies ventriculars bidireccionals a la prova d'esforç de la mare de la cas índex; mentre que la del pare i el fill van resultar normals. No refereixen cap antecedent familiar de mort sobtada ni malalties cardíques hereditàries.

A la família MSI/TVPC-168, el cas índex és una noia amb història personal d'un episodi de síncope als 10 anys en una situació de temor i estrès i que va patir una MSR als 24 anys en un context de situació d'emoció intensa. Durant l'ingrés es registra extrasistòlia ventricular freqüent amb doblets i triplets polimòrfics pel que es sospita la diagnosi de TVPC. L'avaluació clínica familiar va ser possible únicament en la mare i dos dels set germanastres i va resultar normal.

A la família TVPC-347, el cas índex és un senyor que avaluem per primera vegada a la UCF amb 69 anys però que havia estat diagnosticat prèviament amb TVPC mitjançant un test d'isoproterenol realitzat als 61 anys. Havia presentat clínica de palpitations sense una relació clara amb l'estrès des dels 26 anys. Es va fer tractament amb simpatectomia i posteriorment, la prova de provocació va resultar negativa. No presenta història familiar rellevant excepte per la MS del seu germà als 39 anys després de realitzar exercici, si bé a l'autòpsia es va detectar una MCH. No es disposa de dades sobre l'avaluació clínica d'altres familiars.

Taula 28. Característiques clíniques dels individus de la cohort de TVPC amb diagnosi de TVPC.

Família	Cas índex / Familiar	Edat al diagnòstic i sexe	Síntomes inicials (anys)	Desencadenant dels símptomes	Tractament
MSI/TVPC-10	C	30, F	Síncope, MSR (30)	Exercici i estrès	DAI+BB
MSI/TVPC-127	C	39, F	MSR (25)	Emoció	DAI+BB
	Fm	67, F	Arrítmies ventriculars bidireccionals	Exercici (Prova d'esforç)	BB
MSI/TVPC-156	C	33, M	MS (33)	Estrès	NA
	Fm	12, F	-	NA	Holter subcutani implantable
MSI/TVPC-168	C	24, F	Síncope, MSR (24)	Estrès i emoció	DAI+BB
TVPC-347	C	41, M	Palpitacions i taquicàrdies (des dels 26)	NA	Simpatectomia

C: Cas índex; Fm: Familiar; F: Femení; M: Masculí; MSR: Mort sobtada recuperada; NA: No aplica; DAI: Desfibril·lador automàtic implantable; BB: Betabloquejants.

A la família MSI/TVPC-156, el cas índex és un senyor de 33 anys que pateix una MS durant una discussió. L'avaluació clínica dels familiars va permetre el diagnòstic de TVPC a la seva filla de 12 anys, el qual va recolzar una probable MS en el context de TVPC en el cas índex. La prova d'esforç de la filla va mostrar extrasistòlia ventricular, bigeminisme posterior i taquicàrdia polimòrfica bidireccional. Posteriorment se li va realitzar el test d'isoproterenol que va posar de manifest una extrasistòlia ventricular i bigeminisme autolimitat. Es troba asimptomàtica. L'avaluació clínica de la resta de familiars (mare i germans) va ser normal. El pare havia mort per causes no cardíques.

Es va implantar un DAI en prevenció secundària als tres casos índexs que van patir una MSR i un Holter subcutani implantable a la filla del cas índex de la família MSI/TVPC-156 (III.1). Tots els casos índexs i familiars amb diagnosi de TVPC estan sota tractament betabloquejant excepte el cas índex de la família TVPC-347, el qual va ser tractat mitjançant simpatectomia.

En total es va avaluar clínicament a 25 familiars de 4 famílies (52% homes; mitjana d'edat a l'avaluació 32 ± 19 anys), assolint un diagnòstic de TVPC en 2 familiars de 2 famílies diferents (MSI/TVPC-127 i MSI/TVPC-156).

4.6.1- Caracterització genètica de la cohort de TVPC

Es va realitzar una anàlisi genètica dels 5 casos índexs (60% dones; mitjana d'edat al diagnòstic 35 ± 14 anys) seguint dos aproximacions d'estudi diferents: seqüenciació NGS d'un panell amb gens associats a miocardiopaties i canalopaties cardíques –panell global–, en els casos índexs que havien patit MS o MSR (4/5; 80%); i seqüenciació NGS d'un panell de gens associats a canalopaties cardíques –panell arritmogènic–, en el cas índex diagnosticat amb TVPC degut a l'avaluació per palpitations (1/5; 20%).

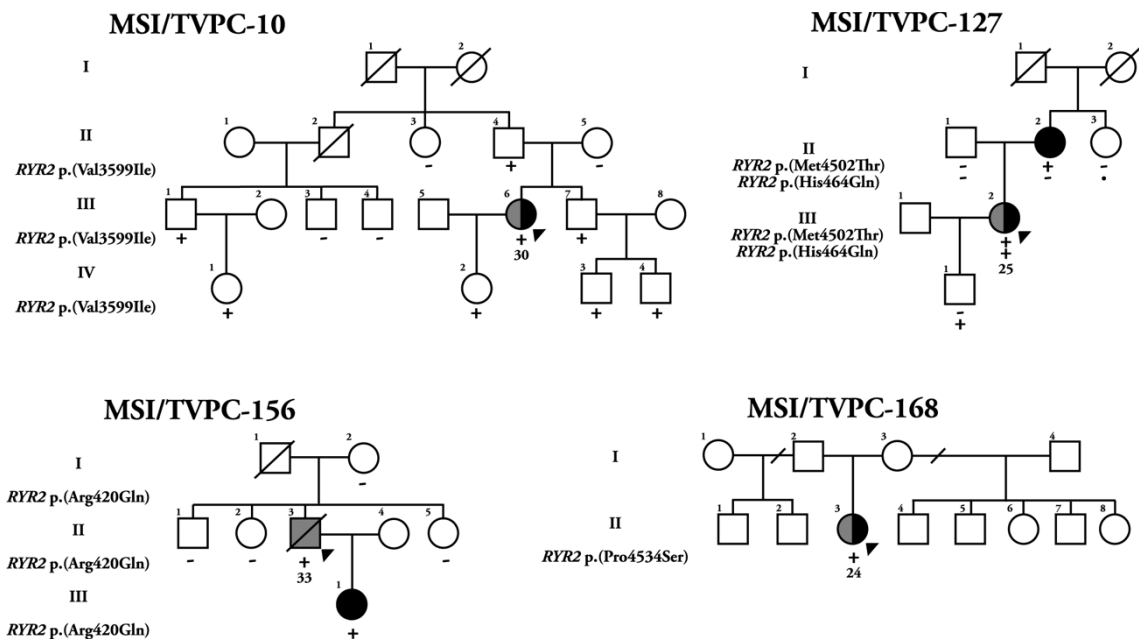


Figura 19. Arbres familiars de les famílies de la cohort de TVPC amb variants genètiques a *RYR2*. Cercle: dona; Quadrat: home; Línia diagonal: individu mort; Fletxa: proband; Símbol negre: individu amb diagnòstic de SQTL; Símbol gris: individu que ha patit mort sobtada; Símbol gris i negre: individu que ha patit una MSR i posteriorment s'ha diagnosticat de TVPC. +: portador de la variant genètica analitzada; -: no portador de la variant genètica analitzada; •: variant genètica no analitzada. En els casos de mort sobtada o mort recuperada s'indica l'edat de l'esdeveniment.

L'anàlisi genètica dels 5 casos índexs va permetre identificar 5 variants a *RYR2* a 4 probands (4/5 casos índex; 80% de la cohort de TVPC). La taxa de detecció de variants a *RYR2* a la cohort de TVPC de la UCF és lleugerament superior a la descrita a la literatura científica[33, 71] (60-70%); tanmateix, es tracta d'una cohort molt petita (5 individus) pel que aquest percentatge no seria comparable. Tanmateix, cal destacar que es tracta d'una cohort caracteritzada per una alta taxa de MS/MSR i s'ha descrit una major taxa de detecció de variants en aquells casos que mostren un diagnòstic clínic clar amb episodis de síncope i taquicàrdies ventriculars bidireccionals o polimòrfiques d'esforç[229]. Els 4 casos que van resultar portadors de variants a *RYR2* de la cohort de TVPC de la UCF van ser diagnosticats arran de l'episodi de MSR o la MS d'un familiar de primer grau. A la Figura 19 es representen

els arbres familiars d'aquestes famílies. El cas índex de la família MSI/TVPC-127 (III.2) era portador de dos variants genètiques en heterozigosi composta (*trans*) a RYR2. En el cas índex de la família TVPC-347 es va identificar una variant genètica en un gen que no ha estat descrit en associació a TVPC (*KCNH2*) pel que va ser considerat com a resultat negatiu per a l'anàlisi genètica de TVPC (1/5 casos índex; 20% de la cohort de TVPC). A més, els 4 casos índex portadors de variants a RYR2 també eren portadors d'altres variants en gens no associats a TVPC (9 variants).

Segons la classificació reportada als informes originaris, 3 de les 5 variants identificades a RYR2 (3/5 casos índex; 60% de la cohort de TVPC) van reportar-se com a PP, mentre que les 2 variants restants es van reportar com a VSI (1/5 casos índex; 20% de la cohort de TVPC). El cas índex de la família MSI/TVPC-127 era portador de dos variants genètiques en heterozigosi composta (*trans*) a RYR2, una classificada originàriament com a PP i l'altra com a VSI.

Pel que fa a les 9 variants identificades en gens no associats a TVPC, totes van ser reportades a l'informe originari com a VSI.

Es va avaluar genèticament a 20 familiars de 3 famílies per les variants genètiques identificades a RYR2 en el cas índex de la seva família, observant segregació a dos familiars diagnosticats de TVPC (G+/F-) de 2 de les famílies (MSI/TVPC-156 i MSI/TVPC-127). A la família MSI/TVPC-156, tots els familiars avaluats genèticament van resultar G-/F- (4 individus) excepte la filla del proband (III.3; G+/F+), el qual, juntament amb la identificació de la variant a RYR2, establí la causa de la MSI del cas índex com a probable MS secundària a TVPC en un context d'estrès. A la família MSI/TVPC-127 els familiars van ser avaluats genèticament per ambdues variants a RYR2, mostrant que la variant classificada originàriament com a PP havia estat heretada de la mare, que va ser diagnosticada de TVPC (G+/F+), mentre que la VSI s'havia heretat del pare (G+/F). El fill asimptomàtic de la proband va resultar portador de la VSI (G+/F-). A la família MSI/TVPC-10, 7 familiars van resultar G+/F- i 4 G-/F-.

