



FACULTAD DE MEDICINA ()
DEPARTAMENTO DE MEDICINA ()

**VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS CON LA)
MIOCARDIOPATÍA DILATADA INDUCIDA POR QUIMIOTERAPIA)**

TESIS DOCTORAL !

MARIA ALEJANDRA RESTREPO CORDOBA !

Madrid, 2021 !

Memoria de investigación presentada por

María Alejandra Restrepo Córdoba

Para optar al grado de !

Doctor en Medicina !

por la Universidad Autónoma de Madrid !

Trabajo dirigido por: %

Dr. Pablo García Pavía %

Profesor Asociado, Facultad de Medicina !

Universidad Autónoma de Madrid !

Coordinador Unidad de Cardiopatías Familiares !

Servicio de Cardiología !

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda !

TUTOR %

Dr. Luis Antonio Alonso-Pulpón Rivera %

Profesor Emérito, Facultad de Medicina !

Universidad Autónoma de Madrid !

La presente tesis ha sido realizada en la Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Cardiopatías Familiares del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda (Madrid, España), con la colaboración del servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Royal Brompton and Harefield NHS Foundation Trust and Imperial College London Londres, Hospital Joan XXIII (Tarragona), Hospital Clínico Virgen de la Victoria (Málaga), Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (Murcia) y Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (Badalona).



A mi madre, a quien debo todo lo que soy. !

“No hay medicina que cure lo que no cura la felicidad.”

Gabriel García Márquez

“A los niños hay que enseñarles a pensar, a que generen sus propias soluciones; hay que enseñarles a que entiendan, pues el saber se pierde.”

Rodolfo Llinás

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis representa el fruto de muchos años de aprendizaje, trabajo y dedicación, durante los cuales he tenido la oportunidad de compartir mi vida con grandes profesionales, de quienes he recibido no solamente conocimientos y formación, sino también cariño, confianza y un apoyo incondicional.

En primer lugar, agradezco al Dr. García Pavía, director de esta tesis y responsable de la Unidad de Cardiopatías Familiares del Hospital Universitario Puerta de Hierro. Ha estado presente desde mis primeros años de residencia y ha despertado en mí el interés por este campo. Admiro profundamente su capacidad de trabajo y su pasión por la investigación. Es y será siempre para mí un ejemplo a seguir, como cardiólogo y como persona. Le agradezco enormemente su confianza en mí y que me haya acompañado con tanta dedicación en este y otros proyectos. Haber formado parte de su equipo ha sido una de las mejores oportunidades que me ha brindado la vida.

Agradezco al Dr. Pulpón, quien fue hasta hace poco jefe del Servicio de Cardiología y sigue siendo hoy en día un referente para todos nosotros. Le agradezco la confianza que depositó en mí desde el primer momento, sus sabios consejos y su cariño.

Agradezco a todo el personal del Servicio de Cardiología del Hospital Puerta de Hierro: médicos, enfermeras, auxiliares y administrativos, por hacer el trabajo diario fácil y satisfactorio. Ha sido un auténtico placer poder compartir estos años con todos ustedes. A todos mis compañeros de la Unidad de Cardiopatías Familiares. Han sido para mí no solo un equipo de trabajo en el que he disfrutado cada día, sino una verdadera familia. Me llevo experiencias maravillosas y su amistad.

Una de las personas fundamentales para la ejecución de este proyecto ha sido la enfermera Ana Briceño. Su capacidad de trabajo y de coordinación, su compromiso, su dedicación incansable y su alegría son admirables. Agradezco que forme parte de mi vida, no solo como profesional sino como amiga.

A Ana Royuela, por su paciencia y total disponibilidad para la realización de los análisis estadísticos de este proyecto. Valoro enormemente su rigor científico, su capacidad de aprendizaje y su empatía. Gracias por acompañarme en este camino.

Al servicio de oncología del Hospital Puerta de Hierro, y especialmente a la Dra. Beatriz Núñez-García, sin cuya ayuda desinteresada hubiera sido imposible llevar a cabo este trabajo.

Agradezco especialmente a todos los profesionales que han colaborado desde otros hospitales. Realizar proyectos de investigación como este solo es posible gracias a la generosidad y al trabajo constante y coordinado de profesionales como ustedes. Muchas gracias por su paciencia y disposición.

A mi familia, por su amor incondicional, por su apoyo, por la alegría y bienestar que me brindan siempre. Son una parte fundamental de mi vida. A mi madre, por su entrega absoluta a nosotros, por su fe en mi y en cada uno de mis actos, por enseñarme a luchar por mis sueños. A Angélica, un ejemplo de inteligencia, de amor y de perseverancia. Gracias por estar siempre ahí, en las buenas y en las malas, con esa sonrisa y esa confianza en todo lo que hago.

Por último, quiero agradecer a Fran, mi amigo, mi compañero, mi amor. Por estar a mi lado cada día, por demostrarme tu respeto y admiración, por no rendirte nunca. Gracias por hacerme tan feliz.

Este trabajo se ha podido llevar a cabo gracias a la financiación procedente de los !
siguientes proyectos de investigación:

Contrato i-PFIS IFI17/00003. Bases genéticas de la Miocardiopatía Dilatada.
Convocatoria ACCIÓN ESTRATÉGICA EN SALUD/2017 del Instituto de Salud Carlos
III. María Alejandra Restrepo Córdoba. Supervisor: Pablo García Pavía

CB16/11/00432. CONSORCIO CIBER CARDIOVASCULAR. Instituto de Salud
Carlos III. IP: Dr. García Pavía

Publicaciones y comunicaciones a congresos derivadas de este trabajo: !

Artículos originales:

Garcia-Pavia P*, Kim Y*, Restrepo-Cordoba MA*, Lunde IG, Wakimoto H, Smith AM, Toepfer CN, Getz K, Gorham J, Patel P, Ito K, Willcox JA, Arany Z, Li J, Owens AT, Govind R, Nuñez B, Mazaika E, Bayes-Genis A, Walsh R, Finkelman B, Lupon J, Whiffin N, Serrano I, Midwinter W, Wilk A, Bardaji A, Ingold N, Buchan R, Tayal U, Pascual-Figal DA, de Marvao A, Ahmad M, Garcia-Pinilla JM, Pantazis A, Dominguez F, John Baksi A, O'Regan DP, Rosen SD, Prasad SK, Lara-Pezzi E, Provencio M, Lyon AR, Alonso-Pulpon L, Cook SA, DePalma SR, Barton PJR, Aplenc R, Seidman JG, Ky B, Ware JS, Seidman CE. Genetic Variants Associated with Cancer Therapy-Induced Cardiomyopathy. Circulation. 2019 Jul 2;140(1):31-41 * Co-primeros autores

Presentaciones en congresos:

Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología, Munich 2018

Genetic predisposing factors in chemotherapy-induced cardiomyopathy

MA Restrepo Cordoba, PJ Barton, A Bayes-Genis, R Govind, I Serrano, W Midwinter, D Pascual-Figal, A Wilk, JM Garcia Pinilla, SA Cook, M Provencio, A Lyon, L Alonso-Pulpon, JS Ware, P Garcia-Pavia

Premio: Best poster ESC Congress Munich 2018

Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología, Sevilla 2018.

Factores genéticos predisponentes en la miocardiopatía inducida por quimioterapia

Autores: María Alejandra Restrepo Córdoba, Beatriz Núñez-García, Paul Barton, Antoni Bayes-Genis, Josep Lupón Rosés, Risha Govind, Isabel Serrano, Alfredo Bardají, Domingo Pascual-Figal, Alicja Wilk, José Manuel García Pinilla, Stuart Cook, Mariano Provencio, Luis Alonso-Pulpón, James Ware y Pablo García-Pavía.

Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología, Barcelona 2019.

Variantes genéticas asociadas con la miocardiopatía Inducida por quimioterapia

Autores: María Alejandra Restrepo Córdoba, Yuri Kim, Beatriz Núñez-García, Fernando Domínguez, Antoni BayésGenís, Alfredo Bardají, Domingo Pascual-Figal, José Manuel García-Pinilla, Isabel Serrano, Josep Lupón Rosés, Mariano Provencio, Richard Aplenc, James Ware, Christine E Seidman y Pablo García-Pavía.

Otros trabajos realizados en el transcurso de esta tesis: %

- Restrepo-Cordoba MA, Wahbi K, Florian AR, Jiménez-Jáimez J, Politano L, Arad M, Climent-Paya V, Garcia-Alvarez A, Hansen RB, Larrañaga-Moreira JM, Kubanek M, Lopes LR, Ros A, Jurcut R, Rasmussen TB, Ruiz-Guerrero L, Pribe-Wolferts R, Palomino-Doza J, Bilinska Z, Rodríguez-Palomares JF, Van Loon RLE, Basurte Elorz MT, Quarta G, Robledo Iñarritu M, Verdonschot JAJ, Stojkovic T, Shomanova Z, Bermudez-Jimenez F, Palladino A, Freimark D, García-Álvarez MI, Jorda P, Dominguez F, Ochoa JP, Girolami F, Brugada R, Meder B, Barriales-Villa R, Mogensen J, Laforêt P, Yilmaz A, Elliott P, Garcia-Pavia P; European Genetic Cardiomyopathies Initiative Investigators (see online supplementary Appendix S1). Prevalence and clinical outcomes of dystrophin-associated dilated cardiomyopathy without severe skeletal myopathy. *Eur J Heart Fail.* 2021 Aug;23(8):1276-1286. doi: 10.1002/ejhf.2250. Epub 2021 Jun 9. PMID: 34050592.
- Akhtar MM, Lorenzini M, Pavlou M, Ochoa JP, O'Mahony C, Restrepo-Cordoba MA, Segura-Rodriguez D, Bermúdez-Jiménez F, Molina P, Cuenca S, Ader F, Larrañaga-Moreira JM, Sabater-Molina M, Garcia-Alvarez MI, Arantzamendi LG, Truszkowska G, Ortiz-Genga M, Ruiz IS, Nielson SK, Rasmussen TB, Robles Mezcuca A, Alvarez-Rubio J, Eiskjaer H, Gautel M, Garcia-Pinilla JM, Ripoll-Vera T, Mogensen J, Limeres Freire J, Rodríguez-Palomares JF, Peña-Peña ML, Rangel-Sousa D, Palomino-Doza J, Arana Achaga X, Bilinska Z, Zamarreño Golvano E, Climent V, Peñalver MN, Barriales-Villa R, Charron P, Yotti R, Zorio E, Jiménez-Jáimez J, Garcia-Pavia P, Elliott PM; European Genetic Cardiomyopathies Initiative Investigators. Association of Left Ventricular

Systolic Dysfunction Among Carriers of Truncating Variants in Filamin C With Frequent Ventricular Arrhythmia and End-stage Heart Failure. *JAMA Cardiol.* 2021 May 12. doi: 10.1001/jamacardio.2021.1106. Epub ahead of print. PMID: 33978673; PMCID: PMC8117057.

- Lamounier Junior A, Guitián González A, Rodríguez Vilela A, Repáraz Andrade A, Rubio Alcaide Á, Berta Sousa A, Benito López C, Alonso García D, Fernández Ferro G, Cruz I, Cárdenas Reyes IJ, Salazar-Mendiguchía García J, Larrañaga-Moreira JM, Ochoa JP, Palomino-Doza J, de la Higuera Romero L, Nicolás Cicerchia M, Restrepo Córdoba MA, Peña-Peña ML, Noël Brögger M, Loureiro M, Mogollón Jiménez MV, Bilbao Quesada R, Franco Gutiérrez R, García Hernández S, Ripoll-Vera T, Fernández X, Azevedo O, García Pavía P, Lopes LR, Ortiz M, Brito D, Barriales-Villa R, Monserrat Iglesias L. Genotype-phenotype correlations in hypertrophic cardiomyopathy: a multicenter study in Portugal and Spain of the TPM1 p.Arg21Leu variant. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2021 Feb 25:S1885-5857(21)00016-5. English, Spanish. doi: 10.1016/j.rec.2021.01.001. Epub ahead of print. PMID: 33642254.
- Akhtar MM, Lorenzini M, Cicerchia M, Ochoa JP, Hey TM, Sabater Molina M, Restrepo-Cordoba MA, Dal Ferro M, Stolfo D, Johnson R, Larrañaga-Moreira JM, Robles-Mezcua A, Rodriguez-Palomares JF, Casas G, Peña-Peña ML, Lopes LR, Gallego-Delgado M, Franaszczyk M, Laucey G, Rangel-Sousa D, Basurte M, Palomino-Doza J, Villacorta E, Bilinska Z, Limeres Freire J, Garcia Pinilla JM, Barriales-Villa R, Fatkin D, Sinagra G, Garcia-Pavia P, Gimeno JR, Mogensen J, Monserrat L, Elliott PM; Coinvestigators. Clinical Phenotypes and Prognosis of

Dilated Cardiomyopathy Caused by Truncating Variants in the TTN Gene. *Circ Heart Fail.* 2020 Oct;13(10):e006832. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006832. Epub 2020 Sep 23.

- Barriales-Villa R, Ochoa JP, Larrañaga-Moreira JM, Salazar-Mendiguchía J, Díez-López C, Restrepo-Córdoba MA, Álvarez-Rubio J, Robles-Mezcua A, Olmo-Conesa MC, Nicolás-Rocamora E, Sanz J, Villacorta E, Gallego-Delgado M, Yotti R, Espinosa MÁ, Manovel A, Rincón-Díaz LM, Jiménez-Jaimez J, Bermúdez-Jiménez FJ, Basurte-Elorz MT, Climent-Payá V, García-Álvarez MI, Rodríguez-Palomares JF, Limeres-Freire J, Pérez-Guerrero A, Cantero-Pérez EM, Peña-Peña ML, Palomino-Doza J, Crespo-Leiro MG, García-Pinilla JM, Zorio E, Ripoll-Vera T, García-Pavía P, Ortiz-Genga M, Monserrat L. Risk predictors in a Spanish cohort with cardiac laminopathies. The REDLAMINA registry. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2021 Mar;74(3):216-224. English, Spanish. doi: 10.1016/j.rec.2020.03.026. Epub 2020 Jun 29.
- López-Sainz Á, Hernandez-Hernandez A, Gonzalez-Lopez E, Domínguez F, Restrepo-Cordoba MA, Cobo-Marcos M, Gómez-Bueno M, Hernandez-Perez FJ, Oteo JF, Mirelis JG, Cavero MA, Moñivas V, Mingo Santos S, de Haro-Del Moral FJ, Krsnik I, Salas C, Bornstein B, Briceño A, López JA, Vázquez J, Alonso-Pulpón L, Segovia J, Garcia-Pavia P. Clinical profile and outcome of cardiac amyloidosis in a Spanish referral center. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2021 Feb;74(2):149-158. English, Spanish. doi: 10.1016/j.rec.2019.12.020. Epub 2020 Apr 18.

- Torres-Sanabria M, Aguilera.Aguado C, Baena-Herrera J, Restrepo-Córdoba A, García-Pavía P, Cobo-Marcos M. Estrategias en congestión refractaria: efectos del suero salino hipertónico en insuficiencia cardiaca aguda. Strategies in refractory congestion: Effects of hypertonic saline solution in acute heart failure. *Rec cardioclinics*. 2019;54 (1): 53-59.
- Boldrini M, Cappelli F, Chacko L, Restrepo-Cordoba MA, Lopez-Sainz A, Giannoni A, Aimo A, Baggiano A, Martinez-Naharro A, Whelan C, Quarta C, Passino C, Castiglione V, Chubuchnyi V, Spini V, Taddei C, Vergaro G, Petrie A, Ruiz-Guerrero L, Moñivas V, Mingo-Santos S, Mirelis JG, Dominguez F, Gonzalez-Lopez E, Perlini S, Pontone G, Gillmore J, Hawkins PN, Garcia-Pavia P, Emdin M, Fontana M. Multiparametric Echocardiography Scores for the Diagnosis of Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2019 Dec 13.
- Lamiquiz-Moneo I, Restrepo-Córdoba MA, Mateo-Gallego R, Bea AM, Del Pino Alberiche-Ruano M, García-Pavía P, Cenarro A, Martín C, Civeira F, Sánchez-Hernández RM. Predicted pathogenic mutations in STAP1 are not associated with clinically defined familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2019 Nov 29;292:143-151.
- López-Sainz Á, de Haro-Del Moral FJ, Dominguez F, Restrepo-Cordoba A, Amor Salamanca A, Hernandez-Hernandez A, Ruiz-Guerrero L, Krsnik I, Cobo-Marcos M, Castro V, Toquero-Ramos J, Lara-Pezzi E, Fernandez-Lozano I, Alonso-Pulpon L, González-López E, Garcia-Pavia P. Prevalence of cardiac amyloidosis

among elderly patients with systolic heart failure or conduction disorders. *Amyloid*. 2019 Sep;26(3):156-163.

- Ochoa J, Sabater-Molina M, Garcia-Pinilla J, Mogensen J, Restrepo Cordoba MA, Palomino-Doza J, Villacorta E, Martinez-Moreno M, Javier Ramos-Maqueda, Zorio E, Peña-Peña M, Garcia Granja P, Rodríguez-Palomares J, Cárdenas-Reyes I, Torre-Carpente M, Bautista-Pavés A, Akhtar M, Cicerchia M, Bilbao-Quesada R, Mogollón-Gimenez M, Salazar-Mendiguchía J, Mesa-Latorre J, Arnaez Corada B, Olavarri-Miguel I, Fuentes Cañamero ME, Arsonval Lamounier A., Perez-Ruiz J, Climent-Payá V, Pérez Sánchez I, Trujillo-Quintero J, Lopes L, Repáraz-Andrade L, Marin-Iglesias R, Rodriguez-Vilela A, Garrote J, Sandín-Fuentes M, Cortel-Fuster A, Lopez-Garrido MA, Fontalba-Romero A, Ripoll-Vera T, Llano-Rivas I, Fernandez X, Isidoro-García M, García-Giustiniani D, Barriales-Villa D, Ortiz-Genga M, Garcia-Pavia P, Elliott P, Gimeno JR, Monserrat L. *Formin homology 2 domain containing 3 (FHOD3)* is a novel disease-causing gene in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Nov 13;72(20):2457-2467.

- Amor-Salamanca A, Guzzo-Merello G, González-López E, Domínguez F, Restrepo-Córdoba A, Cobo-Marcos M, Gómez-Bueno M, Segovia-Cubero J, Alonso-Pulpón L, García-Pavía P. Prognostic Impact and Predictors of Ejection Fraction Recovery in Patients With Alcoholic Cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2018 Aug;71(8):612-619.

- Ramos-Martinez A, Cobo M, Munez E, Restrepo A, Fernandez-Cruz A. Searching for the best agent for antibiotic prophylaxis in patients undergoing transcatheter aortic valve implantation. J Hosp Infect. 2018 Jul 18. pii: S0195-6701(18)30385-2.

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN	26
1.1	DIMENSIÓN DEL CÁNCER EN ESPAÑA Y EL MUNDO	26
1.2	MIOCARDIOPATÍA DILATADA INDUCIDA POR QUIMIOTERAPIA	30
1.2.1	<i>Definición y diagnóstico</i>	30
1.2.2	<i>Epidemiología</i>	34
1.2.3	<i>Mecanismos fisiopatológicos</i>	38
1.2.4	<i>Factores de riesgo para la aparición de MCDQ</i>	40
1.2.5	<i>Prevención y tratamiento de la MCDQ</i>	42
1.3	MIOCARDIOPATÍA DILATADA	45
1.3.1	<i>Concepto y epidemiología</i>	45
1.3.2	<i>Diagnóstico de MCD</i>	46
1.3.3	<i>Causas de MCD</i>	49
1.3.4	<i>Estudio genético en la miocardiopatía dilatada: evolución, rendimiento e interpretación.</i>	58
1.3.5	<i>Indicación de la realización de un estudio genético</i>	63
1.3.6	<i>Titina</i>	65
1.3.7	<i>MCD como resultado de la interacción entre genes y medio ambiente</i>	67
2	OBJETIVOS DEL ESTUDIO	68
2.1	OBJETIVO PRINCIPAL	68
2.2	OBJETIVOS CONCRETOS	68
3	HIPÓTESIS	69

3.1	HIPÓTESIS CONCEPTUALES	69
3.2	HIPÓTESIS OPERATIVAS	69
4	PACIENTES Y MÉTODOS	71
4.1	DISEÑO DEL ESTUDIO	71
4.2	POBLACIÓN DE ESTUDIO	72
4.2.1	<i>Cohorte de miocardiopatía dilatada inducida por quimioterapia</i>	72
4.2.2	<i>Cohorte de miocardiopatía dilatada</i>	74
4.2.3	<i>Cohorte de voluntarios sanos</i>	74
4.3	EVALUACIÓN GENÉTICA MEDIANTE TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA Y ANÁLISIS DE LAS VARIANTES	75
4.4	ESTUDIO FAMILIAR	77
4.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	77
5	RESULTADOS	79
5.1	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA COHORTE DE MCDQ	79
5.2	RESULTADOS GENÉTICOS	82
5.2.1	<i>Prevalencia de variantes raras en la cohorte de MCDQ</i>	82
5.2.2	<i>Análisis de las prevalencias de variantes raras en la cohorte de MCDQ, MCD y voluntarios sanos</i>	83
5.3	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PRONÓSTICO DE LA COHORTE CON MCDQ DE ACUERDO CON EL RESULTADO DEL ESTUDIO GENÉTICO	90
5.4	EVALUACIÓN FAMILIAR	96
6	DISCUSIÓN	98

6.1	BASES GENÉTICAS DE LA MCDQ	98
6.2	MCDQ COMO RESULTADO DE LA INTERACCIÓN ENTRE GENÉTICA Y MEDIO AMBIENTE	101
6.3	IMPACTO DE LA GENÉTICA EN EL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON MCDQ.....	105
6.4	IMPLICACIONES CLÍNICAS	107
6.5	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	111
7	CONCLUSIONES	113
8	RESUMEN	114
9	BIBLIOGRAFÍA	117
10	ANEXOS.....	137

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS %

Tablas

Tabla 1. Definiciones de miocardiopatía inducida por quimioterapia.....	32
Tabla 2. Incidencia de disfunción ventricular izquierda inducida por quimioterapia...	35
Tabla 3. Factores de riesgo asociados con la miocardiopatía por quimioterapia... ..	41
Tabla 4. Causas de miocardiopatía dilatada	50
Tabla 5. Genes asociados con miocardiopatía dilatada.	55
Tabla 6. Clasificación de las variantes identificadas en un estudio genético	62
Tabla 7. Genes sólidamente asociados con MCD y tipos de variantes incluidas en el primer análisis.....	76
Tabla 8. Listado completo de los genes incluidos en el segundo análisis	76
Tabla 9. Detalle del tratamiento antineoplásico en pacientes no expuestos a antraciclinas	80
Tabla 10. Variantes raras identificadas en los 9 genes predefinidos en la cohorte de pacientes con MCDQ.....	84
Tabla 11. Resumen de las variantes de truncamiento en <i>TTN</i> identificadas en la cohorte de MCDQ	86
Tabla 12. Análisis de la prevalencia de variantes raras en 9 genes predefinidos en la cohorte de miocardiopatía por quimioterapia, miocardiopatía dilatada y voluntarios sanos	88

Tabla 13. Análisis de la prevalencia de variantes raras en 49 genes asociados a miocardiopatía, en la cohorte de miocardiopatía por quimioterapia, miocardiopatía dilatada y voluntarios sanos.....	89
Tabla 14. Características clínicas basales y en el diagnóstico de los pacientes con miocardiopatía por quimioterapia de acuerdo con el resultado del estudio genético.....	91
Tabla 15. Características clínicas en el seguimiento de los pacientes con miocardiopatía por quimioterapia de acuerdo con el resultado del estudio genético.....	94

Figuras

Figura 1. Distribución de los casos nuevos y fallecimientos para los 10 tumores mas frecuentemente diagnosticados en 2018 en ambos sexos.....	27
Figura 2. Número estimado de casos incidentes de cáncer en españa por tipo tumoral, 2020. Ambos sexos.....	28
Figura 3. Descripción del espectro clínico de la miocardiopatía dilatada.....	47
Figura 4. Genes asociados con el desarrollo de miocardiopatía dilatada.....	54
Figura 5. Representación de la titina y su localización en el sarcómero.....	65
Figura 6. Distribución de los pacientes por centro de origen.....	71
Figura 7. Distribución de las neoplasias en la cohorte.....	79
Figura 8. Árbol familiar. Se demuestra cosegregación familiar de la variante de truncamiento identificada en TTN.....	97
Figura 9. Prevalencia de TTNvt en cohortes seleccionadas de MCD, en MCD asociada a factores medioambientales y en sujetos sanos-ExAC.....	103

ABREVIATURAS %

- IC, insuficiencia cardíaca. !
- MCDQ, miocardiopatía inducida por quimioterapia. !
- DVI, disfunción ventricular izquierda.
- ETT, ecocardiograma transtorácico. !
- MUGA, ventriculografía isotópica con adquisición sincronizada múltiple. !
- RMC, resonancia magnética cardíaca. !
- FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo.
- HER2, receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2. !
- ITC, inhibidores de la tirosina cinasa. !
- Anti-mTOR, inhibidores de la activación de la proteína mTOR !
- NYHA, New York Heart Association. !
- ERO, especies reactivas de oxígeno. !
- ADN, ácido desoxirribonucleico. !
- β -bloqueante, betabloqueantes. !
- IECA, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. !
- ARA, antagonistas de los receptores de angiotensina. !
- VI, ventrículo izquierdo.
- MCH, miocardiopatía hipertrófica. !
- MCD, miocardiopatía dilatada. !
- MCA, miocardiopatía arritmogénica. !
- MCR, miocardiopatía restrictiva. !
- MCDNC, miocardiopatía no compactada. !
- VI, ventrículo izquierdo. !

- DTDVI, diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo.
- VTDVI, volumen telediastólico del ventrículo izquierdo.
- ECG, electrocardiograma.
- CK, creatina quinasa.
- BEM, biopsia endomiocárdica.
- NGS, *Next generation Sequencing* (técnicas de secuenciación masiva).
- VSI, variantes de significado incierto.
- MAF, Frecuencia del alelo menor.
- ExAC, *Exome Aggregation Consortium* (Consortio de Agregación de Exome).
- ACMG, *American College of Medical Genetics* (Colegio Americano de Genética Médica)
- AMP, *Association for Molecular Pathology* (Asociación de Patología Molecular).
- VP, variante patogénica.
- VPP, variante probablemente patogénica.
- PSI, proporción de empalme.
- MS, muerte súbita.
- DAI, desfibrilador automático implantable.
- RSC, dispositivo de resincronización cardiaca.

**VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS CON LA MIOCARDIOPATÍA
DILATADA INDUCIDA POR QUIMIOTERAPIA)**

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Dimensión del cáncer en España y el mundo

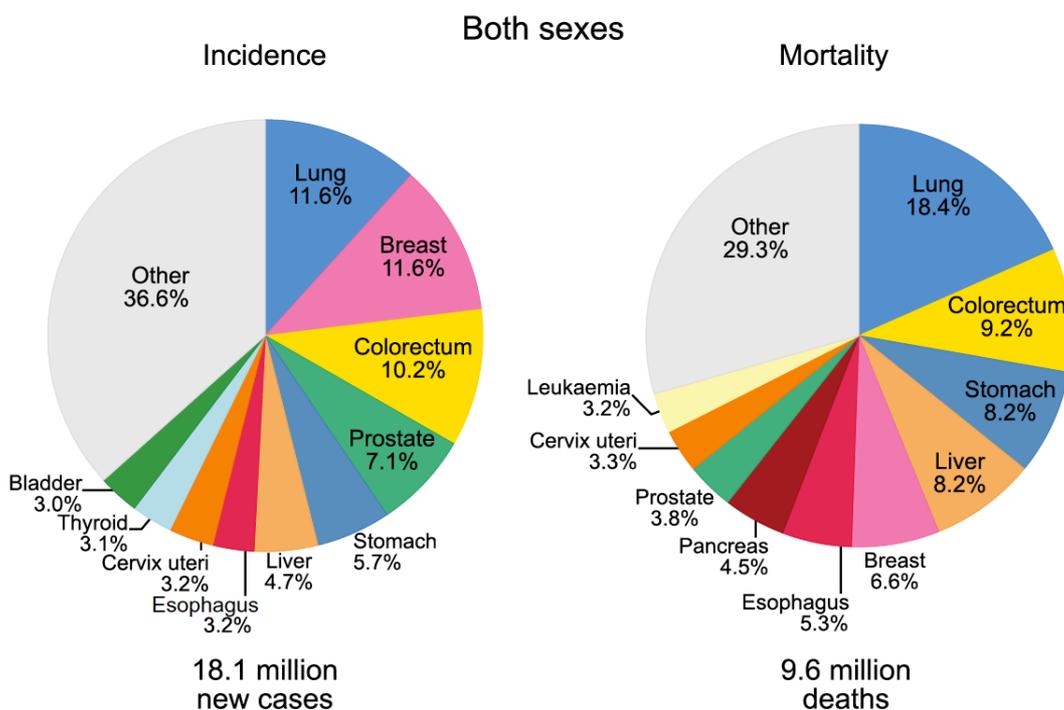
El cáncer es una enfermedad de distribución global a la que se enfrentan cada año millones de personas. En España, como en la mayoría de los países desarrollados, el cáncer es actualmente un importante problema de salud pública y una de las prioridades de las líneas de investigación en salud.

La incidencia del cáncer ha experimentado un rápido crecimiento a lo largo de todos los continentes en las últimas décadas. En el año 2015 La Organización mundial de la salud estimó que el cáncer sería la primera o segunda causa de muerte antes de los 70 años en 91 de 172 países, y que se situaría entre la tercera o cuarta en otros 22¹. Existen múltiples factores subyacentes a este fenómeno que refleja dos hechos fundamentales: el aumento de la población y su envejecimiento, pues la edad es uno de los principales factores de riesgo para su desarrollo. Por otra parte, la mejoría de las condiciones socioeconómicas ha conllevado cambios en la exposición a determinados factores de riesgo conocidos como el tabaco, el alcohol, la contaminación y la obesidad.

Según los últimos datos disponibles dentro del proyecto GLOBOCAN¹, que recoge los datos de incidencia y mortalidad por cáncer en un total de 185 países, en el año 2018 se diagnosticaron aproximadamente 18,1 millones de casos nuevos de cáncer en el mundo y se produjeron cerca de 9.6 millones de muertes. Los tumores responsables del mayor número de fallecimientos a nivel mundial fueron el cáncer de pulmón, el cáncer de colon y recto y el cáncer de estómago (figura 1). De acuerdo con sus estimaciones, se espera

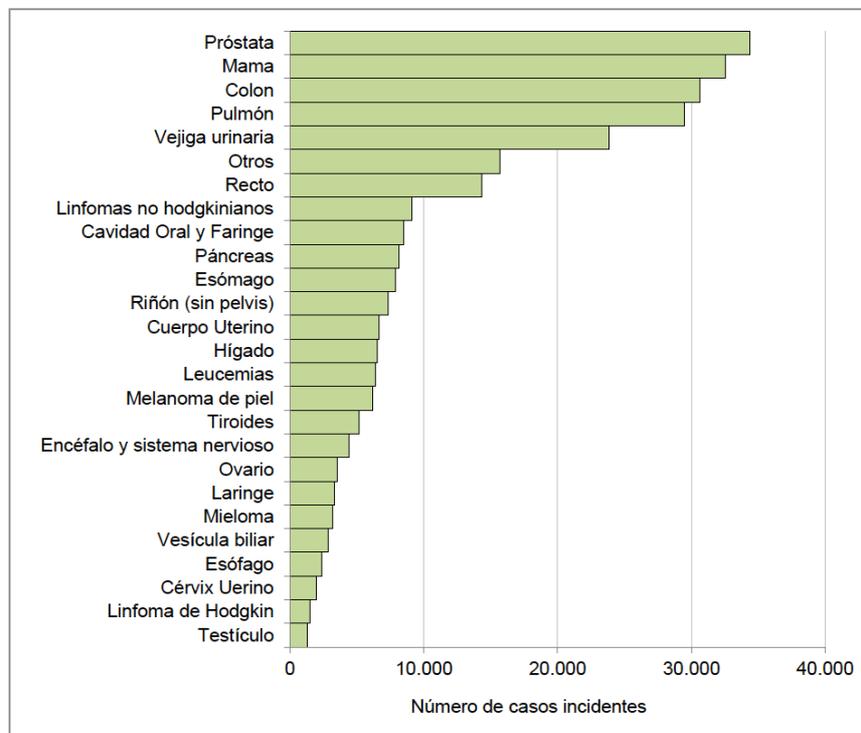
que el número de casos nuevos de cáncer aumente hasta aproximadamente los 29,5 millones al año en el año 2040.

Figura 1. Distribución de los casos nuevos y fallecimientos para los 10 tumores mas frecuentemente diagnosticados en 2018 en ambos sexos. El cáncer de piel no melanoma se incluye en otros. Tomado de Bray et al¹. Fuente GLOBOCAN 2018.



La incidencia del cáncer estimada en España en el año 2020 a partir de los cálculos de REDECAN (Red Española de Registros de Cáncer) es de 277.394 casos (11,89% más que en 2015)^{2,3}. En línea con lo observado en el mundo, el tumor mas frecuentemente diagnosticado en España en el año 2020 será el de colon y recto (44.231 nuevos casos), próstata (35.126), mama (32.953) y pulmón (29.638) (figura 2). Por sexos, los cánceres más frecuentemente diagnosticados en hombres serán el de próstata y en las mujeres el de mama^{2,3}.

Figura 2. Número estimado de casos incidentes de cáncer en España por tipo tumoral, 2020. Ambos sexos. Tomado de REDECAN³.



Tasas por 100.000 habitantes y año.

De forma paralela al aumento de diagnósticos nuevos de cáncer, se han producido grandes avances en su abordaje, tanto en su diagnóstico y estratificación, como en los tratamientos médicos, de radioterapia y quirúrgicos, y en las estrategias de detección temprana y difusión de actividades preventivas, que se han traducido en una mejora significativa en las posibilidades de sobrevivir tras el diagnóstico. La mortalidad asociada al cáncer ha experimentado un importante descenso en los últimos 30 años⁴⁻⁶. La supervivencia a 5 años del cáncer de mama tratado en estadio precoz creció del 79% al 88% en el año 2012. Mejoras similares han sido alcanzadas en otros tumores sólidos como el de testículo y tiroides, y hematológicos incluidos los linfomas no hodgkin y la leucemia mieloide crónica^{4,7}.

El informe elaborado por la REDECAN que analizaba la supervivencia a los 5 años en los pacientes con cáncer diagnosticados en el periodo 2008-2013, encontró una supervivencia global del 55.3% en los hombres y del 61.7% en las mujeres, con importantes variaciones en función del tipo de cáncer y su estadio en el momento del diagnóstico^{2,7}. Estas cifras demuestran una mejora significativa en la supervivencia del cáncer en España, que prácticamente se ha duplicado en los últimos 40 años y que se prevé seguirá mejorando en los próximos años.

El creciente número de diagnósticos nuevos de cáncer y las continuas mejoras de la supervivencia resultan en un número cada vez mayor de “supervivientes del cáncer”. En la actualidad, varios tipos de cáncer pueden ser curados o mantenerse en remisión por un largo periodo de tiempo, permitiendo a los pacientes vivir el resto de sus vidas sin enfermedad oncológica. En el mundo, se estima que 43.8 millones de personas seguirán vivas a los 5 años del diagnóstico del cáncer. Cerca de 14.5 millones de estadounidenses con cáncer estaban vivos en el año 2014 y se estima que habrá cerca de 19 millones de supervivientes del cáncer en el año 2024⁵. En España, la prevalencia a 5 años estimada para todos los tumores en el año 2018 era de 772.853 personas^{1,2}.

Así, el cáncer se ha convertido en una enfermedad crónica y los “supervivientes del cáncer” deberán enfrentarse tanto a los problemas de salud relacionados directamente con las secuelas de la enfermedad, como a los efectos adversos derivados del tratamiento antitumoral, siendo la cardiotoxicidad unos de los mas importantes.

1.2 Miocardiopatía dilatada inducida por quimioterapia %

1.2.1 Definición y diagnóstico

A medida que el cáncer deja de ser una enfermedad terminal y se convierte en una condición crónica, los efectos adversos derivados de los tratamientos antitumorales son cada vez más evidentes, y sus consecuencias, a medio y largo plazo, se han convertido en uno de los principales problemas de salud en España y el mundo. La aparición de enfermedades cardiovasculares es uno de los efectos adversos más temido, pues se asocia a una importante morbi-mortalidad⁶. Los tratamientos contra el cáncer pueden causar múltiples problemas cardiovasculares, que incluyen la aparición de miocardiopatía e insuficiencia cardíaca (IC), enfermedad coronaria, enfermedad valvular, hipertensión arterial, arritmias y prolongación del segmento QT, eventos tromboembólicos y enfermedades del pericardio.

La miocardiopatía dilatada inducida por quimioterapia (MCDQ) se define como la aparición de disfunción ventricular izquierda (DVI) durante o tras haber recibido tratamiento con fármacos quimioterápicos, y en ausencia de otras posibles causas de DVI (enfermedad de las arterias coronarias, arritmias sostenidas o valvulopatías significativas). La MCDQ puede manifestarse durante la quimioterapia, poco después, o muchos años tras de la interrupción del tratamiento, afectando el pronóstico a medio y largo plazo de los pacientes⁶. El diagnóstico de MCDQ tiene importantes implicaciones en el manejo de los pacientes. Por una parte, puede conllevar la aparición de IC y muerte de origen cardíaco, y por otra, puede obligar a interrumpir o contraindicar el uso de tratamientos antitumorales con efecto en el pronóstico vital de determinados tipos de cáncer.

A pesar de que la MCDQ se reconoce desde hace muchos años como un efecto secundario de ciertos agentes antitumorales, no existe una definición de MCDQ aceptada universalmente^{6,8-11}. Las definiciones de MCDQ propuestas por las asociaciones de expertos y las utilizadas en los ensayos clínicos difieren, pero todas utilizan la disminución de la fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI) y los cambios en su valor absoluto como criterio diagnóstico (tabla 1)¹². La aparición de signos y síntomas de IC puede o no estar presente y no es un requisito indispensable para el diagnóstico de la MCDQ^{9,13}.

