

Máster en Biotecnología Avanzada

Trabajo de Fin de Máster

ASOCIACIÓN DE VARIANTES Y MUTACIONES EN GENES IMPLICADOS EN LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR DURANTE EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO EN LA VÍA DE LA ATHEROSCLEROSIS.

ASOCIACIÓN DE VARIANTES E MUTACIONES EN GENES IMPLICADOS NA FIBRILACIÓN VENTRICULAR DURANTE O INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO NA VÍA DA ATHEROSCLEROSE.

ASSOCIATION OF VARIANTS AND MUTATIONS WITHIN GENES INVOLVED IN VENTRICULAR FIBRILLATION DURING ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION LINKED TO ATHEROSCLEROSIS PATHWAY.

Nerea Pequeño Freire

Curso: 2018/2019

Director Académico: Dra. Lucía Núñez Fernández
Dra. Grecia Marrón Liñares

FACULTADE DE CIENCIAS

Grupo de Investigación en Cardiología del Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC)

ASOCIACIÓN DE VARIANTES Y MUTACIONES EN GENES IMPLICADOS EN LA FIBRILACIÓN VENTRICULAR DURANTE EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO EN LA VÍA DE LA ATROSCLOEROSIS.

ASOCIACIÓN DE VARIANTES E MUTACIÓN S EN XENES IMPLICADOS NA FIBRILACIÓN VENTRICULAR DURANTE O INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO NA VÍA DA ATROSCLOEROSE.

ASSOCIATION OF VARIANTS AND MUTATIONS WITHIN GENES INVOLVED IN VENTRICULAR FIBRILLATION DURING ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION LINKED TO ATHEROSCLEROSIS PATHWAY.

Nerea Pequeño Freire

Dra. Lucía Núñez Fernández y Dra. Grecia Marrón Liñares, en calidad de tutor autoriza la presentación del Trabajo de Fin de Máster titulado: “Asociación de variantes y mutaciones en genes implicados en la fibrilación ventricular durante el infarto agudo de miocardio en la vía de la aterosclerosis.” realizado por Dña. Nerea Pequeño Freire para su defensa ante el tribunal evaluador.

A Coruña, 4 de Febrero de 2018.