4.6.2- Reinterpretació de les variants genètiques identificades a la cohort de TVPC

Segons la classificació de les variants a RYR2 reportada als informes originaris, 3 variants es van classificar com a PP (60%) i 2 com a VSI (40%) (Figura 20A). La reinterpretació de les

5 variants genètiques identificades a RYR2 en els casos índexs amb diagnòstic de TVPC de la UCF ha resultat en la reclassificació de 3 variants genètiques, suposant una taxa de reclassificació del 60%. Dos variants pateixen una reducció de la classificació de PP a VSI (40%) i 1 variant veu augmentada la seva classificació, passant de PP a P (20%) (Figura 20B). Les 2 variants genètiques restants mantenen la classificació (40%). Aquesta reclassificació de les variants a RYR2 suposa un impacte clínic en 3 de les 5 famílies a les que se'ls hi havien identificat variants genètiques a RYR2 (60%) i en dos d'aquestes famílies la reclassificació suposa també una disminució en la rellevància clínica de les variants genètiques ja que passen d'una classificació PP a una classificació VSI.

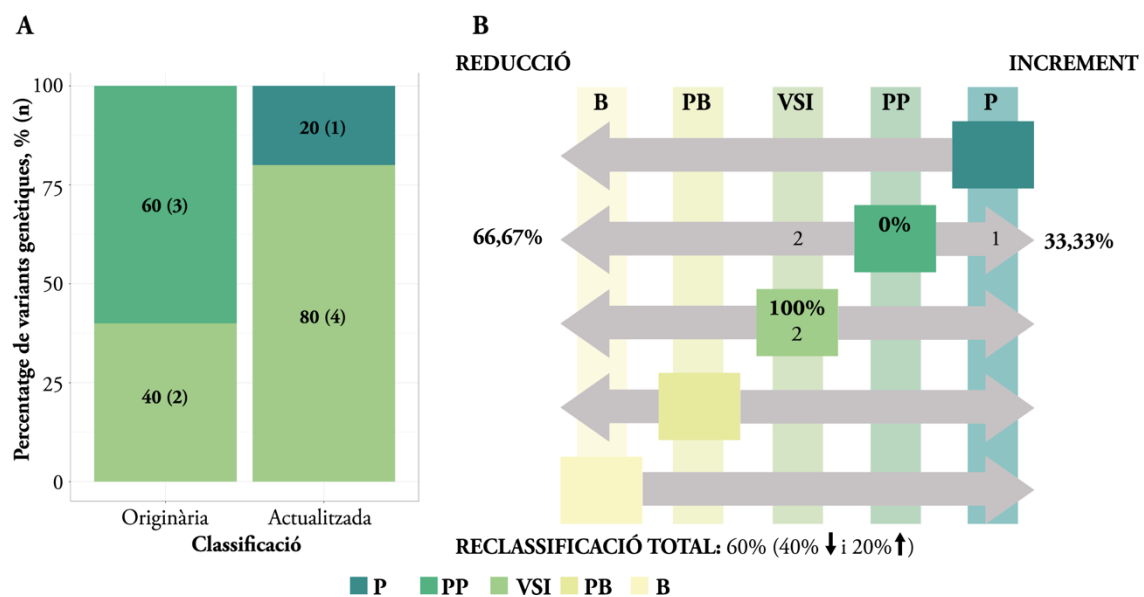


Figura 20. A) Proporción de variants identificades a RYR2 a la cohort de TVPC per cadascuna de les categories de classificació en l'informe originari i després de la reinterpretació. B) Taxa de reclassificació total i segons la classificació originària de les variants a RYR2 de la cohort de TVPC. A les files es representen, per cada classificació originària, les variants que mantenen o veuen modificada la seva classificació després de la reinterpretació. Al lateral esquerre s'indica el percentatge de variants que veuen reduïda la seva classificació per cadascuna de les classificacions originàries i al lateral dret, el percentatge que l'augmenta. A les columnes es veuen representades el nombre de variants per cadascuna de les classificacions després de la reinterpretació. P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

S'han publicat altres estudis en els quals avaluen la taxa de reclassificació de variants a RYR2 en pacients de TVPC obtenint valors molt dispars entre ells. A l'estudi de Sarquella-Brugada *et al* es descriuen 7 variants considerades com a VSI l'any 2016 que mantenen aquesta classificació després de la reinterpretació realitzada l'any 2021[211], suposant una reclassificació del 0%. Pel contrari, Bennett *et al* descriuen una taxa de reclassificació del 100% si bé, aquesta està basada en únicament 2 variants originàriament reportades com a VSI que passen a considerar-se P/PP després de la reinterpretació. A aquest estudi també reavaluen 3 variants a RYR2 identificades en individus amb fenotips inespecífics (síncope i

aturada cardíaca) pel que no s'han considerat en l'estimació de la taxa de reclassificació per variants a RYR2 en una cohort de TVPC. Finalment, l'estudi que descriu una taxa de reclassificació més similar a l'obtinguda en la reinterpretació de les variants identificades a RYR2 a la cohort de TVPC de la UCF és el de Roston *et al*, en el qual descriuen la reinterpretació de 29 variants genètiques a RYR2 obtenint una taxa de reclassificació del 48,28%[230]. Tanmateix, en aquest estudi descriuen un major percentatge de variants que incrementen la seva classificació (27,59%), tant de PP a P com de VSI a P/PP; mentre que a la cohort de TVPC de la UCF únicament es produeix l'increment de la classificació a una variant que originàriament va classificar-se com a PP i actualment es considera P, representant una taxa de reclassificació a una categoria superior del 20%. Cap de les variants inicialment reportades com a VSI modifica la seva classificació. Pel que fa a la proporció de variants que sofreixen una disminució de la classificació, tant a la cohort de TVPC d'aquesta tesi com a la descrita per Roston *et al*, les úniques variants que disminueixen la seva classificació són les classificades originàriament com a PP, passant a considerar-se VSI i mostrant taxes de reclassificació similars entre ambdues cohorts: 40% vs 42,86%, respectivament[230].

Després de la reinterpretació, 1 variant va classificar-se com a P (20%) i 4 com a VSI (80%) (Figura 20A). Aquestes proporcions no són representatives de la reclassificació causada per la reinterpretació de les variants realitzada en aquesta tesi doctoral i a més, el nombre reduït de variants genètiques identificades i reinterpretades a RYR2 a la cohort de TVPC de la UCF dificulta la comparació dels resultats obtinguts amb altres estudis. Per exemple, en un estudi publicat per Olubando *et al* en el qual classifiquen una cohort de 326 variants genètiques a RYR2 extretes de la literatura científica, d'HGMDB i d'una cohort pròpia descriuen les següents proporcions: 3,7% variants P, 4,1% variants PP, 75,6% variants VSI i 16,9% variants B[231].

L'anàlisi estadística de la concordança entre les classificacions originàries de les variants identificades a RYR2 a la nostra cohort de TVPC i la reclassificació realitzada en aquest estudi indica una concordança lleu en la comparació de les classificacions reportades a les anàlisis genètiques de casos índexs ($k=0,3750$) i una concordança baixa si a la comparació s'hi inclouen les anàlisis genètiques de familiars ($k=0,4500$).

El motiu principals pel que s'ha incrementat la classificació de PP a P en una de les variants és la descripció de varis casos de TVPC portadors d'aquesta variant a la literatura científica i la disponibilitat de dades d'estudis funcionals en models animals. Pel que fa a les variants que

han disminuït la classificació de PP a VSI, el motiu principal és la falta d'evidències (Taula 29). A la família MSI/TVPC-127, la variant originàriament classificada com a PP segrega amb el fenotip de TVPC en la mare (II.2) però una única meiosi no és suficient per aplicar el criteri PP1 i així mantenir la classificació de PP. En la resta de les famílies no es disposa de dades de segregació.

Taula 29. Classificació reportada originàriament i després de la reinterpretació per les variants genètiques identificades a RYR2 a la cohort de TVPC.

Família	Variant genètica	Classificació originària	Classificació actualitzada	Motiu principal per la reclassificació
MSI/TVPC-10	RYR2:c.10795G>A; p.(Val3599Ile)	PP	VSI	↓ Falta d'evidències
MSI/TVPC-127	RYR2:c.13505T>C; p.(Met4502Thr)	PP	VSI	↓ Falta d'evidències
	RYR2:c.1392C>A; p.(His464Gln)	VSI	VSI	=
MSI/TVPC-156	RYR2:c.1259G>A; p.(Arg420Gln)	PP	P	↑ Casos i model animal
MSI/TVPC-168	RYR2 c.13600C>T; p.(Pro4534Ser)	VSI	VSI	=

P: Patogènica; PP: Possiblement patogènica; VSI: Variant de significat incert; PB: Possiblement benigna; B: Benigna.

La reclassificació de les variants genètiques efectuada en aquest estudi ha disminuït fins a 1 les variants P/PP a RYR2 (1/5 casos índex; 20% de la cohort de TVPC) i ha augmentat fins a 4 el nombre de variants genètiques considerades de significat incert (3/5 casos índex; 60% de la cohort de TVPC) (Taula 29).

Les 9 variants identificades a la cohort de TVPC en gens no associats a aquesta patologia van mantenir la classificació de VSI excepte dos variants que es van reclassificar a B i PB degut a la seva alta freqüència al·lèlica a bases de dades de població general.

Si es tenen en consideració totes les variants genètiques identificades a la cohort de TVPC independentment de la seva associació clínica, observem una taxa de reclassificació del 28,57%, amb un 21,43% de les variants que sofreixen una disminució de la seva classificació inicial i un 7,14% que l'incrementen, el qual dista del 60% observat si s'avaluen únicament les variants a RYR2, l'únic gen amb associació definitiva a TVPC en el qual s'han identificat variants genètiques a la cohort de TVPC de la UCF. Tanmateix, a diferència del que ocorre a les cohorts de SBr i SQTL, a la cohort de TVPC tant si s'avaluen únicament les variants a RYR2 com si s'inclouen les variants en gens no associats, s'observa una major taxa de variants que disminueixen la classificació (40% i 21,43%, respectivament) respecte les que l'augmenten (20% i 7,14%, respectivament).

V. DISCUSSIÓ GENERAL

La realització d'una anàlisi genètica està altament recomanada en aquells casos amb diagnòstic d'una cardiopatia familiar i inclús en casos de mort sobtada cardíaca[33]. Les anàlisis genètiques són de gran utilitat per confirmar la diagnosi, especialment en les canalopaties cardíques, ja que sovint la detecció d'una variant P/PP és un criteri diagnòstic, pel que una classificació errònia de la variant genètica pot desencadenar en un diagnòstic genètic inapropiat i l'adopció de mesures terapèutiques innecessàries o inadequades. Per això, un dels principals reptes associats a les anàlisis genètiques és la classificació de les variants genètiques identificades.