La técnica de elección para el estudio de los pacientes bajo tratamiento con quimioterapia es el ecocardiograma transtorácico (ETT). Es una técnica segura, altamente disponible, reproducible y de bajo coste^{6,8,12}. Otra técnica empleada en la evaluación de la cardiotoxicidad es la ventriculografía isotópica con adquisición sincronizada múltiple (MUGA)¹⁴, cuyo uso ha sido estandarizado y ha demostrado ser altamente reproducible, sobre todo en estudios seriados de un mismo paciente⁶. Debido a sus limitaciones (la exposición a la radiactividad y la imposibilidad de valorar otros parámetros como la función diastólica y la presencia de valvulopatías) no se recomienda como herramienta de primera línea para la monitorización y diagnóstico de la MCDQ si el ETT está disponible. El uso rutinario de la resonancia magnética cardíaca (RMC) no está recomendado hoy en día pues es una técnica con poca disponibilidad y un mayor coste¹².

Tabla 1. Definiciones de miocardiopatía inducida por quimioterapia. #

	Schwartz et al. ¹⁵	Consenso de la EACVI/ASE ¹⁴	Documento de posicionamiento de la SEC ⁶	ESMO/CREC ¹⁶	CTCAE ¹⁷	FDA *
Técnica	MUGA	ETT 2D y 3D, RMC, MUGA	ETT	ETT y MUGA	-	-
Definición/ Cambio de la FEVI	Caída de la FEVI > 10% desde el basal	Caída de la FEVI > 10% desde el basal (recomiendan repetir imagen)	Caída de la FEVI > 10% desde el basal	Alguno de los 4 criterios: (1) disminución de la FEVI global o mas pronunciada en el SIV; (2) signos y síntomas de IC; (3) caída de la FEVI ≥5% hasta FEVI<55% con síntomas; (4) asintomáticos con caída de la FEVI ≥10% hasta FEVI<55%	Grado 2: caída de la FEVI 10-19% desde el basal a FEVI 40-50%; Grado 3: caída de la FEVI >20% desde el basal a FEVI 20-39%; Grado 4: FEVI <20%	Caída de la FEVI > 20% desde el basal si la FEVI es normal, o >10% si la FEVI esta por debajo de lo normal
Valor de corte de la FEVI	<50%	<53%	<50%	<55%	<50%	-

ASE: asociación americana de ecocardiografía, CREC: comité de evaluación y revisión cardiaca, CTCAE: Criterios de Terminología de Eventos Adversos, EACVI: asociación europea de imagen cardiovascular, ETT: ecocardiograma transtorácico, ESMO: sociedad europea de oncología médica, FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, IC: insuficiencia cardiaca, SEC: sociedad europea de cardiología, SLG: strain longitudinal global. *Para antraciclinas.

De acuerdo al consenso de la Sociedad Europea de Cardiología (SEC) y la Sociedad Americana de Ecocardiografía sobre la evaluación con técnicas de imagen cardiaca de los pacientes adultos que reciben tratamiento antitumoral publicadas en el año 2014 ¹⁴, la MCDQ se define como la disminución de la FEVI de más del 10% a un valor inferior al 53%, que debe confirmarse en un nuevo ecocardiograma 2 a 3 semanas después del diagnóstico. En el año 2016 el posicionamiento de la Sociedad Europea de Cardiología (SEC) para el abordaje de la cardiotoxicidad definió como criterio diagnóstico de MCDQ la disminución de la FEVI hasta un valor inferior al 50%⁶. Estos límites de FEVI son los más frecuentemente empleados en registros y ensayos clínicos en cardio-oncología¹².

Si bien la definición de MCDQ se basa en cambios en la FEVI, la cardiotoxicidad es un fenómeno dinámico y progresivo en el que la DVI representa el último estadio de lesión miocárdica. Existe por tanto un interés creciente en identificar nuevos parámetros que permitan detectar la MCDQ de forma precoz, antes de la instauración de la disfunción ventricular y de la aparición de manifestaciones clínicas. La cuantificación de biomarcadores (péptidos natriuréticos, troponina I, troponina T de alta sensibilidad) es una de las herramientas más prometedoras, pues han demostrado su capacidad de detectar el daño miocárdico antes de que evolucione a DVI, y además están ampliamente disponibles y a bajo coste^{10,18,19}. Por otra parte, el uso de técnicas de imagen ecocardiográficas más avanzadas como el análisis de la deformación miocárdica mediante strain o la cuantificación de la FEVI con 3D están cobrando cada vez más importancia²⁰⁻²². El uso de estos nuevos parámetros no solo ha reducido el umbral de detección y ha permitido un reconocimiento precoz del daño miocárdico, sino que también podría permitir la identificación de pacientes con un riesgo elevado de desarrollar una MCDQ, así como la instauración temprana de tratamiento. Sin embargo, son necesarios estudios que validen estos criterios diagnósticos y su correlación con la

aparición de eventos adversos, así como la creación de escalas individualizadas de riesgo, pues la optimización de los tratamientos oncológicos se basa en el equilibrio entre el riesgo de cardiotoxicidad y la eficacia antitumoral, sin limitar las oportunidades terapéuticas del paciente^{8,11,13}.

1.2.2 Epidemiología

La incidencia de la MCDQ varía ampliamente, pues depende del esquema de tratamiento antitumoral empleado, la duración de la terapia y los factores de riesgo subyacentes del paciente. Además, los esquemas antitumorales más frecuentemente empleados asocian combinaciones de fármacos quimioterápicos, que a menudo incluyen varios agentes potencialmente cardiotóxicos, o tratamiento con radioterapia, que influyen tanto en el desarrollo final de la MCDQ como en su severidad. Una de las principales limitaciones para conocer con exactitud la incidencia de real de la MCDQ es la ausencia de unos criterios de diagnóstico uniformes, así como de protocolos estandarizados para su estudio y seguimiento.

Se ha descrito el desarrollo de DVI e IC con prácticamente todos los grupos farmacológicos, administrados de forma aislada, en combinación y/o asociados a radioterapia (tabla 2).

Tabla 2. Incidencia de disfunción ventricular izquierda inducida por quimioterapia.

Modificado de Zamorano et al⁶.

Tratamiento quimioterápico	Incidencia (%)
<i>Antraciclinas (dosis dependiente)</i>	
Doxorrubicina (Adriamicina)	
400mg/m ²	3 - 5
550mg/m ²	7 - 26
700mg/m ²	18 - 48
Epirubicina (>900mg/m ²)	5 - 18
<i>Agentes alquilantes (ciclofosfamida)</i>	7 - 28
<i>Antimetabolitos (clofarabine, 5-fluouracilo, capecitabina, citarabina)</i>	2 - 27
<i>Antimicrotúbulos (docetaxel, paclitaxel)</i>	2.3 - 8
<i>Anticuerpos monoclonales</i>	
Trastuzumab	1.7 - 20.1*
Pertuzumab	0.7 - 1.2
<i>Inhibidores de tirosina cinasa</i>	
Imatinib	0.2. - 2.7
Sunitinib	2.7 - 19
Lapatinib	0.2 - 1.5
Sorafenib	4 - 8
<i>Inhibidores de proteosomas</i>	
Bortezomib	2 - 5
Carfilzomib	11 - 25
<i>Anti-mTOR</i>	
Everolimus, Sirolimus y Temsirolimus	<1

*Cuando se administra de forma concomitante con antraciclinas y ciclofosfamida "

Las antraciclinas (doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina and idarrubicina) son unos de los fármacos antineoplásicos mas efectivos introducidos en los últimos 50 años, y hoy en día son ampliamente utilizados en el tratamiento de tumores sólidos como el de mama y los sarcomas, así como en tumores hematológicos, que incluyen el linfoma hodgkin y no hodgkin y la leucemia aguda²³. La cardiotoxicidad asociada al uso de antraciclinas fue reconocida al poco tiempo de su introducción y se convirtió en la principal limitación para el uso de estos fármacos^{9,13}. En el año 1979 se demostró una incidencia de IC congestiva del 2.2% tras el tratamiento con doxorubicina. Von Hoff et al. también objetivó una relación directa entre la dosis acumulada de antraciclina recibida y el riesgo de presentar cardiotoxicidad, con una incidencia del 3% en pacientes que recibieron una dosis acumulada de 400mg/m², que aumentó hasta un 7% y 18% con dosis de 550mg/m² y 700mg/m² respectivamente²⁴. Años después se confirmó una incidencia de IC congestiva dosis dependiente, que aumentaba exponencialmente desde un 5% con una dosis acumulada de 400mg/m² hasta un 48% con dosis de 700mg/m²²⁵. En este estudio también se observó una incidencia del 2% en pacientes con dosis acumuladas mas bajas (<300mg/m²). En niños tratados con dosis acumuladas de entre 180 - 240mg/m² se han descrito tasas de cardiotoxicidad subclínica del 30% a largo plazo.²⁶ Recientemente el grupo de Cardinale demostró una incidencia de cardiotoxicidad del 9% (definida como la disminución de la FEVI>10% hasta un valor menor de 50%) en una cohorte prospectiva de 2625 pacientes tratados con esquemas que incluían antraciclinas, la mayoría diagnosticadas dentro del primer año de tratamiento, y asociadas con la dosis acumulada de antraciclinas y con la FEVI al final de la quimioterapia²⁷. Como veremos mas adelante, existen muchos factores que influyen en la variabilidad de la susceptibilidad individual a las antraciclinas, por lo que en la práctica clínica habitual no existe una dosis de antraciclina que se pueda suponer como categóricamente segura.

El trastuzumab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2), que regula la reparación y proliferación celular. El HER2 se encuentra sobre expresado en cerca del 30% de los cánceres de mama, lo que les confiere mayor agresividad, por tener mayor potencial de proliferación y metástasis. El uso de trastuzumab en el tratamiento del cáncer de mama HER2-Positivo ha disminuido de forma muy significativa las tasas de recurrencia y mortalidad^{6,28,29}. Desde su introducción, la cardiotoxicidad ha sido reconocida como su efecto adverso mas significativo y es mayor cuando se administra concomitantemente con antraciclinas²⁹. La incidencia de DVI es del 3% en pacientes tratados de forma exclusiva con trastuzumab, aumenta al 5% cuando se administras tras haber recibido antraciclinas y llega hasta un 27% cuando se administran de forma conjunta¹⁶. En un metaanálisis que incluyó 8 ensayos clínicos se observó que el riesgo de presentar IC era del 2.5% entre los pacientes que recibieron esquemas de tratamiento antitumorales que incluían trastuzumab y del 0.4% en los que no lo contenían (RR 5.1)³⁰. Por otra parte existe un porcentaje no despreciable de pacientes en los que se objetiva un deterioro de la FEVI que no llega a situarse por debajo del 50% y que no asocia síntomas de IC, cuyo significado a medio y largo plazo es desconocido^{6,31}.

Recientemente se han publicado registros que han empleado definiciones de cardiotoxicidad mas amplias, en las que se incluye la medición de biomarcadores, la medida de la deformación miocárdica y la presencia de síntomas de IC. La incidencia de MCDQ, definida estrictamente como la disminución de la FEVI a un valor inferior al 50%, fue del 5.9% en el registro CARDIOTOX (estudio prospectivo de 865 pacientes realizado en España) y del 19.4% en un análisis retrospectivo de 535 pacientes valorados en una unidad de cardio-oncología durante 5 años en un solo centro del Reino Unido^{11,32}. Sin embargo, al incorporar otros marcadores de toxicidad miocárdica, la incidencia de

cardiotoxicidad asociada con antraciclinas, anti-HER2 e inhibidores de tirosina cinasa (ITC) fue del 75.8%, 69.8% y 62.1% respectivamente en la cohorte del Reino unido, y del 37.5% en el registro CARDIOTOX, que incluyó pacientes tratados con fármacos antitumorales con riesgo conocido de cardiotoxicidad (Antraciclinas, anti-HER2, ITC o esquemas combinados).

1.2.3 Mecanismos fisiopatológicos

Durante años, la cardiotoxicidad por quimioterapia se ha clasificado en función del tipo y la extensión de daño tisular provocado en el miocardio, así como de su potencial reversibilidad. La *cardiotoxicidad tipo I*, asociada con la exposición a antraciclinas, es aquella en la que se produce un daño en las células cardíacas que es dosis dependiente e irreversible. La *cardiotoxicidad del tipo II*, asociada al tratamiento con el trastuzumab, no produce alteraciones ultraestructurales de los cardiomiocitos y es generalmente reversible^{33,34}. Sin embargo, la evidencia científica ha demostrado que esta clasificación es mas bien artificial, pues los esquemas de quimioterapia empleados en la actualidad incluyen varios grupos farmacológicos administrados de forma conjunta o secuencial y el grado de reversibilidad es variable entre individuos. Hoy en día, la MCDQ se considera mas bien como el resultado final de la interacción de varios mecanismos tóxicos sobre el tejido cardíaco.

Se reconocen varios mecanismos que explican el efecto cardiotóxico de las antraciclinas^{9,23}. El mas comúnmente aceptado es el de la cardiotoxicidad inducida por estrés oxidativo, mediante la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO). El miocardio es especialmente vulnerable al daño mediado por las ERO, que dañan el ácido desoxirribonucleico (ADN), las proteínas y las membranas celulares lipídicas,

conduciendo a la muerte de los cardiomiocitos. Además, las antraciclinas alteran el metabolismo del hierro, que cataliza la producción de ERO, conduciendo a una acumulación del mismo a nivel intracelular y potenciando su efecto cardiotóxico^{35,36}. Otro mecanismo que cobra cada vez mas relevancia es el mediado por la interacción de la doxorubicina con la topoisomerasa-2 β en el tejido cardíaco. Este complejo activa la apoptosis de los cardiomiocitos mediada por la vía del factor tumoral p53, inhibe la síntesis de enzimas antioxidantes favoreciendo el estrés oxidativo y altera la función mitocondrial^{9,23,36}. Otros mecanismos de MCDQ propuestos incluyen el daño directo del ADN mitocondrial, la destrucción de la estructura sarcomérica y la acumulación de metabolitos cardiotóxicos³⁶.

Los mecanismos fisiopatológicos que median la cardiotoxicidad de los anticuerpos dirigidos contra el HER2 son diferentes. La unión del trastuzumab al HER2 conduce a una inhibición de las vías de señalización mediadas por los factores de crecimiento epidérmico en las células cancerígenas. El HER2 también se expresa en la superficie de los cardiomiocitos y tiene un papel esencial en su protección frente al estrés. Estas vías de señalización son esenciales para la estimulación de mecanismos de cardioprotección (hipertrofia de las células miocárdicas, la resistencia a la apoptosis, la angiogénesis), de reparación y en definitiva para la supervivencia de estas células^{34,35}. Por tanto, la inhibición del HER2 no conlleva la muerte celular como tal, sino que impide la activación de vías de reparación y supervivencia del cardiomiocito, conduciendo a la aparición de disfunción miocárdica.

1.2.4 Factores de riesgo para la aparición de MCDQ "

La predisposición al desarrollo de MCDQ es multifactorial e incluye tanto factores asociados al tratamiento antitumoral como al propio individuo (tabla 3)^{8,33}. El principal factor de riesgo que favorece la aparición de MCDQ inducida por las antraciclina es la dosis acumulada de fármaco administrada. La asociación de dosis superiores a 250 mg/m² de doxorubicina con la aparición de MCDQ es consistente y los pacientes que reciben dosis superiores se consideran de alto riesgo. También influye la forma de administración del fármaco (la infusión continua tiene menor riesgo que la administración en bolos) así como la formulación (la forma liposomal es mas segura)^{6,8}. Otro factor de riesgo importante es la edad. La población pediátrica y los mayores de 60 años son especialmente vulnerables^{8,37}. Cualquier condición que incremente la susceptibilidad del tejido miocárdico incluyendo la presencia de una cardiopatía previa, la diabetes y la hipertensión arterial parecen incrementar el riesgo^{6,38}. Finalmente, el uso combinado de varios fármacos quimioterápicos, así como la administración de radioterapia en el tórax aumentan el riesgo de desarrollar MCDQ independientemente de la dosis de antraciclina recibida.

El principal factor de riesgo para la aparición de cardiotoxicidad secundaria a trastuzumab es su administración concomitante con antraciclina. En la mayoría de los casos el trastuzumab se administra a pacientes que ya han recibido antraciclina, en los que se ha producido muerte de células miocárdicas y al perder su capacidad de recuperación, se perpetua el daño miocárdico. La vulnerabilidad del miocardio es mayor si se administran los dos fármacos en un corto margen de tiempo^{6,35}. Otros factores de riesgo reconocidos incluyen las comorbilidades pre-existentes como la hipertensión arterial, la edad avanzada y una FEVI deprimida antes de iniciar el tratamiento^{6,39}.

Tabla 3. Factores de riesgo asociados con la miocardiopatía por quimioterapia. "

Factores de riesgo
Asociados al tratamiento antitumoral
Dosis acumulada de fármacos
Uso concomitante o sucesivo de varios fármacos cardiotoxicos
Administración de radioterapia sobre el tórax previa o de forma concomitante
Asociados al paciente
Consumo de alcohol y tabaco
Edad (población pediátrica o > 60 años)
Sexo femenino
Comorbilidades preexistentes (enfermedad cardiovascular, diabetes, dislipemia, enfermedad renal crónica, etc)
Factores genéticos

A pesar de que conocemos un gran número de factores de riesgo asociados con el riesgo de desarrollar MCDQ e IC, en algunos casos, su aparición no parece explicarse exclusivamente por los factores de riesgo establecidos, lo que sugiere que existen otros factores no identificados responsables de la variabilidad en la susceptibilidad individual.

Estudios recientes han dirigido su atención a la búsqueda de marcadores genéticos que junto con los factores de riesgo clásicos establecidos, permitan predecir qué pacientes desarrollarán MCDQ tras recibir su tratamiento antitumoral. Se han identificado variantes genéticas subyacentes a prácticamente todos los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en la toxicidad mediada por antraciclinas. Se han descrito polimorfismos en genes que conducen a un exceso de formación de ERO y topoisomerasa 2 β , que alteran el transporte y metabolismo de las antraciclinas favoreciendo la acumulación de

metabolitos cardiotóxicos en el interior de los cardiomiocitos, o que alteran la codificación de las proteínas del sarcómero miocárdico y conducen a una función miocárdica deficiente³⁶. Sin embargo, hoy en día no existe evidencia suficiente que permita utilizar estos marcadores genéticos en la estratificación del riesgo de desarrollo de MCDQ antes de iniciar el tratamiento antitumoral.

Dado el creciente número de pacientes que necesitarán tratamiento antitumoral, junto con la aparición constante de nuevos tratamientos y esquemas terapéuticos, la identificación de los pacientes que potencialmente tienen mayor riesgo de desarrollar una MCDQ es una de las prioridades de la investigación en los campos de la cardiología y la oncología.

1.2.5 Prevención y tratamiento de la MCDQ

Se recomienda que los pacientes con cáncer que presenten enfermedades cardiovasculares establecidas, mal control de factores de riesgo cardiovascular o que han sido expuestos previamente a antraciclinas, así como aquellos que deban recibir dosis acumuladas de antraciclinas por encima de las dosis consideradas seguras (>250-300 mg/m² de doxorubicina o equivalente) sean valorados de forma individualizada, preferiblemente en una unidad específica de cardio-oncología^{32,40}. Existen varias opciones preventivas para estos pacientes que incluyen la selección de un régimen de tratamiento que no incluya tratamientos con efecto cardiotóxico, el uso de formulaciones de antraciclinas menos tóxicas (ej. doxorubicina liposomal), dosis más bajas y/o la administración de fármacos cardioprotectores. El control estricto de los factores de riesgo cardiovascular, así como el tratamiento de las comorbilidades preexistentes es fundamental, y debe garantizarse antes de iniciar cualquier tratamiento con quimioterapia.

Entre los fármacos cardioprotectores para prevenir el desarrollo de MCDQ se incluyen los medicamentos usados en la práctica clínica habitual en el tratamiento de la DVI e IC: los betabloqueantes (β -bloqueante), los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los antagonistas de los receptores de angiotensina (ARA)⁴¹. La eficacia de estos fármacos administrados de forma profiláctica es una de las áreas de investigación con mayor interés en la actualidad. La administración precoz de enalapril (IECA) a pacientes que presentaban una elevación de los valores de troponina I tras un tratamiento con altas dosis de quimioterapia ha demostrado prevenir el desarrollo de DVI⁴². En esta misma línea, su administración combinada con carvedilol (β -bloqueante) antes del tratamiento con altas dosis de antraciclinas también ha demostrado evitar la caída en la FEVI⁴³. El tratamiento con candesartán (ARA) de forma paralela al tratamiento antitumoral a pacientes con cáncer de mama se asoció con una caída menos pronunciada de la FEVI comparado con placebo. Sin embargo, en este mismo estudio no se observó ningún efecto cardioprotector con la administración de metoprolol (β -bloqueante)⁴⁴. Recientemente, en un estudio prospectivo, la administración de carvedilol de forma concomitante al tratamiento con dosis estándar de antraciclinas no tuvo ningún impacto en la incidencia de DVI, aunque si se observó una reducción significativa en los valores de troponina y de la incidencia de disfunción diastólica en los pacientes con tratamiento⁴⁵. Tras muchos resultados controvertidos, la utilidad de estos fármacos así como la población que realmente se beneficiaría de su administración de forma profiláctica no está definida, y no existen recomendaciones firmes sobre su uso en este momento^{6,8}.

El dexrazoxano, un agente quelante del hierro a nivel intracelular, es otro agente cardioprotector que ha demostrado disminuir significativamente el riesgo de IC asociado

a antraciclinas⁴⁶. Sin embargo, su efecto en el pronóstico del cáncer sigue siendo controvertido, por lo que en la actualidad su uso solo está recomendado en adultos con cáncer de mama metastásico que hayan recibido dosis de doxorubicina superiores a los 300 mg/m² y se beneficien de continuar el tratamiento con antraciclinas^{6,8}.

Una vez instaurada la MCDQ se debe considerar el inicio de uno o varios de los medicamentos recomendados por las guías de práctica clínica para el tratamiento de la DVI e IC⁴¹. Si se presenta durante el tratamiento con quimioterapia, se debe valorar de forma individualizada la necesidad y duración de cualquier interrupción del mismo³². En relación con el tratamiento farmacológico la evidencia en este subgrupo de pacientes es escasa, pues estos pacientes han sido tradicionalmente excluidos de los grandes ensayos que evaluaron la eficacia de los IECA, ARA y β -bloqueantes en pacientes con DVI e IC. La administración de enalapril y carvedilol en pacientes con MCDQ establecida (FEVI $\leq 45\%$) se ha asociado con recuperación de la FEVI entre aquellos pacientes con diagnóstico precoz y pronta instauración del tratamiento (antes de los 6 meses)^{6,10,47}. Recientemente se ha incluido el sacubitril/valsartán dentro del arsenal terapéutico de la IC con fracción de eyección reducida⁴⁸. Su uso se ha asociado a una disminución en las tasas de mortalidad y hospitalización por IC en pacientes con FEVI reducida de varias etiologías. Un reporte de 10 casos de pacientes con MCDQ evaluados mediante RMC ha demostrado una mejoría en los valores de FEVI, una reducción de los volúmenes del ventrículo izquierdo (VI) así como una mejoría en la clase funcional de la NYHA en pacientes tratados con sacubitril/valsartán, independientemente de la dosis recibida⁴⁹. Estos resultados apoyan la importancia del tratamiento neurohormonal específico dirigido a la IC en la prevención y tratamiento de la MCDQ.

Finalmente, cuando se considera la re exposición de un paciente con MCDQ a un fármaco que le ha producido previamente cardiotoxicidad, debe valorarse la relación riesgo beneficio y se recomienda el tratamiento con los fármacos específicos de IC (IECA, β -bloqueante y/o ARA)^{6,9}.

1.3 Miocardiopatía dilatada

1.3.1 Concepto y epidemiología

Las miocardiopatías son un grupo heterogéneo de entidades en las que el músculo cardiaco tiene una estructura y funcionamiento anormal^{50,51}. Se clasifican en función de su fenotipo morfológico y funcional en miocardiopatía hipertrófica (MCH), miocardiopatía dilatada (MCD), miocardiopatía arritmogénica (MCA), miocardiopatía restrictiva (MCR) y miocardiopatía no compactada (MCDNC)^{52,53}.

La MCD se caracteriza por la presencia de una dilatación del VI o biventricular junto con una FEVI<50% en ausencia de condiciones de sobrecarga ventricular (hipertensión, valvulopatía significativa) o enfermedad coronaria que justifique el grado de disfunción ventricular⁵⁴. La MCD es la segunda causa más común de IC (después de la cardiopatía isquémica), afecta principalmente a adultos jóvenes y es la primera causa de trasplante cardiaco en el mundo⁵⁵.

La prevalencia de la MCD es difícil de conocer pues históricamente se han empleado diferentes criterios para definirla. En la década de los 90 se reportaba una incidencia anual de MCD que variaba entre los 5 y 8 casos por cada 100.000 habitantes, y se reconocía que estas cifras infraestimaban su verdadera incidencia pues no tenían en cuenta los casos

de MCD asintomática⁵⁶. Recientemente en el registro europeo de miocardiopatías se observó que la MCD representaba cerca del 40% de todas las miocardiopatías atendidas en centros de miocardiopatías, lo que sugiere que la prevalencia de MCD en Europa es significativamente mayor y similar a la descrita para la MCH, y podría ser tan alta como de 1 de cada 250 individuos^{57,58}.

1.3.2 Diagnóstico de MCD

El diagnóstico de MCD se basa en la aparición de una dilatación del VI, asociada a una disminución de la contractilidad miocárdica, que puede o no estar asociada a dilatación y disfunción del ventrículo derecho.

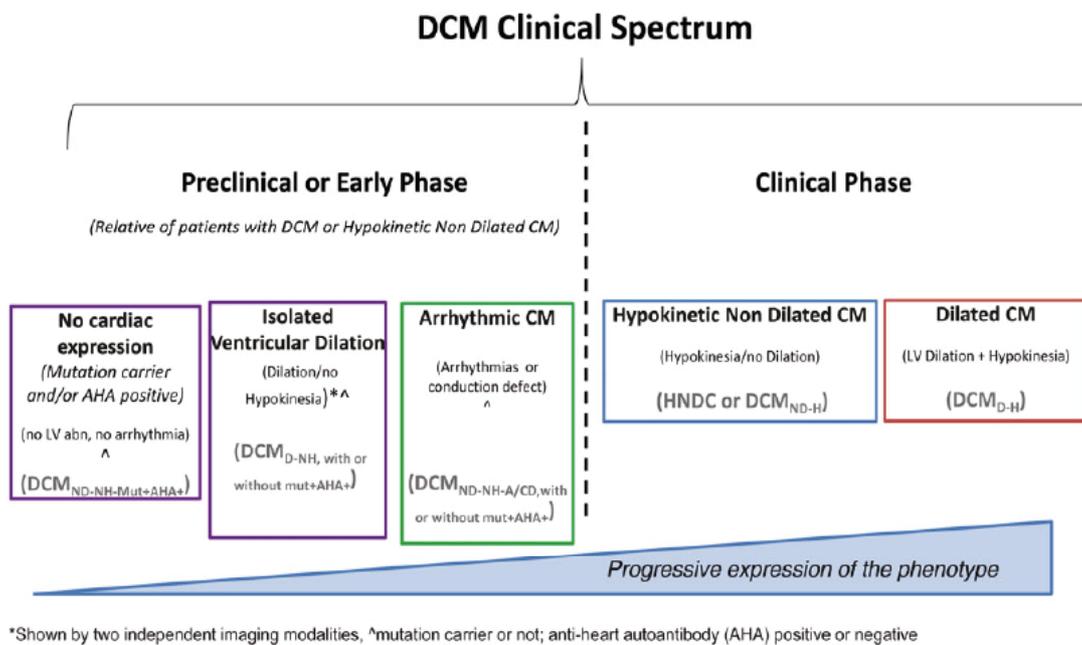
Se deben cumplir dos criterios para establecer el diagnóstico de MCD ⁵⁴:

- (1) Dilatación del VI, definida como la presencia de un diámetro o volumen telediastólico del VI (DTDVI o VTDVI) 2 desviaciones estándar por encima de lo previsto por normogramas (Z score > 2 desviación estándar) ajustado por superficie corporal y edad, o superficie corporal y sexo.
- (2) Disfunción sistólica del VI, que se define como la disminución de la FEVI, medida usando cualquier modalidad y demostrada por dos técnicas de imagen diferentes o en dos ocasiones distintas con la misma técnica de imagen, preferiblemente ecocardiografía o resonancia magnética cardíaca.

El mayor conocimiento de la historia natural de la MCD ha permitido reconocer estadios precoces de la enfermedad, considerados como preclínicos. Desde el año 2016, se ha empleado el término de miocardiopatía hipoquinética no dilatada, para incluir a aquellos

individuos que presentan DVI (FEVI < 45%), pero no cumplen los criterios de dilatación ventricular. Esto es especialmente importante cuando nos enfrentamos al estudio de familiares de pacientes con MCD en los que se sospecha una causa genética subyacente. Así, se han propuesto tres nuevas categorías diagnósticas que tienen en cuenta tanto la presencia de mutaciones patogénicas en genes asociados con MCD como los hallazgos que pueden considerarse sugestivos de MCD⁵⁴ (figura 3).

Figura 3. Descripción del espectro clínico de la miocardiopatía dilatada. Tomado de Pinto et al⁵⁴.



DCM, miocardiopatía dilatada; LV abn, anomalía del Ventrículo izquierdo; ND, no dilatación; D, dilatación; NH, no hipocinético; H, hipocinético; Mut+, Portador de la mutación; AHA+, auto anticuerpo cardiaco positivo; A/CD: arritmia/efecto de conducción.

En la práctica clínica, se recomienda un abordaje sistemático de los pacientes con MCD con el fin de descartar en primer lugar las causas más frecuentes, así como de identificar “pistas diagnósticas” que puedan sugerir etiologías específicas y guiar la selección de pruebas diagnósticas adicionales. Además de una historia clínica completa, evaluación de síntomas y exploración física, el estudio de un paciente con MCD debe incluir^{51,54,59}:

- Descartar una historia de hipertensión arterial mal controlada.
- Indagar sobre el consumo crónico de alcohol, así como exposiciones previas a fármacos con efecto cardiotóxico como los fármacos antitumorales, entre otros.
- Realizar un electrocardiograma (ECG) para descartar trastornos de la conducción aurículo-ventricular, alteraciones de la repolarización y de los voltajes, arritmias supraventriculares o ventriculares sostenidas.
- Excluir enfermedad arterial coronaria en todos los pacientes mayores de 35 años, o en menores de 35 años si hay factores de riesgo o antecedentes familiares de cardiopatía isquémica precoz.
- Análisis de laboratorio que debe incluir creatina quinasa (CK), función renal, análisis de orina con proteinuria, pruebas de función hepática, hemoglobina y recuento de glóbulos blancos, hierro sérico, ferritina, calcio, fósforo, péptidos natriuréticos y hormona estimulante de la tiroides. Si se sospecha, es importante descartar déficits nutricionales.
- La RMC es útil para analizar de forma más objetiva las dimensiones y la función ventricular, así como para caracterizar el tejido miocárdico. Puede ayudar a la evaluación etiológica a través de la detección de edema miocárdico (por ejemplo, en la miocarditis activa o sarcoidosis cardíaca), y el análisis de la distribución del realce de gadolinio (por ejemplo, en la distrofia muscular, la miocardiopatía inflamatoria, la sarcoidosis o la enfermedad de Chagas).

- En pacientes con sospecha de cardiopatía de origen inflamatorio (miocarditis, sarcoidosis cardíaca) se recomienda la realización de biopsia endomiocárdica (BEM). También se debe considerar la BEM cuando hay sospecha clínica de enfermedades metabólicas o de depósito.

1.3.3 Causas de MCD

En líneas generales se acepta que existen dos causas de MCD: las causas genéticas y las no genéticas (tabla 4). El término de *MCD idiopática* puede ser empleado tras excluir una gran variedad de potenciales causas de disfunción/dilatación ventricular.

Causas no genéticas de MCD

Entre las causas no genéticas de MCD destaca la miocarditis, una enfermedad inflamatoria del tejido miocárdico caracterizada por la evidencia histológica de un infiltrado inflamatorio asociado con necrosis de cardiomiocitos. En la mayoría de los casos la causa es una infección vírica. El diagnóstico de miocarditis se establece basado en la sospecha clínica y pruebas no invasivas, reservándose la realización de una BEM para casos seleccionados en centros con experiencia. Si bien la miocarditis puede ser un proceso reversible, entre un 14% y 52% de casos demostrados mediante BEM progresan a MCD^{54,60}. Otras causas infecciosas de MCD tienen una distribución geográfica, como la MCD asociada al virus de inmunodeficiencia humana en África y la enfermedad de Chagas (infección por *Tripanosoma cruzi*) en América del Sur. También puede desarrollarse una MCD en el seno de enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide), enfermedades sistémicas (sarcoidosis) y endocrinometabólicas (hipertiroidismo).

Tabla 4. Causas de miocardiopatía dilatada. Adaptada de Pinto et al. y de Japp et al. ^{54,59}.

Grupo	Subtipo de MCD o agente causal
De origen no genético	
Fármacos	Antitumorales (antraciclinas, antiHER2, agentes alquilantes) Psiquiátricos (clozapina, olanzapina, litio, risperidona) Otros (cloroquina, agentes anti-retrovirales)
Tóxicos	Alcohol, cocaína, anfetaminas. Sobrecarga férrica (transfusiones, hemocromatosis) Otros (cobalto, arsénico, esteroides androgénicos)
Déficits nutricionales	Déficit de selenio, tiamina (Beriberi), zinc, cobre
Alteraciones electrolíticas	Hipocalcemia e hipofosfatemia
Endocrinológico	Hipo e hipertiroidismo; Enfermedad de Cushing / Addison Feocromocitoma, Acromegalia, Diabetes mellitus
Infecciosas	Virales (VIH), bacterianas (enfermedad de Lyme), micobacterias, hongos y parásitos (E. de Chagas)
Autoinmunes	
Organoespecíficas	Miocarditis de células gigantes, MCD inflamatoria
No organoespecíficas	Polimiositis/dermatomiositis, Síndrome de Churg Strauss, granulomatosis de Wegener, lupus eritematoso sistémico, sarcoidosis
De origen genético	
Principales genes asociados con MCD	Titina (<i>TTN</i>), Lamina A/C (<i>LMNA</i>) Cadena pesada de la miosina (<i>MYH7</i>) Proteína C de unión a miosina (<i>MYBPC3</i>) Proteína ligadora de ARN 20 (<i>RBM20</i>) Subunidad alfa del canal de sodio dependiente de voltaje (<i>SCN5A</i>) Regulador de la actividad chaperona de la familia de proteínas BAG (<i>BAG3</i>) Fosfolambano (<i>PLN</i>), Miopaldina (<i>MYPN</i>)

Enfermedades neuromusculares	Distrofinopatías (<i>DMD</i>), Distrofia miotónica de Steinert (<i>MD</i>)
Enfermedades sindrómicas	Enfermedades mitocondriales (H. Mitocondrial) Tafazina (Ligado a X)
Otras formas de MCD	
Taquimiocardiopatía	Arritmias supraventriculares o ventriculares no controladas
MCD periparto	Embarazo

El desarrollo de MCD también se ha descrito como consecuencia de la exposición a varias " sustancias con efecto cardiotóxico directo. El consumo crónico y regular de alcohol (al menos 80 g/días durante mas de 5 años) se asocia al desarrollo de MCD^{61,62}. La administración de fármacos antineoplásicos, fundamentalmente las antraciclinas y el trastuzumab, puede producir MCD como complicación. Otra forma de MCD es la miocardiopatía periparto, una forma de MCD que se instaura hacia el final del embarazo o durante el primer mes tras el parto. Se caracteriza por la aparición de signos y síntomas de IC junto con evidencia de una FEVI $\leq 45\%$ y se asocia a una morbimortalidad elevada⁶³.

Causas genéticas de MCD

Una vez excluidas las causas conocidas de MCD, se debería considerar la participación de factores genéticos. Desde principios de los años 70 ya se reconocía la presencia de agrupación familiar en varios casos de MCD idiopática, lo que sugería la participación de factores hereditarios en el desarrollo de esta entidad⁶⁴⁻⁶⁶. Antes de la incorporación de los estudios de genética molecular, el estudio ecocardiográfico de los familiares en pacientes con MCD identificaba agregación familiar en el 20-30% de los casos^{65,67,68}. En los años 90, se describió por primera vez una mutación tipo *missense* en el gen de la distrofina (DMD) como causa de una forma de MCD con herencia ligada al cromosoma X⁶⁹. De forma paralela, se describió la primera forma de MCD familiar secundaria a una mutación *missense* en el gen de la actina (*ACTC*)⁷⁰. Posteriormente, la realización de estudios genéticos en pacientes con MCD idiopática esporádica, es decir, sin agrupación familiar, demostró una proporción de mutaciones genéticas similar a la observada entre los pacientes con MCD familiar⁷¹, hallazgos que han sido confirmados en grandes

cohortes de pacientes no emparentados entre sí^{72,73}. En la actualidad, la realización de un estudio genético en un paciente con MCD resulta en la identificación de una causa genética en aproximadamente el 15-25% de los casos esporádicos y en hasta el 20-40% de los casos con MCD familiar^{74,75}.

Los genes asociados con la MCD codifican un grupo heterogéneo de proteínas esenciales para la arquitectura y el correcto funcionamiento de las células cardíacas, por lo que los mecanismos fisiopatológicos que conducen al desarrollo de la MCD son diversos (figura 4). La mayoría de las formas genéticas de MCD tienen un patrón de herencia autosómico dominante con una expresividad variable y una penetrancia incompleta. También se han descrito formas con herencia autosómica recesiva, ligadas al cromosoma X y con patrón de herencia mitocondrial. Aunque se han descrito variantes asociadas a MCD en más de 50 genes, existe una evidencia más sólida en un subgrupo de genes (*TTN*, *DSP*, *MYH7*, *LMNA*, *BAG3*, *TNNT2*, *RBM20*, *FLNC*, *TNNC1*, *PLN*, *ACTC1*, *NEXN*, *TPMI* y *VCL*), que son los más frecuentemente alterados^{52,75,76}. Otros genes en los que se han identificado mutaciones incluyen los que codifican las proteínas del citoesqueleto, de los canales de calcio y potasio, de la membrana nuclear y de las uniones intercelulares. En la tabla 5 se enumeran los genes asociados con MCD y la prevalencia estimada de mutaciones en ellos en pacientes con MCD.

Figura 4. Genes asociados con el desarrollo de miocardiopatía dilatada. Codifican una gran variedad de proteínas y se localizan en diferentes zonas de la célula miocárdica.

Tomado de Hershberger et al.⁵⁸.