Dra. Lucía Núñez Fernández

Dra. Grecia Marrón Liñares

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

Al: Alelo mutado

Ala: Alanina

Arg: Arginina

Asp: Asparragina

ATP: Adenosín trifosfato

C: Citosina

Chr: Cromosoma

Cys: Cisteína

CEIC: Comité Ético de Investigación
Clínica

CHUAC: Complejo Hospitalario
Universitario A Coruña

Dbsnp: Nomenclatura que recibe en la
base de datos dbSNP

EC: Enfermedades Cardiovasculares

ExPASy: *Expert Protein Analysis System*

Freq: Frecuencia

FV: Fibrilación Ventricular

Fw: *primer forward*

G: Guanina

Gly: Glicina

HDL: *High Density Lipoprotein*

HSF: *Human Splicing Finder*

IAM: Infarto Agudo de Miocardio

ID: Identificación

IGV: *Integrative Genome Viewer*

INIBIC: Instituto de Investigación
Biomédica A Coruña

LDL: *Low Density Lipoprotein*

MAF: *Minimun Allele Frequency*

NGS: *Next Generation Sequencing*

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

PDB: *Protein data bank*

PhD-SNP: *Predictor of human
Deleterious Single Nucleotide
Polymorphisms*

Polyphen-2: *Polymorphism Phenotyping
v2*

Pos: Posición

Ref: Alelo de referencia

Rv: *primer reverse*

SIFT: *Sorting Intolerant from Tolerant*

SNP: *Single Nucleotide Polimorphism*

SPDBV: *Swiss-PdbViewer*

T: Timina

Vs: *versus*

Zyg: Cigosidad

ÍNDICE

Resumen/ Resumo/ Abstract.....	1
1. Introducción.....	3
1.1. Fibrilación ventricular en infarto agudo de miocardio.....	3
1.2. Genética de FV en IAM.....	3
1.3. Importancia de la aterosclerosis en la FV en el IAM.....	4
2. Objetivos	6
3. Material y métodos	7
3.1. Análisis bioinformático	7
3.1.1. Visualización de secuencias.....	8
3.1.2. Análisis de asociación entre las variantes y la presencia/ausencia de FV	9
3.1.3. Análisis de las mutaciones.....	9
3.1.4. Representación de las variantes	10
3.2. Búsqueda bibliográfica	10
4. Resultados	11
4.1. Pacientes analizados	11
4.2. Profundidad de los genes	12
4.3. Variantes encontradas.....	13
4.3.1. Variante rs429358 con asociación significativa en el gen <i>APOE</i> y la FV en el IAM	14
4.4. Mutaciones encontradas en los genes estudiados... ..	16
4.3.1. Mutación en <i>ABCA1</i>	17
4.3.2. Mutación en <i>AKAP10</i>	19
4.3.3. Mutación en <i>ALOX5</i>	21
5. Discusión.....	22
5.1. Variante significativa rs429358 en el gen <i>APOE</i>	22

5.2. Mutación en <i>ABCA1</i>	23
5.3. Mutación en <i>AKAP10</i>	24
5.4. Mutación en <i>ALOX5</i>	25
6. Conclusiones	26
7. Referencias	26
8. Anexo	31

RESUMEN

La muerte súbita cardíaca debida a la fibrilación ventricular (FV) durante el infarto agudo de miocardio (IAM) es una de las principales causas de mortalidad en el mundo. Existen estudios que apoyan la existencia de una base genética que predispone a presentar FV durante el IAM, la mayoría centrados en polimorfismos y mutaciones en genes involucrados en los canales iónicos. En este Trabajo de Fin de Máster se analiza la presencia de variantes comunes y raras en 11 genes de la vía de la aterosclerosis (*ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE* y *APOH*) de 24 pacientes, los cuales, 12 son casos (IAM con FV) y otros 12 controles (IAM sin FV). Tras el análisis bioinformático se encontró un polimorfismo significativo, rs429358, en el gen *APOE*, en cinco pacientes, que presenta asociación significativa al desarrollo de IAM en ausencia FV. Por otro lado, se encontraron tres mutaciones: p.Ala2058Gly en el gen *ABCA1*, sin asociación con FV, pero con un posible papel en el desarrollo de IAM, p.Asp18Ala en el gen *AKAP10* que podría tener una función importante en la FV durante el IAM y c.981+3_981+4insG en *ALOX5* que, según las predicciones, no afectaría a la conformación final de la proteína y, por lo tanto, tampoco al desarrollo de IAM ni FV. No sólo se requerirán estudios adicionales que repliquen estos análisis con un mayor número de pacientes, sino también estudios funcionales para lograr la confirmación de los resultados obtenidos en este trabajo.

RESUMO

A Morte Súbita Cardíaca debida á fibrilación ventricular (FV) durante o infarto agudo de miocardio (IAM) é una das principais causas de mortalidade no mundo. Existen estudos que apoian a existencia dunha base xenética que predispón a presentar FV durante o IAM, a maioría centrados en polimorfismos e mutacións en xenes involucrados nos canais iónicos. Neste Traballo de Fin de Máster analízase a presenza de variantes comúns e raras en 11 xenes da vía da aterosclerose (*ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE* y *APOH*) de 24 pacientes, os cales, 12 son casos (IAM con FV) e outros 12 controis (IAM sen FV). Trala análise bioinformática encontrouse un polimorfismo significativo, rs429358, no xene *APOE*, en cinco pacientes, que presenta asociación significativa ao desenvolvemento do IAM na ausencia de FV. Por outro lado, encontráronse tres mutacións: p.Ala2058Gly no xene *ABCA1*, sen asociación coa FV, cun posible papel no

desenvolvemento do IAM, p.Asp18Ala no xene *AKAP10* que podería ter unha función importante na FV durante o IAM e c.981+3_981+4insG en *ALOX5* que, segundo as predicións, non afectaría á conformación final da proteína e, polo tanto, tampouco ao desenvolvemento de IAM nin FV. Non só requiriranse estudos adicionais que repliquen estes análises cun maior número de pacientes, senón tamén estudos funcionais para lograr a confirmación dos resultados obtidos neste traballo.