La utilització de les guies ACMG/AMP[141] és la metodologia àmpliament adoptada en l'actualitat per a la classificació de les variants genètiques. Tanmateix, inclús utilitzant aquestes guies, existeixen discrepàncies en la classificació de les variants genètiques entre laboratoris i professionals especialitzats[157], el qual posa de manifest la necessitat de desenvolupar especificacions per a l'apropiada utilització de cadascuna de les evidències així com, d'unes guies específiques per gen i malaltia. Algunes d'aquestes especificacions ja s'han anat publicant, comportant canvis en la utilització de les evidències i el grau de força amb el que s'apliquen i per tant, ressalten el caràcter variable de les classificacions de les variants genètiques. Per exemple, inicialment les guies ACMG/AMP indicaven que l'absència de la variant en bases de dades de població general era una evidència moderada; mentre que posteriorment es va considerar que aquesta evidència estava sobreestimada i es va rebaixar a un nivell de força *supporting*[162]. Així mateix, segons la publicació de les guies ACMG/AMP l'any 2015, totes les variants nul·les adquirien una evidència patogènica *very strong* pel simple fet de ser d'aquest tipus de variants però arran de la publicació d'Abou Tayoun *et al*, aquesta evidència va adquirir diferents graus de força i van introduir especificacions concretes que ha de complir l'associació gen-malaltia per tal que aquesta evidència pugui ser aplicable.

Actualment, el debat està centrat en la periodicitat amb la que s'hauria de realitzar la reinterpretació de les variants reportades, qui ha d'iniciar el procés de reinterpretació, com ha de ser el recontacte amb el pacient i el paper del consentiment del pacient en el procés de reinterpretació, així com les implicacions econòmiques i dedicació de temps que suposa. Tanmateix, el potencial benefici pel pacient i els seus familiars suggereix la importància d'assolir un consens en aquests aspectes de la reinterpretació de les variants genètiques. En aquesta tesi doctoral s'ha realitzat la reinterpretació de les variants genètiques identificades durant un període de gairebé 10 anys en una cohort de cardiopaties familiars per tal d'intentar

determinar la freqüència amb la que caldria realitzar aquesta reinterpretació i l'impacte que té en les cohorts de cadascuna de les canalopaties cardíques.

Taula 30. Taxes de reclassificació obtingudes a cadascuna de les cohorts avaluades.

Cohort	Número de variants reinterpretades	Taxa reclassificació total (%)	Percentatge de variants que disminueixen la classificació (%)	Percentatge de variants que augmenten la classificació (%)
Cardiopaties familiars	2383	37,81	31,05	6,76
Canalopaties cardíques	316	38,93	22,47	16,46
Miocardiopaties	1053	31,72	22,32	9,40
MSI	594	44,61	42,42	2,19
SBr	14	57,14	21,43	35,71
SQTL	18	50	11,11	38,89
SQTC	1	0	0	0
TVPC	5	60	40	20

MSI: Mort Soltada Inexplicada, SBr: Síndrome de Brugada, SQTL: Síndrome de QT llarg, SQTC: Síndrome de QT curt, TVPC: Taquicàrdia ventricular polimòrfica catecolaminèrgica.

La reinterpretació realitzada en aquesta tesi de les 2383 variants genètiques identificades a la UCF durant gairebé 10 anys va suposar una taxa de reclassificació del 37,81%. Aquest valor és similar al reportat en altres estudis que han realitzat la reinterpretació de les variants identificades en cohorts de supervivents d'una aturada cardíaca inexplicada (37,98%)[203] o d'epilèpsia pediàtrica (36,30%)[204], i és superior a la taxa de reclassificació descrita en cohorts de MCD (29,82%)[205] o de càncer hereditari (3,60%-12,40%)[206-210]. Observant aquestes divergències entre diferents cohorts, es va suggerir la hipòtesi que la taxa de reclassificació podria variar en funció del fenotip associat a les variants genètiques reinterpretades, pel que es va realitzar una divisió de les 2383 variants genètiques reinterpretades en funció de si havien estat identificades en pacients amb miocardiopaties o en pacients amb canalopaties cardíques. Per aquesta avaluació es van excloure aquelles variants identificades en casos de MSI en els quals no es va poder establir un diagnòstic clar. A més, també es van avaluar les taxes de reclassificació en cohorts específiques de MSI, SBr, SQTL, SQTC i TVPC (Taula 30).

Els resultats de la reinterpretació de les variants genètiques en les diferents cohorts van demostrar uns valors de reclassificació majors en aquelles cohorts en les quals la reinterpretació es restringia a les variants identificades en gens amb una associació definitiva a la canalopatia cardíaca concreta (50%-60%) en comparació a les cohorts en què no es va tenir en compte la validesa clínica de l'associació gen-malaltia (31,72%-44,61%). Donat que la cohort de SQTC està formada per una única família, aquesta es va excloure de la comparativa amb les altres cohorts.

A més, es va observar que en les cohorts específiques com la de SBr i la de SCTL, a banda de presentar unes taxes de reclassificació superiors, les reclassificacions consisteixen majoritàriament en canvis de la classificació reportada inicialment a una classificació superior. Això ens indica que existeix una major probabilitat de reclassificació a classificacions superiors en aquelles variants genètiques identificades en gens clarament associats a la malaltia d'estudi respecte les variants en gens que no presenten una validesa clínica considerada, com a mínim, forta. Al contrari, les variants genètiques en gens no clarament associats o no associats a la patologia que s'està avaluant, en general ja hauran estat classificades com a VSI i mantindran aquesta classificació o la veuran reduïda a una classificació PB/B. Així, es pot concloure que a banda de la disponibilitat de dades noves sobre segregació, el que més influeix en l'increment de la classificació de les variants genètiques respecte la classificació inicial és l'accessibilitat a evidències específiques per a la malaltia i els gens associats a ella. Recolzant aquesta afirmació, es va observar que el percentatge significativament superior de variants inicialment classificades com a VSI que passaven a considerar-se PP observat a la cohort de canalopaties cardíques en comparació a la cohort de miocardiopaties era degut majoritàriament a les noves evidències per a l'aplicació del criteri PM1 que s'han publicat recentment[174] i que és aplicable als gens *KCNQ1*, *KCNH2* i *SCN5A* en un context de SCTL i a *SCN5A* en un context de SBr.

De totes formes, no es pot descuidar la reinterpretació de les variants genètiques identificades en gens sense una clara associació a la malaltia o en gens no associats ja que aquesta pot permetre descartar definitivament aquelles variants com a possibles causals de la malaltia d'estudi o inclús, podrien ser reclassificades a P/PP en el context d'una malaltia diferent pel que caldria precisar si es troben en un dels gens considerats susceptibles d'intervenció clínica[135] i en aquest cas, reportar-les per tal que es puguin adoptar les mesures preventives i terapèutiques oportunes.

Com s'ha exposat anteriorment, un dels principals dilemes associats a la reinterpretació de les variants genètiques és la periodicitat amb la que aquesta caldria efectuar-se. Alguns autors han publicat els períodes que consideren més apropiats segons els seus estudis indicant que la reinterpretació de les variants hauria de realitzar-se cada 2[204] o 5 anys[211, 213]. Chisholm *et al* proposen una aproximació molt més detallada en la qual indiquen que es realitzarà la reinterpretació en: 1) aquelles variants genètiques sol·licitades per part d'un professional clínic, 2) aquelles variants genètiques que s'identifiquen de nou en un cas índex no emparentat i que fa més d'1 any de l'última vegada que es van classificar, i 3) quan es

sol·licita una ampliació de l'estudi genètic d'un individu i fa més d'1 any que es van classificar les variants reportades al primer informe[232]. Tanmateix, els estudis que proposen la reinterpretació cada 5 anys es basen en els seus estudis de reinterpretació de les variants genètiques publicades l'any 2010[213] o l'any 2016[211], 10 i 5 anys més tard, respectivament, però no realitzen una avaluació de l'impacte de la reinterpretació en diferents anys per tal de poder determinar la freqüència més adequada per a la reinterpretació. A l'estudi de SoRelle *et al* reinterpreten les variants genètiques reportades durant un període de 5 anys mostrant una taxa de reclassificació total del 36,2% i del 26,32% en l'avaluació de les variants reportades durant els últims 2 anys[204].

D'acord amb les dades publicades, aquesta tesi representa el primer estudi que avalua l'impacte de la reinterpretació d'un conjunt de 2383 variants genètiques en base a l'any de la classificació originària en un període tant extens de temps, des de l'any 2012 fins desembre de l'any 2021. Els resultats d'aquesta avaluació indiquen que la reinterpretació de les variants reportades durant els anys 2012 i 2018 mostren unes taxes de reclassificació per sobre del 35%. A l'avaluació de les variants reportades l'any 2019, aquesta taxa comença a disminuir (25,48%), reduint-se lleugerament en les variants reportades l'any 2020 (21,08%) i arribant a una taxa de reclassificació del 8,48% en les variants reportades l'any 2021. L'anàlisi estadística de la concordança entre les classificacions originàries i les classificacions després de la reinterpretació realitzada en aquesta tesi indicaven una concordança "bona" entre les classificacions de les variants reportades l'any 2020 i "molt bona" en les reportades l'any 2021. Per contra, en la comparació de la concordança entre les classificacions originàries i les classificacions actualitzades de les variants reportades els anys anteriors oscil·laven entre concordances "lleus", "pobres" i "baixes".

L'avaluació de la reinterpretació en funció de l'any en què s'havien reportat inicialment les variants també es va realitzar per la selecció de variants de la cohort de canalopaties cardíques i la cohort de miocardiopaties mostrant resultats similars. A la cohort de canalopaties cardíques, l'anàlisi estadística de la concordança entre les classificacions originàries i actualitzades no assolia la categoria "bona" fins l'any 2020, igual que a la cohort global de cardiopaties familiars, tot i que es mantenia com a "bona" en la reinterpretació de les variants reportades l'any 2021; mentre que a la cohort de miocardiopaties, l'anàlisi estadística de la concordança mostrava un categoria "bona" i "molt bona" en la reinterpretació de les variants reportades l'any 2020 i 2021, respectivament, igual que a la

cohort de cardiopaties familiars, però també mostrava una concordança “bona” en les variants reportades l’any 2019.

Els resultats obtinguts en aquesta tesi mostren que únicament s’obté una concordança “bona” en les reinterpretacions realitzades en les variants genètiques que van ser reportades amb un màxim de 2 anys d’anterioritat a la reinterpretació, pel que aquesta podria ser la freqüència més apropiada per a la reinterpretació de les variants genètiques identificades en pacients i familiars avaluats a una unitat especialitzada en cardiopaties familiars. Tot i això, en alguns casos podria ser beneficiosa la realització de la reinterpretació inclús abans dels 2 anys. La periodicitat més apropiada per a la revaluació de la classificació de les variants genètiques pot variar en cada cas ja que la publicació d’especificacions noves per a l’aplicació de les diferents evidències o la disponibilitat d’estudis de segregació, entre altres, poden fer que una variant vegi modificada la seva classificació inclús en un període més curt de temps.