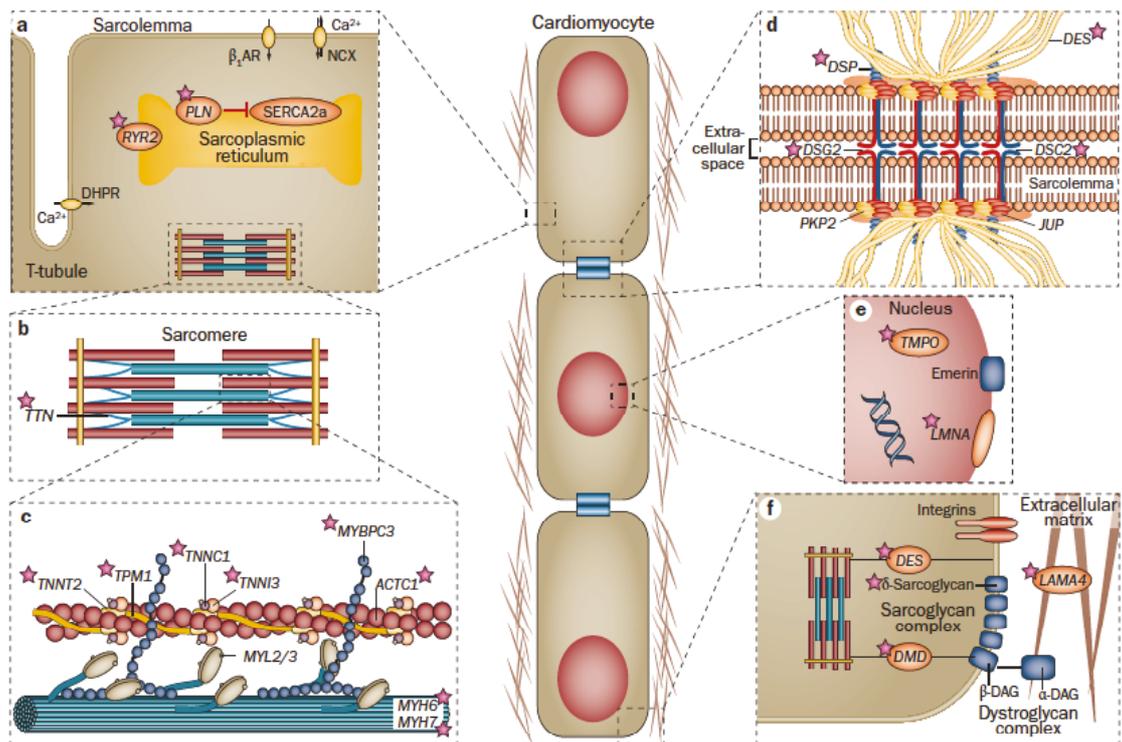


Tabla 5. Genes asociados con miocardiopatía dilatada^{58,59,75}. En negrita los genes mas frecuentemente alterados.

<i>Gen</i>	<i>Proteína</i>	<i>Función</i>	Frecuencia estimada en pacientes con MCD
Sarcómero			
<i>MYH7</i>	Cadena pesada de la beta miosina	Contracción muscular	4-10%
<i>ACTC1</i>	Actina	Contracción muscular	<1%
<i>ACTN2</i>	Alfa actinina 2	Transmisión de la fuerza contráctil e integridad de la estructura	1%
<i>TNNT2</i>	Troponina T	Contracción muscular	2-3%
<i>MYBPC3</i>	Proteína C de unión a la miosina	Contracción muscular	2%
<i>TNNI3</i>	Troponina I	Contracción muscular	<1%
<i>TNNC1</i>	Troponina C	Contracción muscular	<1%
<i>TPM1</i>	Tropomiosina	Contracción muscular	<1%
<i>MYH6</i>	Cadena pesada de miosina 6	Contracción muscular	4%
<i>MYPN</i>	Miopaladina	Forma parte del disco Z	3-4%
<i>TTN</i>	Titina	Integridad del sarcómero	12-25%
<i>ANKRD1</i>	Dominio 1 de repetición de ankirina	Interacción del complejo miopaladina/titina	N/A
<i>CSRP3</i>	Proteína 3 rica en cisteína y glicina	Forma parte del disco Z; sensor de estiramiento	<1%
<i>TCAP</i>	Teletonina	Forma parte del disco Z	1%
<i>MYL2</i>	Cadena ligera reguladora de la miosina 2	Contracción muscular	<1%
<i>MYL3</i>	Polipéptido ligero de la miosina 3	Contracción muscular	<1%
<i>BAG3</i>	Regulador de la actividad chaperona de la familia de proteínas BAG	Forma parte del disco Z; estabilidad del sarcómero	3%
Citoesqueleto			
<i>FLNC</i>	Filamina C	Anclaje del sarcómero al citoesqueleto	2-4%

<i>DMD</i>	Distrofina	Transmisión de la fuerza contráctil	N/A
<i>LAMA2</i>	Laminina alfa 2	Proteínas del MEC	<1%
<i>LAMA4</i>	Laminina alfa 4	Proteínas del MEC	<1%
<i>LDB3</i>	Proteína 3 de unión al dominio LIM	Arquitectura del citoesqueleto; unión proteínas de la membrana	1%
<i>SGCD</i>	Deltasarcoglucano	Transmisión de la fuerza contráctil	<1%
<i>VCL</i>	Vinculina	Estructura sarcómero; discos intercalados	1%
<i>FKRP</i>	Proteína relacionada a la fukutina	Transmisión de la fuerza contráctil e integridad de la estructura	N/A
<i>FKTN</i>	Fukutina	Transmisión de la fuerza contráctil e integridad de la estructura	N/A
<i>CAV3</i>	Caveolina 3	Transmisión de la fuerza contráctil e integridad de la estructura	N/A
<i>ILK</i>	Proteincinasa unida a la integrina	Serina-teonina cinasa intracelular; interactúa con las integrinas	<1%
<i>PDLIM3</i>	Proteína con dominio PDZ y LIM3	Proteína del citoesqueleto	<1%
Membrana nuclear			
<i>LMNA</i>	Lamina A/C	Estabilidad de la membrana interna nuclear; regulación de la expresión génica	4-6%
<i>TMPO</i>	Timopoyetina	Estabilidad de la membrana nuclear	1%
<i>EMD</i>	Emerina	Unión del núcleo con el citoesqueleto	
<i>TMEM43</i>	Proteína transmembrana 43	Estabilidad de la membrana nuclear	
Retículo sarcoplásmico			
<i>PLN</i>	Fosfolambano	Regulador del calcio en el retículo sarcoplásmico; inhibe la bomba SERCA2	1% "

<i>RYR2</i>	Receptor de rianodina	Regulador del calcio en el retículo sarcoplásmico	N/A
Desmosomas			
<i>DES</i>	Desmina	Adhesión celular; transmisión de fuerza contráctil	<1%
<i>DSP</i>	Desmoplaquina	Adhesión celular	3-4%
<i>PKP2</i>	Placofilina	Adhesión celular	<1%
<i>DSG2</i>	Desmogleína	Adhesión celular	N/A
<i>DSC2</i>	Desmocolina	Adhesión celular	N/A
<i>JUP</i>	Placoglobina	Adhesión celular	N/A
Canales iónicos			
<i>SCN5A</i>	Subunidad alfa del canal de sodio dependiente de voltaje	Control del flujo de sodio	2-3%
<i>ABCC9</i>	Gen para el casete de unión a adenosina trifosfato, miembro 9 de la subfamilia C	Regulación de canal de K	<1%
Núcleo			
<i>FOXD4</i>	Factor de transcripción nuclear FOXD4	Cofactor de transmisión	N/A
<i>RBM20</i>	Proteína ligadora de ARN 20	Proteína ligadora de RNA del spliceosoma	2-5%
<i>TBX20</i>	Factor transcriptor TBX20	Cofactor de transmisión	N/A
Matriz extracelular			
<i>LAMA2</i>	Laminina alfa 2	Adhesión celular y señalización	N/A
<i>LAMA4</i>	Laminina alfa 4	Adhesión celular y señalización	N/A
Mitocondrias			
<i>TAZ</i>	Tafazina	Metabolismo de la cardiolipina	N/A
Otros			
<i>LAMP2</i>	Proteína de membrana asociada al lisosoma 2	Proteína transportadora lisosomal	N/A

1.3.4 Estudio genético en la miocardiopatía dilatada: evolución, rendimiento e interpretación.

En los últimos años ha habido un gran interés por comprender los mecanismos fisiopatológicos subyacentes al desarrollo de la MCD, con el fin de establecer su historia natural, estratificar el riesgo de progresión y desarrollar nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas que puedan tener impacto en el manejo y el pronóstico de los pacientes con MCD. Uno de los campos con mayor avance es el estudio de sus bases genéticas y la asociación entre el genotipo (tipo de mutación y gen responsable) y el fenotipo (desarrollo y severidad de la MCD resultante). En las últimas décadas, se han producido impresionantes avances tecnológicos en el campo de la genética molecular, se han llevado a cabo grandes estudios multicéntricos y poblacionales, y se ha introducido el estudio genético en la práctica clínica como una herramienta de diagnóstico y estadificación pronóstica⁷⁷⁻⁸⁰.

Inicialmente, los estudios genéticos se dirigían a la evaluación de un solo gen candidato que era seleccionado por su función. Se buscaban cambios que conducían a una proteína defectuosa o ausente y que no se observaban en individuos sanos. A finales de los años 90, Fatkin et al. estudió el gen que codifica la proteína Lamina (*LMNA*) en 11 familias con MCD con herencia autosómica dominante y trastornos de la conducción cardíaca, identificando 5 mutaciones tipo missense en este gen⁸¹. En años posteriores los estudios genéticos se realizaban mediante la técnica de secuenciación Sanger, que permitía el análisis sólo de un número limitado de genes, empleando un tiempo prolongado y con un precio elevado. Con esta técnica se logró identificar una mutación causal en cerca del

20% de los pacientes de varias cohortes de MCD, siendo las mutaciones en *LMNA* y en los genes sarcoméricos las mas frecuentemente identificadas⁸²⁻⁸⁵.

El análisis de un panel que incluyera un mayor número de genes y que pudiera resultar en una mayor sensibilidad no fue posible hasta la implementación de las técnicas de secuenciación masiva (*Next generation Sequencing, NGS*)^{74,86}. El NGS es una técnica de secuenciación de ADN de alto rendimiento, con la que se puede analizar de forma simultánea docenas de genes, incluyendo genes de gran tamaño, en un corto periodo de tiempo y a un menor costo. El NGS permitió demostrar el papel del gen sarcomérico que codifica la titina (*TTN*) en la patogénesis de la MCD, considerado como el mayor avance en el estudio de la MCD hasta la actualidad^{73,87}. Así, un estudio con NGS puede identificar de forma simultánea mutaciones en genes poco frecuentes (1-8%) y mutaciones en *TTN* (25%) por lo que ofrece una tasa de detección de mutaciones mayor del 40% en los pacientes con MCD. El estudio de cohortes seleccionadas de pacientes con NGS ha permitido identificar mas de 60 genes y mas de mil mutaciones asociadas al desarrollo de distintas formas de miocardiopatías^{74,75,88}. En el campo de la investigación, el NGS se ha utilizado para secuenciar todo el exoma humano, que es la porción del genoma que codifica todas las proteínas del cuerpo. Este abordaje ha permitido identificar genes nuevos que participan en formas hereditarias de MCD como el *GATADI* y el *BAG3*^{89,90}.

Los paneles de genes empleados en el estudio genético han experimentado una dramática expansión en los últimos años. Han pasado de testar solo 5 genes (*MHY7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3* y *TPMI*) a mas de 40 genes asociados con MCD y con otras

miocardiopatías (MCH, MAVD, MCR, MCDNC), siendo el gen de la *TTN* el que cuenta " con la tasa de detección más alta entre todos los genes asociados a MCD. La sensibilidad de los paneles aumenta a medida que se analiza un mayor número de genes, como demostró un estudio que incluyó un total de 766 pacientes con MCD no emparentados entre sí, en el que el rendimiento del estudio genético pasó de un 10% a un 37% al usar un panel de 10 y de 46 genes respectivamente, aunque con un tasa significativamente mayor de variantes de significado incierto (VSI)⁷⁴.

El NGS también ha permitido realizar estudios a nivel poblacional para conocer la heterogeneidad genética de los individuos sanos. Estos datos facilitan la capacidad de distinguir una variante verdaderamente patogénica de una variante rara pero presente en un porcentaje pequeño de la población general. Además, estos datos han alimentado grandes bases de datos genéticos de acceso público que han contribuido a mejorar la interpretación de los resultados^{52,58,75}. Una de estas bases de datos es la del Consorcio de Agregación de Exome (ExAC, en sus siglas en inglés)⁹¹. Este catálogo genético incluye las frecuencias individuales de todas las variantes identificadas tras el análisis de los exomas de más de 60,000 personas de diversas poblaciones sin MCD conocida y lo pone a disposición de los investigadores básicos y clínicos. Así, la frecuencia de una variante en el ExAC proporciona un punto de referencia para determinar si una variante en un gen particular es lo suficientemente rara como para ser la causa de una enfermedad. Otras bases de datos genéticos de acceso público incluyen la del Proyecto de Secuenciación del Exoma del Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y Sangre de Estados Unidos (NHLBI, en sus siglas en inglés)⁹² y el Proyecto 1000 Genomas⁹³. El análisis de la variabilidad genética en un número tan elevado de personas ha permitido observar que algunas variantes muy raras que habían sido consideradas como responsables de enfermedades,

se observan con mayor frecuencia de la esperada al estudiar la población general y se han reclasificadas como VSI o incluso como variantes benignas^{74,94-96}.

Esta expansión en el número de genes y en el acceso a los estudios genéticos en la práctica clínica lleva aparejada la identificación de un gran número de variantes genéticas, muchas de ellas sin un significado claro, que deben ser analizadas rigurosamente e interpretadas de forma cuidadosa por profesionales expertos. Dada la complejidad en la interpretación de los resultados y sus importantes implicaciones, el Colegio Americano de Genética y Genómica Médica y la Asociación de Patología Molecular (ACMG-AMP por sus siglas en inglés) ha establecido unos criterios para establecer la patogenicidad de las variantes genéticas.⁹⁷ Entre los criterios necesarios para clasificar una variante genética como variante patogénica (VP) o variante probablemente patogénica (VPP) se incluyen que la variante afecte a un gen relacionado con la enfermedad y conduzca a una pérdida completa o parcial de la proteína que codifica, que el efecto lesivo de la variante sea demostrado mediante estudios funcionales *in vitro* o *in vivo*, que la variante sea extremadamente rara, esto es, que tengan una MAF (frecuencia del alelo menor) $<1 \times 10^{-4}$,⁹⁶ y que la variante cosegregue con la enfermedad en múltiples miembros de una familia, esto es, que se demuestre su presencia en varios familiares afectados de la enfermedad y su ausencia en los miembros sanos. Todas las variantes que no cumplen con estos estándares rigurosos se deben clasificar como VSI (tabla 6).

Tabla 6. Clasificación de las variantes identificadas en un estudio genético. Adaptado de Burke et al.⁵².

Tipo de variantes	Definición
Patogénica	Variantes con una frecuencia muy baja en la población (MAF <0.02%) y con fuerte evidencia de cosegregación con el fenotipo, conservación a través de las especies o evidencia en estudios funcionales
Probablemente patogénica	Variantes con una frecuencia muy baja en la población (MAF <0.02%), pero con una evidencia de cosegregación más débil o evidencia limitada en estudios funcionales
Variante de significado incierto	Variantes con evidencia limitada de cosegregación, evidencia de estudios funcionales escasa o contradictoria, conservación variable a través de las especies
Probablemente benigna	Variante identificada con baja frecuencia en la población general (MAF>0.3%) y no conservada entre especies.
Benigna	Variante identificada con una frecuencia moderada en la población general (MAF>1%)

MAF, frecuencia del alelo menor

En términos generales, un estudio genético puede dar lugar a 5 tipos de resultados diferentes^{50,52}:

- (1) identificación de una VP, en cuyo caso se confirma el diagnóstico de MCD de origen genético y permite ofrecer estudio en cascada a los familiares del paciente.
- (2) identificación de una VPP que, si bien apoya el diagnóstico, precisa de otras evidencias que den soporte a la patogenicidad de la variante, como demostrar cosegregación familiar o identificar la misma variante en otro individuo con MCD.

(3) identificación de una VSI, es decir, una variante sobre la que no hay información concluyente que permita definirla como patogénica o como una variante rara no asociado con la enfermedad. Hoy en día estas variantes no tienen utilidad diagnóstica.

(4) identificación de una variante benigna, en la que se encuentra una variante que no esta asociada con la enfermedad y que puede estar presente en la población general.

(5) resultado negativo.

Es importante destacar que la identificación de una variante benigna o un resultado negativo no descarta el origen genético del cuadro, pues el defecto podría encontrarse en un gen o fragmento del mismo no incluido en el panel analizado, o en un gen que no ha sido descrito hasta la fecha.

1.3.5 Indicación de la realización de un estudio genético

De acuerdo con las recomendaciones que se siguen en la práctica clínica, tras el diagnóstico de MCD idiopática es importante determinar si se trata de una MCD esporádica o familiar. Con este fin, se debe indagar de forma estructurada sobre la historia familiar y elaborar un árbol familiar que incluya al menos tres generaciones^{76,98}. Se considera una MCD como familiar cuando dos o mas miembros de la misma familia cumplen los criterios de MCD o cuando el paciente índice (probando) cumple los criterios de MCD y un familiar de primer grado ha experimentado una muerte súbita (MS) cardiaca antes de los 35 años⁷⁵. Debido a las limitaciones inherentes a la realización del árbol familiar, así como a la penetrancia incompleta y expresión heterogénea de la MCD incluso en los miembros de una misma familia, las guías de práctica clínica recomiendan el estudio clínico dirigido a los familiares de primer grado de un paciente con MCD

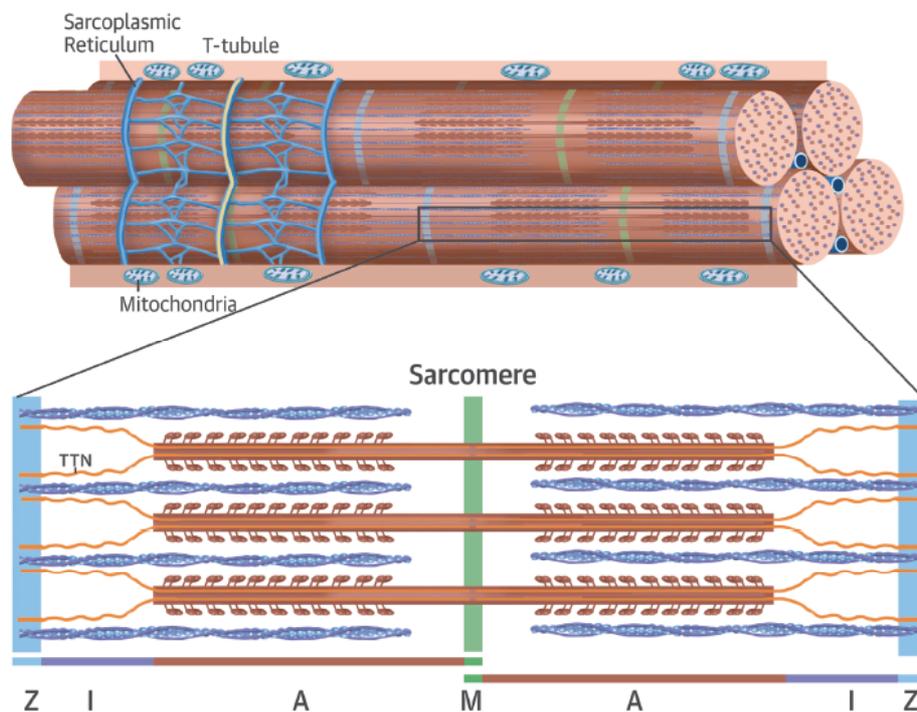
idiopática, que incluya ECG y ecocardiograma, pues puede llevar al diagnóstico de MCD familiar hasta en el 20-35% de los casos⁷⁵.

La indicación de un estudio genético dirigido a identificar la mutación causal en un individuo con MCD familiar está hoy en día claramente establecida^{75,98,99}. Sin embargo, en los casos de MCD idiopática esporádica la indicación de estudio genético sigue siendo controvertida. Las guías de práctica clínica de las sociedades europea y americana de cardiología no recomiendan el estudio genético sistemático en los pacientes con MCD idiopática esporádica, salvo si presentan otros hallazgos clínicos particulares que orienten hacia una etiología genética específica como trastornos de la conducción, debilidad muscular o valores de CK elevados en analítica o historia familiar de MS^{51,75,99}. Por su parte, las guías del Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG, por sus siglas en inglés) recomiendan testar en general a los individuos con MCD esporádica y ponen en valor la utilidad de su resultado para ofrecer el estudio en cascada de los familiares en riesgo^{75,98}. En la actualidad, el interés creciente de los clínicos por entender los mecanismos genéticos de la MCD, así como la mayor disponibilidad de estudios genéticos que permiten estudiar paneles grandes de genes en un corto periodo de tiempo y a un menor costo, favorece la realización de estudios genéticos en todos los pacientes con MCD idiopática, lo cual resultará en una mayor detección de mutaciones causales tanto en casos familiares como esporádicos¹⁰⁰.

1.3.6 Titina "

La titina es la proteína mas grande del cuerpo humano y la tercera proteína mas abundante del músculo estriado, cardiaco y esquelético. Se localiza en el interior de los sarcómeros y se encarga de mantener su arquitectura al permitir el correcto alineamiento de los miofilamentos de actina y miosina (figura 5)^{73,101}.

Figura 5. Representación de la titina y su localización en el sarcómero. Tomado de Burke et al.⁵².



Dos moléculas de titina con cerca de $2\mu\text{m}$ de largo se extienden desde la línea Z hasta la línea M del sarcómero. La titina abarca cuatro zonas diferenciadas, por lo que tradicionalmente es dividida en cuatro regiones distintas designadas respectivamente como región de la línea M, de la banda A, de la banda I y de la línea Z.

Las mutaciones en *TTN* fueron reconocidas como causa de MCD a comienzos de los años " 2000¹⁰², sin embargo, debido a su gran tamaño, no podía ser secuenciado mediante técnica de Sanger. Gracias a la técnica NGS en el año 2012 se pudo conocer su verdadero papel en esta entidad, con la identificación de variantes de tipo truncamiento en el gen *TTN* (*TTNvt*) en el 25% de los casos de MCD familiar y en el 18% de los casos esporádicos⁷³. Series posteriores han confirmado estos hallazgos¹⁰³ y en la actualidad se identifican *TTNvt* en un 11% a 22% de los pacientes con MCD, confirmando que las mutaciones en *TTN* son una de las principales causas de MCD^{72,74}. Sorprendentemente, en varios de estos estudios se ha observado una frecuencia de *TTNvt* de entre el 1% y el 3% en individuos sanos de la población general, generando un debate sobre la verdadera patogenicidad de estas mutaciones^{101,104}.

La interpretación de las variantes identificadas en la *TTN* mediante NGS es un desafío ¹⁰³⁻¹⁰⁵. Además de los criterios clásicos para clasificar una variante genética como patogénica (tabla 6) ⁹⁷, la patogenicidad de las mutaciones en *TTN* está determinada por los exones afectados y por la localización de la variante dentro del gen (distancia de la *TTNvt* hasta la región N-terminal de la titina). De esta manera, las mutaciones asociadas a MCD se localizan más frecuentemente en la Banda-A, comparado con otras regiones^{74,103,105,106}. Por otra parte, las *TTNvt* que afectan aquellos exones constitutivos de la proteína (es decir, exones con un gran porcentaje de expresión en la proteína, representado por una proporción de empalme [PSI] >90%) y que se expresan en todas las isoformas de la titina, se asocian al desarrollo de MCD, independientemente de la posición.

1.3.7 MCD como resultado de la interacción entre genes y medio ambiente

En la actualidad, la MCD se entiende como una entidad multifactorial, que resulta de una compleja interacción entre factores genéticos y factores medioambientales^{88,107}. Así, para el desarrollo de algunas formas de MCD sería necesaria la actuación de factores ambientales lesivos sobre un miocardio genéticamente susceptible. Uno de los principales ejemplos de esta interacción es la MCD periparto. Además de tratarse de una entidad con predisposición familiar¹⁰⁸, el estudio genético mediante NGS de 172 pacientes con MCD periparto demostró una prevalencia de TTNvt del 10%, que afectaban fundamentalmente a la banda A de la titina, similar a lo observado en otras cohortes de MCD. La presencia de estas variantes podría contribuir a la patogénesis de esta forma de MCD, con el estrés asociado al embarazo actuando como un modificador ambiental, necesario para su desarrollo^{109,110}. Otro ejemplo es la MCD alcohólica, una forma de MCD asociada al consumo excesivo y prolongado de alcohol. Los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a la toxicidad cardíaca del alcohol no son del todo conocidos, la susceptibilidad individual es muy variable y no todas las personas con un consumo patológico de alcohol desarrollarán una MCD alcohólica^{62,111}. Variantes genéticas asociadas a MCD, principalmente TTNvt, se observan más frecuentemente en pacientes con miocardiopatía alcohólica que en la población general (13.5% vs. 2.9%; $p=1.2 \times 10^{-5}$), lo que sugiere que estas variantes confieren mayor susceptibilidad del miocardio al efecto cardiotóxico del alcohol¹¹². Son necesarios más estudios para confirmar estos hallazgos y para comprender la interacción entre los factores genéticos y medio ambientales en cada individuo, así como su impacto en la forma de presentación y pronóstico.

2 OBJETIVOS DEL ESTUDIO

2.1 Objetivo principal:

Evaluar si la presencia de variantes raras en un grupo de genes asociados con la MCD están asociadas al riesgo individual de desarrollar MCDQ.

2.2 Objetivos concretos:

1. Realizar una caracterización clínica y genética de una cohorte de pacientes con MCDQ.
2. Determinar la prevalencia de variantes raras en genes asociados a MCD en una cohorte de pacientes con MCDQ.
3. Evaluar el impacto de la presencia de mutaciones en el curso clínico y pronóstico de los pacientes con MCDQ.

3 HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis conceptuales:

- En muchos casos, la aparición de una MCDQ no parece explicarse exclusivamente por los factores de riesgo clásicos establecidos, lo que sugiere que existen otros determinantes no identificados que explican la variabilidad en la susceptibilidad individual.
- La presencia de mutaciones en genes asociados a MCD podría ser un modulador del riesgo individual de desarrollar MCD tras el tratamiento con quimioterapia. Esta aparecería como resultado de la interacción de los fármacos antitumorales como agentes ambientales “lesivos” y los factores de riesgo clásicos, sobre un miocardio genéticamente predispuesto.

3.2 Hipótesis operativas:

- El estudio genético de una cohorte de pacientes con MCDQ empleando técnicas modernas de ultrasecuenciación permitirá conocer la prevalencia de variantes raras en genes causales de MCD en esta entidad.
- La frecuencia de variantes raras identificadas en la cohorte de MCDQ será comparable a aquella encontrada en una cohorte de pacientes con MCD, y será superior a la encontrada en una cohorte de individuos sanos.

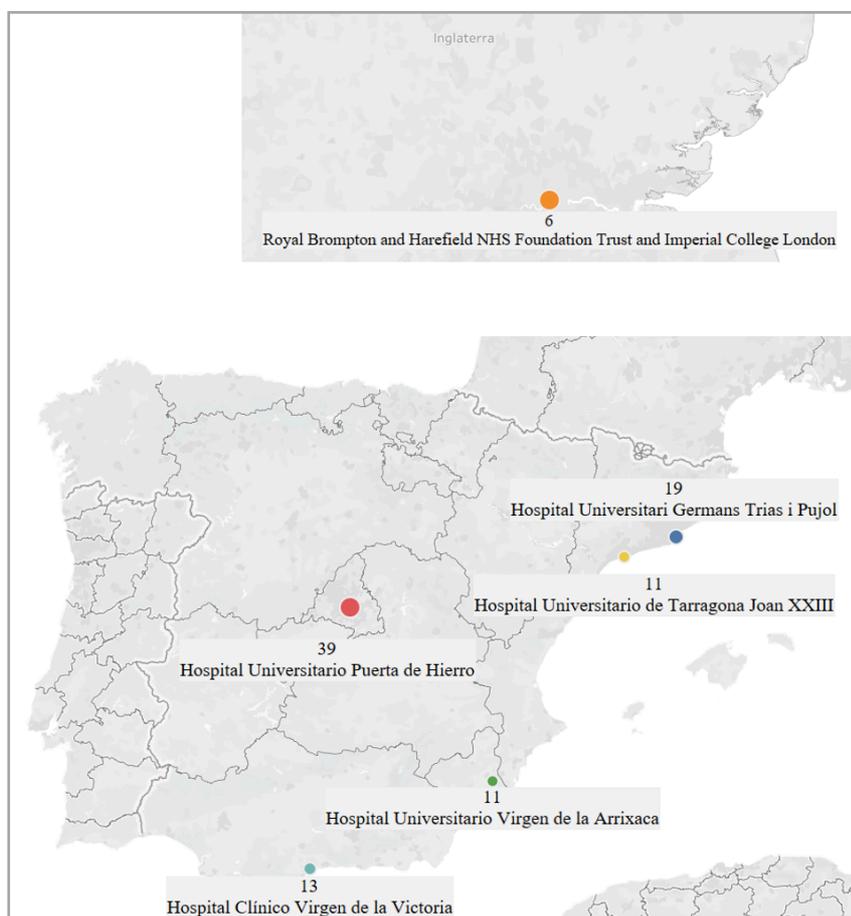
- La identificación de variantes raras en genes asociados a MCD podría " considerarse como un nuevo factor de riesgo que ayude en la estratificación del riesgo individual de los pacientes expuestos a quimioterapia.

4 PACIENTES Y MÉTODOS

4.1 Diseño del estudio

Estudio transversal multicéntrico descriptivo de las características clínicas y genéticas de 99 pacientes no emparentados con MCDQ, evaluados en unidades de insuficiencia cardiaca y trasplante cardíaco de 6 centros independientes, cinco españoles: Hospital Universitario Puerta de Hierro (Madrid), Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (Murcia), Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (Badalona), Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria (Málaga), Hospital Universitario Joan XXIII (Tarragona); y uno británico: Royal Brompton and Harefield NHS Foundation Trust and Imperial College London Londres.

Figura 6. Distribución de los pacientes por centro de origen.



Para conocer la contribución de la genética en la ocurrencia de la MCDQ, la prevalencia " de variantes raras encontradas en genes relacionados con MCD obtenida en la secuenciación genética de los pacientes con MCDQ, fue comparada con aquella encontrada en una cohorte de voluntarios sanos y en una cohorte independiente de pacientes con MCD.

Este estudio fue aprobado por el Comité ético del Hospital Universitario Puerta de Hierro (Majadahonda, Madrid) y por el Comité de ética en investigación del Sistema Nacional de Salud Británico y se ajustó a los principios éticos de la Declaración de Helsinki. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado.

4.2 Población de estudio

4.2.1 Cohorte de miocardiopatía dilatada inducida por quimioterapia

Selección de pacientes

Se incluyó de forma retrospectiva a los pacientes que cumplían criterios diagnósticos de MCDQ, independientemente de la presencia de síntomas. La MCDQ se definió como la caída en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) $\geq 10\%$ hasta un valor $<53\%$ en el ETT o $<50\%$ en la ventriculografía isotópica (MUGA), después de haber recibido tratamiento con quimioterapia y sin otras causas identificables, como enfermedad coronaria o condiciones de sobrecarga ventricular anormales (hipertensión arterial no controlada o enfermedad valvular primaria significativa)^{6,113}. Los pacientes que no tenían estudio de imagen cardíaca previo al tratamiento quimioterápico fueron incluidos si la FEVI al momento del diagnóstico era igual o inferior a 45% y no presentaban ninguna otra causa alternativa de disfunción ventricular, salvo la

quimioterapia. Se excluyeron los pacientes que habían tenido un consumo excesivo de " alcohol.

Recogida de datos

La información de los pacientes fue recogida de forma retrospectiva a partir de las historias clínicas, sin conocer los resultados del estudio genético. Se recogieron datos clínicos y los resultados de las pruebas realizadas antes del diagnóstico, en el momento del diagnóstico y en el último seguimiento. La información recogida incluyó:

- Presencia de factores de riesgo cardiovasculares clásicos (hipertensión arterial, dislipemia, diabetes mellitus y consumo de tabaco).
- Antecedentes familiares de cardiopatía y de MS en familiares de primer grado.
- Historia oncológica, que incluyó información sobre la neoplasia y estadio tumoral, el esquema y dosis de quimioterapia recibido, la administración de radioterapia y la historia oncológica previa y tratamientos recibidos en el pasado.
- Desde el punto de vista cardiológico la presencia de síntomas y clase funcional de la NYHA⁴¹, los resultados del ECG de 12 derivaciones, el ETT, y la ventriculografía isotópica (MUGA), el tratamiento específico de IC recibido por los pacientes y la incidencia de eventos adversos cardiovasculares en el seguimiento .

En el último seguimiento de la cohorte se analizó la recuperación de la FEVI, que fue definida como el aumento absoluto en la FEVI $\geq 5\%$ con una FEVI final $\geq 50\%$ o como un aumento de la FEVI hasta el valor previo al diagnóstico ¹¹⁴.

4.2.2 Cohorte de miocardiopatía dilatada

Esta cohorte estaba compuesta por 572 pacientes con MCD incluidos de forma prospectiva en el Biobanco Cardiovascular del Hospital Royal Brompton de Londres, entre 2009 y 2015. El diagnóstico de MCD fue confirmado con una RMC con realce tardío de gadolinio, basado en criterios establecidos de dilatación del VI y disminución de la FEVI según nomogramas ajustados en función de la edad y el sexo¹¹⁵, en ausencia de enfermedad coronaria conocida o condiciones anormales de sobrecarga ventricular, como se ha descrito previamente¹¹⁶. De los 572 casos estudiados genéticamente, un total de 364 fueron emparejados tanto técnicamente como por etnia con la cohorte del MCDQ y, por lo tanto, se utilizaron para realizar el análisis comparativo.

4.2.3 Cohorte de voluntarios sanos

Se reclutaron de forma prospectiva un total de 445 voluntarios sanos, de ascendencia europea, en el seno del proyecto “U.K. Digital Heart Project” (<https://digital-heart.org/>) llevado a cabo en el MRC London Institute of Medical Sciences, Imperial College de Londres¹⁰⁵. Todos los individuos, libres de enfermedad cardiovascular auto informada o antecedentes familiares de cardiopatía, fueron evaluados con una RMC para confirmar la ausencia de cardiopatía y se estudiaron genéticamente. Todos los casos se emparejaron técnicamente y por etnia con la cohorte de MCDQ y con la cohorte de MCD.

4.3 %Evaluación genética mediante técnicas de secuenciación masiva y análisis de las variantes

La secuenciación de los individuos con MCDQ, la cohorte de MCD y los voluntarios sanos se llevó a cabo utilizando el kit Illumina TruSight Cardio Sequencing¹¹⁷ secuenciado en las plataformas Illumina. Las variantes raras fueron definidas como aquellas que presentaban una un MAF en ExAC menor de 8.4×10^{-5} (el corte de frecuencia utilizado se describe en su totalidad en Whiffin et al ¹¹⁸). En el caso del gen que codifica la titina (*TTN*), el análisis fue restringido de forma adicional a variantes de truncamiento en exones expresados de forma constitutiva en el corazón¹⁰³.

Para conocer la prevalencia de variantes raras en las cohortes se llevaron a cabo dos análisis de prevalencia. En el primer análisis, examinamos la prevalencia de variantes raras en nueve genes específicos sólidamente asociados con MCD (*TTN*, *DSP*, *MYH7*, *LMNA*, *TTNT2*, *TCAP*, *SNC5A*, *BAG3*, *TNNC1*), y limitado al tipo de variantes en las que se ha demostrado previamente una asociación fuerte con el desarrollo de MCD en estudios de prevalencia de grandes cohortes de pacientes^{86,96,119} (Tabla 7).

En el segundo análisis, ampliamos el análisis a un grupo mas grandes de genes específicos asociados con MCD incluidos en el kit TruSight Cardio (49 en total, tabla 8).

Tabla 7. Genes sólidamente asociados con MCD y tipos de variantes incluidas en el primer análisis.

Gen	No truncamiento	Truncamiento	ID de transcripción
<i>BAG3</i>	SI	SI	ENST00000369085
<i>LMNA</i>	SI	SI	ENST00000368300
<i>TCAP</i>	SI	SI	ENST00000309889
<i>TNNC1</i>	SI	SI	ENST00000232975
<i>TNNT2</i>	SI	SI	ENST00000367318
<i>DSP</i>	NO	SI	ENST00000379802
<i>SCN5A</i>	NO	SI	ENST00000333535
<i>TTN</i>	NO	SI	ENST00000589042
<i>MYH7</i>	SI	NO	ENST00000355349

Tabla 8. Listado completo de los genes incluidos en el segundo análisis. En negrita los 9 genes predefinidos asociados sólidamente con MCD.

*ABCC9, ACTC1, ALMS1, ANKRD1, **BAG3**, CAV3, CRYAB, CSRP3, DES, DMD, DNAJC19, DSG2, **DSP**, DTNA, EMD, EYA4, FKRP, FKTN, FXN, HADHA, HFE, ILK, LAMA2, LAMA4, LAMP2, LDB3, **LMNA**, MYBPC3, MYH6, **MYH7**, NEXN, PDLIM3, PLN, RBM20, **SCN5A**, SDHA, SGCB, SGCD, SGCG, TAZ, TBX20, **TCAP**, TMPO, **TNNC1**, TNNI3, **TNNT2**, TPM1, **TTN**, VCL*

Finalmente se comparó la prevalencia de variantes raras encontradas en la cohorte de MCDQ, con la de una cohorte de pacientes con MCD y una de individuos sanos, emparejados tanto técnicamente (panel TruSight Cardio y plataforma NextSeq, ambos de Illumina) como por grupo étnico (autoinformado caucásico, confirmado por análisis PCA, ver Anexo 1).

4.4 Estudio familiar

Se ofreció evaluación clínica y genética a todos los familiares mayores de 16 años de los pacientes con MCDQ portadores de variantes raras documentadas. Todos recibieron previamente consejo genético. El estudio clínico incluyó anamnesis, exploración física, ECG de 12 derivaciones y ETT. La muestra para el estudio genético fue de sangre. El análisis de las muestras de los familiares se realizó mediante técnica de Sanger. Todos los familiares firmaron consentimiento informado. El screening familiar se consideró positivo si uno o más parientes tenían MCD y presentaban el mismo defecto genético que el caso índice.