ABSTRACT

Sudden cardiac death due to ventricular fibrillation (VF) during acute myocardial infarction (AMI) is one of the leading causes of mortality worldwide. There are studies that support the presence of a genetic background to VF during AMI, the majority focused on polymorphisms and mutations in genes related to ion channels. In this Master Project the presence of common and rare variants are analysed in 11 genes of the atherosclerosis pathway (*ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE* and *APOH*) of 24 patients, which, 12 are cases (AMI with VF) and 12 controls (AMI without VF). After the bioinformatics analysis, a significant polymorphism, rs429358, was found in the *APOE* gene, in five patients, that presents a significant association to the development of AMI in absence of VF. On the other hand, three mutations were found: p.Ala2058Gly in the *ABCA1* gene, without association to VF, but with a possible role in the development of AMI, p.Asp18Ala in the *AKAP10* gene that could have an important function in VF during AMI and c.981+3_981+4insG in *ALOX5* which, according to the predictions, would not affect the final conformation of the protein and, therefore, neither the development of AMI nor VF. Additional studies will be required to replicate these analyses with a larger number of patients, and also functional studies to achieve confirmation of the results obtained in this work.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Fibrilación ventricular en infarto agudo de miocardio

Las enfermedades cardiovasculares (EC) encabezan la lista de las principales causas de mortalidad y morbilidad en el mundo (White & Chew, 2008), con una tasa de fallecimientos en Europa de, aproximadamente, 4 millones cada año, a pesar de que esta cifra se ha ido reduciendo en las últimas décadas (Ferreira-González, 2014). La muerte súbita es uno de los mayores retos de los clínicos, ya que en más de la mitad de los casos es el primer síntoma de la enfermedad, sin tener evidencias clínicas previas. El 75% de las muertes súbitas son producidas por infarto agudo de miocardio (IAM), y cerca del 12% de los pacientes con IAM desarrollan arritmias como la fibrilación ventricular (FV) (Jabbari *et al.*, 2017b). Entre los individuos que sufren paro cardíaco por FV fuera del hospital, solamente del 10 al 15% sobreviven (Gräsner *et al.*, 2016).

El IAM es una patología caracterizada por la muerte celular o necrosis de miocitos cardíacos causada por una isquemia prolongada (suministro insuficiente de oxígeno) debido a la formación de coágulos u obstrucción de una o varias arterias coronarias (JESC/ACCC, 2000). Una de las complicaciones con mayor riesgo y peor pronóstico durante la fase aguda de un episodio isquémico es la FV. Esta arritmia implica una alteración del ritmo cardíaco ventricular que impide la contracción simultánea de los miocitos, dando lugar a la descoordinación en el latido, falta de bombeo sanguíneo y, por consiguiente, la muerte del paciente (Glinge *et al.*, 2016).

1.2. Genética de FV en IAM

En la literatura científica existen estudios que respaldan la existencia de un componente genético en la susceptibilidad a la FV en el IAM, ya que, la presencia de algún caso de muerte súbita en la historia familiar supone un factor de riesgo para la FV (Dekker *et al.*, 2006, Bezzina *et al.*, 2010). Sin embargo, los factores genéticos subyacentes a la enfermedad son todavía desconocidos y complejos, debido a que tiene una base poligenética. Una mejor comprensión de las causas genéticas implicadas en la FV durante el IAM es un requisito para poder desarrollar un diagnóstico personalizado que ayude a predecir y prevenir la enfermedad (Aouizerat *et al.*, 2011, Marsman *et al.*, 2014, Glinge *et al.*, 2016).