Per tal que els pacients i les seves famílies rebin la millor atenció en base als resultats de les anàlisis genètiques, els assessors genètics han d’adoptar un paper proactiu en el procés de reinterpretació de les variants. Els laboratoris de diagnosi genètica són especialistes en la classificació de les variants genètiques mitjançant l’aplicació dels criteris ACMG/AMP i realitzen una extensa recerca per tal de determinar les especificacions concretes disponibles per gens i malalties determinades, però moltes de les classificacions realitzades a nivell del laboratori es realitzen en absència d’un fenotip clínic detallat i més concretament, en absència de dades de la cosegregació de les variants a les famílies, informació sovint disponible únicament a nivell de la unitat clínica especialitzada. Per aquest motiu, és important que els assessors genètics col·laborin amb els laboratoris de diagnosi genètica per a la correcta classificació de les variants genètiques identificades a cada família i cal que els laboratoris puguin disposar d’informació detallada sobre el fenotip, la història familiar i la segregació de la variant a la família. S’ha descrit que un alt percentatge dels assessors genètics que treballen en unitats especialitzades en cardiopaties familiars adopten la responsabilitat de la classificació de les variants genètiques, ampliant així les seves habilitats com a assessors genètics especialitzats en malalties cardiovasculars i aportant expertesa als equips multidisciplinaris de les unitats de cardiopaties familiars[233]. La implicació dels assessors genètics en el procés de reinterpretació de les variants permet que les variants genètiques siguin revaluades amb més freqüència, concedint la possibilitat d’incorporar de forma immediata els possibles canvis al seguiment dels pacients i a l’avaluació del risc dels familiars.

L'objectiu de les guies ACMG/AMP va ser dotar els laboratoris que realitzen anàlisis genètiques d'un conjunt de criteris per a la classificació de les variants i que aquesta fos igual entre laboratoris, així com proporcionar recomanacions sobre el tipus i la quantitat d'evidència necessària per assolir una classificació patogènica o benigna. Tanmateix, aquestes guies no són fàcils d'aplicar en tots els contextos clínics degut a les limitacions en aquelles malalties que presenten una etiologia genètica heterogènia, penetrància incompleta, expressivitat variable i edat d'aparició variable, tal com succeeix a les cardiopaties familiars. Per això es necessiten unes guies específiques per gen i malaltia de manera que s'asseguri que tot el coneixement disponible és aplicat en la interpretació de les variants genètiques. A més, l'aplicació de les guies ACMG/AMP, tot i incorporar les diferents recomanacions i especificacions que s'han anat publicant, segueixen mostrant un alt component subjectiu. Per tal de minimitzar les discrepàncies entre les classificacions realitzades per diferents professionals o inclús pel mateix professional en diferents ocasions, és important que als informes de les anàlisis genètiques s'indiquin les evidències utilitzades per assolir la classificació ja que la falta d'aquesta informació dificulta la reinterpretació, mentre que si es proporciona, és més fàcil establir si una determinada evidència ja havia estat aplicada en la classificació inicial.

En resum, les taxes de reclassificació de les variants genètiques identificades durant un període de gairebé 10 anys són superiors al 30% en totes les cohorts avaluades en aquesta tesi doctoral (cohorts de cardiopaties familiars, canalopaties cardíques, miocardiopaties, MSI, SBr, SCTL i TVPC), excepte a la cohort de SCTL que no s'ha inclòs en la valoració degut a la seva mida reduïda. No obstant, aquesta taxa de reclassificació és inclús superior quan s'avaluen únicament les variants genètiques identificades a gens clarament associats a la malaltia que presenta l'individu en el qual s'han identificat, indicant una major facilitat per a l'obtenció de certes evidències i una major disponibilitat d'especificacions concretes per a la utilització de les evidències en aquells gens amb una validesa clínica forta o definitiva a la malaltia d'estudi. Aquestes altes taxes de reclassificació posen de manifest la necessitat d'implementar el procés de reinterpretació de les classificacions de les variants genètiques de forma periòdica. S'estima que la freqüència més apropiada per a la reinterpretació seria de 2 anys, deixant oberta la possibilitat d'una reinterpretació amb major freqüència si es considera oportú. Els assessors genètics juguen un paper fonamental en la reinterpretació de les variants per tal de mantenir les classificacions actualitzades, aportant aquelles evidències que sovint no estan disponibles a nivell dels laboratoris de diagnòstic genètic i transmetent els

canvis produïts en la classificació i les implicacions d'aquestes reclassificacions als pacients i familiars.

VI. CONCLUSIONS

1. La taxa de reclassificació de les variants genètiques identificades a la cohort de cardiopaties familiars d'aquesta tesi durant un període de 10 anys és del 37,81%. Aquest percentatge està representat per un 31,05% de les variants que disminueixen el seu grau de patogenicitat i un 6,76% que l'augmenten.
2. Els resultats d'aquesta tesi indiquen que les taxes de reclassificació es mantenen superiors al 30% en l'avaluació de les variants genètiques identificades tant a la cohort global de cardiopaties familiars com a les diferents subcohorts de miocardiopaties, canalopaties cardíques, MSI, SBr, SQTL i TVPC. Tanmateix, es ressalta que la taxa de reclassificació es troba entre un 50-70% quan s'avaluen únicament aquelles variants genètiques en gens amb una validesa clínica forta o definitiva a la malaltia del pacient.
3. La disponibilitat d'un fenotip clínic detallat i de dades de segregació de la variant genètica amb el fenotip són fonamentals per a la correcta classificació de les variants genètiques. Els assessors genètics juguen un paper clau en aquest aspecte, proporcionant aquesta informació i participant en el procés de reinterpretació de les variants genètiques a mesura que es disposen d'evidències addicionals.
4. No s'observen diferències significatives entre la taxa de reclassificació de les variants genètiques identificades a la cohort de canalopaties cardíques i les identificades a la cohort de miocardiopaties, exceptuant la detecció d'una proporció significativament superior de variants de significat incert que es reclassifiquen a possiblement patogèniques a la cohort de canalopaties cardíques, respecte la cohort de miocardiopaties.
5. Els resultats d'aquesta tesi indiquen que la taxa de reclassificació no és superior en aquelles variants reportades abans de la publicació de les guies ACMG/AMP i que aquesta no disminueix exponencialment des de llavors, sinó que la taxa de reclassificació es manté elevada i amb valors similars en aquelles variants reportades fins a un mínim de 2 anys abans de la reinterpretació.
6. Caldria realitzar una reinterpretació de les variants genètiques identificades en pacients amb cardiopaties familiars amb una periodicitat màxima de 2 anys. Tanmateix, la naturalesa dinàmica de les guies ACMG/AMP està estretament lligada a la publicació de noves dades per a l'aplicació de les diferents evidències, el qual pot desencadenar en canvis de classificació inclús en aquelles variants reportades durant el darrer any.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Bayes de Luna, A. and R. Elosua, *Sudden death*. Rev Esp Cardiol (Engl Ed), 2012. **65**(11): p. 1039-52.
2. Goldstein, S., *The necessity of a uniform definition of sudden coronary death: witnessed death within 1 hour of the onset of acute symptoms*. Am Heart J, 1982. **103**(1): p. 156-9.
3. Castellá García, J., J. Medallo Muñiz, and T. Marrón Moya, *Aspectos medicolegales de la muerte súbita cardíaca*. Revista Española de Cardiología, 2013. **13**: p. 30-37.
4. Priori, S.G., et al., *HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes: document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013*. Heart Rhythm, 2013. **10**(12): p. 1932-63.
5. Ackerman, M.J., D.J. Tester, and D.J. Driscoll, *Molecular autopsy of sudden unexplained death in the young*. Am J Forensic Med Pathol, 2001. **22**(2): p. 105-11.
6. Campuzano, O., et al., *Negative autopsy and sudden cardiac death*. Int J Legal Med, 2014. **128**(4): p. 599-606.
7. Stiles, M.K., et al., *2020 APHRS/HRS expert consensus statement on the investigation of decedents with sudden unexplained death and patients with sudden cardiac arrest, and of their families*. Heart Rhythm, 2021. **18**(1): p. e1-e50.
8. Myerburg, R.J. and J.J. Goldberger, *Cardiac Arrest and Sudden Cardiac Death*, in *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 2019, Elsevier: Philadelphia, PA.
9. Podrid, P.J. and R.J. Myerburg, *Epidemiology and stratification of risk for sudden cardiac death*. Clin Cardiol, 2005. **28**(11 Suppl 1): p. I3-11.
10. Basso, C., et al., *Postmortem diagnosis in sudden cardiac death victims: macroscopic, microscopic and molecular findings*. Cardiovasc Res, 2001. **50**(2): p. 290-300.
11. Winkel, B.G., et al., *Nationwide study of sudden cardiac death in persons aged 1-35 years*. Eur Heart J, 2011. **32**(8): p. 983-90.
12. Chugh, S.S., et al., *Epidemiology of sudden cardiac death: clinical and research implications*. Prog Cardiovasc Dis, 2008. **51**(3): p. 213-28.
13. Wong, C.X., et al., *Epidemiology of Sudden Cardiac Death: Global and Regional Perspectives*. Heart Lung Circ, 2019. **28**(1): p. 6-14.
14. Isbister, J. and C. Semsarian, *Sudden cardiac death: an update*. Intern Med J, 2019. **49**(7): p. 826-833.
15. Maas, A.H. and Y.E. Appelman, *Gender differences in coronary*

- heart disease*. *Neth Heart J*, 2010. **18**(12): p. 598-602.
16. Bogle, B.M., et al., *Lifetime Risk for Sudden Cardiac Death in the Community*. *J Am Heart Assoc*, 2016. **5**(7).
 17. Simmons, A., R. Pimentel, and D. Lakkireddy, *Sudden cardiac death in women*. *Rev Cardiovasc Med*, 2012. **13**(1): p. e37-42.
 18. Gillum, R.F., *Sudden cardiac death in Hispanic Americans and African Americans*. *Am J Public Health*, 1997. **87**(9): p. 1461-6.
 19. Becker, L.B., et al., *Racial differences in the incidence of cardiac arrest and subsequent survival. The CPR Chicago Project*. *N Engl J Med*, 1993. **329**(9): p. 600-6.
 20. Zhao, D., et al., *Racial Differences in Sudden Cardiac Death*. *Circulation*, 2019. **139**(14): p. 1688-1697.
 21. Atkins, D.L., et al., *Epidemiology and outcomes from out-of-hospital cardiac arrest in children: the Resuscitation Outcomes Consortium Epistry-Cardiac Arrest*. *Circulation*, 2009. **119**(11): p. 1484-91.
 22. Srinivasan, N.T. and R.J. Schilling, *Sudden Cardiac Death and Arrhythmias*. *Arrhythm Electrophysiol Rev*, 2018. **7**(2): p. 111-117.
 23. Deo, R. and C.M. Albert, *Epidemiology and genetics of sudden cardiac death*. *Circulation*, 2012. **125**(4): p. 620-37.
 24. Myerburg, R.J. and M.J. Junttila, *Sudden cardiac death caused by coronary heart disease*. *Circulation*, 2012. **125**(8): p. 1043-52.
 25. Junttila, M.J., et al., *Temporal Trends in the Clinical and Pathological Characteristics of Victims of Sudden Cardiac Death in the Absence of Previously Identified Heart Disease*. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2016. **9**(6).
 26. Feng, J.L., et al., *Temporal Trends in Sudden Cardiac Death From 1997 to 2010: A Data Linkage Study*. *Heart Lung Circ*, 2017. **26**(8): p. 808-816.
 27. Chugh, S.S., et al., *Current burden of sudden cardiac death: multiple source surveillance versus retrospective death certificate-based review in a large U.S. community*. *J Am Coll Cardiol*, 2004. **44**(6): p. 1268-75.
 28. Markwerth, P., et al., *Sudden cardiac death-update*. *Int J Legal Med*, 2021. **135**(2): p. 483-495.
 29. Corrado, D., C. Basso, and G. Thiene, *Sudden cardiac death in young people with apparently normal heart*. *Cardiovasc Res*, 2001. **50**(2): p. 399-408.
 30. Puranik, R., et al., *Sudden death in the young*. *Heart Rhythm*, 2005. **2**(12): p. 1277-82.
 31. Hayashi, M., W. Shimizu, and C.M. Albert, *The spectrum of epidemiology underlying sudden cardiac death*. *Circ Res*, 2015. **116**(12): p. 1887-906.