4.5 Análisis estadístico

Las variables numéricas se expresaron como media \pm desviación estándar. Las variables discretas se expresan como porcentaje. Los análisis de cohortes y subgrupos y las comparaciones con los datos genómicos de los voluntarios sanos y los individuos con MCD se realizaron mediante la prueba de Chi cuadrado o la prueba exacta de Fisher. Para los datos numéricos utilizamos la prueba U-Mann Whitney. Los análisis de supervivencia se realizaron mediante el método de Kaplan-Meier y se empleó la prueba de log-rank para

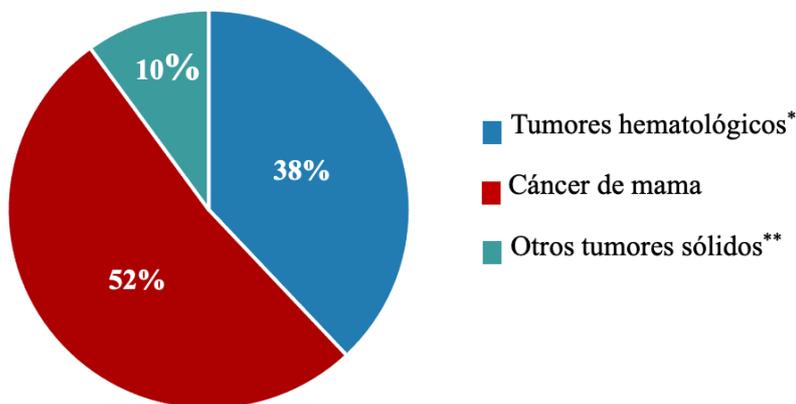
la comparación. El evento final se definió como muerte cardíaca o trasplante de corazón. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Todo el análisis estadístico fue realizado con el paquete Stata SE (versión 14, StataCorp, College Station, Texas).

5 RESULTADOS

5.1 Características clínicas de la cohorte de MCDQ

La cohorte del estudio incluyó un total de 99 pacientes (33% varones), con varios tipos de enfermedades tumorales, siendo el cáncer de mama la más frecuente (n=51), seguido por los tumores hematológicos (n=38) y otros tumores sólidos (n=10). La totalidad de la cohorte era de raza caucásica.

Figura 7. Distribución de las neoplasias en la cohorte.



* Los tumores hematológicos incluyeron Linfoma Hodgkin (n=5), Linfoma no Hodgkin (n=25), Mieloma (n=2) y Leucemias (n=6). ** Carcinoma renal (n=2), Nefroblastoma (n=1), Sarcoma de Ewing (n=3), Leiomioma uterino (n=1), Carcinoma de endometrio (n=1), rhabdomyosarcoma paratesticular (n=1) y Cáncer testicular (n=1).

El 91% de los pacientes recibieron esquemas de tratamiento antineoplásico que incluían antraciclina. La edad media de los pacientes en el momento que recibieron el tratamiento antineoplásico fue de 48.7 ± 17.1 años. Después de normalizar la dosis de antraciclina¹²⁰, la dosis equivalente acumulada media recibida por la cohorte fue de 300.7 ± 153.2 mg/m²

y el 93.9% de la cohorte recibió una dosis acumulada inferior a 400 mg/m² (en 7 casos no fue posible conocer la dosis total de antraciclina administrada). El 20% de los pacientes recibió tratamiento con anticuerpos antiHER2 (trastuzumab). En 3 pacientes el esquema de quimioterapia incluía un fármaco inhibidor de la tirosin cinasa junto con un fármaco anti-mTOR (en uno de los casos asociado a antraciclina). En la tabla 9 se detallan los esquemas de quimioterapia recibidos por los 8 pacientes que no estuvieron expuestos a antraciclina.

Tabla 9. Detalle del tratamiento antineoplásico en pacientes no expuestos a antraciclina.

Neoplasia	Tratamiento
Otros tumores sólidos (Cáncer renal)	Sorafenib, Everolimus y Sunitinib
Cáncer de mama	Docetaxel y Trastuzumab
Otros tumores sólidos (Cáncer testicular)	Cisplatino, Etopósido y Bleomicina
Cáncer de mama	Pertuzumab, Trastuzumab y Docetaxel
Cáncer de mama	Paclitaxel y Trastuzumab
Cáncer de mama	Docetaxel, Carboplatino y Trastuzumab
Cáncer de mama	Docetaxel, Ciclofosfamida y Trastuzumab
Otros tumores sólidos (Cáncer renal)	Sunitib y Everolimus

Se evaluó la presencia de factores de riesgo clásicos asociados a la aparición de MCDQ. Un total de 8 pacientes (8%) recibieron el tratamiento de quimioterapia antes de los 16 años. El 67% de los pacientes eran mujeres, con tratamiento predominante para el cáncer de mama. El 33% de los pacientes eran fumadores o habían fumado alguna vez en su

vida, el 29% eran hipertensos, el 27% tenían hipercolesterolemia y el 20% estaban recibiendo tratamiento para diabetes mellitus. El 27% de los pacientes había recibido radioterapia en el tórax y el 5% en el mediastino. Al indagar sobre los antecedentes familiares de cardiopatía, 3 pacientes reportaban antecedentes, pero en ningún caso se pudo comprobar el tipo de cardiopatía subyacente.

La edad media en el momento del diagnóstico de la MCDQ fue de 53.91 ± 15.02 años. La mediana de tiempo transcurrido entre la administración del tratamiento cardiotóxico y el diagnóstico de MCDQ fue de 3 años [p25 - p75; 1-9 años] con 37 pacientes diagnosticados con un lapso superior a 5 años.

En 31 pacientes se contaba con prueba de imagen cardiaca previo al inicio de la quimioterapia (ETT o ventriculografía isotópica), con una FEVI media del $62.09 \pm 5.35\%$.

El diagnóstico de MCDQ se llevó a cabo en la mayoría de los pacientes con ETT y solo en 6 casos mediante ventriculografía isotópica. La FEVI media de la cohorte en el momento del diagnóstico por las dos técnicas fue de $33.01 \pm 10\%$. De acuerdo con los criterios de inclusión, los 68 pacientes en los que no se disponía de prueba de imagen basal presentaban una FEVI al diagnóstico menor o igual al 45% (FEVI media de $29.95 \pm 8.58\%$). La caída media de la FEVI en los 31 pacientes restantes fue de $22.38 \pm 9.21\%$.

En relación con la presencia y severidad de los síntomas, al indagar sobre la clase funcional de la NYHA, el 90% de los pacientes afirmaba encontrarse en una clase funcional I-II antes de recibir el tratamiento para el cáncer. En el momento del diagnóstico de la MCDQ, 44 pacientes se presentaron con una clase funcional III-IV de la NYHA.

Un total de 9 pacientes (9%) presentaban fibrilación auricular en el ECG del momento del diagnóstico, y catorce (14%) un bloqueo de rama izquierda.

Tras un seguimiento medio de 4 años desde el diagnóstico, la mitad de los pacientes (50%) presentaron una recuperación de la FEVI. La fracción de eyección media por ambas técnicas en último seguimiento fue de $47.32 \pm 13.20\%$. El 47% de la cohorte tuvo algún ingreso hospitalario por IC descompensada y el 21% presentaba una clase funcional avanzada (NYHA III-IV) en el último seguimiento. Nueve pacientes (9%) presentaron algún episodio de arritmia ventricular y en 7 pacientes (7%) se reportó un episodio de MS recuperada. Del total de la cohorte, 9 pacientes recibieron un trasplante cardiaco (9%). Cinco pacientes fallecieron a lo largo del seguimiento: 3 de ellos por progresión de IC y 2 de ellos por una causa no cardiaca.

Las características basales, en el diagnóstico y al final del seguimiento de la totalidad de la cohorte se resumen en el anexo 2.

5.2 Resultados genéticos

5.2.1 Prevalencia de variantes raras en la cohorte de MCDQ

Evaluamos la prevalencia de variantes raras en 9 genes sólidamente asociados con el desarrollo de MCD en la cohorte de pacientes con MCDQ. Entre los 99 individuos con MCDQ, se identificaron 15 portadores de 15 variantes raras que afectan un total de 4 genes distintos (Tabla 10). El gen mas frecuentemente afectado fue la titina (*TTN*) en el que se identificaron un total de 10 variantes de truncamiento (*TTN*vt). Todas las variantes eran nuevas (no descritas previamente en cohortes de MCD, voluntarios sanos o el

ExAC). Las TTNvt se distribuían a lo largo del gen, con un agrupamiento en la banda A de la proteína (7 de las 10 variantes) y afectaban exones ampliamente expresados en las distintas isoformas de la proteína (todas con una proporción de empalme [PSI] >90%) (tabla 11). Las TTNvt descritas previamente en cohortes de MCD comparten estas mismas características^{73,103}. De acuerdo con las normas actuales de interpretación de variantes del ACMG⁹⁷ todas las TTNvt identificadas se clasificaron como VPP.

Las otras 5 variantes raras identificadas afectan a genes asociados con MCD (3 en *MYH7*, 1 en *BAG3* y 1 en *TCAP*), son variantes de tipo missense, descritas previamente y según las normas actuales de interpretación del ACMG⁹⁷ se clasificaron como VSI.

5.2.2 " Análisis de las prevalencias de variantes raras en la cohorte de MCDQ, MCD y voluntarios sanos

Con el fin de conocer la contribución de las variantes raras en este grupo de genes predefinidos en el desarrollo de la MCDQ, se comparó su prevalencia en esta cohorte, con la observada en una cohorte de pacientes con MCD y de voluntarios sanos (Tabla 12). La prevalencia de variantes raras en los pacientes con MCDQ (15.1%) fue significativamente mayor que la observada en los voluntarios sanos (2.9%, $p < 0.01$) pero similar a la observada en una cohorte de individuos con MCD (19.7%, $p = 0.8$). Al analizar por separado la prevalencia de TTNvt se observó que esta no era diferente a la observada en pacientes con MCD (10% vs 12.2% respectivamente, $p = 0.72$) pero era significativamente más alta que la encontrada en los voluntarios sanos (10% vs 0.7% respectivamente, $p = 4.7 \times 10^{-6}$).

Tabla 10. Variantes raras identificadas en los 9 genes predefinidos en la cohorte de pacientes con MCDQ. #

Gen	Posición genómica	HGVSc	HGVSp	Consecuencia	ExAC AF	Clase ACMG*	Normas ACMG
<i>BAG3</i>	chr10:121436477	c.1411G>A	p.Glu471Lys	Variante missense	< 0.000084	VSI	PM2
<i>MYH7</i>	chr14::23897001	c.1681G>A	p.Ala561Thr	Variante missense	< 0.000020	VSI	BP4, PM2, PM1
<i>MYH7</i>	chr14:23884256	c.5507C>T	p.Ser1836Leu	Variante missense	0.000049	VSI	PP3
<i>MYH7</i>	chr14:3887443	c.4145G>A	p.Arg1382Gln	Variante missense	< 0.000020	VSI	PM2
<i>TCAP</i>	chr17:37822246	c.388C>T	p.Arg130Cys	Variante missense	< 0.000040	VSI	PM2, PP2, PP3
<i>TTN</i>	chr2:179414849	c.91715dupA	p.Asn30572LysfsTer16	Variante frameshift	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179432234	c.78625G>T	p.Glu26209Ter	Stop gained	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179410112	c.95722+2delT	-	Variante splice donor	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2

<i>TTN</i>	chr2:179446855	c.66240delA	p.Asp22081MetfsTer31	Variante frameshift	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179399704	c.101638G>T	p.Glu33880Ter	Stop gained	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179400742	c.100731dupA	p.Ser33578IlefsTer15	Variante frameshift	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179428124	c.82734dupA	p.Val27579SerfsTer15	Variante frameshift	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179425091	c.85768C>T	p.Arg28590Ter	Stop gained	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179604819	c.13141G>T	p.Glu4381Ter	Stop gained	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2
<i>TTN</i>	chr2:179631116	c.9693_9694delCT	p.Tyr3232CysfsTer5	Variante frameshift	< 0.000040	PP	PVS1_strong, PM2

*La clase de la ACMG⁹⁷ se determinó usando CardioClassifier¹²¹ seguido de revisión manual de segregación, datos funcionales y de novo de la literatura y ClinVar. PP: Probablemente patológico, VSI: variante de significado incierto

Tabla 11. Resumen de las variantes de truncamiento en *TTN* identificadas en la cohorte de MCDQ. #

Variante	Consecuencia	Banda de la <i>TTN</i>	Exón afectado	PSI del exón afectado	Tipo de cáncer	Quimioterapia	FEVI en el diagnóstico (cambio)	FEVI final	Seguimiento (años)	Eventos adversos
chr2:179400742 c.100731dupA	Frameshift (p.Ser33578IlefsTer15)	A	358	0.99	Mama	Doxorrubicina + Trastuzumab	37% (24%)	43%	4	TV, Hospitalización por IC
chr2:179446855 c.66240delA	Frameshift (p.Asp22081MetfsTer31)	A	316	0.86	Sarcoma óseo	Doxorrubicina	25%	9%	6	MSR, TC, Hospitalización por IC
chr2:179432234 c.78625G>T	Nonsense (p.Glu26209X)	A	327	0.95	Linfoma No Hodgkin	Doxorrubicina	34%	28%	3	Hospitalización por IC
chr2:179428124 c.82734dupA	Frameshift (p.Val27579SerfsTer15)	A	327	0.95	Linfoma No Hodgkin	Doxorrubicina	29%	34%	2	Ninguno
chr2:179425091 c.85768C>T	Nonsense (p.Arg28590X)	A	327	0.95	Mama	Doxorrubicina	35%	31%	2	TV, TC
chr2:179410112 c.95722+2delT	Splicing	A	345	0.99	Endometrio	Doxorrubicina	20%	37%	5	Hospitalización por IC

Chr2: 179414849A>AT c.91715dupA	Frameshift (p.Asn30572fs)	A	338	0.95	Mama	Epirubicina	42%	53%	5	Hospitalización por IC
chr2:179604819 c.13141G>T	Nonsense (p.Glu4381X)	I	49	0.95	Mama	Doxorrubicina	31% (30%)	55%	6	Hospitalización por IC
chr2:179631116 c.9693_9694delCT	Frameshift (p.Tyr3232CysfsTer5)	I	41	1	Mama	Epirubicina	45%	51%	6	Hospitalización por IC
chr2:179399704 c.101638G>T	Nonsense (p.Glu33880X)	M	359	1	Mama	Epirubicina	30%	27%	14	Hospitalización por IC

PSI: proporción de empalme, FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, MCDQ: miocardiopatía por quimioterapia, TV: taquicardia ventricular, IC: insuficiencia cardiaca, MSR: muerte súbita recuperada, TC: trasplante cardiaco.

Tabla 12. Análisis de la prevalencia de variantes raras en 9 genes predefinidos en la cohorte de miocardiopatía por quimioterapia, miocardiopatía dilatada y voluntarios sanos.

	MCDQ (n=99)	MCD (n=364)	Voluntarios sanos (n=445)	MCDQ vs MCD*	MCDQ vs Voluntarios sanos*	MCD vs Voluntarios sanos*
<i>BAG3</i>	1 (1.0%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	0.38	0.45	1
<i>DSP</i>	0 (0.0%)	3 (0.8%)	0 (0.0%)	1	n/d	0.091
<i>LMNA</i>	0 (0.0%)	6 (1.6%)	1 (0.2%)	0.35	1	0.05
<i>MYH7</i>	3 (3.0%)	12 (3.3%)	6 (1.3%)	1	0.21	0.091
<i>SCN5A</i>	0 (0.0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
<i>TCAP</i>	1 (1.0%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	0.38	0.18	0.45
<i>TNNC1</i>	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	n/d	n/d	n/d
<i>TNNT2</i>	0 (0.0%)	6 (1.6%)	0 (0.0%)	0.35	n/d	0.0082
<i>TTN</i>	10 (10.0%)	44 (12.1%)	3 (0.7%)	0.72	4.7e-06	6.2e-13
Todos los genes excepto <i>TTN</i>	5 (5.1%)	29 (7.9%)	10 (2.2%)	0.39	0.16	0.0002
Todos los genes	15 (15.1%)	72 (19.7%)	13 (2.9%)	0.38	0.0000	2.5e-15

MCDQ: miocardiopatía dilatada por quimioterapia, MCD: miocardiopatía dilatada; n/d: no disponible. * Valores de p calculados usando test exacto de Fisher.

Extendimos este análisis para incluir otros 40 genes relacionados con el desarrollo de # miocardiopatías⁹⁶. Se identificaron un total de 59 variantes raras en 44 pacientes con MCDQ, que afectan un total de 23 genes: 14 variantes de truncamiento (10 en el gen *TTN*, 3 en *ALMS1* y 1 en *SDHA*) y 45 variantes no truncantes. La prevalencia de variantes raras en la cohorte de MCD (44%) fue significativamente mayor que la observada en los voluntarios sanos (32%, p=0.026) y similar a la observada en los pacientes con MCD (38.4%, P=0.73) (tabla 13 y anexos 3 y 4).

Tabla 13. Análisis de la prevalencia de variantes raras en 49 genes asociados a miocardiopatía, en la cohorte de miocardiopatía por quimioterapia, miocardiopatía dilatada y voluntarios sanos.

Gen	MCDQ (n=99)	MCD (n=364)	Voluntarios sanos (n=445)	MCDQ vs MCD*	MCDQ vs Voluntarios sanos*	MCD vs Voluntarios sanos*
TTNvt	10 (10.1%)	44 (12.1%)	3 (0.7%)	0.72	4.7e-06	6.2e-13
Todos los genes excepto <i>TTN</i>	37 (37.4%)	140 (38.4%)	141 (31.7%)	0.91	0.29	0.054
Todos los genes	44 (44.4%)	170 (46.6%)	144 (32.4%)	0.73	0.026	4.8e-05

MCDQ: miocardiopatía dilatada por quimioterapia, MCD: miocardiopatía dilatada; n/d: no disponible. * Valores de p calculados usando test exacto de Fisher.

5.3 Características clínicas y pronóstico de la cohorte con MCDQ de acuerdo con el resultado del estudio genético

Se compararon las características clínicas de los pacientes con MCDQ portadores de variantes raras en los 9 genes predefinidos y de TTNvt con respecto a los pacientes con un estudio genético negativo. No se observaron diferencias en el sexo ni en la presencia de factores de riesgo cardiovasculares. La historia familiar de MCD y de MS fue baja en los tres grupos. Tampoco se observaron diferencias en los esquemas de tratamiento recibidos por los grupos, en la dosis media de antraciclinas ni en la edad al inicio del tratamiento. La prevalencia de variantes raras en los pacientes que recibieron el tratamiento antes de los 16 años (2 de 8, 11%) no fue diferente a la observada en pacientes tratados a una edad mayor (15 de 91, 15%; $p=0.62$). La FEVI en el momento del diagnóstico entre los casos que eran portadores de variantes raras o TTNvt, con respecto a los no portadores era comparable (tabla 14).

Tabla 14. Características clínicas basales y en el diagnóstico de los pacientes con miocardiopatía por quimioterapia de acuerdo con el resultado del estudio genético.

	Genotipo negativo (n=84)	Portador de TTNvt (n=10)	Valor p*	Portador de variante rara (n=15)	Valor p*
Varones	29 (34.5)	2 (20)	0.65	4 (26.6)	0.76
Historia familiar de cardiopatía	2 (2.4)	1 (10)	0.39	1 (6.6)	0.39
Historia familiar de MS	3 (3.6)	1 (10)	0.48	1 (6.6)	0.48
Comorbilidades					
Tabaco actual o en el pasado	31 (36.9)	2 (20)	0.20	2 (13.3)	0.08
Hipertensión arterial	26 (30.9)	3 (30)	0.62	3 (21.4)	0.54
Hipercolesterolemia	21 (25)	5 (50)	0.18	6 (42.8)	0.2
Diabetes mellitus	18 (21.4)	2 (20)	0.86	2 (14.2)	0.72
Tratamiento oncológico					
Edad al inicio de la QT, años	49 ± 17	54 ± 8	0.4	46 ± 17	0.6
Exposición a antraciclinas	76 (90.4)	10 (100)	0.73	15 (100)	0.6
Exposición a anti-HER2	19 (22.9)	1 (10)	0.56	1 (6.6)	0.29
Dosis acumulada de antraciclinas [#] , mg/m ²	271 ± 182	302.4 ± 75.6	0.43	290 ± 72.3	0.40
FEVI pre-quimioterapia [¶] , %	62.25 ± 5.61	61	0.85	60.6 ± 0.57	0.7
En el diagnóstico de MCDQ					
Edad, años	54.34 ± 14.86	58.4 ± 6.23	0.10	51.5 ± 16.19	0.53

FEVI, %	33.01 ± 10.32	32.8 ± 7.5	0.97	33 ± 8.1	0.84
DTDVI, mm	57.84 ± 5.87	54.5 ± 7.9	0.30	54 ± 6.8	0.12
Fibrilación auricular en ECG	73 (87.9)	7 (70.0)	0.30	12 (80.0)	0.52
BRI en ECG	7 (8.4)	2 (20.0)	0.30	2 (13.3)	0.52
NYHA III-IV	37 (44)	6 (66)	0.2	7 (50)	0.77

Datos expresados como número total (%) o media ± desviación estándar. TTNvt: variante de truncamiento en el gen de la titina; MS: muerte súbita; QT, quimioterapia; HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; MCDQ: miocardiopatía dilatada por quimioterapia; DTDVI: diámetro tele diastólico del ventrículo izquierdo; BRI: bloqueo de rama izquierda; NYHA: New York Heart Association. * Valores de p calculados usando la prueba exacta de Fisher para variables categóricas y Kruskal–Wallis test para las variables continuas. #Dosis normalizada de antraciclinas¹²⁰. ¶ FEVI previa a quimioterapia disponible en 31 pacientes.

Al final del seguimiento, el 50% de los pacientes habían recuperado la FEVI, independientemente del resultado genético y no hubo diferencias detectables en las tasas de tratamiento neurohormonal recibido por los pacientes. Sin embargo, el valor de FEVI en el último seguimiento era más bajo en los pacientes portadores de una variante rara ($38.1 \pm 13.7\%$) y en los portadores de TTNvt ($36.8 \pm 14.2\%$) con respecto a aquellos no portadores ($49.0 \pm 12.5\%$; $p=0.007$ y $p=0.02$ respectivamente). Los pacientes portadores de TTNvt y cualquier variante rara presentaron más frecuentemente fibrilación auricular ($p=0.004$ y $p=0.001$, respectivamente) y los portadores de TTNvt presentaron un mayor número de ingresos hospitalarios por insuficiencia cardíaca ($p=0.02$). La frecuencia de arritmias ventriculares, MS recuperada, implante de desfibrilador automático implantable/dispositivo de resincronización cardíaca (DAI/RSC) o trasplante cardíaco fue comparable en los tres grupos (Tabla 15).

Tabla 15. Características clínicas en el seguimiento de los pacientes con miocardiopatía por quimioterapia de acuerdo con el resultado del estudio genético.

	Genotipo negativo (n=84)	Portador de TTNvt (n=10)	Valor p*	Portador de variante rara (n=15)	Valor p*
Duración seguimiento, años	4 (1 - 7)	4.5 (2 - 6)	0.72	5 (2 - 6)	0.44
Clase funcional NYHA III-IV	15 (18)	4 (40)	0.11	6 (40)	0.05
FEVI mas baja, %	31.12 ± 10.59	28.75 ± 7.9	0.67	28.33 ± 6.6	0.38
FEVI final, %	48.96 ± 12.48	36.8 ± 14.22	0.02	38.13 ± 13.7	0.007
Recuperación de la FEVI ¶	46 (54.7)	3 (30)	0.15	4 (26.6)	0.05
Bajo tratamiento neurohormonal‡	78 (92.9)	9 (100.0)	1	14 (100.0)	0.59
Fibrilación auricular	8 (9.5)	5 (50)	0.003	7 (46.6)	0.001
Arritmias ventriculares	6 (7.2)	2 (22)	0.14	3 (21.4)	0.11
Hospitalización por IC	38 (45.2)	8 (80)	0.05	9 (60)	0.4
Trasplante cardiaco	6 (7.2)	2 (20)	0.16	3 (20)	0.13
MS recuperada	4 (4.8)	1 (10)	0.02	3 (20)	0.06
Implante DAI/RSC	13 (15.4)	3 (30)	0.43	4 (26.6)	0.28
Muerte de origen cardiaco	2 (2.4)	0 (0)	0.17	1 (6.6)	0.39
Muerte por todas las causas	4 (4.7)	0 (0)	0.29	1 (6.6)	0.56

Datos expresados como número total (%) o media ± desviación estándar, excepto la # duración del seguimiento que se expresa como mediana (Q1-Q3). TTNvt: variante de # truncamiento en el gen de la titina; NYHA: New York Heart Association; FEVI, fracción

de eyección del ventrículo izquierdo; IC: insuficiencia cardíaca; MS: muerte súbita; DAI: desfibrilador automático implantable; RSC: resincronizador cardíaco.

* Valores de p calculados usando la prueba exacta de Fisher para variables categóricas y Kruskal–Wallis test para las variables continuas.

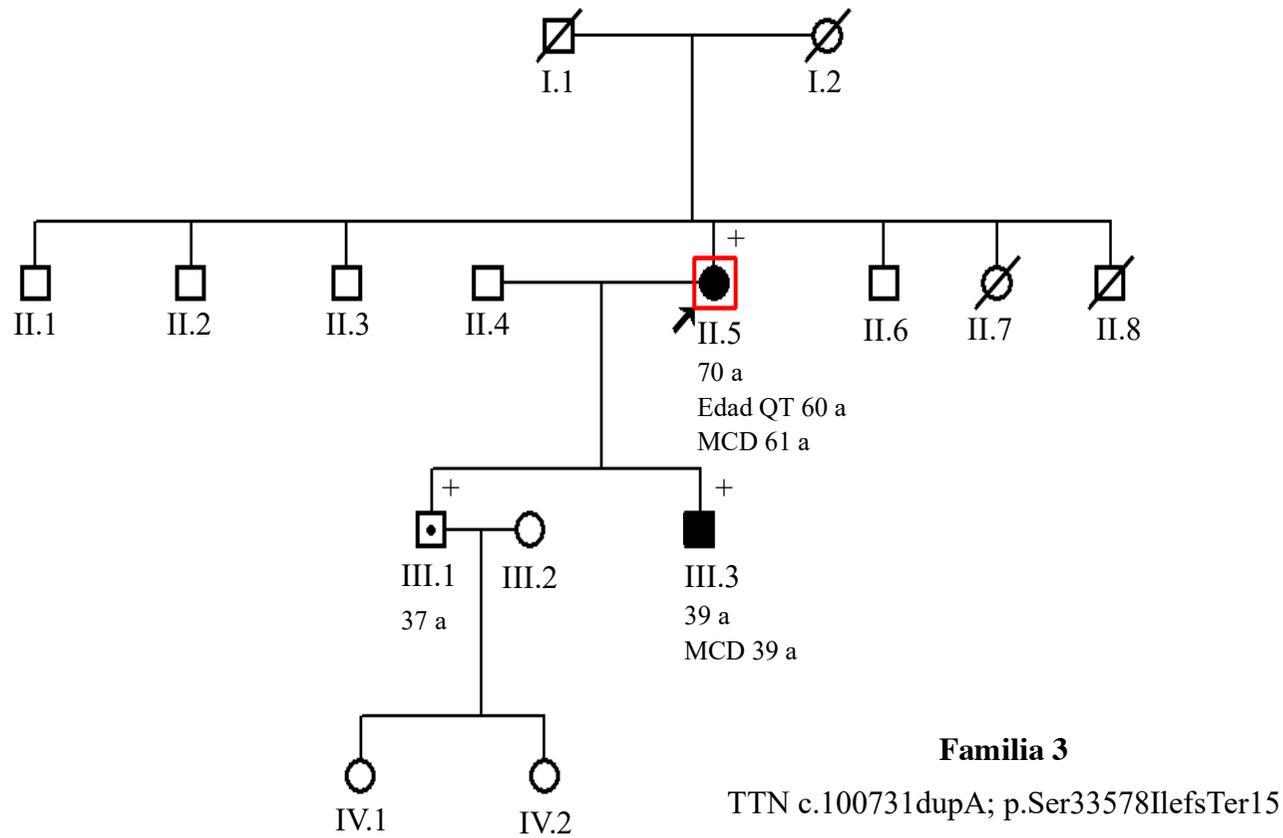
¶ La recuperación de la FEVI se definió como un aumento absoluto de la FEVI $\geq 5\%$ con una FEVI final $\geq 50\%$ (o un aumento de la FEVI hasta el valor previo al diagnóstico).

‡ Número de pacientes que estaban recibiendo al menos un fármaco betabloqueante, inhibidor de la enzima convertidora /antagonista de los receptores de angiotensina, o antagonista de los receptores de mineralocorticoides en el último seguimiento. Datos no disponibles en un paciente portador de TTNvt.

5.4 Evaluación familiar

Se realizó estudio clínico y genético en 11 familiares pertenecientes a 6 de las 15 familias con variantes raras identificadas en los 9 genes predefinidos. El estudio genético confirmó la presencia de la variante rara en 7 familiares (edad media 38 años, 5 varones), y un individuo portador de un TTNvt presentaba fenotipo de MCD en el ETT (varón de 39 años, con FEVI del 45% e historia de fibrilación auricular paroxística) (figura 8 y anexo 5).

Figura 8. Árbol familiar. Se demuestra cosegregación familiar de la variante de truncamiento identificada en TTN.



Los cuadrados y los círculos indican sujetos masculinos y femeninos, respectivamente. Los símbolos rellenos son los individuos afectados. Los símbolos que contienen un punto son portadores no afectados. Los símbolos +/- muestran la evaluación genética. + indica portador de TTNtv; - son no portadores. MCD: Miocardiopatía dilatada; QT: quimioterapia.

6 DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que evalúa si una predisposición genética para el desarrollo de MCD puede contribuir en la aparición de la MCDQ. Tras estudiar genéticamente una cohorte de pacientes con MCDQ, hemos demostrado una mayor prevalencia de variantes raras en genes sólidamente asociados con el desarrollo de MCD en los pacientes con MCDQ con respecto a controles sanos. El gen que codifica la proteína titina (*TTN*) es el más frecuentemente afectado, con una prevalencia de mutaciones de tipo truncamiento del 10%, similar a la descrita en la cohorte de MCD (12.1%, $P=0.7$) y muy por encima de lo observado en voluntarios sanos (0.7%, $p<0.001$). Estos hallazgos apoyan que existe una predisposición genética, particularmente la presencia de *TTN*vt, que aumenta la susceptibilidad individual al desarrollo de la MCDQ.

6.1 Bases genéticas de la MCDQ

La MCD es la segunda causa más común de IC (después de la cardiopatía isquémica) y la causa más habitual de trasplante cardíaco en el mundo⁵⁵. A pesar de las mejoras significativas alcanzadas en los últimos años en el manejo farmacológico y con dispositivos de estos pacientes, la MCD sigue teniendo una tasa de mortalidad a 5 años del 20%¹²². En los últimos años ha habido un gran interés por comprender los mecanismos fisiopatológicos subyacentes al desarrollo de la MCD, con el fin de establecer su historia natural, estratificar el riesgo de progresión y desarrollar nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas que puedan tener un gran impacto en el manejo y el pronóstico de los pacientes con IC asociada a MCD.

Uno de los campos con mayor progresión ha sido el de la genética molecular. La implementación de las técnicas de Secuenciación masiva (*Next generation Sequencing*,

NGS) ha permitido secuenciar el genoma humano de una forma rápida y asequible, y puede ser utilizada hoy en día tanto en investigación como en ámbitos clínicos^{75,88}.

Desde la llegada del NGS nuestra comprensión de las bases genéticas de la MCD ha mejorado notablemente, con un aumento en la identificación de nuevas variantes raras y genes vinculados con su desarrollo. En las últimas décadas se han identificado más de 40 genes asociados con MCD, que codifican un grupo heterogéneo de proteínas que participan en la generación, transmisión de la fuerza e integridad del sarcómero, en el mantenimiento de la arquitectura nuclear y del citoesqueleto y en la homeostasis electrolítica y mitocondrial^{58,75}. En la actualidad, un análisis con NGS consigue identificar una variante patogénica o posiblemente patogénica en entre el 15% al 25% de los pacientes con MCD esporádica y en entre el 20% al 40% de los casos con MCD familiar^{72,79,86,123}. Las mutaciones de truncamiento en *TTN* son la principal causa de MCD, y se identifican en cerca del 15% al 25% de todos los casos de MCD, incluidos pacientes con enfermedad ambulatoria y aquellos con IC avanzada^{52,103,106}.

En este estudio, el empleo de NGS permitió identificar una variante rara en el 15% de los pacientes con MCDQ (15 variantes raras en 99 pacientes), una prevalencia similar a la descrita en grandes cohortes clínicas de MCD^{79,123}. El gen más frecuentemente afectado en esta cohorte, al igual que en las cohortes clínicas de MCD, fue la *TTN*¹²⁴, con una prevalencia de *TTN*vt del 10% en esta cohorte (10 *TTN*vt en 99 pacientes). Es bien conocido que la patogenicidad de una *TTN*vt viene determinada en gran medida por las características del exón afectado y por la ubicación de la variante dentro de la proteína. Varios estudios han demostrado que las *TTN*vt en pacientes con MCD están

sobrerrepresentadas en la banda A de la proteína, en comparación con otras regiones. Además, variantes que alteran exones que se expresan ampliamente en las distintas isoformas de la proteína (con un porcentaje de empalme, PSI >90%) se asocian al desarrollo de MCD, independientemente de su posición en la proteína^{73,103,105}. Todas las TTNvt identificadas en la cohorte de MCDQ afectaban exones constitutivos cardiacos (todas con un PSI \geq 0.86%) y se agruparon fundamentalmente en la banda A de la titina (7 de las 10 variantes identificadas). Dado que el 10% de los pacientes con MCDQ comparten el mismo tipo de TTNvt que los pacientes con MCD, postulamos que existe una base genética compartida entre estas dos entidades.

En los últimos años se han realizado múltiples esfuerzos por identificar nuevos factores moduladores del riesgo individual de desarrollar una MCDQ, como puede ser la presencia de variantes genéticas, que permitan identificar a los pacientes mas vulnerables. Hasta la fecha se han llevado a cabo estudios de asociación genética, tanto con genes candidatos como con el genoma completo, que han permitido identificar algunas variantes genéticas comunes asociadas con la aparición de MCDQ³⁶. Estas variantes afectan a genes que codifican proteínas del sarcómero, enzimas como la topoisomerasa 2 y proteínas que participan en el transporte y metabolismo de los fármacos quimioterápicos. La posibilidad de que una predisposición genética para MCD pueda ser un factor de riesgo para la aparición de una MCDQ ha sido propuesta en varias series de casos y de familias que agrupaban individuos con MCD y con MCDQ, en las que además se identificaron variantes patogénicas en genes fuertemente asociados con MCD, como el *MYH7* y la *TTN*^{125–128}. Nuestro estudio es el primero que evalúa de forma sistemática, en una cohorte de pacientes no relacionados entre sí, la prevalencia de variantes patogénicas en genes sólidamente asociados con el desarrollo de MCD. Nuestros resultados apoyan que la

predisposición genética es un factor modulador de la susceptibilidad individual para la # aparición de una MCDQ y podría incluirse como un factor de riesgo emergente, que ayude en la estratificación de los pacientes antes de recibir un tratamiento con quimioterapia.

Además de las TTNvt, identificamos variantes raras en otros 2 genes asociados de forma sólida con el desarrollo de MCD (*MYH7*, *BAG3*) y en el gen *TCAP*, descrito aisladamente en casos de MCD y en una forma recesiva de distrofia muscular de Limb-Girdle^{129,130}. Si bien la prevalencia en esta cohorte es baja, una alteración en estas proteínas que tienen un papel fundamental en el correcto funcionamiento del cardiomicito podría aumentar el riesgo individual de un paciente para desarrollar una MCDQ. Serán necesarios más estudios para conocer la contribución de variantes en estos genes en esta entidad.

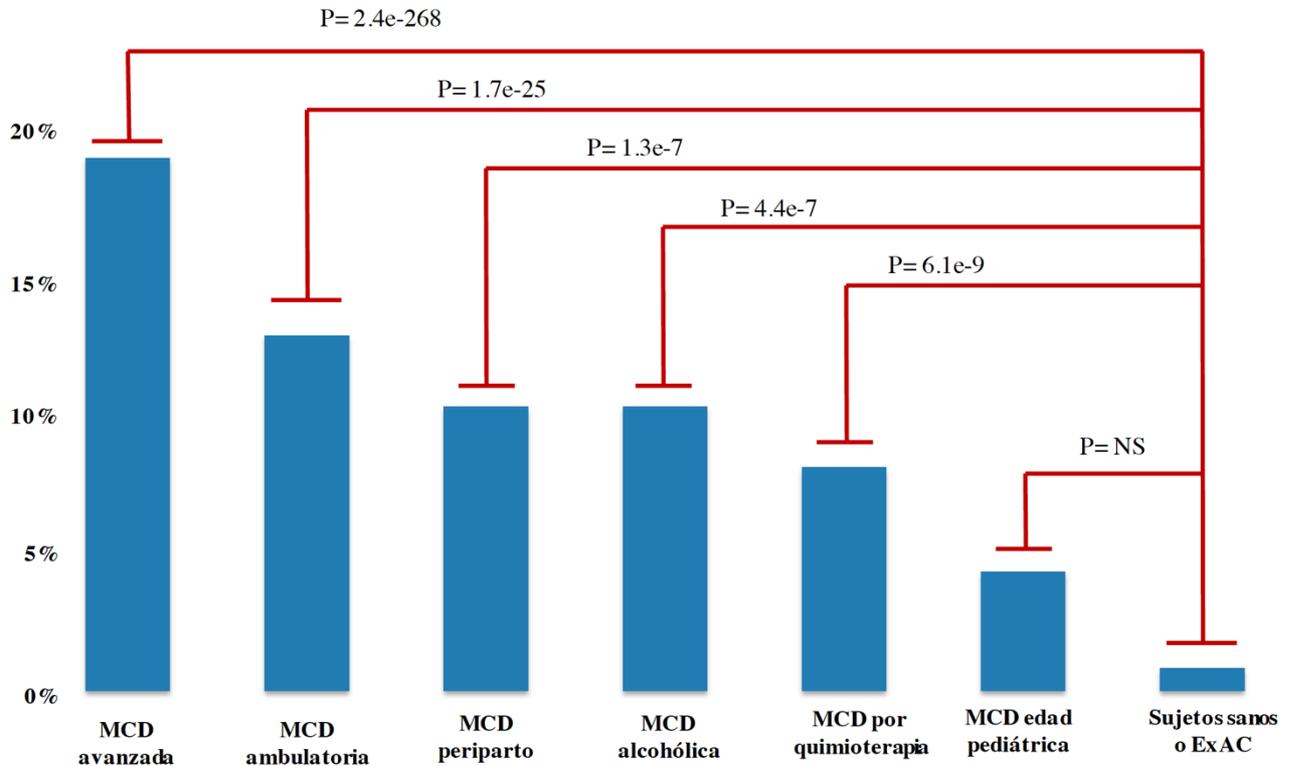
6.2 MCDQ como resultado de la interacción entre genética y medio ambiente

La cardiotoxicidad derivada de los tratamientos contra el cáncer se ha convertido en uno de los problemas clínicos más importantes a los que se enfrentan cardiólogos y oncólogos en su día a día. Se han descrito efectos tóxicos cardiovasculares con prácticamente todos los fármacos antineoplásicos, incluidas las denominadas terapias dirigidas^{6,9}. En el caso de las antraciclinas y los fármacos dirigidos antiHER2, la cardiotoxicidad es el principal efecto secundario que limita su uso^{9,10,23}.