32. Al-Khatib, S.M., et al., 2017 *AHA/ACC/HRS Guideline for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society*. J Am Coll Cardiol, 2018. **72**(14): p. e91-e220.
33. Wilde, A.A.M., et al., *European Heart Rhythm Association (EHRA)/Heart Rhythm Society (HRS)/Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS)/Latin American Heart Rhythm Society (LAHRS) Expert Consensus Statement on the state of genetic testing for cardiac diseases*. Europace, 2022.
34. Barriales-Villa, R., et al., *Plan of Action for Inherited Cardiovascular Diseases: Synthesis of Recommendations and Action Algorithms*. Rev Esp Cardiol (Engl Ed), 2016. **69**(3): p. 300-9.
35. Lahrouchi, N. and A.A.M. Wilde, *Complexity of Molecular Genetics in the Inherited Cardiac Arrhythmias*. 2016. p. 345-368.
36. Brugada, P. and J. Brugada, *Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report*. J Am Coll Cardiol, 1992. **20**(6): p. 1391-6.
37. Miyazaki, T., et al., *Autonomic and antiarrhythmic drug modulation of ST segment elevation in patients with Brugada syndrome*. J Am Coll Cardiol, 1996. **27**(5): p. 1061-70.
38. Vatta, M., et al., *Genetic and biophysical basis of sudden unexplained nocturnal death syndrome (SUNDS), a disease allelic to Brugada syndrome*. Hum Mol Genet, 2002. **11**(3): p. 337-45.
39. Aponte, G.E., *The enigma of "bangungut"*. Ann Intern Med, 1960. **52**: p. 1258-63.
40. Gotoh, K., *A histopathological study on the conduction system of the so-called "Pokkuri disease" (sudden unexpected cardiac death of unknown origin in Japan)*. Jpn Circ J, 1976. **40**(7): p. 753-68.
41. Tatsanavivat, P., et al., *Sudden and unexplained deaths in sleep (Laitai) of young men in rural northeastern Thailand*. Int J Epidemiol, 1992. **21**(5): p. 904-10.
42. Malik, B.R., et al., *Brugada Syndrome: Clinical Features, Risk Stratification, and Management*. Heart Views, 2020. **21**(2): p. 88-96.
43. Brugada, J., et al., *Present Status of Brugada Syndrome: JACC State-of-the-Art Review*. J Am Coll Cardiol, 2018. **72**(9): p. 1046-1059.
44. Vutthikraivit, W., et al., *Worldwide Prevalence of Brugada Syndrome: A Systematic Review and Meta-*

- Analysis*. Acta Cardiol Sin, 2018. **34**(3): p. 267-277.
45. Milman, A., et al., *Gender differences in patients with Brugada syndrome and arrhythmic events: Data from a survey on arrhythmic events in 678 patients*. Heart Rhythm, 2018. **15**(10): p. 1457-1465.
 46. Milman, A., et al., *Ethnic differences in patients with Brugada syndrome and arrhythmic events: New insights from Survey on Arrhythmic Events in Brugada Syndrome*. Heart Rhythm, 2019. **16**(10): p. 1468-1474.
 47. Shimizu, W., et al., *Sex hormone and gender difference--role of testosterone on male predominance in Brugada syndrome*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2007. **18**(4): p. 415-21.
 48. Antzelevitch, C., et al., *J-Wave syndromes expert consensus conference report: Emerging concepts and gaps in knowledge*. Europace, 2017. **19**(4): p. 665-694.
 49. Miyamoto, K., et al., *Diagnostic and prognostic value of a type 1 Brugada electrocardiogram at higher (third or second) V1 to V2 recording in men with Brugada syndrome*. Am J Cardiol, 2007. **99**(1): p. 53-7.
 50. Priori, S.G., et al., *2015 ESC Guidelines for the Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death*. Rev Esp Cardiol (Engl Ed), 2016. **69**(2): p. 176.
 51. Berne, P. and J. Brugada, *Brugada syndrome 2012*. Circ J, 2012. **76**(7): p. 1563-71.
 52. Poli, S., et al., *Management of untreatable ventricular arrhythmias during pharmacologic challenges with sodium channel blockers for suspected Brugada syndrome*. Europace, 2018. **20**(2): p. 234-242.
 53. Veltmann, C., et al., *A prospective study on spontaneous fluctuations between diagnostic and non-diagnostic ECGs in Brugada syndrome: implications for correct phenotyping and risk stratification*. Eur Heart J, 2006. **27**(21): p. 2544-52.
 54. Richter, S., et al., *Variability of the diagnostic ECG pattern in an ICD patient population with Brugada syndrome*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2009. **20**(1): p. 69-75.
 55. Chauveau, S., O. Le Vavasseur, and P. Chevalier, *Delayed diagnosis of Brugada syndrome in a patient with aborted sudden cardiac death and initial negative flecainide challenge*. Clin Case Rep, 2017. **5**(12): p. 2022-2024.
 56. Matsuo, K., et al., *The circadian pattern of the development of ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome*. Eur Heart J, 1999. **20**(6): p. 465-70.

57. Aizawa, Y., et al., *Comparison of circadian, weekly, and seasonal variations of electrical storms and single events of ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome*. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 2016. **11**: p. 104-110.
58. Probst, V., et al., *Clinical aspects and prognosis of Brugada syndrome in children*. *Circulation*, 2007. **115**(15): p. 2042-8.
59. Skinner, J.R., et al., *Brugada syndrome masquerading as febrile seizures*. *Pediatrics*, 2007. **119**(5): p. e1206-11.
60. Antzelevitch, C. and R. Brugada, *Fever and Brugada syndrome*. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2002. **25**(11): p. 1537-9.
61. Schulze-Bahr, E., et al., *Sodium channel gene (SCN5A) mutations in 44 index patients with Brugada syndrome: different incidences in familial and sporadic disease*. *Hum Mutat*, 2003. **21**(6): p. 651-2.
62. Vohra, J., S. Rajagopalan, and C.G.C.W. Group, *Update on the Diagnosis and Management of Brugada Syndrome*. *Heart Lung Circ*, 2015. **24**(12): p. 1141-8.
63. Chen, Q., et al., *Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation*. *Nature*, 1998. **392**(6673): p. 293-6.
64. Brugada, J., P. Brugada, and R. Brugada, *The syndrome of right bundle branch block ST segment elevation in V1 to V3 and sudden death--the Brugada syndrome*. *Europace*, 1999. **1**(3): p. 156-66.
65. Kapplinger, J.D., 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): p. 33-46.
66. Hosseini, S.M., et al., *Reappraisal of Reported Genes for Sudden Arrhythmic Death: Evidence-Based Evaluation of Gene Validity for Brugada Syndrome*. *Circulation*, 2018. **138**(12): p. 1195-1205.
67. Coll, M., et al., *Incomplete Penetrance and Variable Expressivity: Hallmarks in Channelopathies Associated with Sudden Cardiac Death*. *Biology (Basel)*, 2017. **7**(1).
68. Jervell, A. and F. Lange-Nielsen, *Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death*. *Am Heart J*, 1957. **54**(1): p. 59-68.
69. Romano, C., G. Gemme, and R. Pongiglione, *[Rare Cardiac Arrhythmias of the Pediatric Age. li. Syncopal Attacks Due to Paroxysmal Ventricular Fibrillation. (Presentation of 1st Case in Italian Pediatric Literature)]*. *Clin Pediatr (Bologna)*, 1963. **45**: p. 656-83.
70. Schwartz, P.J., et al., *Prevalence of the congenital long-QT syndrome*. *Circulation*, 2009. **120**(18): p. 1761-7.

71. Ackerman, M.J., 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)*. Heart Rhythm, 2011. **8**(8): p. 1308-39.
72. Zareba, W., et al., *Modulating effects of age and gender on the clinical course of long QT syndrome by genotype*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(1): p. 103-9.
73. Locati, E.H., et al., *Age- and sex-related differences in clinical manifestations in patients with congenital long-QT syndrome: findings from the International LQTS Registry*. Circulation, 1998. **97**(22): p. 2237-44.
74. Bazett, H.C., *An analysis of the time-relations of electrocardiograms*. Annals of Noninvasive Electrocardiology, 1997. **2**(2): p. 177-194.
75. Taran, L.M. and N. Szilagyi, *The duration of the electrical systole, Q-T, in acute rheumatic carditis in children*. Am Heart J, 1947. **33**(1): p. 14-26.
76. Schwartz, P.J., *Idiopathic long QT syndrome: Progress and questions*. American Heart Journal, 1985. **109**(2): p. 399-411.
77. Schwartz, P.J., et al., *Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update*. Circulation, 1993. **88**(2): p. 782-4.
78. Schwartz, P.J., *The congenital long QT syndromes from genotype to phenotype: clinical implications*. J Intern Med, 2006. **259**(1): p. 39-47.
79. Schwartz, P.J. and L. Crotti, *QTc behavior during exercise and genetic testing for the long-QT syndrome*. Circulation, 2011. **124**(20): p. 2181-4.
80. Sy, R.W., et al., *Derivation and validation of a simple exercise-based algorithm for prediction of genetic testing in relatives of LQTS probands*. Circulation, 2011. **124**(20): p. 2187-94.
81. Hayashi, K., et al., *Impact of Updated Diagnostic Criteria for Long QT Syndrome on Clinical Detection of Diseased Patients: Results From a Study of Patients Carrying Gene Mutations*. JACC Clin Electrophysiol, 2016. **2**(3): p. 279-287.
82. Priori, S.G., et al., *Risk stratification in the long-QT syndrome*. N Engl J Med, 2003. **348**(19): p. 1866-74.
83. Schwartz, P.J. and L. Crotti, *93 - Long and Short QT Syndromes, in Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside (Seventh Edition)*, D.P. Zipes, J. Jalife, and W.G. Stevenson, Editors. 2018, Elsevier. p. 893-904.
84. Khositseth, A., et al., *Identification of a common genetic substrate underlying postpartum cardiac events in congenital long QT syndrome*.