Aunque se han descrito múltiples mecanismos para explicar la cardiotoxicidad de estos tratamientos, no se ha podido explicar por qué solo un subconjunto de pacientes que

reciben quimioterapia desarrolla MCDQ. Esta variación en la susceptibilidad a la # toxicidad por estos fármacos podría deberse a la participación de factores genéticos. En base a nuestros resultados, proponemos que la MCDQ aparece como resultado de la compleja interacción entre un factor medioambiental lesivo (fármaco cardiotoxico) y un miocardio genéticamente susceptible (portador de una variante patogénica en un gen asociado con MCD). Una teoría similar ha sido propuesta para la MCD periparto y la MCD por consumo excesivo de alcohol, en las que se ha demostrado la presencia de TTNvt en el 10% y el 15% de los pacientes, respectivamente^{109,112}. Estos hallazgos implican que la exposición a un factor tóxico medioambiental (el alcohol) o al estrés cardiovascular que supone una gestación, pueden desenmascarar un miocardio genéticamente susceptible y suponer el desarrollo de una MCD. En línea con estos hallazgos recientemente se ha descrito la presencia de variantes en genes asociados con miocardiopatías en niños que presentan un cuadro miocarditis aguda con IC, sugiriendo que estos defectos genéticos podrían predisponer a una respuesta mas agresiva a las infecciones virales comunes¹³¹. En la figura 9 se representa la prevalencia de TTNvt demostrada en cohortes seleccionadas de MCD y en algunas formas de MCD asociadas a factores medioambientales, incluida la MCDQ, con respecto a la prevalencia de TTNvt encontrada en sujetos sanos.

Figura 9. Prevalencia de TTNvt en cohortes seleccionadas de MCD, en MCD asociada a # factores medioambientales y en sujetos sanos-ExAC^{73,77,103,105,109,112,132,133}.



Esta susceptibilidad genética también se ha puesto de manifiesto en un modelo de rata portador de TTNvt, en el que se observaron cambios en las vías metabólicas y de señalización que impedían la adaptación normal del miocardio a situaciones de estrés cardiaco¹⁰⁵. Así mismo, el análisis in vitro de cardiomiocitos con TTNvt demostró que la reparación de los sarcómeros después de haber sido sometidos a estrés estaba disminuida en comparación con las células sin TTNvt¹³⁴.

Con el fin corroborar los hallazgos obtenidos en nuestro estudio, el Departamento de Genética de la Facultad de Medicina de la universidad de Harvard (Boston, MA, USA)

diseñó un modelo experimental en el que se administró una dosis estandarizada de doxorubicina a ratones genéticamente idénticos, excepto por la presencia de una TTNvt que genera un truncamiento en la Banda A de la titina¹³³. Similar a lo observado en humanos, los ratones portadores de la TTNvt tratados con doxorubicina, presentaron una disfunción en la contractilidad ventricular mas prolongada, con respecto a los ratones no portadores.

Por tanto, con los resultados de nuestro estudio y apoyados en esta evidencia, consideramos que el tratamiento con quimioterapia, especialmente con antraciclinas y antiHER2, es un insulto medioambiental mal tolerado por un miocardio predispuesto genéticamente, que resulta en la aparición de una MCDQ. Todavía nos queda mucho para entender como participan sobre esta interacción y contribuyen en el desarrollo de la MCDQ otros factores de riesgo como las comorbilidades preexistentes, otros factores medioambientales (alcohol, tabaco, radiación) y la presencia de alteraciones en otros genes no relacionados con MCD.

La MCD de origen genético se caracteriza por una penetrancia variable y una gran heterogeneidad en su expresión fenotípica. De la misma manera, existe una gran variabilidad en la forma de presentación de la MCDQ, severidad del fenotipo y la reversibilidad de la disfunción ventricular entre los individuos expuestos a un mismo estímulo nocivo, la quimioterapia. Los mecanismos subyacentes a este comportamiento son desconocidos. De hecho, se han identificado TTNvt en hasta el 1% de la población general, lo que sugiere que la presencia de una TTNvt no es suficiente por si sola para causar una MCD^{103,105}. Se desconoce la relevancia clínica de estas variantes,

especialmente si estos individuos se exponen a otros factores medioambientales lesivos. Teniendo en cuenta el número de pacientes tratados con fármacos quimioterápicos en todo el mundo, es necesaria más investigación en este campo para entender la compleja interacción entre la predisposición genética y el desarrollo de MCDQ.

6.3 Impacto de la genética en el pronóstico de los pacientes con MCDQ

La presencia de variantes genéticas raras o de TTNvt no influyó en la FEVI y la clase funcional de la NYHA en el momento del diagnóstico de MCDQ, que fueron similares en los tres grupos.

Al final del seguimiento sólo el 50% de los pacientes recuperaron la FEVI. Esta baja tasa de recuperación se ha descrito en otras series de MCDQ, y se ha asociado a un efecto cardiotoxico irreversible de las antraciclinas así como al tiempo hasta el diagnóstico, cuanto más tardó el diagnóstico y el inicio del tratamiento dirigido de la disfunción ventricular, menos probable la recuperación de la función ventricular^{47,135}. En nuestra cohorte, el 91% de los pacientes recibieron antraciclinas y la mediana de tiempo transcurrido entre la administración del tratamiento cardiotoxico y el diagnóstico de MCDQ (y por tanto el inicio del tratamiento) fue muy larga (3 años de mediana), lo que podría explicar nuestros hallazgos.

En relación con el impacto de la genética en la reversibilidad de la disfunción ventricular, la proporción de pacientes que recuperó la FEVI fue similar entre aquellos que eran portadores de variantes raras, TTNvt o con resultado genético negativo, recibiendo el

mismo tratamiento neurohormonal. Este mismo hallazgo se reportó en una cohorte de # pacientes con MCD alcohólica¹¹². Sin embargo, a pesar de que la proporción de pacientes que recuperó la FEVI fue independiente de la genética subyacente, aquellos pacientes que eran portadores de variantes raras y de TTNvt presentaban una FEVI significativamente mas baja en el último seguimiento que la observada en los pacientes con resultado genético negativo ($38.1 \pm 13.7\%$ vs $36.8 \pm 14.2\%$ vs $49.0 \pm 12.5\%$).

Estudios iniciales describían un fenotipo mucho mas severo en los pacientes con MCD asociada a TTNvt comparado con pacientes sin estas mutaciones^{73,103}. Las descripciones de series de pacientes en régimen ambulatorio han permitido conocer que la MCD por TTNvt no es mas agresiva que otras formas de MCD no isquémica, tiene una forma de presentación leve y además presenta una mejor tasa de respuesta al tratamiento médico estándar que otras formas de MCD como las asociadas a mutaciones en el gen *LMNA*^{136,137}. Estos hallazgos parecen coincidir con lo observado en nuestra cohorte y en la cohorte de MCD alcohólica, en las que la presencia de una TTNvt no impide el remodelado ventricular, si bien en nuestro estudio si se correlaciona con una peor FEVI al final del seguimiento. Coincidiendo con este hallazgo, los pacientes portadores de variantes raras y de TTNvt presentaron una mayor frecuencia de fibrilación auricular¹¹⁶, y los portadores de TTNvt presentaban además una mayor frecuencia de ingresos hospitalarios debidos a IC.

Es importante destacar que en ninguna de las series de MCD se ha evaluado el efecto de sustancias cardiotoxicas, como los fármacos quimioterápicos. De hecho, en la actualidad, la MCDQ es una forma de MCD que no se considera dentro de las posibles cardiopatías

de origen genético, por lo que suele excluirse de este tipo de cohortes estudiadas genéticamente. Serán necesarios nuevos estudios para conocer los efectos de esta interacción en el curso y pronóstico de estos pacientes.

La frecuencia de trasplante cardiaco (9%), de arritmias ventriculares (7%) y de muerte de origen cardiológico (3%) fue alta en esta cohorte y una vez mas no se relacionó con la presencia de mutaciones. Muchos de los pacientes de la cohorte fueron reclutados en unidades de insuficiencia cardiaca, algunos de ellos en evaluación para trasplante cardiaco o trasplantados lo que limita la interpretación del papel de la genética en su pronóstico.

6.4 Implicaciones clínicas

Con el aumento significativo de la supervivencia de los pacientes con cáncer, la morbilidad y la mortalidad relacionadas con los efectos secundarios de los fármacos antineoplásicos se han convertido en un importante problema de salud^{6,8}. La MCDQ es uno de los efectos adversos con mayor impacto en la supervivencia y calidad de vida de estos pacientes^{9,27}. Se estima que la incidencia de cardiotoxicidad se acerca a un 5% de los pacientes que reciben antraciclinas y hasta un 78% de los pacientes que sobreviven al cáncer en edad pediátrica^{6,27,40}. La incidencia de MCDQ en pacientes que reciben trastuzumab oscila entre el 2% y el 8% y se esperan tasas mayores de disfunción ventricular con las nuevas terapias dirigidas^{6,9}. Un dato muy importante es que la aparición de IC, la necesidad de trasplante cardiaco, así como la muerte pueden ocurrir muchos años después de haber completado el tratamiento con quimioterapia, lo cual

afecta el pronóstico de estos pacientes a largo plazo y obliga a un seguimiento cardiológico estructurado durante muchos años.

La identificación de nuevos factores de riesgo genéticos nos brinda una oportunidad para reconocer a aquellos pacientes con un mayor riesgo de desarrollar una MCDQ y de tener un peor pronóstico. Hoy en día la estratificación del riesgo se basa en factores clínicos y factores relacionados con el propio tratamiento oncológico^{6,8,38}. También se han propuesto nuevas herramientas que buscan detectar la cardiotoxicidad en fases subclínicas, como los biomarcadores circulantes (Troponina I y NT-proBNP) y técnicas de imagen ecocardiográfica como el strain^{12,138,139}. Si bien hemos mejorado la estratificación y monitorización de los pacientes, así como la detección precoz de la cardiotoxicidad, todavía no se dispone de unas directrices claras para su prevención y las recomendaciones actuales incluyen la disminución, interrupción o suspensión de la quimioterapia antes de que se establezca la cardiopatía, con un impacto potencialmente negativo en el pronóstico oncológico del paciente.

Mas allá de la detección precoz de la MCDQ, es imprescindible que seamos capaces de identificar qué pacientes tienen mayor riesgo de desarrollar una MCDQ antes de recibir el tratamiento con quimioterapia. De esta forma podríamos ofrecer tratamientos oncológicos personalizados y mitigar los efectos secundarios.

Con este fin, nuestro estudio evaluó la presencia de factores de riesgo genéticos que contribuyeron en la aparición de la MCDQ en pacientes que habían recibido quimioterapia. En esta cohorte de 99 pacientes demostramos una alta prevalencia de

variantes raras en genes asociados con MCD, especialmente *TTN*^{vt}, lo que sugiere que # existe una predisposición genética para el desarrollo de la MCDQ. El rendimiento del estudio genético mediante NGS en esta cohorte es comparable al demostrado en cohortes clínicas de MCD. Además, la evaluación familiar llevada a cabo en este estudio permitió identificar no solo a 7 portadores, sino también a un familiar que tenía MCD. Además de nuestro estudio, se han identificado mutaciones patogénicas en *MYH7* y *TTN* en series de pacientes con MCDQ o familias que comparten casos de MCD Y MCDQ, apoyando nuestra hipótesis ^{125,126,128}.

La realización de estudios genéticos en pacientes con MCD no isquémica se ha ido incorporando poco a poco a la práctica clínica habitual y se recogen recomendaciones sobre su realización en las guías de práctica clínica⁷⁵. La utilidad de la genética para el estudio de los familiares en cascada está claramente establecida⁷⁵. La incorporación del estudio genético en la evaluación de pacientes con MCDQ requiere un cambio de paradigma en la mayoría de las unidades de insuficiencia cardíaca. En base a nuestros resultados, creemos indicada la realización sistemática de estudios genéticos dirigidos en los pacientes con MCDQ. Esta práctica nos dará la oportunidad de consolidar los resultados de este estudio y de incluir la presencia de variantes genéticas en genes asociados con MCD como un factor de riesgo sólido de desarrollar MCDQ.

De establecerse la predisposición genética como una herramienta para definir a los pacientes con alto riesgo de desarrollar una MCDQ, se podrían llevar a cabo estudios que evalúen la eficacia de fármacos cardioprotectores tanto a nivel profiláctico como dirigido

a la MCDQ establecida, a la vez que se administran esquemas personalizados de #
quimioterapia.

Varios estudios han demostrado una mejora en la FEVI en pacientes con MCDQ establecida que reciben combinaciones de IECAs/ARAII y betabloqueantes. Estos tratamientos deben administrarse de forma precoz, incluso en fases subclínicas y titularse a dosis máximas toleradas por los pacientes^{27,47}. A pesar de ello, en muchos casos no se consigue una recuperación completa de la FEVI. La administración de carvedilol, enalapril o candesartán de forma paralela a la administración del tratamiento con quimioterapia, parecía evitar la aparición de disfunción ventricular en estos pacientes^{27,43,44,140}. Sin embargo, en una cohorte de pacientes tratados con antraciclinas publicada recientemente no se observó ningún impacto en la incidencia de MCDQ al comparar el carvedilol frente al placebo⁴⁵, por lo que el beneficio de tratar a los pacientes de forma profiláctica antes del desarrollo de la MCDQ sigue siendo controvertido.

La incorporación de la información genética podría permitir seleccionar el subgrupo de pacientes que se beneficie de la administración preventiva de estos tratamientos con mejores resultados. Conocer la información genética también podría ser útil para orientar la selección y la dosis de los fármacos quimioterápicos. Actualmente se desconoce si el tratamiento en pacientes portadores de variantes patogénicas causales de MCD antes de la aparición de la enfermedad puede ser beneficioso¹⁰⁰. Establecer si las terapias preventivas para evitar la MCDQ son útiles en los portadores de mutaciones está fuera del alcance de nuestro estudio, pero nuestros resultados podrían establecer las bases para futuros estudios en este campo.

6.5 Limitaciones del estudio

La principal limitación de este estudio es que el reclutamiento de los pacientes fue retrospectivo. Si bien se intentó completar de forma exhaustiva la información del tratamiento antitumoral recibido por los pacientes, así como los factores de riesgo clásicos, el carácter retrospectivo conlleva a la pérdida de información sobre otros factores que hayan podido modular la susceptibilidad de los pacientes para el desarrollo de la MCDQ, especialmente en aquellos casos en los que los pacientes habían recibido varios ciclos de tratamiento tanto por recidivas tumorales como por nuevos tumores.

La búsqueda de pacientes en el Hospital Puerta de Hierro, Majadahonda, se llevó a cabo de forma activa y con colaboración del servicio de oncología, por lo que se incluyó todo el espectro de pacientes. Sin embargo, tanto en este centro como en los demás centros participantes, los pacientes fueron reclutados en unidades de cardiología, algunas dedicadas al manejo de pacientes con IC avanzada. Esto podría condicionar una selección de pacientes con formas de MCD mucho más severas. Además, el tiempo entre el tratamiento con quimioterapia y el diagnóstico de MCDQ podría verse artefactado pues muchos pacientes pueden haber sido diagnosticados en fases avanzadas de la MCDQ, en las que se encontraban muy sintomáticos. Por otra parte, la falta de un protocolo estandarizado de monitorización con pruebas de imagen cardíaca de los pacientes oncológicos antes, durante y después de un tratamiento con quimioterapia, conlleva que se pudieran haber perdido un número relevante de casos de MCDQ, sobre todo de aquellos que han cursado de forma asintomática. En los últimos años, el interés por la cardiotoxicidad, así como el desarrollo de unidades especializadas de cardioncología, conlleva una mayor detección de los casos de MCDQ, incluso en fases subclínicas. Serán

necesarios nuevos estudios para conocer si se encuentra una predisposición genética # también en estos individuos.

Los agentes quimioterápicos recibidos por esta cohorte son fundamentalmente antraciclina y trastuzumab, por lo que los resultados derivados de este estudio no pueden extrapolarse a otras formas de MCDQ inducida por otros agentes.

Otra limitación del estudio es que no evaluamos de forma sistemática las dosis recibidas de tratamiento neurohormonal para IC recibidas por los pacientes, por lo que no podemos sacar conclusiones sobre el impacto de las variantes genéticas y el tratamiento médico optimizado en el pronóstico de los pacientes.

Finalmente, a pesar de ofrecerse el estudio clínico y genético en cascada a los familiares de primer grado de todos los pacientes con MCDQ en los que se identificó una variante rara, no tuvimos acceso a todas las familias, lo cual limitó la posibilidad de demostrar cosegregación familiar en algunas de las variantes.

7 CONCLUSIONES

1. Las variantes raras en genes relacionados con la MCD, particularmente las TTNvt, se encuentran asociadas al desarrollo de MCDQ.
2. La prevalencia de variantes raras en genes asociados a MCD, y específicamente, la prevalencia de TTNvt en la cohorte de pacientes con MCDQ, fue significativamente mayor a la encontrada en individuos sanos, y similar a la observada en pacientes con MCD.
3. La presencia de factores de riesgo, las características clínicas basales y los esquemas y dosis de tratamiento antitumoral recibidos entre los pacientes con MCDQ portadores de variantes raras y aquellos con un estudio genético negativo fueron comparables.
4. La presencia de variantes genéticas se asoció con una mayor frecuencia de fibrilación auricular y una peor FEVI en el último seguimiento. Los portadores de TTNvt presentaron un mayor número de ingresos hospitalarios por IC respecto a los pacientes con un resultado genético negativo.

8 RESUMEN

Antecedentes:

Los grandes avances en la terapia contra el cáncer han conducido a una mejora significativa en la supervivencia de los pacientes, con un número cada vez mayor de “supervivientes al cáncer” que se enfrentan a los efectos secundarios de los fármacos antineoplásicos, siendo la cardiotoxicidad, y específicamente, la miocardiopatía inducida por quimioterapia (MCDQ), uno de los más temidos y con mayor impacto en su pronóstico.

La MCDQ se define como la caída de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) en pacientes expuestos a fármacos antitumorales, con o sin signos y síntomas de insuficiencia cardíaca (IC), en ausencia de otras causas que puedan explicar la aparición de disfunción ventricular. La predicción del riesgo de desarrollo de MCDQ es compleja y actualmente se basa en los factores de riesgo cardiovasculares preexistentes y en los esquemas de quimioterapia empleados. Sin embargo, estos factores no explican todos los casos lo que sugiere que existen otros factores de riesgo no identificados que podrían explicar esta variabilidad en la susceptibilidad.

Objetivos:

Evaluar la contribución de variantes raras en genes asociados con miocardiopatía dilatada (MCD) en el desarrollo de la MCDQ.

Métodos:)

El estudio se llevó a cabo en una cohorte de 99 pacientes (33% varones) con varios tipos de cáncer reclutados de forma retrospectiva en 6 centros europeos. La MCDQ fue definida como la reducción de la FEVI $\geq 10\%$ con respecto al valor basal, hasta un valor inferior al 53%, o con una FEVI en el momento del diagnóstico $\leq 45\%$, en ausencia de otra causa alternativa demostrable de disfunción ventricular distinta del tratamiento antineoplásico. El diagnóstico se realizó con ecocardiograma y/o ventriculografía isotópica y fue independiente de la presencia de síntomas de IC. Se realizó la secuenciación de un panel de 49 genes asociados a miocardiopatías, que incluye 9 genes específicos fuertemente asociados con MCD, mediante técnicas de secuenciación masiva. Los hallazgos genéticos se compararon con los encontrados en una cohorte de voluntarios sanos (n=445) y de individuos con MCD (n=364).

Resultados:

El 91% de la cohorte total recibió tratamiento con antraciclinas y el 20% fueron tratados con trastuzumab. La edad media de los pacientes en el momento que recibieron el tratamiento antineoplásico era de 48.7 ± 17.1 años. La dosis acumulada normalizada de antraciclina fue menor de 400 mg/m^2 en el 93.9% de la cohorte.

Se demostró una prevalencia de variantes raras en los 9 genes fuertemente asociados con MCD del 15%, significativamente mayor a la observada en la cohorte de voluntarios sanos (2.9%, $P < 0.001$) pero similar a la observada en pacientes con MCD (72, 19.7%; $P = 0.38$). Las variantes con mayor representación fueron las variantes de truncamiento en el gen que codifica para la titina (TTNvt), con una prevalencia del 10.1%, similar a la de los pacientes con MCD (12.1%, $p = 0.72$) pero significativamente mayor que en los

individuos sanos (0.7%, $P < 0.001$). Las TTNvt identificadas en los pacientes con MCDQ afectan exones expresados de forma constitutiva en el corazón, fundamentalmente a aquellos que codifican la Banda-A de la titina, características que comparten con las variantes descritas en grandes cohortes de MCD.

No hubo diferencias en las características basales, en los FRCV, ni en los esquemas de tratamiento entre los pacientes. El 50% de los pacientes recuperaron la FEVI, pero los pacientes con TTNvt tuvieron más hospitalizaciones por IC, fibrilación auricular y una FEVI final más deprimida con respecto a los no portadores (FEVI última evaluación 37% en portadores de TTNvt vs 49% en pacientes con estudio genético negativo, $p = 0.02$).

Conclusión:

En esta cohorte de pacientes con MCDQ existe una prevalencia significativamente alta de variantes raras en genes que se asocian de forma sólida al desarrollo de MCD, particularmente TTNvt. Estos hallazgos indican que las variantes genéticas contribuyen en la susceptibilidad individual para el desarrollo de esta forma de MCD, especialmente entre los pacientes tratados con antraciclínicas y trastuzumab. En base a nuestros resultados proponemos que la MCDQ se produciría como consecuencia de la interacción entre un factor ambiental (quimioterapia) y un corazón predispuesto genéticamente. La identificación de nuevos factores de riesgo genéticos nos ofrece nuevas oportunidades para reconocer a los pacientes de alto riesgo y ofrecerles un tratamiento personalizado.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394–424.
2. https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras_del_cancer_2020.pdf
3. https://redecán.org/redecán.org/es/Informe_incidenCIA_REDECAN_2020.pdf
4. Curigliano G, Cardinale D, Dent S, et al. Cardiotoxicity of anticancer treatments: Epidemiology, detection, and management: Cardiotoxicity of Anticancer Treatments. *CA Cancer J Clin* 2016;66:309–325.
5. DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014: Cancer Treatment and Survivorship Statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014;64:252–271.
6. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodríguez Muñoz D, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal* 2016;37:2768–2801.
7. https://redecán.org/redecán.org/es/Informe_Supervivencia_REDECAN_2020.pdf.
8. Armenian SH, Lacchetti C, Barac A, et al. Prevention and Monitoring of Cardiac Dysfunction in Survivors of Adult Cancers: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Oncology* 2017;35:893–911.

9. Chang H-M, Moudgil R, Scarabelli T, Okwuosa TM, Yeh ETH. Cardiovascular Complications of Cancer Therapy. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:2536–2551.
10. Higgins AY, O’Halloran TD, Chang JD. Chemotherapy-induced cardiomyopathy. *Heart Failure Reviews* 2015;20:721–730.
11. López-Sendón J, Álvarez-Ortega C, Zamora Auñon P, et al. Classification, prevalence, and outcomes of anticancer therapy-induced cardiotoxicity: the CARDIOTOX registry. *Eur Heart J* 2020;41:1720-1729.
12. Čelutkienė J, Pudil R, López-Fernández T, et al. Role of cardiovascular imaging in cancer patients receiving cardiotoxic therapies: a position statement on behalf of the Heart Failure Association (HFA), the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the CARDIO-ONCOLOGY Council of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur J Heart Fail* 2020;22:1504–1524.
13. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol* 2015;12:547–558.
14. Plana JC, Galderisi M, Barac A, et al. Expert Consensus for Multimodality Imaging Evaluation of Adult Patients during and after Cancer Therapy: A Report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2014;27:911–939.
15. Schwartz RG, McKenzie WB, Alexander J, et al. Congestive heart failure and left ventricular dysfunction complicating doxorubicin therapy. *The American Journal of Medicine* 1987;82:1109–1118.

16. Seidman A, Hudis C, Pierri MK, et al. Cardiac Dysfunction in the Trastuzumab Clinical Trials Experience. *J Clin Oncol* 2002;20:1215–1221.
17. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) (U.S Department of Health and Human Services website). 2010. Available at: https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06_14_QuickReference_8.5x11.pdf
18. Cardinale D, Sandri MT, Colombo A, et al. Prognostic Value of Troponin I in Cardiac Risk Stratification of Cancer Patients Undergoing High-Dose Chemotherapy. *Circulation* 2004;109:2749–2754.
19. Ky B, Putt M, Sawaya H, et al. Early Increases in Multiple Biomarkers Predict Subsequent Cardiotoxicity in Patients With Breast Cancer Treated With Doxorubicin, Taxanes, and Trastuzumab. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:809–816.
20. Fallah-Rad N, Walker JR, Wassef A, et al. The Utility of Cardiac Biomarkers, Tissue Velocity and Strain Imaging, and Cardiac Magnetic Resonance Imaging in Predicting Early Left Ventricular Dysfunction in Patients With Human Epidermal Growth Factor Receptor II–Positive Breast Cancer Treated With Adjuvant Trastuzumab Therapy. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:2263–2270.
21. Sawaya H, Sebag IA, Plana JC, et al. Assessment of Echocardiography and Biomarkers for the Extended Prediction of Cardiotoxicity in Patients Treated With Anthracyclines, Taxanes, and Trastuzumab. *Circulation: Cardiovascular Imaging* 2012;5:596–603.

22. Walker J, Bhullar N, Fallah-Rad N, et al. Role of Three-Dimensional Echocardiography in Breast Cancer: Comparison With Two-Dimensional Echocardiography, Multiple-Gated Acquisition Scans, and Cardiac Magnetic Resonance Imaging. *J Clin Oncol* 2010;28:3429–3436.
23. Henriksen PA. Anthracycline cardiotoxicity: an update on mechanisms, monitoring and prevention. *Heart* 2018;104:971–977.
24. Von Hoff DD, Layard NW, Basa P, et al. *Ann Intern Med* 1979; 91: 710-717.
25. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: A retrospective analysis of three trials. *Cancer* 2003;97:2869–2879.
26. Vandecruys E, Mondelaers V, De Wolf D, Benoit Y, Suys B. Late cardiotoxicity after low dose of anthracycline therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *J Cancer Surviv* 2012;6:95–101.
27. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, et al. Early Detection of Anthracycline Cardiotoxicity and Improvement With Heart Failure Therapy. *Circulation* 2015;131:1981–1988.
28. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1673–1684.
29. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783–792.

30. Moja L, Tagliabue L, Balduzzi S, et al. Trastuzumab containing regimens for early breast cancer Cochrane Breast Cancer Group, editor. Cochrane Database of Systematic Reviews 2012. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD006243.pub2>. Accessed April 12, 2020.
31. Khouri MG, Douglas PS, Mackey JR, et al. Cancer Therapy–Induced Cardiac Toxicity in Early Breast Cancer: Addressing the Unresolved Issues. *Circulation* 2012;126:2749–2763.
32. Pareek N, Cevallos J, Moliner P, et al. Activity and outcomes of a cardio-oncology service in the United Kingdom—a five-year experience. *Eur J Heart Fail* 2018;20:1721–1731.
33. Bloom MW, Hamo CE, Cardinale D, et al. Cancer Therapy–Related Cardiac Dysfunction and Heart Failure: Part 1: Definitions, Pathophysiology, Risk Factors, and Imaging. *Circ Heart Fail* 2016;9:e002661
34. Ewer MS, Lippman SM. Type II Chemotherapy-Related Cardiac Dysfunction: Time to Recognize a New Entity. *J Clin Oncol* 2005;23:2900–2902.
35. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments: what the cardiologist needs to know. *Nature Reviews Cardiology* 2010;7:564–575.
36. Linschoten M, Teske AJ, Cramer MJ, van der Wall E, Asselbergs FW. Chemotherapy-Related Cardiac Dysfunction: A Systematic Review of Genetic Variants Modulating Individual Risk. *Circ Genom Precis Med* 2018;11:e001753.
37. Armenian SH, Hudson MM, Mulder RL, et al. Recommendations for cardiomyopathy surveillance for survivors of childhood cancer: a report from the International Late Effects

of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group. *The Lancet Oncology* 2015;16:e123–e136.

38. Lyon AR, Dent S, Stanway S, et al. Baseline cardiovascular risk assessment in cancer patients scheduled to receive cardiotoxic cancer therapies: a position statement and new risk assessment tools from the Cardio- Oncology Study Group of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology in collaboration with the International Cardio- Oncology Society. *Eur J Heart Fail* 2020;22:1945–1960.

39. de Azambuja E, Bedard PL, Suter T, Piccart-Gebhart M. Cardiac toxicity with anti-HER-2 therapies-what have we learned so far? *Target Oncol* 2009;4:77–88.

40. Curigliano G, Cardinale D, Suter T, et al. Cardiovascular toxicity induced by chemotherapy, targeted agents and radiotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2012;23 Suppl 7:vii155-66.

41. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal* 2016;37:2129–2200.

42. Cardinale D, Colombo A, Sandri MT, et al. Prevention of High-Dose Chemotherapy–Induced Cardiotoxicity in High-Risk Patients by Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition. *Circulation* 2006;114:2474–2481.

43. Bosch X, Rovira M, Sitges M, et al. Enalapril and Carvedilol for Preventing Chemotherapy-Induced Left Ventricular Systolic Dysfunction in Patients With Malignant Hemopathies. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:2355–2362.
44. Gulati G, Heck SL, Ree AH, et al. Prevention of cardiac dysfunction during adjuvant breast cancer therapy (PRADA): a 2 × 2 factorial, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of candesartan and metoprolol. *Eur Heart J* 2016;37:1671–1680.
45. Avila MS, Ayub-Ferreira SM, de Barros Wanderley MR, et al. Carvedilol for Prevention of Chemotherapy-Related Cardiotoxicity. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2281–2290.
46. van Dalen EC, van der Pal HJ, Kremer LC. Different dosage schedules for reducing cardiotoxicity in people with cancer receiving anthracycline chemotherapy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Mar 3;3(3):CD005008.
47. Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, et al. Anthracycline-Induced Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:213–220.
48. McMurray JJV, Packer M, Desai AS, et al. Angiotensin–Neprilysin Inhibition versus Enalapril in Heart Failure. *N Engl J Med* 2014;371:993–1004.
49. Martín-García A, Díaz-Peláez E, Martín-García AC, Sánchez-González J, Ibáñez B, Sánchez PL. Myocardial function and structure improvement with sacubitril/valsartan in cancer therapy-induced cardiomyopathy. *Revista Española de Cardiología (English Edition)* 2020;73:268–269.

50. McNally EM, Mestroni L. Dilated Cardiomyopathy: Genetic Determinants and Mechanisms. *Circ Res* 2017;121:731-748.
51. Rapezzi C, Arbustini E, Caforio ALP, et al. Diagnostic work-up in cardiomyopathies: bridging the gap between clinical phenotypes and final diagnosis. A position statement from the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *European Heart J* 2013;34:1448–1458.
52. Burke MA, Cook SA, Seidman JG, Seidman CE. Clinical and Mechanistic Insights Into the Genetics of Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2016;68:2871–2886.
53. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the european society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases. *European Heart J* 2007;29:270–276.
54. Pinto YM, Elliott PM, Arbustini E, et al. Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases. *Eur Heart J* 2016;37:1850–1858.
55. Seferović PM, Polovina M, Bauersachs J, et al. Heart failure in cardiomyopathies: a position paper from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail* 2019;21:553–576.
56. Fuster V, Dec G. Idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1994;331:1564-75
57. Charron P, Elliott PM, Gimeno JR, et al. The Cardiomyopathy Registry of the EURObservational Research Programme of the European Society of Cardiology: baseline

data and contemporary management of adult patients with cardiomyopathies. *European Heart Journal* 2018;39:1784–1793.

58. Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol* 2013;10:531–547.

59. Japp AG, Gulati A, Cook SA, Cowie MR, Prasad SK. The Diagnosis and Evaluation of Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:2996–3010.

60. D'Ambrosio A. The fate of acute myocarditis between spontaneous improvement and evolution to dilated cardiomyopathy: a review. *Heart* 2001;85:499–504.

61. Guzzo-Merello G, Cobo-Marcos M, Gallego-Delgado M, et al. Alcoholic cardiomyopathy. *World J Cardiol* 201;6:771-81.

62. Guzzo-Merello G, Segovia J, Dominguez F, et al. Natural History and Prognostic Factors in Alcoholic Cardiomyopathy. *JACC: Heart Failure* 2015;3:78–86.

63. Bauersachs J, König T, Meer P, et al. Pathophysiology, diagnosis and management of peripartum cardiomyopathy: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology Study Group on peripartum cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2019;21:827–843.

64. Emanuel R, Withers R, O'Brien K. Dominant and recessive modes of inheritance in idiopathic cardiomyopathy. *Lancet* 1971;298:1065–1067.

65. Michels VV, Moll PP, Miller FA, et al. The Frequency of Familial Dilated Cardiomyopathy in a Series of Patients with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1992;326:77–82.

66. Valantine HA, Hunt SA, Fowler MB, Billingham ME, Schroeder JS. Frequency of familial nature of dilated cardiomyopathy and usefulness of cardiac transplantation in this subset. *The American Journal of Cardiology* 1989;63:959–963.
67. Grünig E, Tasman JA, Kücherer H, Franz W, Kübler W, Katus HA. Frequency and Phenotypes of Familial Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:186–194.
68. Mahon NG, Murphy RT, MacRae CA, Caforio ALP, Elliott PM, McKenna WJ. Echocardiographic Evaluation in Asymptomatic Relatives of Patients with Dilated Cardiomyopathy Reveals Preclinical Disease. *Ann Intern Med* 2005;143:108.
69. Ortiz-Lopez R, Li H, Su J, Goytia V, Towbin JA. Evidence for a Dystrophin Missense Mutation as a Cause of X-Linked Dilated Cardiomyopathy. *Circulation* 1997;95:2434–2440.
70. Olson TM. Actin Mutations in Dilated Cardiomyopathy, a Heritable Form of Heart Failure. *Science* 1998;280:750–752.
71. Hershberger RE, Parks SB, Kushner JD, et al. Coding Sequence Mutations Identified in MYH7, TNNT2, SCN5A, CSRP3, LBD3, and TCAP from 313 Patients with Familial or Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Clin Translational Sci* 2008;1:21–26.
72. Haas J, Frese KS, Peil B, et al. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *European Heart J* 2015;36:1123–1135.
73. Herman DS, Lam L, Taylor MRG, et al. Truncations of Titin Causing Dilated Cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2012;366:619–628.

74. Pugh TJ, Kelly MA, Gowrisankar S, et al. The landscape of genetic variation in dilated cardiomyopathy as surveyed by clinical DNA sequencing. *Genet. Med* 2014;16:601–608.
75. Rosenbaum AN, Agre KE, Pereira NL. Genetics of dilated cardiomyopathy: practical implications for heart failure management. *Nat Rev Cardiol* 2020;17:286-297.
76. Jordan E, Hershberger RE. Considering complexity in the genetic evaluation of dilated cardiomyopathy. *Heart* 2021;107:106–112.
77. Cuenca S, Ruiz-Cano MJ, Gimeno-Blanes JR, et al. Genetic basis of familial dilated cardiomyopathy patients undergoing heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2016;35:625–635.
78. Dal Ferro M, Stolfo D, Altinier A, et al. Association between mutation status and left ventricular reverse remodelling in dilated cardiomyopathy. *Heart* 2017;103:1704–1710.
79. Gigli M, Merlo M, Graw SL, et al. Genetic Risk of Arrhythmic Phenotypes in Patients With Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2019;74:1480–1490.
80. Ortiz-Genga MF, Cuenca S, Dal Ferro M, et al. Truncating FLNC Mutations Are Associated With High-Risk Dilated and Arrhythmogenic Cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol* 2016;68:2440–2451.
81. Fatkin D, MacRae C, Sasaki T, et al. Missense Mutations in the Rod Domain of the Lamin A/C Gene as Causes of Dilated Cardiomyopathy and Conduction-System Disease. *N Engl J Med* 1999;341:1715–1724.

82. Millat G, Bouvagnet P, Chevalier P, et al. Clinical and mutational spectrum in a cohort of 105 unrelated patients with dilated cardiomyopathy. *Eur J Med Genet* 2011;54:e570-5.
83. Parks SB, Kushner JD, Nauman D, et al. Lamin A/C mutation analysis in a cohort of 324 unrelated patients with idiopathic or familial dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 2008;156:161–169.
84. van Spaendonck-Zwarts KY, van Rijsingen IAW, van den Berg MP, et al. Genetic analysis in 418 index patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: overview of 10 years' experience. *Eur J Heart Failure* 2013;15:628–636.
85. Lakdawala NK, Funke BH, Baxter S, et al. Genetic testing for dilated cardiomyopathy in clinical practice. *J Card Fail* 2012;18:296–303.
86. Tayal U, Prasad S, Cook SA. Genetics and genomics of dilated cardiomyopathy and systolic heart failure. *Genome Med* 2017;9:20.
87. McNally EM. Genetics: broken giant linked to heart failure. *Nature* 2012;483:281–282.
88. Bondue A, Arbustini E, Bianco A, et al. Complex roads from genotype to phenotype in dilated cardiomyopathy: scientific update from the Working Group of Myocardial Function of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2018;114:1287-1303
89. Norton N, Li D, Rieder MJ, et al. Genome-wide studies of copy number variation and exome sequencing identify rare variants in BAG3 as a cause of dilated cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 2011;88:273–282.

90. Theis JL, Sharpe KM, Matsumoto ME, et al. Homozygosity mapping and exome sequencing reveal GATAD1 mutation in autosomal recessive dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 2011;4:585–594.
91. Exome Aggregation Consortium, Lek M, Karczewski KJ, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016;536:285–291.
92. NHLBI Grand Opportunity Exome Sequencing Project. Available at: <https://esp.gs.washington.edu/drupal/>. Accessed 2013.
93. 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis GR, Auton A, et al. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 2012;491:56–65.
94. Norton N, Robertson PD, Rieder MJ, et al. Evaluating pathogenicity of rare variants from dilated cardiomyopathy in the exome era. *Circ Cardiovasc Genet* 2012;5:167–174.
95. Tennessen JA, Bigham AW, O'Connor TD, et al. Evolution and functional impact of rare coding variation from deep sequencing of human exomes. *Science* 2012;337:64–69.
96. Walsh R, Thomson KL, Ware JS, et al. Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. *Genet. Med* 2017;19:192–203.
97. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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;1:405-24.

98. Hershberger RE, Ho CY, Judge DP, et al. Genetic evaluation of cardiomyopathy: a clinical practice resource of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2018;20:899–909.
99. Charron P, Arad M, Arbustini E, 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;31:2715–2726.
100. Fatkin D, Huttner IG, Kovacic JC, Seidman JG, Seidman CE. Precision Medicine in the Management of Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll of Cardiol* 2019;74:2921–2938.
101. Fatkin D, Huttner IG. Titin-truncating mutations in dilated cardiomyopathy: the long and short of it. *Curr Opin Cardiol* 2017;32:232–238.
102. Gerull B, Gramlich M, Atherton J, et al. Mutations of TTN, encoding the giant muscle filament titin, cause familial dilated cardiomyopathy. *Nat Genet* 2002;30:201–204.
103. Roberts AM, Ware JS, Herman DS, et al. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med* 2015;7:270ra6.
104. Gerull B. The Rapidly Evolving Role of Titin in Cardiac Physiology and Cardiomyopathy. *Can J of Cardiol* 2015;31:1351–1359.
105. Schafer S, de Marvao A, Adami E, et al. Titin-truncating variants affect heart function in disease cohorts and the general population. *Nature Genetics* 2017;49:46–53.

106. Ware JS, Cook SA. Role of titin in cardiomyopathy: from DNA variants to patient stratification. *Nat Rev Cardiol* 2018;15:241–252.
107. Hazebroek MR, Moors S, Dennert R, et al. Prognostic Relevance of Gene-Environment Interactions in Patients With Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2015;66:1313–1323.
108. van Spaendonck-Zwarts KY, van Tintelen JP, van Veldhuisen DJ, et al. Peripartum cardiomyopathy as a part of familial dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2010;121:2169–2175.
109. Ware JS, Li J, Mazaika E, et al. Shared Genetic Predisposition in Peripartum and Dilated Cardiomyopathies. *N Engl J Med* 2016;374:233–241.
110. Arany Z, Elkayam U. Peripartum Cardiomyopathy. *Circulation* 2016;133:1397–1409.
111. George A, Figueredo VM. Alcoholic Cardiomyopathy: A Review. *J Card Fail* 2011;17:844–849.
112. Ware JS, Amor-Salamanca A, Tayal U, et al. Genetic Etiology for Alcohol-Induced Cardiac Toxicity. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:2293–2302.
113. Plana JC, Galderisi M, Barac A, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2014;15:1063–1093.

114. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, et al. Early Detection of Anthracycline Cardiotoxicity and Improvement With Heart Failure Therapy. *Circulation* 2015;131:1981–1988.
115. Maceira AM, Prasad SK, Khan M, Pennell DJ. Normalized left ventricular systolic and diastolic function by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson* 2006;8:417–426.
116. Tayal U, Newsome S, Buchan R, et al. Truncating Variants in Titin Independently Predict Early Arrhythmias in Patients With Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2017;69:2466–2468.
117. Pua CJ, Bhalshankar J, Miao K, et al. Development of a Comprehensive Sequencing Assay for Inherited Cardiac Condition Genes. *J Cardiovasc Transl Res* 2016;9:3–11.
118. Whiffin N, Minikel E, Walsh R, et al. Using high-resolution variant frequencies to empower clinical genome interpretation. *Genet Med*. 2017;19:1151–1158.
119. Domínguez F, Cuenca S, Bilińska Z, et al. Dilated Cardiomyopathy Due to BLC2-Associated Athanogene 3 (BAG3) Mutations. *J Am Coll Cardiol* 2018;72:2471–2481.
120. Keefe DL. Anthracycline-induced cardiomyopathy. *Semin Oncol* 2001;28:2–7.
121. Whiffin N, Walsh R, Govind R, et al. CardioClassifier: disease- and gene-specific computational decision support for clinical genome interpretation. *Genet Med* 2018;20:1246–1254.
122. Køber L, Thune JJ, Nielsen JC, et al. Defibrillator Implantation in Patients with Nonischemic Systolic Heart Failure. *N Engl J Med* 2016;375:1221–1230.

123. Hey TM, Rasmussen TB, Madsen T, et al. Clinical and Genetic Investigations of 109 Index Patients With Dilated Cardiomyopathy and 445 of Their Relatives. *Circ Heart Fail*. 2020 Oct;13(10):e006701.
124. Tayal U, Newsome S, Buchan R, et al. Phenotype and Clinical Outcomes of Titin Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:2264–2274.
125. Wasielewski M, van Spaendonck-Zwarts KY, Westerink N-DL, et al. Potential genetic predisposition for anthracycline-associated cardiomyopathy in families with dilated cardiomyopathy. *Open heart* 2014;1:e000116.
126. Shipman KE, Arnold I. Case of epirubicin-induced cardiomyopathy in familial cardiomyopathy. *J Clin Oncol* 2011;29:537–538.
127. van den Berg MP, van Spaendonck-Zwarts KY, van Veldhuisen DJ, Gietema JA, Postma A, van Tintelen JP. Familial dilated cardiomyopathy: another risk factor for anthracycline-induced cardiotoxicity? *Eur J Heart Fail* 2010;12:1297–1299.
128. Linschoten M, Teske AJ, Baas AF, et al. Truncating Titin (TTN) Variants in Chemotherapy-Induced Cardiomyopathy. *J Card Fail* 2017;23:476–479.
129. Hayashi T, Arimura T, Itoh-Satoh M, et al. Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2192–2201.
130. Moreira ES, Wiltshire TJ, Faulkner G, et al. Limb-girdle muscular dystrophy type 2G is caused by mutations in the gene encoding the sarcomeric protein telethonin. *Nat Genet* 2000;24:163–166.

131. Belkaya S, Kontorovich AR, Byun M, et al. Autosomal Recessive Cardiomyopathy Presenting as Acute Myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2017;69:1653–1665.
132. Fatkin D, Lam L, Herman DS, et al. Titin truncating mutations: A rare cause of dilated cardiomyopathy in the young. *Progress in Pediatric Cardiology* 2016;40:41–45.
133. Garcia-Pavia P, Kim Y, Restrepo-Cordoba MA, et al. Genetic Variants Associated With Cancer Therapy–Induced Cardiomyopathy. *Circulation* 2019;140:31–41.
134. Chopra A, Kutys ML, Zhang K, et al. Force Generation via β -Cardiac Myosin, Titin, and α -Actinin Drives Cardiac Sarcomere Assembly from Cell-Matrix Adhesions. *Dev Cell* 2018;44:87-96.e5.
135. Oliveira GH, Qattan MY, Al-Kindi S, Park SJ. Advanced Heart Failure Therapies for Patients With Chemotherapy-Induced Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail* 2014;7:1050–1058.
136. Jansweijer JA, Nieuwhof K, Russo F, et al. Truncating titin mutations are associated with a mild and treatable form of dilated cardiomyopathy: Titin dilated cardiomyopathy may be mild and treatable. *Eur J Heart Fail* 2017;19:512–521.
137. Akhtar MM, Lorenzini M, Cicerchia M, et al. Clinical Phenotypes and Prognosis of Dilated Cardiomyopathy Caused by Truncating Variants in the TTN Gene. *Circ Heart Fail* 2020;13:e006832.
138. Pudil R, Mueller C, Lenihan D, et al. Role of serum biomarkers in cancer patients receiving cardiotoxic cancer therapies: a position statement from the Cardio-Oncology Study Group of the Heart Failure Association and the Cardio-Oncology Council of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail* 2020;22:1966-1983.

139. Thavendiranathan P, Negishi T, Somerset E, et al. Strain-Guided Management of Potentially Cardiotoxic Cancer Therapy. *J Am Coll Cardiol* 202;77:392-401.
140. Kalay N, Basar E, Ozdogru I, et al. Protective Effects of Carvedilol Against Anthracycline-Induced Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2258–2262.
141. http://supportillumina.com/sequencing/sequencing_software/miseq_reporter/downloadsilmn.
142. http://supportillumina.com/sequencing/sequencing_instruments/miseq/downloadsilmn.
143. <http://wwwbioinformaticsbabrahamacuk/projects/fastqc/>.
144. Schmieder R, Edwards R. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics* 2011;27:863–864.
145. Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics* 2010;26:589–595.
146. <http://picard.sourceforge.net>.
147. McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research* 2010;20:1297–1303.
148. <http://wwwlifetechnologies.com/us/en/home/technicalresources/software-downloads/lifescape-genomic-analysis-softwarehtml>.

149. McLaren W, Gil L, Hunt SE, et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol* 2016;17:122.

10 ANEXOS

Anexo 1. Análisis de datos de variantes del estudio

Secuenciación NGS

Las muestras de ADN en este estudio se secuenciaron usando el kit Illumina TruSight Cardio Sequencing (que incluye 174 genes asociados con enfermedades cardíacas hereditarias¹¹⁷, en la plataforma Illumina NextSeq, o utilizando un panel Agilent SureSelect personalizado con contenido similar y secuenciado en la plataforma Life Technologies SOLiD 5500x1, tal como se ha descrito previamente¹⁰³.

Las bibliotecas de ADN fueron preparadas con el kit TruSight Cardio (Illumina) y se secuenciaron con lecturas de 150 pares de bases en la plataforma NextSeq v2 (Illumina). El análisis de los datos de secuenciación se realizó con el software NextSeq Control o Bcl2FastQ conversion 2.161^{141,142} y los archivos FastQ resultantes sujetos al control de calidad con FastQC¹⁴³ v.0.10.14. Las lecturas de baja calidad ($Q < 20$, tamaño de ventana 5) se eliminaron usando PrinSeq¹⁴⁴ v0.20.4, y las secuencias se alinearon con el genoma de referencia HG19 utilizando BWA¹⁴⁵ v0.7.10. Picard¹⁴⁶ v1.115 y GATK9¹⁴⁷ v3.2-2 se usaron para marcar lecturas duplicadas y realizar una realineación local en torno a indels y recalibración basal. Las bases cubiertas por al menos 10 lecturas, con una calidad de correlación ≥ 10 y calidad de base ≥ 20 se denominaron como “invocables”, es decir, cubiertas adecuadamente para la anotación de variantes con los parámetros GATK recomendados. La anotación de variantes se realizó conjuntamente con GATK HaplotypeCaller.

Para las muestras analizadas utilizando SOLiD5500XL, las bibliotecas de ADN se prepararon de acuerdo con los protocolos de los fabricantes antes de realizar la secuenciación por pares. Las lecturas de SOLiD se alinearon en el espacio de color utilizando el pipeline LifeScope™ v2.5.1 “Targeted re-sequencing”¹⁴⁸. La Herramienta SOLiD Accuracy Enhancement Tool (SAET) se utilizó para mejorar la precisión de las anotaciones de color antes del mapeo. Las variantes fueron anotadas por los paquetes diBayes y SmallIndel, en el software LifeScope, así como por GATK UnifiedGenotyper. Las bases cubiertas por al menos 10 lecturas con una calidad de mapeo ≥ 10 y calidad de base ≥ 20 se designaron como “invocables”.

Para todas las muestras, las variantes fueron anotadas con Variant Effect Predictor (VEP)¹⁴⁹ y de acuerdo con transcripciones definidas para cada gen (ver tabla) con variantes de truncamiento definidas como aquellas que dan como resultado mutaciones sin sentido (nonsense), frameshift o mutaciones en sitios esenciales de empalme (consecuencias de VEP: variante frameshift, stop gained, variantes aceptoras y donadoras de splicing) y variantes no truncadas, definidas como las que dan como resultado variantes missense, deleciones e inserciones dentro el marco de lectura. Los casos utilizados en los test de carga se emparejaron por etnia: se seleccionaron aquellos auto informados como raza caucásica y confirmados por análisis de componentes principales (PCA), analizados utilizando PLINK v1.9 y HapMap3 como conjunto de datos de referencia. Todas las muestras que resultaron fuera del grupo caucásico se eliminaron de un análisis posterior.

Genes	Transcripción
ABCC9	ENST00000261201
ACTA1	ENST00000366684
ACTC1	ENST00000290378
ACTN2	ENST00000366578
ALMS1	ENST00000264448
ANKRD1	ENST00000371697
BAG3	ENST00000369085
CRYAB	ENST00000526180
CSRP3	ENST00000533783
CTF1	ENST00000279804
DES	ENST00000373960
DMD	ENST00000357033
DNAJC19	ENST00000382564
DOLK	ENST00000372586
DSC2	ENST00000280904
DSG2	ENST00000261590
DSP	ENST00000379802
DTNA	ENST00000348997
EMD	ENST00000369842
EYA4	ENST00000367895
FHL2	ENST00000358129
FKRP	ENST00000391909
FKTN	ENST00000223528
GATAD1	ENST00000287957
HADHA	ENST00000380649
HFE	ENST00000357618
ILK	ENST00000299421
JUP	ENST00000393930
LAMA2	ENST00000421865
LAMA4	ENST00000424408
LAMP2	ENST00000200639

Genes	Transcripción
LDB3	ENST00000361373
LMNA	ENST00000368300
MURC	ENST00000307584
MYBPC3	ENST00000545968
MYH6	ENST00000356287
MYH7	ENST00000355349
MYPN	ENST00000358913
NEXN	ENST00000334785
NPPA	ENST00000376480
PDLIM3	ENST00000284770
PKP2	ENST00000070846
PLN	ENST00000357525
PRDM16	ENST00000270722
RBM20	ENST00000369519
SCN5A	ENST00000333535
SDHA	ENST00000264932
SGCB	ENST00000381431
SGCD	ENST00000337851
SGCG	ENST00000218867
TAZ	ENST00000299328
TBX20	ENST00000408931
TCAP	ENST00000309889
TMPO	ENST00000266732
TNNC1	ENST00000232975
TNNI3	ENST00000344887
TNNT2	ENST00000367318
TPM1	ENST00000403994
TTN	ENST00000589042
TXNRD2	ENST00000400521
VCL	ENST00000211998

Anexo 2. Características clínicas basales, en el diagnóstico y en el seguimiento de los pacientes con miocardiopatía por quimioterapia (n=99).

Características clínicas basales	
Varón - n (%)	33 (33)
Historia familiar de MCD - n (%)	3 (3)
Historia familiar de MS - n (%)	4 (4)
Tabaco - n (%)	33 (33)
Hipertensión arterial - n (%)	29 (29)
Hipercolesterolemia - n (%)	27 (27)
Diabetes mellitus - n (%)	20 (20)
Enfermedad tumoral - n (%)	
Cáncer de mama	51 (51)
Linfoma de Hodgkin	5 (5)
Linfoma no Hodgkin	25 (25)
Mieloma	2 (2)
Otros tumores hematológicos	6 (6)
Otros tumores sólidos	10 (10)
Tratamiento oncológico - n (%)	
Antraciclina	91 (91)
AntiHER2	20 (20)
TKIs	3 (3)
Mtors	3 (3)
Dosis acumulada de antraciclina [#] , mg/m ²	300.7 ± 153.2
RT en tórax (izquierdo) - n (%)	27 (28)
RT en mediastino - n (%)	5 (5)

Edad inicio quimioterapia - años	48.7 ± 17.06 Min-max [2 - 77]
Clase funcional NYHA I–II antes de la QT - n (%)	90 (96)
FEVI antes de la QT, %	62.09 ± 5.35
Características clínicas en el diagnóstico de MCDQ	
Edad al diagnóstico de MCDQ - años	53.91 ± 15.02 Min-max [3 - 78]
Tiempo desde la QT al diagnóstico de MCDQ - años	3 (1 - 9)
FEVI, %	33.01 ± 9.98
Clase funcional NYHA III-IV - n (%)	44 (44)
NT-ProBNP, pg/ml	3212
Fibrilación auricular en el ECG - n (%)	9 (9)
BRI en el ECG - n (%)	14 (14)
Seguimiento	
Clase funcional NYHA III-IV - n (%)	21 (21)
FEVI final, %	47.32 ± 13.20
Recuperación de la FEVI [¶] , n (%)	50 (50)
Fibrilación auricular - n (%)	15 (15)
Arritmias ventriculares - n (%)	9 (9)
Hospitalización por IC - n (%)	47 (47)
Trasplante cardiaco - n (%)	9 (9)
MS recuperada - n (%)	7 (7)
Implante de DAI +/- RSC - n (%)	17 (17)
Muerte de origen cardiaco - n (%)	3 (3)
Muerte de origen no cardiaco, n (%)	2 (2)

Datos expresados como número total (%) o media \pm desviación estándar, excepto el tiempo desde la QT al diagnóstico que se expresa como mediana (Q1-Q3).

MCD: miocardiopatía dilatada; MS: muerte súbita; HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; TKI: inhibidor de la tirosin kinasa; mTOR: diana de rapamicina en células de mamífero; RT: radioterapia; NYHA: New York Heart Association; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, QT: quimioterapia, MCDQ: miocardiopatía asociada a quimioterapia; BRI: bloqueo de rama izquierda; IC: insuficiencia cardíaca; DAI: desfibrilador automático implantable; CRT: resincronizador cardíaco. # Dosis normalizada de antraciclina¹²⁰. ¶ La recuperación de la FEVI se definió como un aumento absoluto de la FEVI $\geq 5\%$ con una FEVI final $\geq 50\%$ (o un aumento de la FEVI hasta el valor previo al diagnóstico).

Anexo 3. Prevalencia de variantes raras en 49 genes asociados a miocardiopatía en la cohorte de miocardiopatía dilatada por quimioterapia, miocardiopatía dilatada y voluntarios sanos.

Gen	MCDQ (n=99)	MCD (n=364)	Voluntarios sanos (n=445)	MCDQ vs MCD*	MCDQ vs Voluntarios sanos*	MCD vs Voluntarios sanos*
ABCC9	0 (0%)	2 (0.5%)	4 (0.9%)	1	1	0.7
ACTC1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
ALMS1	8 (8.1%)	17 (4.7%)	27 (6.1%)	0.21	0.5	0.44
ANKRD1	0 (0%)	2 (0.5%)	0 (0%)	1	n/d	0.2
BAG3	2 (2%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	0.12	0.15	1
CAV3	1 (1%)	0 (0%)	1 (0.2%)	0.21	0.33	1
CRYAB	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
CSRP3	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	1	n/d	0.45
DES	2 (2%)	7 (1.9%)	4 (0.9%)	1	0.3	0.24
DMD	3 (3%)	7 (1.9%)	5 (1.1%)	0.45	0.16	0.39
DNAJC19	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
DSG2	0 (0%)	4 (1.1%)	4 (0.9%)	0.58	1	1

DSP	6 (6.1%)	11 (3%)	15 (3.4%)	0.22	0.24	0.84
DTNA	0 (0%)	1 (0.3%)	3 (0.7%)	1	1	0.63
EMD	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	1	n/d	0.45
EYA4	0 (0%)	2 (0.5%)	5 (1.1%)	1	0.59	0.47
FKRP	2 (2%)	1 (0.3%)	1 (0.2%)	0.12	0.087	1
FKTN	1 (1%)	1 (0.3%)	3 (0.7%)	0.38	0.55	0.63
FXN	0 (0%)	2 (0.5%)	1 (0.2%)	1	1	0.59
HADHA	0 (0%)	3 (0.8%)	1 (0.2%)	1	1	0.33
HFE	0 (0%)	3 (0.8%)	3 (0.7%)	1	1	1
ILK	0 (0%)	2 (0.5%)	2 (0.4%)	1	1	1
LAMA2	3 (3%)	22 (6%)	19 (4.3%)	0.32	0.78	0.26
LAMA4	2 (2%)	7 (1.9%)	4 (0.9%)	1	0.3	0.24
LAMP2	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
LDB3	1 (1%)	5 (1.4%)	2 (0.4%)	1	0.45	0.25
LMNA	0 (0%)	6 (1.6%)	1 (0.2%)	0.35	1	0.05
MYBPC3	0 (0%)	12 (3.3%)	6 (1.3%)	0.079	0.6	0.091
MYH6	1 (1%)	5 (1.4%)	9 (2%)	1	0.7	0.59

MYH7	3 (3%)	14 (3.8%)	8 (1.8%)	1	0.43	0.085
NEXN	2 (2%)	8 (2.2%)	5 (1.1%)	1	0.62	0.27
PDLIM3	1 (1%)	2 (0.5%)	3 (0.7%)	0.51	0.55	1
PLN	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
RBM20	3 (3%)	11 (3%)	7 (1.6%)	1	0.4	0.23
SCN5A	1 (1%)	7 (1.9%)	6 (1.3%)	1	1	0.58
SDHA	1 (1%)	6 (1.6%)	2 (0.4%)	1	0.45	0.15
SGCB	0 (0%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	1	1	1
SGCD	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
SGCG	3 (3%)	0 (0%)	1 (0.2%)	0.0095	0.02	1
TAZ	0 (0%)	1 (0.3%)	1 (0.2%)	1	1	1
TBX20	0 (0%)	1 (0.3%)	1 (0.2%)	1	1	1
TCAP	1 (1%)	1 (0.3%)	0 (0%)	0.38	0.18	0.45
TMPO	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
TNNC1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TNNI3	0 (0%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	1	1	1
TNNT2	0 (0%)	6 (1.6%)	0 (0%)	0.35	n/d	0.0082

TPM1	1 (1%)	0 (0%)	3 (0.7%)	0.21	0.55	0.26
TTN	10 (10.1%)	44 (12.1%)	3 (0.7%)	0.72	4.7e-06	6.2e-13
VCL	1 (1%)	2 (0.5%)	8 (1.8%)	0.51	1	0.2
Todos los genes excepto TTN	37 (37.4%)	140 (38.4%)	141 (31.7%)	0.91	0.29	0.054
Todos los genes	44 (44.4%)	170 (46.6%)	144 (32.4%)	0.73	0.026	4.8e-05

Las variantes no truncadoras en TTN se excluyeron de este análisis. Para todos los demás genes, se han incluido variantes de truncamiento y no truncadoras. * Valores de p calculados usando la prueba exacta de Fisher.

Anexo 4. Prevalencia de variantes raras en 49 genes asociados a miocardiopatía de acuerdo con el tipo de variante por cada gen, en la cohorte de MCDQ, MCD y voluntarios sanos.

Gen	MCDQ (n=99)	MCD (n=364)	Voluntarios sanos (n=445)	MCDQ vs MCD*	MCDQ vs Voluntarios sanos*	MCD vs Voluntarios sanos*
ABCC9_non_TV	0 (0%)	2 (0.5%)	4 (0.9%)	1	1	0.7
ACTC1_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
ACTC1_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
ALMS1_TV	3 (3%)	3 (0.8%)	4 (0.9%)	0.11	0.12	1
ALMS1_non_TV	5 (5.1%)	14 (3.8%)	23 (5.2%)	0.57	1	0.4
ANKRD1_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	1	n/d	0.45
ANKRD1_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	1	n/d	0.45
BAG3_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
BAG3_non_TV	2 (2%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	0.12	0.15	1
CAV3_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
CAV3_non_TV	1 (1%)	0 (0%)	1 (0.2%)	0.21	0.33	1
CRYAB_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d

CRYAB_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
CSRP3_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
CSRP3_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	1	n/d	0.45
DES_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
DES_non_TV	2 (2%)	7 (1.9%)	4 (0.9%)	1	0.3	0.24
DMD_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
DMD_non_TV	3 (3%)	7 (1.9%)	5 (1.1%)	0.45	0.16	0.39
DNAJC19_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
DNAJC19_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
DSG2_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
DSG2_non_TV	0 (0%)	4 (1.1%)	3 (0.7%)	0.58	1	0.71
DSP_TV	0 (0%)	3 (0.8%)	0 (0%)	1	n/d	0.091
DSP_non_TV	6 (6.1%)	9 (2.5%)	15 (3.4%)	0.1	0.24	0.53
DTNA_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
DTNA_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	3 (0.7%)	1	1	0.63
EMD_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
EMD_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	1	n/d	0.45

EYA4_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
EYA4_non_TV	0 (0%)	2 (0.5%)	4 (0.9%)	1	1	0.7
FKRP_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
FKRP_non_TV	2 (2%)	1 (0.3%)	1 (0.2%)	0.12	0.087	1
FKTN_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
FKTN_non_TV	1 (1%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	0.38	0.45	1
FXN_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
FXN_non_TV	0 (0%)	2 (0.5%)	1 (0.2%)	1	1	0.59
HADHA_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
HADHA_non_TV	0 (0%)	3 (0.8%)	0 (0%)	1	n/d	0.091
HFE_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
HFE_non_TV	0 (0%)	3 (0.8%)	2 (0.4%)	1	1	0.66
ILK_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
ILK_non_TV	0 (0%)	2 (0.5%)	2 (0.4%)	1	1	1
LAMA2_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	1 (0.2%)	1	1	1
LAMA2_non_TV	3 (3%)	21 (5.8%)	18 (4%)	0.44	0.78	0.32
LAMA4_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d

LAMA4_non_TV	2 (2%)	7 (1.9%)	4 (0.9%)	1	0.3	0.24
LAMP2_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
LAMP2_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
LDB3_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
LDB3_non_TV	1 (1%)	5 (1.4%)	2 (0.4%)	1	0.45	0.25
LMNA_TV	0 (0%)	3 (0.8%)	0 (0%)	1	n/d	0.091
LMNA_non_TV	0 (0%)	3 (0.8%)	1 (0.2%)	1	1	0.33
MYBPC3_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
MYBPC3_non_TV	0 (0%)	12 (3.3%)	6 (1.3%)	0.079	0.6	0.091
MYH6_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
MYH6_non_TV	1 (1%)	5 (1.4%)	9 (2%)	1	0.7	0.59
MYH7_TV	0 (0%)	2 (0.5%)	2 (0.4%)	1	1	1
MYH7_non_TV	3 (3%)	12 (3.3%)	6 (1.3%)	1	0.21	0.091
NEXN_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
NEXN_non_TV	2 (2%)	8 (2.2%)	4 (0.9%)	1	0.3	0.15
PDLIM3_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
PDLIM3_non_TV	1 (1%)	2 (0.5%)	3 (0.7%)	0.51	0.55	1

PLN_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
PLN_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
RBM20_TV	0 (0%)	2 (0.5%)	0 (0%)	1	n/d	0.2
RBM20_non_TV	3 (3%)	9 (2.5%)	7 (1.6%)	0.72	0.4	0.45
SCN5A_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
SCN5A_non_TV	1 (1%)	7 (1.9%)	5 (1.1%)	1	1	0.39
SDHA_TV	1 (1%)	1 (0.3%)	0 (0%)	0.38	0.18	0.45
SDHA_non_TV	0 (0%)	5 (1.4%)	2 (0.4%)	0.59	1	0.25
SGCB_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
SGCB_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	1	1	1
SGCD_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
SGCD_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
SGCG_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
SGCG_non_TV	3 (3%)	0 (0%)	1 (0.2%)	0.0095	0.02	1
TAZ_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TAZ_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	1 (0.2%)	1	1	1
TBX20_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d

TBX20_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	1 (0.2%)	1	1	1
TCAP_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TCAP_non_TV	1 (1%)	1 (0.3%)	0 (0%)	0.38	0.18	0.45
TMPO_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TMPO_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
TNNC1_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TNNC1_non_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TNNI3_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TNNI3_non_TV	0 (0%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	1	1	1
TNNT2_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
TNNT2_non_TV	0 (0%)	6 (1.6%)	0 (0%)	0.35	n/d	0.0082
TPM1_TV	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	n/d	1	1
TPM1_non_TV	1 (1%)	0 (0%)	2 (0.4%)	0.21	0.45	0.5
TTN_TV	10 (10.1%)	44 (12.1%)	3 (0.7%)	0.72	4.7e-06	6.2e-13
VCL_TV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	n/d	n/d	n/d
VCL_non_TV	1 (1%)	2 (0.5%)	8 (1.8%)	0.51	1	0.2

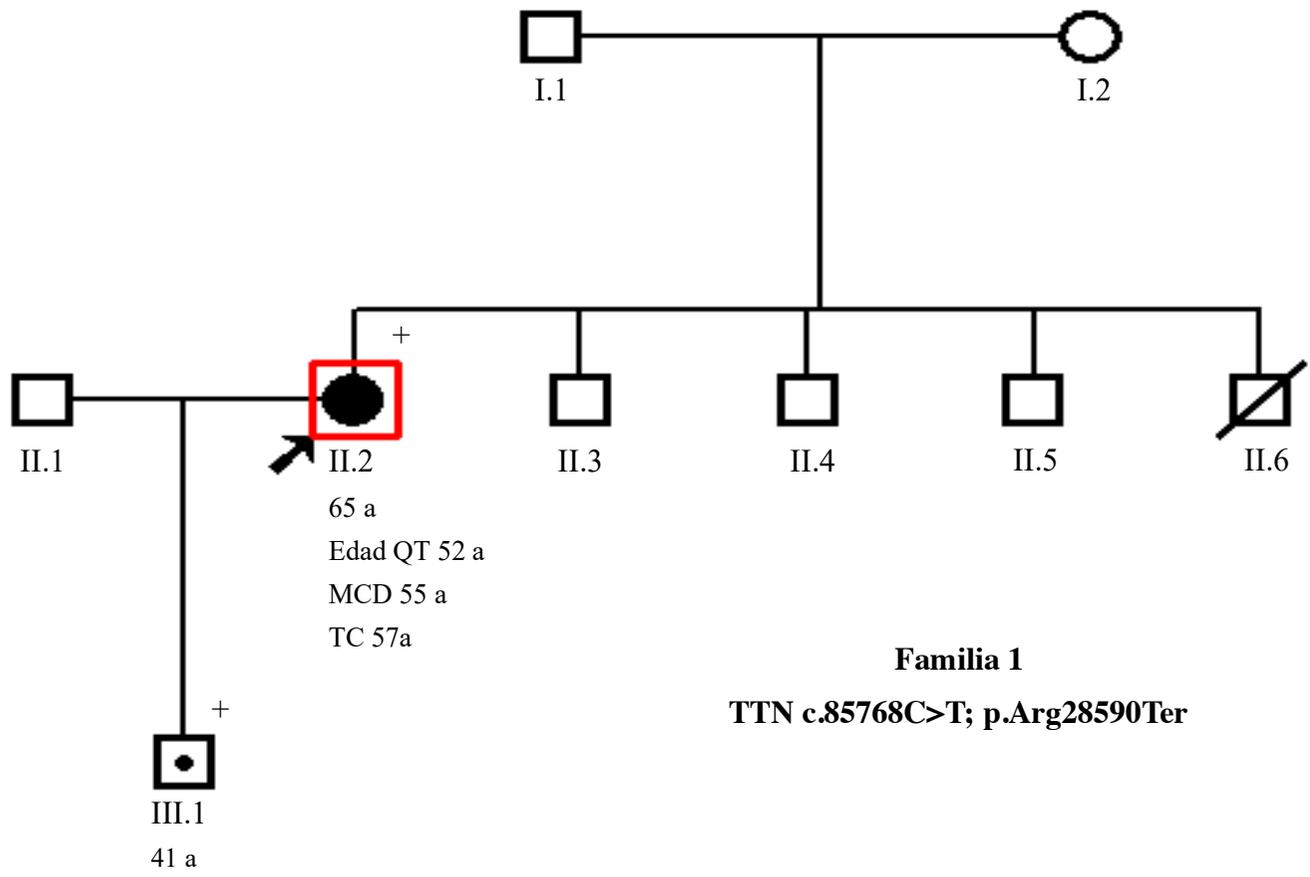
Todos los genes excepto TTN	37 (37.4%)	140 (38.4%)	141 (31.7%)	0.91	0.29	0.054
Todos los genes	44 (44.4%)	170 (46.6%)	144 (32.4%)	0.73	0.026	4.8e-05

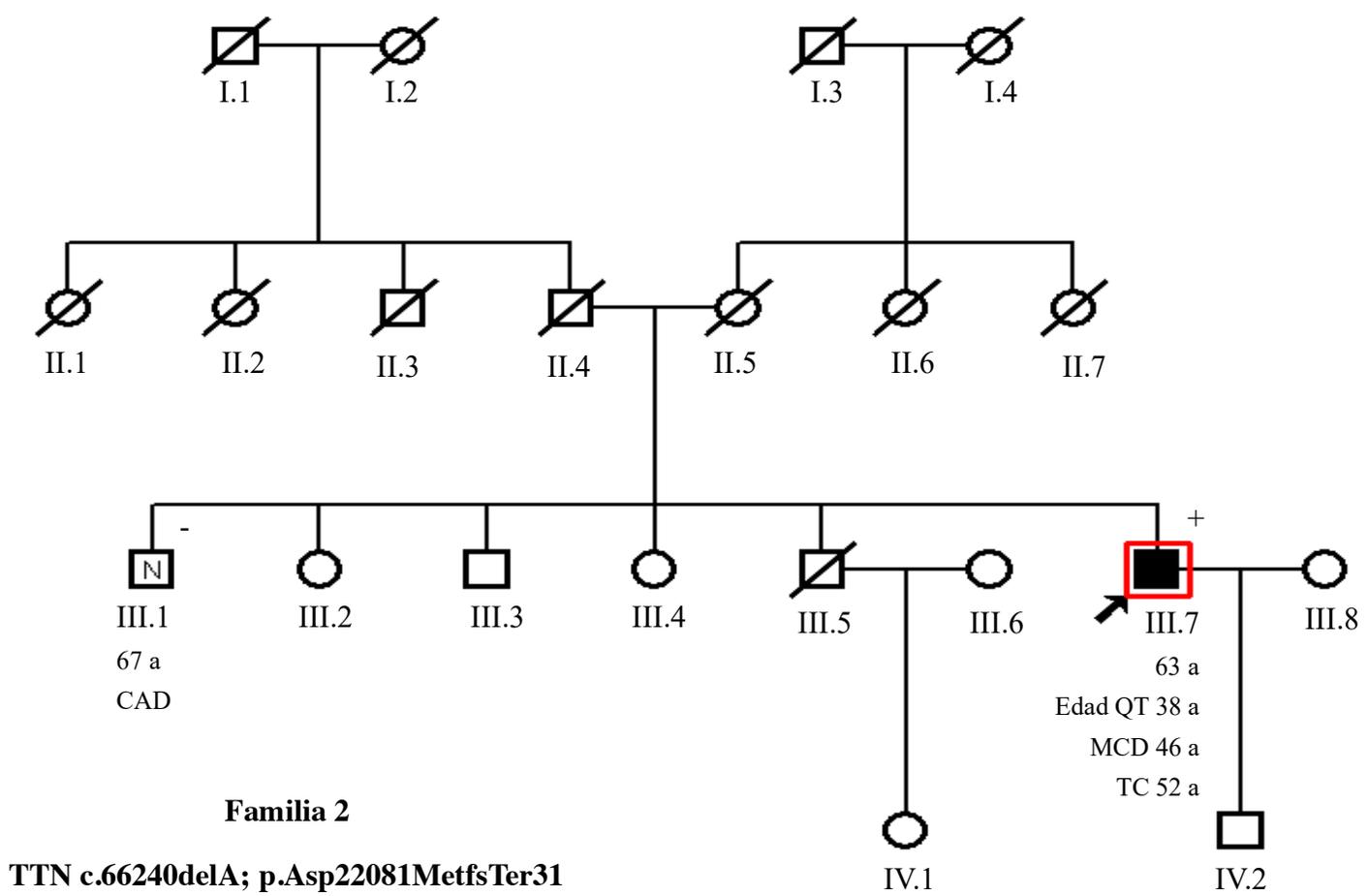
* Valores de p calculados usando la prueba exacta de Fisher. \$

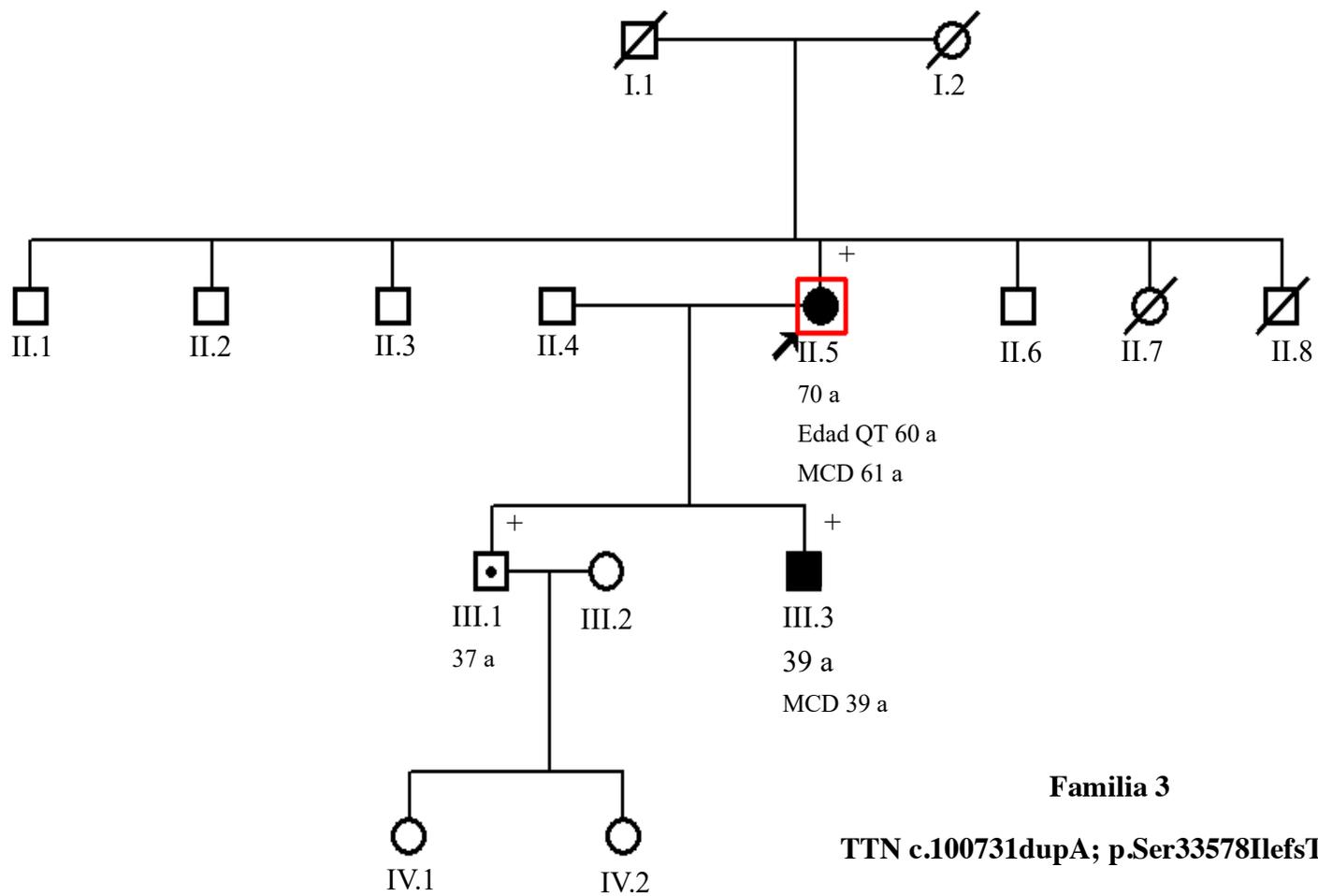
Anexo 5. Árboles familiares de los pacientes con MCDQ portadores de variantes raras en genes asociados con MCD.