- Heart Rhythm, 2004. **1**(1): p. 60-4.
85. Buber, J., et al., *Risk of recurrent cardiac events after onset of menopause in women with congenital long-QT syndrome types 1 and 2*. Circulation, 2011. **123**(24): p. 2784-91.
86. Schwartz, P.J., et al., *Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias*. Circulation, 2001. **103**(1): p. 89-95.
87. Tester, D.J. and M.J. Ackerman, *Genetics of long QT syndrome*. Methodist Debakey Cardiovasc J, 2014. **10**(1): p. 29-33.
88. Medeiros-Domingo, A., P. Iturralde-Torres, and M.J. Ackerman, *[Clinical and genetic characteristics of long QT syndrome]*. Rev Esp Cardiol, 2007. **60**(7): p. 739-52.
89. Adler, A., et al., *An International, Multicentered, Evidence-Based Reappraisal of Genes Reported to Cause Congenital Long QT Syndrome*. Circulation, 2020. **141**(6): p. 418-428.
90. Kotta, M.C., et al., *Calmodulinopathy: A Novel, Life-Threatening Clinical Entity Affecting the Young*. Front Cardiovasc Med, 2018. **5**: p. 175.
91. Altmann, H.M., et al., *Homozygous/Compound Heterozygous Triadin Mutations Associated With Autosomal-Recessive Long-QT Syndrome and Pediatric Sudden Cardiac Arrest: Elucidation of the Triadin Knockout Syndrome*. Circulation, 2015. **131**(23): p. 2051-60.
92. Andersen, E.D., P.A. Krasilnikoff, and H. Overvad, *Intermittent muscular weakness, extrasystoles, and multiple developmental anomalies. A new syndrome?* Acta Paediatr Scand, 1971. **60**(5): p. 559-64.
93. Zhang, L., et al., *Electrocardiographic features in Andersen-Tawil syndrome patients with KCNJ2 mutations: characteristic T-U-wave patterns predict the KCNJ2 genotype*. Circulation, 2005. **111**(21): p. 2720-6.
94. Splawski, I., et al., *Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism*. Cell, 2004. **119**(1): p. 19-31.
95. Gussak, I., et al., *Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome?* Cardiology, 2000. **94**(2): p. 99-102.
96. Gaita, F., et al., *Short QT Syndrome: a familial cause of sudden death*. Circulation, 2003. **108**(8): p. 965-70.
97. Guerrier, K., et al., *Short QT Interval Prevalence and Clinical Outcomes in a Pediatric Population*. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2015. **8**(6): p. 1460-4.
98. Campuzano, O., et al., *Recent Advances in Short QT Syndrome*. Front Cardiovasc Med, 2018. **5**: p. 149.

99. Dewi, I.P. and B.B. Dharmadjati, *Short QT syndrome: The current evidences of diagnosis and management*. J Arrhythm, 2020. **36**(6): p. 962-966.
100. Gollob, M.H., C.J. Redpath, and J.D. Roberts, *The short QT syndrome: proposed diagnostic criteria*. J Am Coll Cardiol, 2011. **57**(7): p. 802-12.
101. Bjerregaard, P., *Proposed diagnostic criteria for short QT syndrome are badly founded*. J Am Coll Cardiol, 2011. **58**(5): p. 549-50; author reply 550-1.
102. Veltmann, C. and M. Borggrefe, *Arrhythmias: a 'Schwartz score' for short QT syndrome*. Nat Rev Cardiol, 2011. **8**(5): p. 251-2.
103. Giustetto, C., et al., *Long-term follow-up of patients with short QT syndrome*. J Am Coll Cardiol, 2011. **58**(6): p. 587-95.
104. Mazzanti, A., et al., *Novel insight into the natural history of short QT syndrome*. J Am Coll Cardiol, 2014. **63**(13): p. 1300-1308.
105. Giustetto, C., et al., *Short QT syndrome: clinical findings and diagnostic-therapeutic implications*. Eur Heart J, 2006. **27**(20): p. 2440-7.
106. Brugada, J., I. Gussak, and P. Brugada, *Short QT syndrome: a predictable story*. Cardiology, 2014. **128**(3): p. 231-3.
107. El-Battrawy, I., et al., *Sex-differences in short QT syndrome: A systematic literature review and pooled analysis*. Eur J Prev Cardiol, 2020. **27**(12): p. 1335-1338.
108. Jorgensen, I.N., et al., *Short QTc interval in males with klinefelter syndrome-influence of CAG repeat length, body composition, and testosterone replacement therapy*. Pacing Clin Electrophysiol, 2015. **38**(4): p. 472-82.
109. Brugada, R., et al., *Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG*. Circulation, 2004. **109**(1): p. 30-5.
110. Odening, K.E., et al., *Transgenic short-QT syndrome 1 rabbits mimic the human disease phenotype with QT/action potential duration shortening in the atria and ventricles and increased ventricular tachycardia/ventricular fibrillation inducibility*. Eur Heart J, 2019. **40**(10): p. 842-853.
111. Walsh, R., et al., *Evaluation of gene validity for CPVT and short QT syndrome in sudden arrhythmic death*. Eur Heart J, 2022. **43**(15): p. 1500-1510.
112. Gelinas, R., et al., *Molecular Autopsy Implicates Primary Carnitine Deficiency in Sudden Unexplained Death and Reversible Short QT Syndrome*. Can J Cardiol, 2019. **35**(9): p. 1256 e1-1256 e2.
113. Roussel, J., et al., *Carnitine deficiency induces a short QT syndrome*. Heart Rhythm, 2016. **13**(1): p. 165-74.

114. Leenhardt, A., et al., *Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in children. A 7-year follow-up of 21 patients.* *Circulation*, 1995. **91**(5): p. 1512-9.
115. Kim, C.W., et al., *Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia.* *Cardiol Rev*, 2020. **28**(6): p. 325-331.
116. Imberti, J.F., et al., *Clinical Challenges in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia.* *Heart Lung Circ*, 2016. **25**(8): p. 777-83.
117. Hayashi, M., et al., *The role of stress test for predicting genetic mutations and future cardiac events in asymptomatic relatives of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia probands.* *Europace*, 2012. **14**(9): p. 1344-51.
118. Marjamaa, A., et al., *Intravenous epinephrine infusion test in diagnosis of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.* *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2012. **23**(2): p. 194-9.
119. Refaat, M.M., S. Hassanieh, and M. Scheinman, *Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia.* *Card Electrophysiol Clin*, 2016. **8**(1): p. 233-7.
120. Pflaumer, A. and A.M. Davis, *An Update on the Diagnosis and Management of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia.* *Heart Lung Circ*, 2019. **28**(3): p. 366-369.
121. Priori, S.G., et al., *Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.* *Circulation*, 2002. **106**(1): p. 69-74.
122. Priori, S.G., et al., *Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (hRyR2) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.* *Circulation*, 2001. **103**(2): p. 196-200.
123. Postma, A.V., et al., *Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: RYR2 mutations, bradycardia, and follow up of the patients.* *J Med Genet*, 2005. **42**(11): p. 863-70.
124. Lahat, H., et al., *A missense mutation in a highly conserved region of CASQ2 is associated with autosomal recessive catecholamine-induced polymorphic ventricular tachycardia in Bedouin families from Israel.* *Am J Hum Genet*, 2001. **69**(6): p. 1378-84.
125. Postma, A.V., et al., *Absence of calsequestrin 2 causes severe forms of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.* *Circ Res*, 2002. **91**(8): p. e21-6.
126. Gray, B., et al., *A novel heterozygous mutation in cardiac calsequestrin causes autosomal dominant catecholaminergic polymorphic*

- ventricular tachycardia. *Heart Rhythm*, 2016. **13**(8): p. 1652-60.
127. Ng, K., et al., *An International Multicenter Evaluation of Inheritance Patterns, Arrhythmic Risks, and Underlying Mechanisms of CASQ2-Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia*. *Circulation*, 2020. **142**(10): p. 932-947.
 128. Reed, S.C., *A short history of genetic counseling*. *Soc Biol*, 1974. **21**(4): p. 332-9.
 129. Fraser, F.C., *Genetic counseling*. *Am J Hum Genet*, 1974. **26**(5): p. 636-59.
 130. Bennett, R.L., et al., *Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors*. *J Genet Couns*, 2008. **17**(5): p. 424-33.
 131. Spoonamore, K.G. and S.M. Ware, *Genetic testing and genetic counseling in patients with sudden death risk due to heritable arrhythmias*. *Heart Rhythm*, 2016. **13**(3): p. 789-97.
 132. Musunuru, K., et al., *Genetic Testing for Inherited Cardiovascular Diseases: A Scientific Statement From the American Heart Association*. *Circ Genom Precis Med*, 2020. **13**(4): p. e000067.
 133. Vavolizza, R.D., et al., *Disclosing Genetic Information to Family Members About Inherited Cardiac Arrhythmias: An Obligation or a Choice?* *J Genet Couns*, 2015. **24**(4): p. 608-15.
 134. Mendes, A., et al., *How communication of genetic information within the family is addressed in genetic counselling: a systematic review of research evidence*. *Eur J Hum Genet*, 2016. **24**(3): p. 315-25.
 135. Miller, D.T., et al., *ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)*. *Genet Med*, 2021. **23**(8): p. 1381-1390.
 136. Ingles, J., et al., *Genetic Testing in Inherited Heart Diseases*. *Heart Lung Circ*, 2020. **29**(4): p. 505-511.
 137. Gollob, M.H., et al., *Recommendations for the use of genetic testing in the clinical evaluation of inherited cardiac arrhythmias associated with sudden cardiac death: Canadian Cardiovascular Society/Canadian Heart Rhythm Society joint position paper*. *Can J Cardiol*, 2011. **27**(2): p. 232-45.
 138. Castellá García, J., T. Marrón Moya, and I. Recio Andrés, *Recomanacions específiques per a la unificació de l'autòpsia judicial a l'Institut de Medicina Legal de Catalunya*. 2013.
 139. Basso, C., et al., *Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death: 2017 update from the Association for European Cardiovascular Pathology*.