Los cuadrados y los círculos indican sujetos masculinos y femeninos, respectivamente. La flecha señala el caso índice. Los símbolos con una barra oblicua indican los familiares fallecidos. Los símbolos que contienen un punto son portadores que no presentan la enfermedad. Los símbolos rellenos son los individuos que presentan el fenotipo. Los símbolos que contienen una "N" son los no portadores no afectados. El + en la parte superior derecha del símbolo, significa que es portador de mutación, el - que no es portador. Las edades indicadas se refieren a la edad en el momento de la última evaluación.

Edad QT indica la edad de inicio del tratamiento con quimioterapia; MCD indica la edad en el diagnóstico de la miocardiopatía dilatada; TC indica la edad en la que se realizó el trasplante cardíaco; CAD indica enfermedad coronaria.

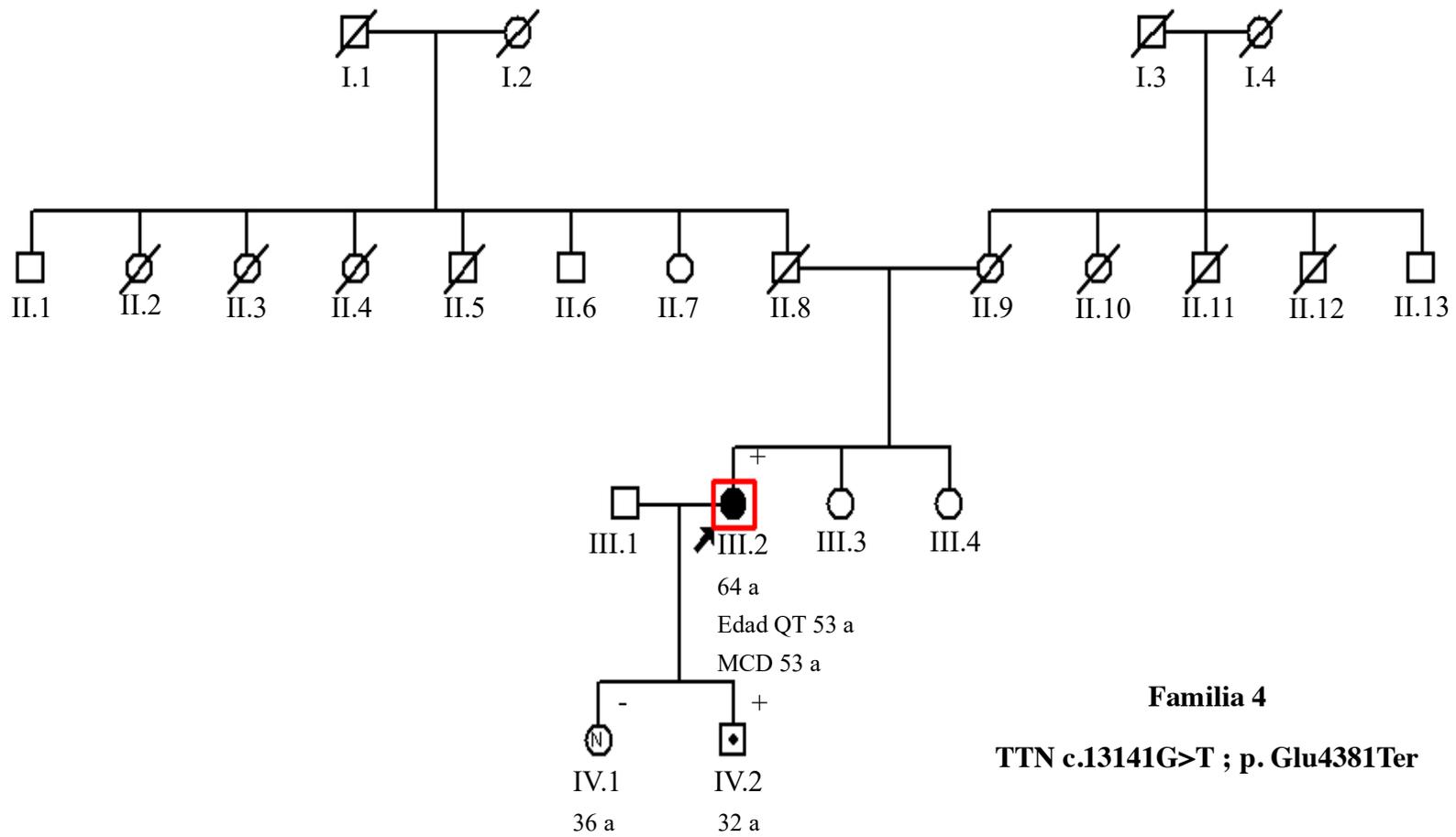


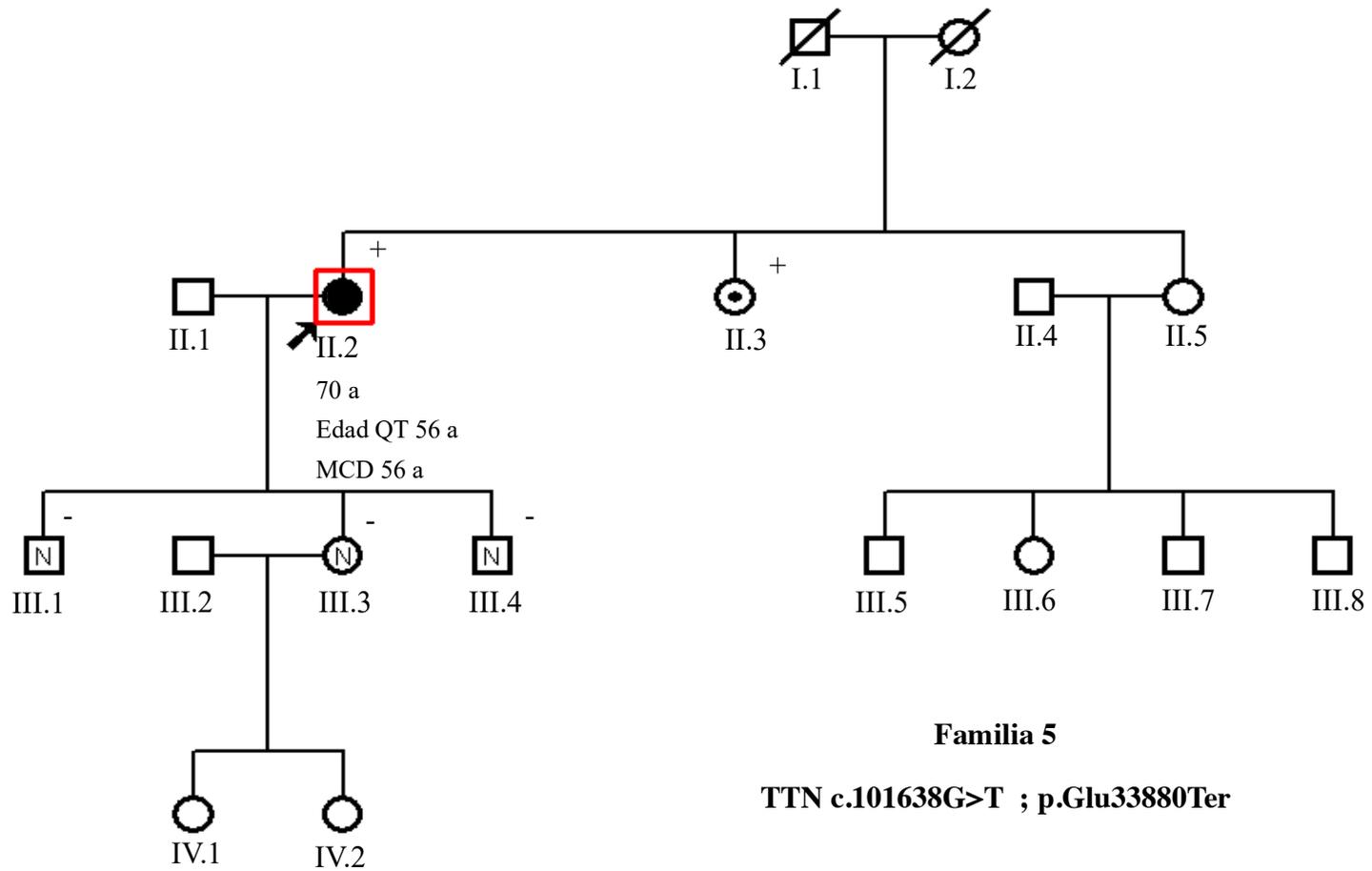


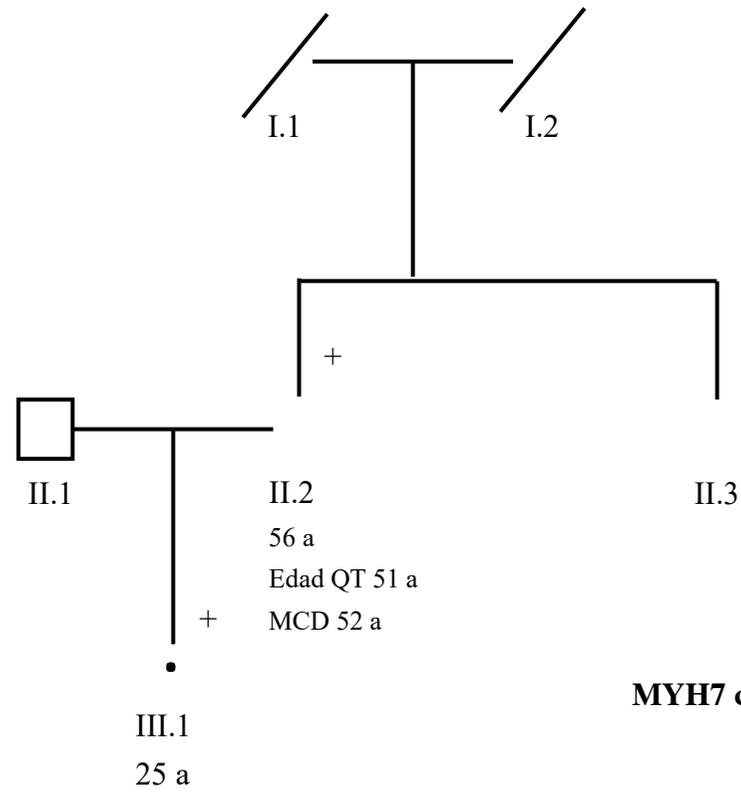


Familia 3

TTN c.100731dupA; p.Ser33578IlefsTer15







Familia 6
MYH7 c.5507C>T; p.S1836L

Circulation

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE



Genetic Variants Associated With Cancer Therapy–Induced Cardiomyopathy

BACKGROUND: Cancer therapy–induced cardiomyopathy (CCM) is associated with cumulative drug exposures and preexisting cardiovascular disorders. These parameters incompletely account for substantial interindividual susceptibility to CCM. We hypothesized that rare variants in cardiomyopathy genes contribute to CCM.

METHODS: We studied 213 patients with CCM from 3 cohorts: retrospectively recruited adults with diverse cancers (n=99), prospectively phenotyped adults with breast cancer (n=73), and prospectively phenotyped children with acute myeloid leukemia (n=41). Cardiomyopathy genes, including 9 prespecified genes, were sequenced. The prevalence of rare variants was compared between CCM cohorts and The Cancer Genome Atlas participants (n=2053), healthy volunteers (n=445), and an ancestry-matched reference population. Clinical characteristics and outcomes were assessed and stratified by genotypes. A prevalent CCM genotype was modeled in anthracycline-treated mice.

RESULTS: CCM was diagnosed 0.4 to 9 years after chemotherapy; 90% of these patients received anthracyclines. Adult patients with CCM had cardiovascular risk factors similar to the US population. Among 9 prioritized genes, patients with CCM had more rare protein-altering variants than comparative cohorts ($P \leq 1.98e-04$). Titin-truncating variants (TTNtv) predominated, occurring in 7.5% of patients with CCM versus 1.1% of The Cancer Genome Atlas participants ($P = 7.36e-08$), 0.7% of healthy volunteers ($P = 3.42e-06$), and 0.6% of the reference population ($P = 5.87e-14$). Adult patients who had CCM with TTNtv experienced more heart failure and atrial fibrillation ($P = 0.003$) and impaired myocardial recovery ($P = 0.03$) than those without. Consistent with human data, anthracycline-treated TTNtv mice and isolated TTNtv cardiomyocytes showed sustained contractile dysfunction unlike wild-type ($P = 0.0004$ and $P < 0.002$, respectively).

CONCLUSIONS: Unrecognized rare variants in cardiomyopathy-associated genes, particularly TTNtv, increased the risk for CCM in children and adults, and adverse cardiac events in adults. Genotype, along with cumulative chemotherapy dosage and traditional cardiovascular risk factors, improves the identification of patients who have cancer at highest risk for CCM.

CLINICAL TRIAL REGISTRATION: URL: <https://www.clinicaltrials.gov>. Unique identifiers: NCT01173341; AAML1031; NCT01371981.

Pablo Garcia-Pavia, MD, PhD*
Yuri Kim, MD, PhD*
Maria Alejandra Restrepo-Cordoba, MD* et al

*Drs Garcia-Pavia, Kim, and Restrepo-Cordoba contributed equally.

†Drs Barton, Aplenc, J. G. Seidman, Ky, Ware, and C. E. Seidman are co-senior authors (see page 39).

Full author list is available on page 39.

Key Words: cardiomyopathies ■ drug therapy ■ genetics ■ medical oncology ■ titin

Sources of Funding, see page 39

© 2019 The Authors. *Circulation* is published on behalf of the American Heart Association, Inc., by Wolters Kluwer Health, Inc. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.

<https://www.ahajournals.org/journal/circ>

Clinical Perspective

What Is New?

- This is the first study to consider the association between rare genetic variants in a large set of cardiomyopathy genes and the occurrence of cancer therapy–induced cardiomyopathy (CCM).
- We demonstrated an increased prevalence of rare variants in cardiomyopathy genes, in particular, truncating variants in the *TTN* gene, in adult and pediatric patients who have cancer with CCM.
- We confirmed human genetic data with experimental analyses, showing that anthracyclines induced protracted left ventricular dysfunction in mice with titin-truncating variants, but not in wild-type mice.

What Are the Clinical Implications?

- Our findings show that variants in cardiomyopathy genes contribute to CCM susceptibility among adult and pediatric patients with cancer.
- The identification of genetic risk factors opens new opportunities to define patients at high risk for CCM and associated adverse outcomes.
- Future investigations to define patients who have cancer with high risk for CCM through genetic testing can assess the efficacy of prophylactic cardioprotective drugs and treatment regimens to reduce CCM while providing effective cancer therapy.

Considerable advances in cancer therapies have led to major improvements in long-term survival for many malignancies, but also to unintended side effects, including cardiotoxicity.^{1,2} Cancer therapy–induced cardiomyopathy (CCM), identified as reduced left ventricular ejection fraction (LVEF) with or without signs and symptoms of overt heart failure,³ can occur during, shortly after, or many years beyond cancer treatments and affects the long-term prognosis of patients.^{1,4,5}

Anthracyclines, which are commonly used to treat both solid tumors and hematologic malignancies in children and adults,² cause cardiotoxicity in up to 10% of patients with cumulative dosages of 250 mg/m² but in 65% of patients receiving cumulative dosages >550 mg/m².⁶ Combining anthracyclines with other therapies, such as trastuzumab (an antibody targeting HER-2), can provoke greater cardiotoxicity with depressed LVEF occurring in ≈18% to 34% of treated individuals, and severe, symptomatic heart failure in 2% to 4%.^{3,7} Additional clinical parameters are recognized to contribute to CCM, including female sex, extremes of age, and preexisting cardiac risk factors.² Even when accounting for these factors, predicting individual susceptibility to CCM remains challenging.

Several candidate gene and genome-wide association studies have identified common genetic variants that are associated with CCM through candidate gene analyses and genome-wide association studies.^{2,8–12} Although a recent systemic literature review concluded that the overall evidence supporting variant associations with CCM was limited, genetic data were robust for one intergenic variant (rs28714259) and variants in proximity to 4 other genes.¹³ Rare variants in genes that cause familial cardiomyopathies¹⁴ have also been identified in several small case series and isolated patients with CCM.^{13,15–17}

To better understand the clinical and genetic determinants in CCM, we studied 3 CCM cohorts comprising adult and pediatric patients with diverse malignancies, of whom 90% received anthracyclines. We then corroborated our human findings through cardiac phenotyping of anthracycline-treated mice. From these analyses, we demonstrate the direct and prevalent involvement of variants in genes associated with dilated cardiomyopathy and, in particular, titin-truncating variants (*TTN*ts) in CCM.

METHODS

The data that support the findings of this study are available within the article, the online supplementary files, and publicly available databases. Additional requests, from qualified researchers trained in human subject confidentiality protocols, for anonymized data may be sent to the corresponding authors.

CCM Cohorts, Healthy Volunteer, and Population Controls

Research protocols were reviewed and approved by the institutional ethics board at each participating site. Adult patients with CCM (cohorts A and B), parents of minor patients with CCM (cohort C), and healthy volunteers provided written informed consent. Cohort A includes non-Finnish European patients with CCM retrospectively collected from 6 European heart failure or cardiac transplantation clinics in Spain and the United Kingdom. Cohort B includes prospectively enrolled patients with breast cancer, participating in cardiotoxicity studies of cancer treatments (clinicaltrials.gov NCT01173341). Cohort C includes pediatric patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia, enrolled in a clinical therapy trial therapy (AAML1031; clinicaltrials.gov NCT01371981). Cohorts B and C are US patients with non-Finnish European, African, or Asian ancestry, who had prespecified clinical assessments with cardiac imaging (echocardiograms or multigated acquisition scans) before, during, and after chemotherapy. Table 1 provides additional demographic profiles on these cohorts.

CCM was diagnosed irrespective of symptoms based on LVEF to <50 (cohort B) or <53% (cohorts A and C)^{3,18,19} and ≥10% reduction from baseline by echocardiography or <50% and ≥10% reduction from baseline by radionuclide ventriculography, in the absence of established coronary artery disease, cardiomyopathy, primary valvular disease, or uncontrolled hypertension.

Table 1. Clinical Characteristics at Baseline and Follow-Up in Patients With CCM in Study Cohorts

Characteristics	Cohort A (n=99)	Cohort B (n=73)	Cohort C (n=41)
Baseline			
Age at chemotherapy onset, y	48.7±17.1	49.6±10.8	10.8±5.6
Male sex, n (%)	33 (33)§	0 (0)§	17 (41)§
Family history of cardiomyopathy, n (%)	3 (3)	0 (0)	NA
Ethnicity, n (%)			
White	99 (100)§	46 (63)§	25 (61)§
Black	0 (0)§	23 (32)§	9 (22)§
Asian	0 (0)§	4 (5)§	3 (7)§
Others	0 (0)§	0 (0)§	4 (10)§
Comorbidities, n (%)			
Current or past smokers	33 (33)	25 (34)	0 (0)
Hypertension	29 (29)	29 (39)	0 (0)
Hypercholesterolemia	27 (27)	17 (23)	0 (0)
Diabetes mellitus	20 (20)	7 (10)	0 (0)
Oncological disease, n (%)			
Breast cancer	51 (52)§	73 (100)§	0 (0)§
Hematological malignancy	38 (38)§	0 (0)§	41 (100)§
Other solid tumor	10 (10)§	0 (0)§	0 (0)§
Exposure to anthracycline, n (%)	91 (91)	58 (79)	41 (100)
Cumulative anthracycline dose,* mg/m ²	300.7±153.2	240±0	488.3±23.4
Exposure to anti-HER2, n (%)	20 (20)§	36 (49)§	0 (0)§
Radiation therapy to chest, n (%)	32 (32)§	47 (64)§	0 (0)§
LVEF before chemotherapy,† %	62.1±5.4§	55.0±4.7§	64.5±5.8§
At CCM diagnosis			
Time from chemotherapy to diagnosis, y	3 (1–9)§	0.7 (0.4–1.2)§	0.3 (0.2–0.4)§
LVEF at CCM diagnosis, %	33.0±10.0§	41.5±5.5§	44.8±6.7§
NYHA functional class III–IV, n (%)	44 (44)§	1 (1.3)§	NA§
Follow-up			
Duration of follow-up, y	4 (1–7)§	1.7 (0.7–3.3)§	2.3 (1.1–3.2)§
Final LVEF, %	47.3±13.2	49.3±8.2	54.8±13.0
LVEF recovery,‡ n (%)	50 (50)	33 (45)	28 (68)
Cardiac transplantation, n (%)	9 (9)	0 (0)	0 (0)
Cardiac death, n (%)	3 (3)	0 (0)	2 (5)

Data are expressed as numbers (%) or mean±SD, except for time from chemotherapy to cardiotoxicity diagnosis and duration of follow-up, which are expressed as median (Q1–Q3). Comorbidities are those present at diagnosis of CCM. Patient characteristics which are significantly different (adjusted *P*-value <0.05 using Fisher exact test for categorical variables and Welch *t* test for continuous variables) between adult cohorts A and B are shown in bold. CCM indicates cancer therapy-induced cardiomyopathy; HER-2, human epidermal growth factor receptor-2; LVEF, left ventricular ejection fraction; and NYHA, New York Heart Association.

*Cumulative anthracycline dose for 7 patients in cohort A is unknown; these patients were excluded from calculation. Fifty-eight patients in cohort B who underwent anthracycline treatment received 240 mg/m². Planned cumulative anthracycline dose for cohort C (492 mg/m² for 40 patients and 342 mg/m² for 1 patient) is noted in the table, but actual dose may have varied, because 17 patients underwent dose modification of unknown quantity during their treatment period.

†LVEF before chemotherapy was available to review in 31, 73, and 41 subjects in cohorts A, B, and C, respectively.

‡LVEF recovery was defined as an absolute increase in LVEF ≥5% with final LVEF ≥50% in the adult cohorts and ≥53% in the pediatric cohort.

§Significant values.

Additional clinical information including follow-up duration and adverse outcomes was obtained from medical and clinical trial records and patient reports. Where prechemotherapy cardiac imaging was absent, patients were included when LVEF was ≤45% and no alternative cause for cardiac dysfunction other

than chemotherapy was identified. LVEF recovery was defined by a final LVEF ≥50% with ≥5% LVEF increase or restoration of LVEF to the baseline value.¹⁸

Healthy volunteers of European ancestry (n=445) were prospectively recruited participants into the U.K. Digital Heart Project

(<https://digital-heart.org/>)²⁰ with no cardiovascular disease or risk factors by self-report and normal cardiac magnetic resonance imaging.

Next-Generation Sequencing and Variant Analysis

Genomic DNA extracted from peripheral blood samples was used to produce DNA-sequencing libraries that were captured and sequenced on Illumina TruSight Cardio Sequencing kit and a custom Agilent array (DCMv5) as described.^{20,21} Variants were identified using the Genome Analysis Tool Kit (GATK) HaplotypeCaller tool following GATK Best Practices.²² Rare variants (minor allele frequency <1.0e−4, assessed in ancestry-matched subjects in the Genome Aggregation Database [gnomAD]²³) were annotated by SnpEFF and GRCh37.68 (also see the [online-only Data Supplement](#)). The cumulative burden of rare variants in cardiomyopathy genes was compared in CCM cohorts with all patients who had breast (n=1042) and lung (n=1011) cancer participating in The Cancer Genome Project (TCGA),²⁴ healthy volunteers, and gnomAD²³ subjects with non-Finnish European, African, and Asian ancestries (combined and in ancestry-specific analyses).

Anthracycline Treatment of Mice

Protocols were reviewed and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee at Harvard Medical School (Boston, MA). Wild-type and heterozygous C57BL/6N mice with a titin A-band truncation (Ttn^{tr/+})^{25,26} received 3 doses of intraperitoneal doxorubicin (5 mg/kg) at weekly intervals (≈45 mg/m²). Cardiac function was assessed *in vivo* at baseline (age=10–14 weeks) and weekly using a digital ultrasound system (Vevo 2100 Imaging System and MS550D transducer; FujiFilm VisualSonics) by an experienced observer blinded to mouse genotype and treatment. Cardiomyocytes from treated and untreated wild-type and Ttn^{tr/+} mice were isolated and sarcomere contractility was measured (see the [online-only Data Supplement Methods](#)).

Statistical Analyses

Cohort and subgroup analyses, and comparisons with TCGA genomic data,²⁴ healthy volunteers, and reference populations²³ were performed by Fisher exact test (2-tailed), binomial test, or Pearson χ^2 test of association for categorical values. Welch *t* test and Kruskal-Wallis rank sum tests were used to assess numerical data. Analyses were conducted using either the Stata SE package (version 14, StataCorp) or the R statistical package (version 3.4.0; <http://www.R-project.org/>).

Additional method details are provided in the [online-only Data Supplement](#).

RESULTS

Patients With CCM

We studied 3 CCM cohorts (Table 1). Cohort A includes 99 patients of European ancestry with hematologic, breast, or other solid-tumor cancer (mean age at treatment=48.7±17.1 years), recruited from heart failure and

cardiac transplant clinics. Two US cohorts were identified through prospective longitudinal cardiac evaluations obtained throughout cancer therapy: Cohort B comprised 73 patients (mean age at treatment=49.6±10.8 years) with European, African, or Asian ancestry, enrolled from breast cancer clinics as part of a prospective study of who developed CCM during treatment; Cohort C comprised 41 pediatric patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia (mean age at treatment=10.8±5.6 years) of diverse ancestries. Although individual treatments varied, 90% of all patients with CCM received anthracycline and 33% of adults received trastuzumab. After normalizing anthracycline doses²⁷ the cumulative equivalent dose was <400 mg/m² in 93.9% of patients in cohort A, 100% of patients in cohort B, and 2.3% of patients in cohort C.

We assessed clinical risk factors for CCM in these cohorts. Seventy-six percent of all patients were CCM were females, predominantly treated for breast cancer. In cohorts A and B the prevalence of cigarette smoking, hypertension, and diabetes mellitus was comparable (*P*=not significant) to that of the general US population,²⁸ but hypercholesterolemia in patients with cancer was less common (*P*=3.0e−09). Three patients in cohort A, without prechemotherapy imaging studies, had family histories of cardiomyopathy of unknown cause. Patients in cohort C were considerably younger (mean age=10.8±5.6 years), without cardiovascular risk factors, and all had normal LVEF at study entry.

The median time after the initiation of cancer treatment to CCM diagnosis in cohort A was 3.0 (range=1–9) years, but 0.3 to 0.7 years for cohorts B and C because of cardiac surveillance during treatment in these 2 cohorts. At CCM diagnosis, the mean LVEF decrease was 23.4±9.2% in cohort A, 13.5±3.3% in cohort B, and 19.7±6.0% in cohort C. Across all cohorts, treatment with high cumulative anthracycline dose (>400 mg/m²) was not associated with poorer left ventricular (LV) dysfunction at CCM diagnosis (mean LVEF=42.0±9.6%). Patients (cohorts A and B) who received trastuzumab without anthracycline had similar cardiovascular risk factors and no significant differences in either baseline or postchemotherapeutic LVEF (mean LVEF decrease=13.9±3.6%) in comparison with patients receiving anthracyclines with or without other agents (mean LVEF decrease=16.7±7.5%). Cardiac recovery occurred in approximately half of patients with CCM from each cohort, but 9% of patients in cohort A underwent cardiac transplantation. Cardiac deaths occurred in 3% of patients in cohort A and in 5% of patients in cohort C.

Gene Variants in Patients With CCM

We previously identified 9 genes with an excess of rare missense and in-frame insertions/deletion or truncating variants among patients with cardiomyopathy.²⁹ Within

Table 2. Burden Analysis of 9 DCM Genes in CCM Cohorts

Gene	Cohort A (n=99)	Cohort B (n=73)	Cohort C (n=41)	All CCM (n=213)	TCGA* Breast/ Lung (n=2053)	HVOL† (n=445)	P Values Comparisons of			
							All CCM Versus			NFE‡ CCM (n=170) Versus NFE gnomAD
							TCGA	HVOL	gnomAD‡	
BAG3	1 (1.0%)	2 (2.7%)	0 (0.0%)	3 (1.4%)	18 (0.9%)	4 (0.9%)	0.44 (1)	0.69 (1)	0.44 (1)	0.37 (1)
DSP	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	4 (0.2%)	0 (0.0%)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
LMNA	0 (0.0%)	1 (1.4%)	0 (0.0%)	1 (0.5%)	16 (0.8%)	2 (0.4%)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
MYH7	3 (3.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (1.4%)	35 (1.7%)	5 (1.1%)	1 (1)	0.72 (1)	1 (1)	0.75 (1)
SCN5A	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (0.2%)	1 (0.2%)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
TCAP	1 (1.0%)	0 (0.0%)	1 (2.4%)	2 (0.9%)	2 (0.1%)	0 (0.0%)	0.05 (0.45)	0.10 (0.90)	0.07 (0.62)	1 (1)
TNNC1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.1%)	0 (0.0%)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
TNNT2	0 (0.0%)	1 (1.4%)	0 (0.0%)	1 (0.5%)	7 (0.3%)	0 (0.0%)	0.55 (1)	0.32 (1)	0.50 (1)	0.34 (1)
TTN	10 (10.0%) 	4 (5.5%) 	2 (4.9%) 	16 (7.5%) 	22 (1.1%) 	3 (0.7%) 	7.36e-08 (6.62e-07) 	3.42e-06 (3.08e-05) 	5.87e-14 (5.28e-13) 	2.03e-10 (1.82e-09)
8 genes (no TTN)	5 (5.1%)	4 (5.5%)	1 (2.4%)	10 (4.7%)	86 (4.2%)	12 (2.7%)	0.72	0.25	0.01	0.21
9 genes	15 (15.1%) 	8 (11%) 	3 (7.3%) 	26 (12.2%) 	108 (5.3%) 	15 (3.4%) 	1.98e-04 	3.90e-05 	1.78e-06 	6.98e-06

The number of subjects with variants in each gene is noted in the table, and percentages are noted in parentheses (%). Types of variants analyzed for each gene: all protein-altering variants (BAG3, LMNA, TCAP, TNNC1, TNNT2), missense variants and in-frame deletion or insertion only (MYH7), frameshift variant, stop-gained, splice-donor, and splice-acceptor variants only (DSP, SCN5A, TTN). P values were calculated via Fisher exact test for all CCM vs breast and lung cancer TCGA participants (TCGA) and healthy volunteers (HVOL) and binomial test for all CCM vs gnomAD.²³ Bonferroni corrections are provided in parentheses. Significant values are shown in bold. CCM indicates cancer therapy-induced cardiomyopathy; and DCM, dilated cardiomyopathy.

*TCGA denotes all breast and lung cancer participants (n=2053) in The Cancer Genome Atlas.²⁴

†HVOL denotes 445 healthy volunteers without cardiovascular disease based on detailed evaluations.

‡gnomAD denotes reference population with African American, non-Finnish European, and East Asian ancestries.

§NFE denotes non-Finnish Europeans ancestries. The subanalyses of NFE patients with CCM are compared with NFE gnomAD reference population n≥113482.

|| Significant values.

See Table II in the online-only Data Supplement for subanalyses of patients with CCM and reference populations stratified by ancestry.

these prespecified genes, we examined rare variants (defined as minor allele frequency <1.0e-4) among ancestry-matched reference populations,²³ CCM cohorts, healthy volunteers, and all breast and lung cancer participants in TCGA²⁴ (Table 2). Because anthracyclines are highly effective and widely used to treat these malignancies,⁶ we expect that most TCGA participants received this chemotherapeutic agent. The prevalence of rare protein-altering variants across all 9 genes was significantly higher in a combined CCM cohort than in unselected lung and breast cancer TCGA participants ($P=1.98e-04$), healthy volunteers ($P=3.90e-05$), and reference populations ($P=1.78e-06$). Although patients with CCM had rare variants in several established dilated cardiomyopathy (DCM) genes (*BAG3*, *LMNA*, *MYH7*, *TCAP*, *TNNT2*, and *TTN*), only variants in *TTN*, which encodes titin, were significantly increased. *TTN* variants were highly enriched in all patients with CCM (n=16; 7.5%) in comparison with unselected breast or lung TCGA participants (combined, $P=7.36e-08$ and Table I in the online-only Data Supplement), healthy volunteers ($P=3.42e-06$), and the reference population ($P=5.87e-14$). Subanalyses of patients with CCM and the reference population stratified by ancestry (Table II in the online-only Data Supplement), although limited by small numbers, confirmed the observed enrichment of *TTN* variants in all patients with CCM. *TTN* variants that are significantly

increased in patients with DCM^{20,30} reside in exons that are highly expressed in LV tissues, especially those that encode the A-band and distal I-band.³¹ *TTN* variants identified in patients with CCM shared these characteristics (Table 3).

We extended these analyses to include 40 other genes that have been implicated in cardiomyopathies.²⁹ Variants in these genes account for a very small fraction of unselected patients with cardiomyopathy. There was no significant difference in the prevalence of all rare protein-altering variants (minor allele frequency <1.0e-4; Tables III and IV in the online-only Data Supplement) or variants predicted as damaging (Tables V and VI in the online-only Data Supplement) in patients with CCM in each cohort or the combined CCM cohort, in comparison with healthy volunteers or in the reference population. For individual genes, the prevalence of rare variants was nominally increased only in *FKRP* (encoding fukutin-related protein); recessive *FKRP* mutations cause several forms of muscular dystrophies with cardiac involvement.³²

Clinical Outcomes in Adult Patients Who Have CCM With or Without *TTN* Variants

Patients with CCM in cohorts A and B were predominantly women (81%), with breast cancer (73%), with traditional cardiovascular risk factors, who received

Table 3. Summary of TTNtv Identified From All 3 Cohorts With CCM

Variant	Impact	TTN Band	Affected Exon	PSI of Affected Exon	Cancer Type	Chemotherapy	LVEF at CCM (Change)	Follow-Up, y	Adverse Outcome
chr2:179399704 c.101638G>T	Nonsense (p.Glu33880X)	M	359	1	Breast	Epirubicin	30% (NA)	14	HF
chr2:179400742 c.100731dupA	Frameshift (p.Ser33578IlefsTer15)	A	358	0.99	Breast	Doxorubicin + Trastuzumab	37% (24%)	4	VT, HF
chr2:179410112 c.95722+2delT	Splicing	A	345	0.99	Endometrial	Doxorubicin	20% (NA)	5	HF
chr2:179414849 c.91715dupA	Frameshift (p.Asn30572fs)	A	338	0.98	Breast	Epirubicin	42% (NA)	5	HF
chr2:179422284 c.60512-2A>C	Splicing	A	330	0.96	Breast	Doxorubicin + Trastuzumab	43% (17%)	2.2	None
chr2:179425091 c.85768C>T	Nonsense (p.Arg28590X)	A	327	0.95	Breast	Doxorubicin	35% (NA)	2	HF, VT, transplantation
chr2:179428124 c.82734dupA	Frameshift (p.Val27579SerfsTer15)	A	327	0.95	Non-Hodgkin lymphoma	Doxorubicin	29% (NA)	2	None
chr2:179432234 c.78625G>T	Nonsense (p.Glu26209X)	A	327	0.95	Non-Hodgkin lymphoma	Doxorubicin	34% (NA)	3	HF
chr2:179435679 c.75179delA	Frameshift (p.Asn25060fs)	A	327	0.95	Breast	Doxorubicin + Trastuzumab	44% (12%)	3.4	None
chr2:179441250 c.69715+6T>C	Splicing	A	326	0.95	Breast	Trastuzumab	38% (12%)	0.4	None
chr2:179446855 c.66240delA	Frameshift (p.Asp22081MetfsTer31)	A	316	0.86	Bone sarcoma	Doxorubicin	25% (NA)	6	HF
chr2:179453355 c.63096delT	Frameshift (p.His21032fs)	A	305	0.97	AML	Daunorubicin+ Mitoxantrone	36% (22%)	2.8	None
chr2:179478777 c.49345+2T>C	Splicing	A	263	0.89	AML	Daunorubicin+ Mitoxantrone	50% (18%)	0.8	None
chr2:179571683 c.29042-2A>C	Splicing	I	102	0.88	Breast	Doxorubicin	35% (15%)	1.6	None
chr2:179604819 c.13141G>T	Nonsense (p.Glu4381X)	I	49	0.95	Breast	Doxorubicin	31% (30%)	6	HF
chr2:179631116 c.9693_9694delCT	Frameshift (p.Tyr3232CysfsTer5)	I	41	1	Breast	Epirubicin	45% (NA)	6	HF

Variants are defined based on the meta-transcript (LRG_391_t1 / ENST00000589042) that incorporates all exons in described TTN isoforms (including fetal and noncardiac isoforms) with the exception of exons that are unique to the novel transcripts.

AML indicates acute myeloid leukemia; CCM, cancer therapy–induced cardiomyopathy; HF, heart failure hospitalization; LVEF, left ventricular ejection fraction; NA, not available; PSI, proportions spliced in; TTNtv, titin-truncating variant; and VT, ventricular tachycardia.

anthracyclines (86.6%) or trastuzumab (33%), and with follow-up between 8.4 months and 18 years (Table 1). We defined the clinical courses among patients who have CCM with TTNtv and compared risk factors for CCM and outcomes among patients with and without TTNtv (Table 4 and Tables VII through IX in the online-only Data Supplement). At diagnosis of CCM, the mean LVEF of patients with (34.9±7.4) and without TTNtv (36.8±9.5; P =not significant) were comparable; however, patients with TTNtv had more heart failure hospitalizations and atrial fibrillation (P =0.003 for each) than those without TTNtv. Recovery occurred in both groups, although the final mean LVEF was more depressed in patients with TTNtv (39.6±14.2 versus 48.9±10.8; P =0.03).