- Virchows Arch, 2017. **471**(6): p. 691-705.
140. (TRAGADY), T.-T.R.A.S.D.i.t.Y. *Post-mortem in sudden unexpected death in the young: Guidelines on autopsy practice*. 2008 March 17, 2022]; Available from: <https://www.rcpa.edu.au/getattachment/b72c2a4c-0e36-4656-8704-f2e8a7b7bc20/Guidelines-on-Autopsy-Practice.aspx>.
141. Richards, S., et al., *Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology*. Genet Med, 2015. **17**(5): p. 405-24.
142. Borry, P., et al., *Genetic testing in asymptomatic minors: background considerations towards ESHG Recommendations*. Eur J Hum Genet, 2009. **17**(6): p. 711-9.
143. Botkin, J.R., et al., *Points to Consider: Ethical, Legal, and Psychosocial Implications of Genetic Testing in Children and Adolescents*. Am J Hum Genet, 2015. **97**(1): p. 6-21.
144. Ormondroyd, E., et al., *Pre-symptomatic genetic testing for inherited cardiac conditions: a qualitative exploration of psychosocial and ethical implications*. Eur J Hum Genet, 2014. **22**(1): p. 88-93.
145. Borry, P., et al., *Presymptomatic and predictive genetic testing in minors: a systematic review of guidelines and position papers*. Clin Genet, 2006. **70**(5): p. 374-81.
146. Charron, P., et al., *Genetic counselling and testing in cardiomyopathies: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases*. Eur Heart J, 2010. **31**(22): p. 2715-26.
147. Ross, L.F., et al., *Technical report: Ethical and policy issues in genetic testing and screening of children*. Genet Med, 2013. **15**(3): p. 234-45.
148. Aatre, R.D. and S.M. Day, *Psychological issues in genetic testing for inherited cardiovascular diseases*. Circ Cardiovasc Genet, 2011. **4**(1): p. 81-90.
149. Hein, I.M., et al., *Feasibility of an Assessment Tool for Children's Competence to Consent to Predictive Genetic Testing: a Pilot Study*. J Genet Couns, 2015. **24**(6): p. 971-7.
150. European Society of Human, G., *Genetic testing in asymptomatic minors: Recommendations of the European Society of Human Genetics*. Eur J Hum Genet, 2009. **17**(6): p. 720-1.
151. Plon, S.E., et al., *Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results*. Hum Mutat, 2008. **29**(11): p. 1282-91.

152. Cotton, R.G. and C.R. Scriver, *Proof of "disease causing" mutation*. Hum Mutat, 1998. **12**(1): p. 1-3.
153. Kazazian, Jr., C.D. Boehm, and W.K. Seltzer, *ACMG recommendations for standards for interpretation of sequence variations*. Genetics in Medicine, 2000. **2**(5): p. 302-303.
154. Richards, C.S., et al., *ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007*. Genet Med, 2008. **10**(4): p. 294-300.
155. Wallis, Y., et al., *Practice Guidelines for the Evaluation of Pathogenicity and the Reporting of Sequence Variants in Clinical Molecular Genetics*. Association for Clinical Genetic Science & Dutch Society of Clinical Genetic Laboratory Specialists, 2013: p. 1-16.
156. Campuzano, O., et al., *Determining the pathogenicity of genetic variants associated with cardiac channelopathies*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 7953.
157. Amendola, L.M., et al., *Performance of ACMG-AMP Variant-Interpretation Guidelines among Nine Laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium*. Am J Hum Genet, 2016. **98**(6): p. 1067-1076.
158. Kelly, M.A., et al., *Adaptation and validation of the ACMG/AMP variant classification framework for MYH7-associated inherited cardiomyopathies: recommendations by ClinGen's Inherited Cardiomyopathy Expert Panel*. Genet Med, 2018. **20**(3): p. 351-359.
159. ClinGen Sequence Variant Interpretation Working Group, C.S.W. *ClinGen Sequence Variant Interpretation Work Group recommendations for ACMG/AMP guideline criteria code modifications nomenclature*. 2017 March 22, 2022]; Available from: https://clinicalgenome.org/site/assets/files/3459/svi_criteria_nomenclature_recommendation_v1.pdf.
160. Abou Tayoun, A.N., et al., *Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion*. Hum Mutat, 2018. **39**(11): p. 1517-1524.
161. Brnich, S.E., et al., *Recommendations for application of the functional evidence PS3/BS3 criterion using the ACMG/AMP sequence variant interpretation framework*. Genome Medicine, 2019. **12**(1): p. 3.
162. ClinGen sequence variant interpretation working group, C.S.W. *SVI Recommendation for Absence/Rarity (PM2) - Version 1.0*. 2020 March 26, 2022]; Available from: https://clinicalgenome.org/site/assets/files/5182/pm2_-_svi_recommendation_-_approved_sept2020.pdf.

163. ClinGen sequence variant interpretation working group, C.S.W. *SVI Recommendation for De Novo Criteria (PS2&PM6) - Version 1.1*. 2021 April 2, 2022]; Available from: https://www.clinicalgenome.org/site/assets/files/3461/svi_proposal_for_de_novo_criteria_v1_1.pdf.
164. ClinGen sequence variant interpretation working group, C.S.W. *SVI Recommendation for in trans Criterion (PM3) - Version 1.0*. 2019 April 2, 2022].
165. Biesecker, L.G., S.M. Harrison, and G. ClinGen Sequence Variant Interpretation Working, *The ACMG/AMP reputable source criteria for the interpretation of sequence variants*. *Genet Med*, 2018. **20**(12): p. 1687-1688.
166. Ellard, S., et al., *ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification 2017*. 2017.
167. Ellard, S., et al., *ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification 2018*. 2018.
168. Ellard, S., et al., *ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification 2019*. 2019.
169. Ellard, S., et al., *ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification in Rare Disease 2020*. 2020.
170. Karczewski, K.J., et al., *The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans*. *Nature*, 2020. **581**(7809): p. 434-443.
171. Ghosh, R., et al., *Updated recommendation for the benign stand-alone ACMG/AMP criterion*. *Hum Mutat*, 2018. **39**(11): p. 1525-1530.
172. ClinGen sequence variant interpretation working group, C.S.W. *BA1 Exception List (July 2018)*. 2018 June 6, 2022]; Available from: https://clinicalgenome.org/site/assets/files/3460/ba1_exception_list_07_30_2018.pdf.
173. Whiffin, N., et al., *Using high-resolution variant frequencies to empower clinical genome interpretation*. *Genet Med*, 2017. **19**(10): p. 1151-1158.
174. Walsh, R., et al., *Enhancing rare variant interpretation in inherited arrhythmias through quantitative analysis of consortium disease cohorts and population controls*. *Genet Med*, 2021. **23**(1): p. 47-58.
175. Lek, M., et al., *Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans*. *Nature*, 2016. **536**(7616): p. 285-91.
176. Walsh, R., et al., *Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples*. *Genet Med*, 2017. **19**(2): p. 192-203.
177. Alfares, A.A., et al., *Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: expanded panels offer limited additional sensitivity*. *Genet Med*, 2015. **17**(11): p. 880-8.

178. Mazarotto, F., et al., *Reevaluating the Genetic Contribution of Monogenic Dilated Cardiomyopathy*. *Circulation*, 2020. **141**(5): p. 387-398.
179. Bjerregaard, P., *Diagnosis and management of short QT syndrome*. *Heart Rhythm*, 2018. **15**(8): p. 1261-1267.
180. Harrison, S.M., L.G. Biesecker, and H.L. Rehm, *Overview of Specifications to the ACMG/AMP Variant Interpretation Guidelines*. *Curr Protoc Hum Genet*, 2019. **103**(1): p. e93.
181. Holbrook, J.A., et al., *Nonsense-mediated decay approaches the clinic*. *Nat Genet*, 2004. **36**(8): p. 801-8.
182. Maquat, L.E., *Nonsense-mediated mRNA decay: splicing, translation and mRNP dynamics*. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004. **5**(2): p. 89-99.
183. Nagy, E. and L.E. Maquat, *A rule for termination-codon position within intron-containing genes: when nonsense affects RNA abundance*. *Trends Biochem Sci*, 1998. **23**(6): p. 198-9.
184. Strande, N.T., et al., *Evaluating the Clinical Validity of Gene-Disease Associations: An Evidence-Based Framework Developed by the Clinical Genome Resource*. *Am J Hum Genet*, 2017. **100**(6): p. 895-906.
185. Xiang, J., et al., *AutoPVS1: An automatic classification tool for PVS1 interpretation of null variants*. *Hum Mutat*, 2020. **41**(9): p. 1488-1498.
186. Tarailo-Graovac, M. and N. Chen, *Using RepeatMasker to identify repetitive elements in genomic sequences*. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2009. **Chapter 4**: p. Unit 4 10.
187. ClinGen Variant Curation SOP Committee, V.C.S.C. *ClinGen Variant Curation Process Standard Operating Procedure - Version 3.1*. 2022 April 28, 2022]; Available from: https://clinicalgenome.org/site/assets/files/7438/variant_curation_sop_v3_1_april_2022.pdf.
188. Ioannidis, N.M., et al., *REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants*. *Am J Hum Genet*, 2016. **99**(4): p. 877-885.
189. Patel, M.J., et al., *Disease-specific ACMG/AMP guidelines improve sequence variant interpretation for hearing loss*. *Genet Med*, 2021. **23**(11): p. 2208-2212.
190. Perez-Palma, E., et al., *Simple ClinVar: an interactive web server to explore and retrieve gene and disease variants aggregated in ClinVar database*. *Nucleic Acids Res*, 2019. **47**(W1): p. W99-W105.
191. Harrison, S.M., et al., *Clinical laboratories collaborate to resolve differences in variant interpretations submitted to ClinVar*. *Genet Med*, 2017. **19**(10): p. 1096-1104.

192. Denham, N.C., et al., *Systematic re-evaluation of SCN5A variants associated with Brugada syndrome*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2019. **30**(1): p. 118-127.
193. Walsh, R., et al., *Quantitative approaches to variant classification increase the yield and precision of genetic testing in Mendelian diseases: the case of hypertrophic cardiomyopathy*. Genome Med, 2019. **11**(1): p. 5.
194. Samocha, K.E., et al., *Regional missense constraint improves variant deleteriousness prediction*. bioRxiv, 2017: p. 148353.
195. ClinGen Sequence Variant Interpretation Working, G., *Interpreting Genomes: Variant curation Video*. 2019.
196. Firth, H.V., et al., *DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources*. The American Journal of Human Genetics, 2009. **84**(4): p. 524-533.
197. Jarvik, G.P. and B.L. Browning, *Consideration of cosegregation in the Pathogenicity Classification of Genomic Variants*. Am J Hum Genet, 2016. **98**(6): p. 1077-1081.
198. ClinGen Gene Curation Working Group, C.G.C.W. *Gene Clinical Validity Curation Process. Standard Operating Procedure*. 2022 April 28, 2022]; Available from: https://clinicalgenome.org/site/assets/files/5391/version_9_gene_curation_sop_final.pdf.
199. Richard, P., et al., *Double heterozygosity for mutations in the beta-myosin heavy chain and in the cardiac myosin binding protein C genes in a family with hypertrophic cardiomyopathy*. J Med Genet, 1999. **36**(7): p. 542-5.
200. Westenskow, P., et al., *Compound mutations: a common cause of severe long-QT syndrome*. Circulation, 2004. **109**(15): p. 1834-41.
201. Bauce, B., et al., *Multiple mutations in desmosomal proteins encoding genes in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia*. Heart Rhythm, 2010. **7**(1): p. 22-9.
202. Byrt, T., *How good is that agreement?* Epidemiology, 1996. **7**(5): p. 561.
203. Davies, B., et al., *Variant Reinterpretation in Survivors of Cardiac Arrest With Preserved Ejection Fraction (the Cardiac Arrest Survivors With Preserved Ejection Fraction Registry) by Clinicians and Clinical Commercial Laboratories*. Circ Genom Precis Med, 2021. **14**(3): p. e003235.
204. SoRelle, J.A., et al., *Clinical Utility of Reinterpreting Previously Reported Genomic Epilepsy Test Results for Pediatric Patients*. JAMA Pediatr, 2019. **173**(1): p. e182302.