Modeling CCM in TTNtv Mice

Given the multiple variables that can influence cardiotoxicity in human patients, we assessed whether TTNtv increased susceptibility to anthracycline-induced cardiomyopathy in an experimental model. Doxorubicin was administered (3 doses of 5 mg/kg at weekly intervals; cumulative=45 mg/m²) to genetically identical mice, with the exception of the absence (wild-type) or presence (Ttn^{tv+}) of a heterozygous A-band titin truncation in one gene copy.^{25,26} Untreated Ttn^{tv+} mice have normal LV function (not significantly different from wild-type mice) and anthracycline administration comparably depressed LV function in both genotypes at week 4 after treatments (Figure). However, at week 8, LV function recovered to baseline in wild-type mice but remained

Table 4. Comparisons of Risk Factors and Outcomes in Adult Patient Who Has CCM With and Without TTNtv

Clinical Characteristics	TTNtv (n=14)	Non-TTNtv (n=158)	P Value*
Baseline			
Male sex, n (%)	2 (14.3)	31 (19.6)	1
Comorbidities, n (%)			
Current or past smokers	3 (21.4)	55 (34.8)	0.39
Hypertension	4 (28.6)	54 (34.2)	0.78
Hypercholesterolemia	6 (42.9)	38 (24.1)	0.20
Diabetes mellitus	2 (14.3)	25 (15.8)	1
Oncological treatments, n (%)			
Doxorubicin ± other	13 (92.9)	136 (86.1)	0.70
At CCM diagnosis			
LVEF at CCM diagnosis, %	34.9±7.4	36.8±9.5	0.38
NYHA functional class III–IV, n (%)	6 (42.9)	39 (24.7)	0.2
Follow-up			
Last LVEF, %	39.6±14.2	48.9±10.8	0.03‡
LVEF recovery, n (%)	6 (42.9)	77 (48.7)	0.78
On neurohormonal blockers, † n (%)	10 (71.4)	121 (76.6)	0.74
Atrial fibrillation, n (%)	5 (35.7)	10 (6.3)	0.003‡
Heart failure–related hospitalization, n (%)	9 (64.3)	39 (24.7)	0.003‡
Cardiac transplantation, n (%)	2 (14.3)	7 (4.4)	0.16
Aborted sudden cardiac death, n (%)	1 (7.1)	6 (3.8)	0.45
Cardiac death, n (%)	0 (0.0)	3 (1.9)	1
Death from all cause, n (%)	0 (0.0)	5 (3.2)	1

CCM indicates cancer therapy–induced cardiomyopathy; LVEF, left ventricular ejection fraction; NYHA, New York Heart Association; and TTNtv, titin-truncating variant.

*P values were calculated using the Fisher exact test for categorical variables and the Welch *t* test for continuous variables.

†Number of patients who were taking at least one of β -blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors/angiotensin receptor blockers, or mineralocorticoid receptor antagonists. No data were available to review for 1 of the patients with TTNtv.

‡Significant values.

depressed through week 12 in Ttn^{wt} mice ($P=0.0004$ versus wild-type). Functional analyses in isolated cardiomyocytes confirmed that LV dysfunction reflected cell autonomous effects of anthracyclines (Figure B). Histological analysis of cardiac tissues from anthracycline-treated wild-type or Ttn^{wt} mice were comparable and showed no significant increase in fibrosis or apoptosis in comparison with untreated mice.

DISCUSSION

We demonstrate an increased prevalence of DCM-associated gene variants, predominantly TTNtv, in adult patients who have cancer and pediatric patients who have acute myelogenous leukemia with CCM relative to

controls. Although the majority of the patients with CCM have European ancestry, the frequency of cardiomyopathy variants in other patients with CCM who have other ancestries was not significantly different (Table II in the online-only Data Supplement). TTNtv were identified in 16 of 213 CCM cases (7.5%), a considerably higher prevalence than in unselected breast and lung cancer TCGA participants (1.1%, $P=7.36e-08$) or healthy volunteers (0.7%, $P=3.42e-06$) and enriched in comparison with ancestry-matched reference populations ($P=5.87e-14$). Because cardiac status is not recorded for TCGA participants, these data provide conservative estimates of the burden of TTNtv in CCM. Further support that TTNtv contribute to CCM is derived from a mouse model of CCM: anthracycline-treated Ttn^{wt} mice and isolated cardiomyocytes had protracted LV and cellular dysfunction in comparison with wild-type.

Clinical outcomes among patients with CCM showed considerable variability, but cardiac function improved in 45% to 68% of adult and pediatric patients. Recovery occurred in 83 adults and 28 children, and was not significantly correlated ($P\geq 0.5$) with preexisting cardiovascular risk factors in adults, TTNtv, high (>400 mg/m²) anthracycline dose, or trastuzumab therapy. However, adult patients who have CCM with TTNtv had more heart failure hospitalizations and atrial fibrillation, as occurs in patients with DCM caused by TTNtv,^{33,34} and cardiac function was worse in patients with than in patients without these variants.

In addition to TTNtv, our analyses identified rare protein-altering variants in 5 genes previously studied in patients with DCM.²⁹ Mutations in *BAG3*, *LMNA*, *MYH7*, and *TNNT2* are established autosomal dominant causes of DCM.^{14,35} *TCAP* mutations are occasionally identified in patients with DCM,³⁶ but more commonly cause a recessive form of limb-girdle muscular dystrophy.³⁷ Despite the low prevalence of variants in these genes across all CCM cohorts (4.7%), their critical roles in myocyte biology imply that variants identified here may contribute to an individual's risk for CCM.

The increased burden of rare variants, including TTNtv, indicate that genetics is an important component in CCM susceptibility and adverse outcomes. We demonstrate that genetics is associated with CCM susceptibility across different cancer types and treatment regimens, in particular, those including anthracycline and trastuzumab (Table 1). Genetic variants in previously identified cardiomyopathy genes were increased among adult cancer survivors with overt CCM and severe clinical courses, and among prospectively studied adult and pediatric patients with mild CCM identified during ongoing cancer treatment. It is notable that heart failure, cardiac transplantation, aborted sudden death, and cardiac death occurred years after completion of chemotherapy regimens in some patients with CCM (Table 4), an observation that underscores the

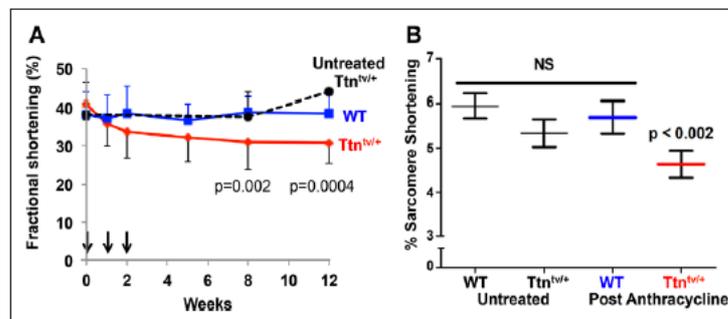


Figure. Persistent cardiac dysfunction in Ttn^{fl/+} mice after anthracycline treatment.

A. Untreated Ttn^{fl/+} mice have left ventricular function comparable with wild-type (WT) mice.^{25,26} Intraperitoneal doxorubicin (5mg/kg) was administered (arrows) to WT and Ttn^{fl/+} mice (n=15 per genotype) in 3 successive weekly doses (cumulative dose=45 mg/m²). Serial echocardiograms showed persistent significantly depressed systolic function (mean fractional shortening \pm SD) in Ttn^{fl/+} in comparison with WT mice ($P=0.0004$). **B.** Isolated cardiomyocytes ($n\geq 52$ per group) were studied 12 weeks after initial doxorubicin injection. Cardiomyocytes from doxorubicin-treated Ttn^{fl/+} mice had significantly depressed contractility ($P<0.002$) in comparison with cardiomyocytes from doxorubicin-treated WT mice or untreated mice. NS indicates not significant.

need for continued cardiac surveillance in patients with CCM.

These data establish a genetic relationship between DCM and CCM. Cardiomyopathy variants were found in 12.2% of patients with CCM (Table 2), whereas these occur in $\approx 40\%$ of patients with familial and sporadic DCM.^{31,38–40} Whether broader genomic analyses may uncover additional genetic contributors to CCM is worthy of study. TTNts are significantly prominent in DCM, occurring in 15% of ambulatory and 25% of end-stage patients,^{30,31,34,38} but are rarely identified in childhood-onset DCM,⁴¹ whereas here we identified TTNts in 8.1% of adults and 5.0% of children with CCM. TTNts found in patients with CCM, like those in patients with DCM, disrupted exons that are constitutively expressed in the heart and are overrepresented in the A-band (Table 3). TTNts also occur in $\approx 15\%$ of patients with peripartum cardiomyopathy²¹ and in $\approx 10\%$ of individuals with alcoholic cardiomyopathy,⁴² findings that imply additional cardiovascular stress can unmask the deleterious cardiac effects of TTNts. Consistent with this supposition, in vitro analyses of human isogenic cardiomyocytes (derived from induced pluripotent stems cells) demonstrate that titin provides an essential mechanical connection that propagates diastolic traction stresses from β -cardiac myosin during sarcomere formation. Cardiomyocytes with TTNts have diminished reassembly of sarcomeres after stress in comparison with cells without TTNts.⁴³ We suggest that chemotherapy, like pregnancy and excessive alcohol, is an important provocation that is poorly tolerated by TTNts, a conclusion that is supported both by these human data and by analyses of anthracycline-treated TTNt mice.

We recognize several limitations in this study. Given the demographic profiles of the cohorts studied here, further analyses of patients with diverse ancestries are needed. Cohort A was retrospectively recruited

after diagnosis of CCM, and these patients had more severe phenotypes and longer durations of follow-up than the prospectively identified patients in cohorts B and C. Because breast cancer was the most common diagnosis in adult patients with CCM and all pediatric cases had acute myelogenous leukemia, these findings may not be relevant to other cancers and other treatment regimens. All patients had individual chemotherapy dosages and additional treatments based on clinical practice and treatment protocols. These and other variables may influence susceptibility to CCM. This study compared the frequency of TTNts among patients with CCM to the frequency of TTNts in a large cohort of patients with cancer participating in TCGA, some fraction of whom likely developed CCM. A limitation of our study is that we do not know which TCGA subjects developed CCM, potentially affecting the accuracy of the TTNt frequency estimate in the CCM-free cancer cohort. A more ideal comparison group would have been patients treated with chemotherapy who did not develop cardiomyopathy. While recognizing these issues, we suggest that enrichment of protein-altering variants and TTNts across all cohorts strongly supports the conclusion that genetics, like high-dose anthracycline and combination therapy, and cardiovascular risk factors contribute to CCM.

Current strategies to diagnose CCM focus on imaging and circulating biomarkers^{1,2,18,44–46} and treatment guidelines are limited, often recommending interruption or discontinuation of chemotherapy that can negatively impact the survival of patients with cancer. The identification of genetic risk factors opens new opportunities to identify patients with cancer at high risk for CCM and to assess the efficacy of prophylactic cardioprotective drugs and treatment regimens.^{47–49} Future investigations will determine if early recognition of patients who have cancer with high CCM risk through genetic testing

can optimize cancer and cardiovascular treatments to reduce CCM while providing effective cancer therapy.

ARTICLE INFORMATION

Received September 12, 2018; accepted March 7, 2019.

The online-only Data Supplement is available with this article at <https://www.ahajournals.org/doi/suppl/10.1161/circulationaha.118.037934>.

Authors

Pablo Garcia-Pavia MD, PhD*†; Yuri Kim, MD, PhD*†; Maria Alejandra Restrepo-Cordoba*†; Ida G. Lunde, PhD; Hiroko Wakimoto, MD, PhD; Amanda M. Smith, BA; Christopher N. Toepfer, PhD; Kelly Getz, PhD; Joshua Gorham, MSc; Parth Patel, MD; Kaoru Ito, MD, PhD; Jonathan A. Willcox, PhD; Zoltan Arany, MD, PhD; Jian Li, PhD; Anjali T. Owens, MD; Risha Govind, MSc; Beatriz Nuñez, MD; Erica Mazaika, MSc; Antoni Bayes-Genis, MD; Roddy Walsh, PhD; Brian Finkelman, MD, PhD; Josep Lupon, MD, PhD; Nicola Whiffin, PhD; Isabel Serrano, MD; William Midwinter, BSc; Alicia Wilk, BSc; Alfredo Bardají, MD, PhD; Nathan Ingold; Rachel Buchan, MSc; Upasana Tayal, PhD, MRCP; Domingo A. Pascual-Figal, MD, PhD; Antonio de Marvao, PhD, MRCP; Mian Ahmad, PhD; Jose Manuel Garcia-Pinilla, MD, PhD; Antonis Pantazis, MD; Fernando Dominguez, MD, PhD; A. John Baksi, PhD, MRCP; Declan P. O'Regan, PhD; Stuart D. Rosen, MD; Sanjay K. Prasad, MD; Enrique Lara-Pezzi, PhD; Mariano Provencio, MD, PhD; Alexander R. Lyon, PhD; Luis Alonso-Pulpon, MD, PhD; Stuart A. Cook, PhD; Steven R. DePalma, PhD; Paul J.R. Barton, PhD†; Richard Aplenc, MD, PhD†; Jonathan G. Seidman, PhD†; Bonnie Ky, MD, MScET; James S. Ware, PhD, MRCP†; Christine E. Seidman, MD†

Correspondence

Pablo Garcia-Pavia, MD, PhD, Department of Cardiology, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Manuel de Falla, 2; 28222 Madrid, Spain; or Christine E. Seidman, MD, Departments of Medicine & Genetics, NRB Room 256, Harvard Medical School, 77 Ave Louis Pasteur, Boston, MA 02115. Email pablogpavia@yahoo.es or cseidman@genetics.med.harvard.edu

Affiliations

Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid, Spain (P.G.-P., M.A.R.-C., F.D., L.A.-P.). Centro de Investigación Biomédica en Red Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Madrid, Spain (P.G.-P., M.A.R.-C., A.B.-G., J. Lupon, D.A.P.-F., J.M.G.-P., F.D., E.L.-P., L.A.-P.). University Francisco de Vitoria, Pozuelo de Alarcón, Madrid, Spain (P.G.-P.). Harvard Medical School, Boston, MA (Y.K., I.G.L., H.W., C.N.T., J.G., P.P., K.I., J.A.W., S.R.D., J.G.S., C.E.S.). Massachusetts General Hospital, Boston (Y.K.). Oslo University Hospital and University of Oslo, Norway (I.G.L.). Perelman School of Medicine and University of Pennsylvania Health System, Philadelphia (A.M.S., K.G., Z.A., J. Li, A.T.O., B.F., R.A., B.K.). University of Oxford (C.N.T.). National Heart & Lung Institute, Imperial College London, UK (R.G., E.M., R.W., N.W., W.M., A.W., N.I., R.B., U.T., A.d.M., M.A., A.P., A.J.B., S.D.R., S.K.P., E.L.-P., A.R.L., S.A.C., P.J.R.B., J.S.W.). Royal Brompton & Harefield NHS Foundation Trust, London, UK (R.G., E.M., R.W., N.W., W.M., A.W., N.I., R.B., U.T., A.d.M., M.A., A.P., A.J.B., S.D.R., S.K.P., A.R.L., P.J.R.B., J.S.W.). Hospital Universitario Puerta de Hierro, Universidad Autónoma de Madrid, Spain (B.N., M.P.). Hospital Universitario Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain (A.B.-G., J. Lupon). MRC London Institute of Medical Sciences, Imperial College UK (N.W., D.P.O., S.A.C., J.S.W., C.E.S., A.d.M.). Hospital Universitario de Tarragona Joan XXIII. IISPV, Rovira Virgili University, Spain (I.S., A.B.). Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, University of Murcia, Spain (D.A.P.-F.). Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid, Spain (E.L.-P.). National Heart Centre Singapore and Duke-National University of Singapore (S.A.C.). Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD (S.R.D., C.E.S.). Brigham and Women's Hospital, Boston MA (P.P., C.E.S.). Hospital Universitario Virgen de la Victoria, IBIMA, Malaga, Spain (J.M.G.-P.).

Acknowledgments

We thank the patients and physicians who participated in enrollment, in particular, Drs J. Segovia, C. Mitroi, M. Gomez-Bueno, F. Hernandez, A. Gamis, L. Sung, T. Alonzo, and S. Meshinchi. We also recognize many years of scientific guidance from Professor J. G. Puig.

Sources of Funding

This work was supported in part by grants from the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII); PI15/01551, PI17/01941, and CB16/11/00432 to Drs Garcia-Pavia and Alonso-Pulpon, and IF17/00003 to Dr Restrepo-Cordoba), the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2015-71863-REDT to Dr Garcia-Pavia), the John S. LaDue Memorial Fellowship at Harvard Medical School (to Dr Kim), Wellcome Trust (107469/Z/15/Z to Dr Ware), Medical Research Council (intramural awards to Drs Cook and Ware; MR/M003191/1 to Dr Tayal), National Institute for Health Research Biomedical Research Unit at the Royal Brompton and Harefield National Health Service Foundation Trust and Imperial College London (to Drs Barton, Cook, and Ware), National Institute for Health Research Biomedical Research Centre at Imperial College London Healthcare National Health Service Trust and Imperial College London (to Drs O'Regan, Cook, Prasad, and Ware), Sir Henry Wellcome Postdoctoral Fellowship (to Dr Toepfer), Rosetrees and Stonegate Imperial College Research Fellowship (to Dr Whiffin), Fondation Leducq (to Drs Cook, C.E. Seidman, and J.G. Seidman), Health Innovation Challenge Fund award from the Wellcome Trust and Department of Health (UK; HICF-R6-373; to Drs Cook, Barton, and Ware), the British Heart Foundation (NH/17/1/32725 to Dr O'Regan; SP/10/10/28431 to Dr Cook), Academy of Medical Sciences SGL015/1006 (to Dr de Marvao), Alex's Lemonade Stand Foundation (to Dr Getz), National Institutes of Health (to Dr Aplenc: U01CA097452, R01CA133881, and U01CA097452; to Dr Arany: R01 HL126797; to Dr Ky: R01 HL118018 and K23-HL095661; to Dr J.G. Seidman and C.E. Seidman: 5R01HL080494, 5R01HL084553), and the Howard Hughes Medical Institute (to Dr C.E. Seidman). The Universitario Puerta de Hierro and Virgen de la Arrixaca Hospitals are members of the European Reference Network on Rare and Complex Diseases of the Heart (Guard-Heart; <http://guard-heart.ern-net.eu>). This publication includes independent research commissioned by the Health Innovation Challenge Fund (HICF), a parallel funding partnership between the Department of Health and Wellcome Trust. The Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC) is supported by the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness and the Pro CNIC Foundation, and is a Severo Ochoa Center of Excellence (SEV-2015-0505). Grants from ISCIII and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness are supported by the Plan Estatal de I+D+I 2013–2016 – European Regional Development Fund (FEDER) "A way of making Europe." The views expressed in this work are those of the authors, and the funding institutions played no role in the design, collection, analysis, or interpretation of the data or in the decision to submit the manuscript for publication.

Disclosures

Drs C. E. and J. G. Seidman are founders and own shares in Myokardia Inc, a startup company that is developing therapeutics that target the sarcomere. James S. Ware receives grant support and honoraria from Myokardia. Myokardia had no involvement in this study. The other authors report no conflicts.

REFERENCES

- Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Munoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, Habib G, Lenihan DJ, Lip GY, Lyon AR, Lopez Fernandez T, Mohty D, Piepoli MF, Tamargo J, Torbicki A, Suter TM; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: the Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016;37:2768–2801. doi: 10.1093/eurheartj/ehw211
- Armenian SH, Lacchetti C, Barac A, Carver J, Constine LS, Denduluri N, Dent S, Douglas PS, Durand JB, Ewer M, Fabian C, Hudson M, Jessup M, Jones LW, Ky B, Mayer EL, Moslehi J, Oeffinger K, Ray K, Ruddy K, Lenihan D. Prevention and monitoring of cardiac dysfunction in survivors of adult cancers: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2017;35:893–911. doi: 10.1200/JCO.2016.70.5400
- Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosbie M, Ganame J, Sebag IA, Agler DA, Badano LP, Banchs J, Cardinale D, Carver J, Cerqueira M, DeCara JM, Edvardsen T, Flamm SD, Force T, Griffin BP, Jerusalem G, Liu JE, Magalhães A, Marwick T, Sanchez LY, Sicari R, Villarraga HR, Lancellotti P. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014;15:1063–1093. doi: 10.1093/ehjci/ehu192
- Curigliano G, Cardinale D, Suter T, Plataniotis G, de Azambuja E, Sandri MT, Criscitiello C, Goldhirsch A, Cipolla C, Roila F, ESMO Guidelines Working Group. Cardiovascular toxicity induced by chemotherapy,

- targeted agents and radiotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*. 2012;23(suppl 7):vii155–vii166. doi: 10.1093/annonc/nds293
5. Armenian SH, Xu L, Ky B, Sun C, Farol LT, Pal SK, Douglas PS, Bhatia S, Chao C. Cardiovascular disease among survivors of adult-onset cancer: a community-based retrospective cohort study. *J Clin Oncol*. 2016;34:1122–1130. doi: 10.1200/JCO.2015.64.0409
 6. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer*. 2003;97:2869–2879. doi: 10.1002/cncr.11407
 7. Hahn VS, Lenihan DJ, Ky B. Cancer therapy-induced cardiotoxicity: basic mechanisms and potential cardioprotective therapies. *J Am Heart Assoc*. 2014;3:e000665. doi: 10.1161/JAHA.113.000665
 8. Wells QS, Veatch OJ, Fessel JP, Joon AY, Levinson RT, Mosley JD, Held EP, Lindsay CS, Shaffer CM, Weeke PE, Glazer AM, Bersell KR, Van Driest SL, Karnes JH, Blair MA, Lagrone LW, Su YR, Bowton EA, Feng Z, Ky B, Lenihan DJ, Fisch MJ, Denny JC, Roden DM. Genome-wide association and pathway analysis of left ventricular function after anthracycline exposure in adults. *Pharmacogenet Genomics*. 2017;27:247–254. doi: 10.1097/FPC.0000000000000284
 9. Wojnowski L, Kulle B, Schirmer M, Schlöter G, Schmidt A, Rosenberger A, Vonhof S, Bickelböller H, Toliat MR, Suk EK, Tzvetkov M, Kruger A, Seifert S, Kloess M, Hahn H, Loeffler M, Nürnberg P, Pfreundschuh M, Trümper L, Brockmüller J, Hasenfuss G. NAD(P)H oxidase and multidrug resistance protein genetic polymorphisms are associated with doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Circulation*. 2005;112:3754–3762. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.576850
 10. Visscher H, Ross CJ, Rassekh SR, Sandor GS, Caron HN, van Dalen EC, Kremer LC, van der Pal HJ, Rogers PC, Rieder MJ, Carleton BC, Hayden MR; CPND5 Consortium. Validation of variants in SLC28A3 and UGT1A6 as genetic markers predictive of anthracycline-induced cardiotoxicity in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2013;60:1375–1381. doi: 10.1002/pbc.24505
 11. Blanco JG, Leisenring WM, Gonzalez-Covarrubias VM, Kawashima TI, Davies SM, Relling MV, Robison LL, Sklar CA, Stovall M, Bhatia S. Genetic polymorphisms in the carbonyl reductase 3 gene CBR3 and the NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene NQO1 in patients who developed anthracycline-related congestive heart failure after childhood cancer. *Cancer*. 2008;112:2789–2795. doi: 10.1002/cncr.23534
 12. Wang X, Liu W, Sun CL, Armenian SH, Hakonarson H, Hageman L, Ding Y, Landler W, Blanco JG, Chen L, Quiñones A, Ferguson D, Winick N, Ginsberg JP, Keller F, Neglia JP, Desai S, Sklar CA, Castellino SM, Cherrick I, Dreyer ZE, Hudson MM, Robison LL, Yasui Y, Relling MV, Bhatia S. Hyaluronan synthase 3 variant and anthracycline-related cardiomyopathy: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2014;32:647–653. doi: 10.1200/JCO.2013.50.3557
 13. Linschoten M, Teske AJ, Baas AF, Vink A, Dooijes D, Baars HF, Asselbergs FW. Truncating Titin (TTN) variants in chemotherapy-induced cardiomyopathy. *J Card Fail*. 2017;23:476–479. doi: 10.1016/j.cardfail.2017.03.003
 14. Burke MA, Cook SA, Seidman JG, Seidman CE. Clinical and mechanistic insights into the genetics of cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68:2871–2886. doi: 10.1016/j.jacc.2016.08.079
 15. van den Berg MP, van Spaendonck-Zwarts KY, van Veldhuisen DJ, Gietema JA, Postma A, van Tintelen JP. Familial dilated cardiomyopathy: another risk factor for anthracycline-induced cardiotoxicity? *Eur J Heart Fail*. 2010;12:1297–1299. doi: 10.1093/eurjhf/hfq175
 16. Shipman KE, Arnold I. Case of epirubicin-induced cardiomyopathy in familial cardiomyopathy. *J Clin Oncol*. 2011;29:e537–e538. doi: 10.1200/JCO.2011.34.8052
 17. Wasielewski M, van Spaendonck-Zwarts KY, Westerink ND, Jongbloed JD, Postma A, Gietema JA, van Tintelen JP, van den Berg MP. Potential genetic predisposition for anthracycline-associated cardiomyopathy in families with dilated cardiomyopathy. *Open Heart*. 2014;1:e000116. doi: 10.1136/openhrt-2014-000116
 18. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, Tedeschi I, Meroni CA, Veglia F, Civelli M, Lamantia G, Colombo N, Curigliano G, Fiorentini C, Cipolla CM. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation*. 2015;131:1981–1988. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013777
 19. Narayan HK, Finkelman B, French B, Plappert T, Hyman D, Smith AM, Margulies KB, Ky B. Detailed echocardiographic phenotyping in breast cancer patients: associations with ejection fraction decline, recovery, and heart failure symptoms over 3 years of follow-up. *Circulation*. 2017;135:1397–1412. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023463
 20. Schafer S, de Marvao A, Adami E, Fiedler LR, Ng B, Khin E, Rackham OJ, van Heesch S, Pua CJ, Kui M, Walsh R, Tayal U, Prasad SK, Dawes TJ, Ko NS, Sim D, Chan LL, Chin CW, Mazzarotto F, Barton PJ, Kreuchwig F, de Kleijn DP, Totman T, Biffi C, Tee N, Rueckert D, Schneider V, Faber A, Regitz-Zagrosek V, Seidman JG, Seidman CE, Linke WA, Kovalik JP, O'Regan D, Ware JS, Hubner N, Cook SA. Titin-truncating variants affect heart function in disease cohorts and the general population. *Nat Genet*. 2017;49:46–53. doi: 10.1038/ng.3719
 21. Ware JS, Li J, Mazaika E, Yasso CM, DeSouza T, Cappola TP, Tsai EJ, Hilfiker-Kleiner D, Kamiya CA, Mazzarotto F, Cook SA, Halder I, Prasad SK, Pisarcik J, Hanley-Yanez K, Alharethi R, Damp J, Hsieh E, Elkayam U, Sheppard R, Kealey A, Alexis J, Ramani G, Safirstein J, Boehmer J, Pauly DF, Wittstein IS, Thohan V, Zucker MJ, Liu P, Gorcsan J 3rd, McNamara DM, Seidman CE, Seidman JG, Arany Z, IMAC-2 and IPAC Investigators. Shared genetic predisposition in peripartum and dilated cardiomyopathies. *N Engl J Med*. 2016;374:233–241. doi: 10.1056/NEJMoa1505517
 22. Cingolani P, Platts A, Wang le L, Coon M, Nguyen T, Wang L, Land SJ, Lu X, Ruden DM. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly (Austin)*. 2012;6:80–92. doi: 10.4161/fly.19695
 23. Genome Aggregation Database (gnomAD). <https://gnomad.broadinstitute.org/>. Accessed March 19, 2019.
 24. National Institutes of Health: National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas Program. <http://cancergenome.nih.gov/>. Accessed March 18, 2019.
 25. Lunde IGW, Burke MA, Sououli V, Linke WA, Gorham J, Conner D, Christensen G, Seidman JG, Seidman CE. Titin A-band truncation in mice causes stress-induced dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2015;17:31.
 26. Lunde I.G.W., Burke MA, Sououli V, Linke WA, Gorham J, Conner D, Christensen G, Seidman JG, Seidman CE. Proximal titin A-band truncation causes dilated cardiomyopathy in response to increased afterload in mice. *Eur Heart J*. 2015;36:521.
 27. Keefe DL. Anthracycline-induced cardiomyopathy. *Semin Oncol*. 2001;28(4 suppl 12):2–7.
 28. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, de Ferranti SD, Floyd J, Fornage M, Gillespie C, Isasi CR, Jiménez MC, Jordan LC, Judd SE, Lackland D, Lichtman JH, Lisabeth L, Liu S, Longenecker CT, Mackey RH, Matsushita K, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nasir K, Neumar RW, Palaniappan L, Pandey DK, Thiagarajan RR, Reeves MJ, Ritchey M, Rodriguez CJ, Roth GA, Rosamond WD, Sasson C, Towfighi A, Tsao CW, Turner MB, Virani SS, Voeks JH, Willey JZ, Wilkins JT, Wu JH, Alger HM, Wong SS, Muntner P; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2017 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135:e146–e603. doi: 10.1161/CIR.0000000000000485
 29. WalshR, ThomsonKL, WareJS, FunkeBH, WoodleyJ, McGuireKJ, MazzarottoF, Blair E, Sella A, Taylor JC, Minikel EV, Exome Aggregation Consortium, MacArthur DG, Farrall M, Cook SA, Watkins H. Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. *Genet Med*. 2017;19:192–203. doi: 10.1038/gim.2016.90
 30. Roberts AM, Ware JS, Herman DS, Schafer S, Baksi J, Bick AG, Buchan RJ, Walsh R, John S, Wilkinson S, Mazzarotto F, Felkin LE, Gong S, MacArthur JA, Cunningham F, Flannick J, Gabriel SB, Altschuler DM, Macdonald PS, Heinig M, Keogh AM, Hayward CS, Banner NR, Pennell DJ, O'Regan DP, San TR, de Marvao A, Dawes TJ, Gulati A, Birks EJ, Yacoub MH, Radke M, Gotthardt M, Wilson JG, O'Donnell CJ, Prasad SK, Barton PJ, Fatkin D, Hubner N, Seidman JG, Seidman CE, Cook SA. Integrated allelic, transcriptional, and phenomic dissection of the cardiac effects of titin truncations in health and disease. *Sci Transl Med*. 2015;7:270ra6. doi: 10.1126/scitranslmed.3010134
 31. Herman DS, Lam L, Taylor MR, Wang L, Teekakirikul P, Christodoulou D, Conner L, DePalma SR, McDonough B, Sparks E, Teodorescu DL, Cirino AL, Banner NR, Pennell DJ, Graw S, Merlo M, Di Lenarda A, Sinagra G, Bos JM, Ackerman MJ, Mitchell RN, Murry CE, Lakdawala NK, Ho CY, Barton PJ, Cook SA, Mestroni L, Seidman JG, Seidman CE. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2012;366:619–628. doi: 10.1056/NEJMoa1110186
 32. Wahbi K, Meune C, Hamouda el H, Stojkovic T, Laforêt P, Bécane HM, Eymard B, Duboc D. Cardiac assessment of limb-girdle muscular dystrophy 2l patients: an echography, Holter ECG and magnetic resonance imaging study. *Neuromuscul Disord*. 2008;18:650–655. doi: 10.1016/j.nmd.2008.06.365
 33. Hoortje ET, van Spaendonck-Zwarts KY, Te Rijdt WP, Boven L, Vink A, van der Smagt JJ, Asselbergs FW, van Wijngaarden J, Hennekam EA, Pinto YM, Lekanne Deprez RH, Barge-Schaapveld DQCM, Bootsma M,

- Regieli J, Hoedemaekers YM, Jongbloed JDH, van den Berg MP, van Tintelen JP. The first titin (c.59926 + 1G > A) founder mutation associated with dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2018;20:803–806. doi: 10.1002/ehf.1030
34. Tayal U, Newsome S, Buchan R, Whiffin N, Walsh R, Barton PJ, Ware JS, Cook SA, Prasad SK. Truncating variants in titin independently predict early arrhythmias in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69:2466–2468. doi: 10.1016/j.jacc.2017.03.530
 35. Garcia-Pavia P, Cobo-Marcos M, Guzzo-Merello G, Gomez-Bueno M, Bornstein B, Lara-Pezzi E, Segovia J, Alonso-Pulpon L. Genetics in dilated cardiomyopathy. *Biomark Med*. 2013;7:517–533. doi: 10.2217/bmm.13.77
 36. Hayashi T, Arimura T, Itoh-Satoh M, Ueda K, Hohda S, Inagaki N, Takahashi M, Hori H, Yasunami M, Nishi H, Koga Y, Nakamura H, Matsuzaki M, Choi BY, Bae SW, You CW, Han KH, Park JE, Knöll R, Hoshijima M, Chien KR, Kimura A. Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:2192–2201. doi: 10.1016/j.jacc.2004.08.058
 37. Moreira ES, Wiltshire TJ, Faulkner G, Nilforoushan A, Vainzof M, Suzuki OT, Valle G, Reeves R, Zatz M, Passos-Bueno MR, Jenne DE. Limb-girdle muscular dystrophy type 2G is caused by mutations in the gene encoding the sarcomeric protein telethonin. *Nat Genet*. 2000;24:163–166. doi: 10.1038/72822
 38. Cuenca S, Ruiz-Cano MJ, Gimeno-Blanes JR, Jurado A, Salas C, Gomez-Diaz I, Padron-Barthe L, Grillo JJ, Vilches C, Segovia J, Pascual-Figal D, Lara-Pezzi E, Monserrat L, Alonso-Pulpon L, Garcia-Pavia P; Inherited Cardiac Diseases Program of the Spanish Cardiovascular Research Network (Red Investigación Cardiovascular). Genetic basis of familial dilated cardiomyopathy patients undergoing heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2016;35:625–635. doi: 10.1016/j.healun.2015.12.014
 39. Haas J, Frese KS, Peil B, Kloos W, Keller A, Nietsch R, Feng Z, Müller S, Kayvanpour E, Vogel B, Sedaghat-Hamedani F, Lim WK, Zhao X, Fradkin D, Köhler D, Fischer S, Franke J, Marquart S, Barb I, Li DT, Amr A, Ehlermann P, Meredes D, Weis T, Hassel S, Kremer A, King V, Wirsz E, Isnard R, Komajda M, Serio A, Grasso M, Syrris P, Wicks E, Plagnol V, Lopes L, Gadgaard T, Eiskjær H, Jørgensen M, Garcia-Giustiniani D, Ortiz-Genga M, Crespo-Leiro MG, Deprez RH, Christiaans I, van Rijsingen IA, Wilde AA, Waldenstrom A, Bolognesi M, Bellazzi R, Möner S, Bermejo JL, Monserrat L, Villard E, Mogensen J, Pinto YM, Charron P, Elliott P, Arbustini E, Katus HA, Meder B. Atlas of the clinical genetics of human dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2015;36:1123–1135a. doi: 10.1093/eurheartj/ehu301
 40. Tayal U, Prasad S, Cook SA. Genetics and genomics of dilated cardiomyopathy and systolic heart failure. *Genome Med*. 2017;9:20. doi: 10.1186/s13073-017-0410-8
 41. Fatkin D, Herman L, Benson D, Felkin C, Barton L, Walsh P, Canda R, Ware J, Roberts A, Chung W, Smoot L, Bornauun H, Keogh A, Macdonald P, Hayward C, Seidman J, Roberts A, Cook S, Seidman CE. Titin truncating mutations: a rare cause of dilated cardiomyopathy in the young. *Progress in Pediatric Cardiology*. 2016;40:41–45.
 42. Ware JS, Amor-Salamanca A, Tayal U, Govind R, Serrano I, Salazar-Mendiguchia J, Garcia-Pinilla JM, Pascual-Figal DA, Nuñez J, Guzzo-Merello G, Gonzalez-Vioque E, Bardaji A, Manito N, López-Garrido MA, Padron-Barthe L, Edwards E, Whiffin N, Walsh R, Buchan RJ, Midwinter W, Wilk A, Prasad S, Pantazis A, Baski J, O'Regan DP, Alonso-Pulpon L, Cook SA, Lara-Pezzi E, Barton PJ, Garcia-Pavia P. Genetic etiology for alcohol-induced cardiac toxicity. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71:2293–2302. doi: 10.1016/j.jacc.2018.03.462
 43. Chopra A, Kutys ML, Zhang K, Polacheck WJ, Sheng CC, Luu RJ, Eyckmans J, Hinson JT, Seidman JG, Seidman CE, Chen CS. Force generation via β -cardiac myosin, titin, and α -actinin drives cardiac sarcomere assembly from cell-matrix adhesions. *Dev Cell*. 2018;44:87–96.e5. doi: 10.1016/j.devcel.2017.12.012
 44. Biasillo G, Cipolla CM, Cardinale D. Cardio-oncology: gaps in knowledge, goals, advances, and educational efforts. *Curr Oncol Rep*. 2017;19:55. doi: 10.1007/s11912-017-0610-9
 45. Christenson ES, James T, Agrawal V, Park BH. Use of biomarkers for the assessment of chemotherapy-induced cardiac toxicity. *Clin Biochem*. 2015;48:223–235. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.10.013
 46. Sawaya H, Sebag IA, Plana JC, Januzzi JL, Ky B, Tan TC, Cohen V, Banchs J, Carver JR, Wiegers SE, Martin RP, Picard MH, Gerszten RE, Halpern EF, Passeri J, Kuter I, Scherrer-Crosbie M. Assessment of echocardiography and biomarkers for the extended prediction of cardiotoxicity in patients treated with anthracyclines, taxanes, and trastuzumab. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5:596–603. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.112.973321
 47. Bianco CM, Al-Kindi SG, Oliveira GH. Advanced heart failure therapies for cancer therapeutics-related cardiac dysfunction. *Heart Fail Clin*. 2017;13:327–336. doi: 10.1016/j.hfc.2016.12.005
 48. Payne DL, Nohria A. Prevention of chemotherapy induced cardiomyopathy. *Curr Heart Fail Rep*. 2017;14:398–403. doi: 10.1007/s11897-017-0353-9
 49. Vallakati A, Konda B, Lenihan DJ, Baliga RR. Management of cancer therapeutics-related cardiac dysfunction. *Heart Fail Clin*. 2018;14:553–567. doi: 10.1016/j.hfc.2018.06.004