205. Quiat, D., et al., *Retrospective Analysis of Clinical Genetic Testing in Pediatric Primary Dilated Cardiomyopathy: Testing Outcomes and the Effects of Variant Reclassification*. J Am Heart Assoc, 2020. **9**(11): p. e016195.
206. Li, D., et al., *Retrospective reinterpretation and reclassification of BRCA1/2 variants from Chinese population*. Breast Cancer, 2020. **27**(6): p. 1158-1167.
207. Mersch, J., et al., *Prevalence of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing*. JAMA, 2018. **320**(12): p. 1266-1274.
208. Macklin, S., et al., *Observed frequency and challenges of variant reclassification in a hereditary cancer clinic*. Genet Med, 2018. **20**(3): p. 346-350.
209. Mighton, C., et al., *Variant classification changes over time in BRCA1 and BRCA2*. Genet Med, 2019. **21**(10): p. 2248-2254.
210. Turner, S.A., et al., *The impact of variant classification on the clinical management of hereditary cancer syndromes*. Genet Med, 2019. **21**(2): p. 426-430.
211. Sarquella-Brugada, G., et al., *Clinical impact of rare variants associated with inherited channelopathies: a 5-year update*. Hum Genet, 2021.
212. Vallverdu-Prats, M., et al., *Rare Variants Associated with Arrhythmogenic Cardiomyopathy: Reclassification Five Years Later*. J Pers Med, 2021. **11**(3).
213. Campuzano, O., et al., *Reanalysis and reclassification of rare genetic variants associated with inherited arrhythmogenic syndromes*. EBioMedicine, 2020. **54**: p. 102732.
214. Sanchez, O., et al., *Natural and Undetermined Sudden Death: Value of Post-Mortem Genetic Investigation*. PLoS One, 2016. **11**(12): p. e0167358.
215. McDonald, K., et al., *Needs analysis of parents following sudden cardiac death in the young*. Open Heart, 2020. **7**(2).
216. Bagnall, R.D., et al., *A Prospective Study of Sudden Cardiac Death among Children and Young Adults*. N Engl J Med, 2016. **374**(25): p. 2441-52.
217. Bezzina, C.R., et al., *Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death*. Nat Genet, 2013. **45**(9): p. 1044-9.
218. Cordeiro, J.M., et al., *Compound heterozygous mutations P336L and I1660V in the human cardiac sodium channel associated with the Brugada syndrome*. Circulation, 2006. **114**(19): p. 2026-33.
219. Campuzano, O., et al., *Update on Genetic Basis of Brugada Syndrome: Monogenic,*

- Polygenic or Oligogenic?* Int J Mol Sci, 2020. **21**(19).
220. Probst, V., et al., *SCN5A mutations and the role of genetic background in the pathophysiology of Brugada syndrome*. Circ Cardiovasc Genet, 2009. **2**(6): p. 552-7.
221. Bennett, J.S., et al., *Reclassification of Variants of Uncertain Significance in Children with Inherited Arrhythmia Syndromes is Predicted by Clinical Factors*. Pediatr Cardiol, 2019. **40**(8): p. 1679-1687.
222. Westphal, D.S., et al., *Reclassification of genetic variants in children with long QT syndrome*. Mol Genet Genomic Med, 2020. **8**(9): p. e1300.
223. Thorsen, K., et al., *Loss-of-activity-mutation in the cardiac chloride-bicarbonate exchanger AE3 causes short QT syndrome*. Nat Commun, 2017. **8**(1): p. 1696.
224. Clarke, A., et al., *Genetic professionals' reports of nondisclosure of genetic risk information within families*. Eur J Hum Genet, 2005. **13**(5): p. 556-62.
225. Minkoff, H. and J. Ecker, *Genetic testing and breach of patient confidentiality: law, ethics, and pragmatics*. Am J Obstet Gynecol, 2008. **198**(5): p. 498 e1-4.
226. Offit, K., et al., *The "duty to warn" a patient's family members about hereditary disease risks*. JAMA, 2004. **292**(12): p. 1469-73.
227. Aktan-Collan, K., et al., *Direct contact in inviting high-risk members of hereditary colon cancer families to genetic counselling and DNA testing*. J Med Genet, 2007. **44**(11): p. 732-8.
228. van Langen, I.M., et al., *Family and population strategies for screening and counselling of inherited cardiac arrhythmias*. Ann Med, 2004. **36 Suppl 1**: p. 116-24.
229. Medeiros-Domingo, A., et al., *The RYR2-encoded ryanodine receptor/calcium release channel in patients diagnosed previously with either catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia or genotype negative, exercise-induced long QT syndrome: a comprehensive open reading frame mutational analysis*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(22): p. 2065-74.
230. Roston, T.M., et al., *Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia patients with multiple genetic variants in the PACES CPVT Registry*. PLoS One, 2018. **13**(11): p. e0205925.
231. Olubando, D., et al., *Classification and correlation of RYR2 missense variants in individuals with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia reveals phenotypic relationships*. J Hum Genet, 2020. **65**(6): p. 531-539.

232. Chisholm, C., et al., *Reinterpretation of sequence variants: one diagnostic laboratory's experience, and the need for standard guidelines*. Genet Med, 2018. **20**(3): p. 365-368.
233. Reuter, C., et al., *Clinical Cardiovascular Genetic Counselors Take a Leading Role in Team-based Variant Classification*. J Genet Couns, 2018. **27**(4): p. 751-760.

VIII. ANNEXES

Annex 1

Annex 1. Gens en cadascun dels panells utilitzats durant el període d'estudi d'aquesta tesi doctoral i categoria en la qual s'ha incorporat cadascun d'ells.

Nº gens Gens	PANEL·L NGS ARRITMOGÈNIC					PANEL·L NGS ESTRUCTURAL									PANEL·L NGS GLOBAL														
	25	33	40	41	42	49	25	35	40	42	50	56	68	71	85	55	68	76	78	82	85	108	116	118	120	121	147		
ABCC9		*	*	*	*	*					*	*	*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
ACTA2																									*			*	
ACTC1							*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
ACTN2	*						*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
AKAP9		*	*	*	*	*					*		*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
ANK2		*	*	*	*	*									*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
ANKRD1												*	*	*			*					*		*	*	*	*	*	
BAG3											*	*	*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
BRAF														*													*		
CACNA1C	*	*	*	*	*	*										*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
CACNA2D1		*	*	*	*	*											*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
CACNA1G																						*		*	*	*	*	*	
CACNA1H																						*		*	*	*	*	*	
CACNA1I																						*		*	*	*	*	*	
CACNB2	*	*	*	*	*	*									*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
CALM1			*	*	*	*															*	*	*	*	*	*	*	*	
CALM2			*	*	*	*																	*		*	*	*	*	
CALM3												*	*	*	*		*						*		*	*	*	*	
CALR3													*	*	*		*						*		*	*	*	*	
CASQ2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
CAV3	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
CBL														*														*	
COL3A1																								*		*	*	*	
CRYAB							*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
CSRP3							*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
CTNNA3												*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GJA1																						*	*	*	*	*	*	*	*
CTF1												*	*	*	*		*					*	*	*	*	*	*	*	*
DES	*						*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DMD							*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DMPK											*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DPP6																						*	*	*	*	*	*	*	*
DSC2	*						*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DSG2	*						*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DSP	*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
DTNA												*	*	*	*		*						*		*	*	*	*	*
ECE1																						*	*	*	*	*	*	*	*
EMD							*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
EN1																						*	*	*	*	*	*	*	*
EYA1														*														*	
EYA4													*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
FBN1																*			*		*		*	*	*	*	*	*	*
FBN2																							*	*	*	*	*	*	*
FHL2											*	*	*	*	*		*					*	*	*	*	*	*	*	*
FKTN											*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
FLNA											*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
FLNC											*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GAA											*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GJA5			*	*	*	*																*	*	*	*	*	*	*	*
GLA							*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GPD1L	*	*	*	*	*	*										*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
HCN1																						*	*	*	*	*	*	*	*
HCN2																						*	*	*	*	*	*	*	*
HCN4	*	*	*	*	*	*							*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
HRAS														*														*	
JPH2				*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
JUP	*						*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
KCNA5					*	*																*	*	*	*	*	*	*	*

Annex 2

Annex 2. Combinació de criteris per assolir cadascuna de les classificacions.

Patogènica:

- 1 Criteri patogènic *very strong* **I**
 - o ≥ 1 Criteri patogènic *strong* **O**
 - o ≥ 2 Criteris patogènics *moderate* **O**
 - o 1 Criteri patogènic *moderate* **I** 1 Criteri patogènic *supporting* **O**
 - o ≥ 2 Criteris patogènics *supporting*
- ≥ 2 Criteris patogènics *strong* **O**
- 1 Criteri patogènic *strong* **I**
 - o ≥ 3 Criteris patogènics *moderate* **O**
 - o 2 Criteris patogènics *moderate* **I** ≥ 2 Criteris patogènics *supporting* **O**
 - o 1 Criteri patogènic *moderate* & ≥ 4 Criteris patogènics *supporting*

Possiblement patogènica:

- 1 Criteri patogènic *very strong* **I** 1 Criteri patogènic *moderate* **O**
- 1 Criteri patogènic *very strong* **I** 1 Criteri patogènic *supporting* **O**
- 1 Criteri patogènic *strong* **I** 1-2 Criteris patogènics *moderate* **O**
- 1 Criteri patogènic *strong* **I** ≥ 2 Criteris patogènics *supporting* **O**
- ≥ 3 Criteris patogènics *moderate* **O**
- 2 Criteris patogènics *moderate* **I** ≥ 2 Criteris patogènics *supporting* **O**
- 1 Criteri patogènic *moderate* **I** ≥ 4 Criteris patogènics *supporting*

Possiblement benigna:

- 1 Criteri benigne *strong* **I** 1 Criteri benigne *supporting* **O**
- ≥ 2 Criteris benignes *supporting*

Benigna:

- 1 Criteri Benigne *stand-alone* **O**
- ≥ 2 Criteris benignes *strong*

Variante de significat incert: si no es compleixen cap de les combinacions anteriors o si els criteris patogènics i benignes són contradictoris.