La evaluación del riesgo de desarrollo de FV durante el IAM es complejo, ya que está asociado a factores ambientales (edad, sexo, tabaquismo, estilo de vida, etc.) y genéticos. La

estrategia óptima para reducir el porcentaje de este fenotipo en la población es la detección de nuevos factores de riesgo. Para ello es necesaria la recopilación de información sobre pacientes que presenten esta enfermedad y así, crear una gran base de datos, a partir de la cual se puedan obtener nuevos datos que permitan el avance en la prevención y diagnóstico (Deyell *et al.*, 2015). Esta es una tarea complicada debido a la rapidez del episodio y que, en la mayoría de los casos ocurre fuera del hospital. A pesar de ello, se han publicado estudios genéticos comparativos en los que se analiza el genoma de pacientes con IAM con y sin FV. Es importante destacar dos de los estudios publicados por Jabbari y colaboradores. Uno de ellos es un estudio caso-control en la población de Dinamarca en el que asociaron la variante intrónica rs11720524 del gen *SCN5A* a pacientes con FV e infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (Jabbari *et al.*, 2017a). En el otro estudio no obtuvieron asociación estadística con el riesgo de FV en IAM y muerte súbita en 24 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) previamente asociados a fibrilación auricular (Jabbari *et al.*, 2017b). Bezzina y colaboradores también realizaron un estudio caso-control en la población holandesa (Países Bajos) en pacientes que presentaron IAM con y sin FV en el que describieron por primera vez el SNP rs2824292 como factor asociado al riesgo de FV (Bezzina *et al.*, 2010).

Los estudios genéticos relacionados con enfermedades coronarias se han centrado sobre todo en las rutas vinculadas con la inestabilidad miocárdica y en los canales iónicos del corazón que predisponen a los portadores a desarrollar arritmias. Por ejemplo, el artículo de Jabbari y colaboradores ya comentado, y el artículo de Crotti y colaboradores. En este último, se ha asociado el polimorfismo p.Lys897Thr del gen *KCNH2* con el desarrollo de un tipo de arritmia (torsades de pointes) durante el IAM (Crotti *et al.*, 2012).

Sin embargo, se han descrito diferentes rutas fisiopatológicas en las que participan genes con una predisposición genética a la FV durante el IAM, como los relacionados con los canales de sodio-potasio (Boehringe *et al.*, 2014), el sistema nervioso simpático (Tseng *et al.*, 2008), la vía del óxido nítrico (Kovács *et al.*, 2015), la vía del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Matus *et al.*, 2015) y, en especial, la vía de la aterosclerosis (junto con inflamación y agregación plaquetaria) (Wang & Eitzman, 2013).

1.3.Importancia de la aterosclerosis en la FV en el IAM

La aterosclerosis se define como la acumulación de lípidos o formación de placas ateromatosas en la túnica íntima arterial. Esto da lugar al estrechamiento del lumen, al

aumento de la presión arterial y a procesos inflamatorios que desembocan en trombosis o rotura de la placa de ateroma y, finalmente, al obstruir el lumen de las arterias coronarias, en IAM (Kanu *et al.*, 2016).

La relación entre la aterosclerosis, un evento isquémico, como IAM y una arritmia, como FV es la siguiente (Figura 1): la oclusión de las arterias coronarias, por causa de la aterosclerosis, produce la pérdida total o parcial de aporte de sangre al miocardio y, por consiguiente, falta de oxígeno y nutrientes. En el caso de que la isquemia se prolongue, derivará en IAM. La disminución de concentración de oxígeno da lugar a la falta de ATP y desequilibrios en la actividad de las bombas ATPasas de calcio y de sodio/potasio, alterando los gradientes electroquímicos de las membranas de los cardiomiocitos. La consecuencia es la propagación no uniforme del potencial de acción, imposibilitando la contracción simultánea de todas las células del corazón y desarrollando la arritmia (FV durante el IAM) (Hundahl *et al.*, 2017).

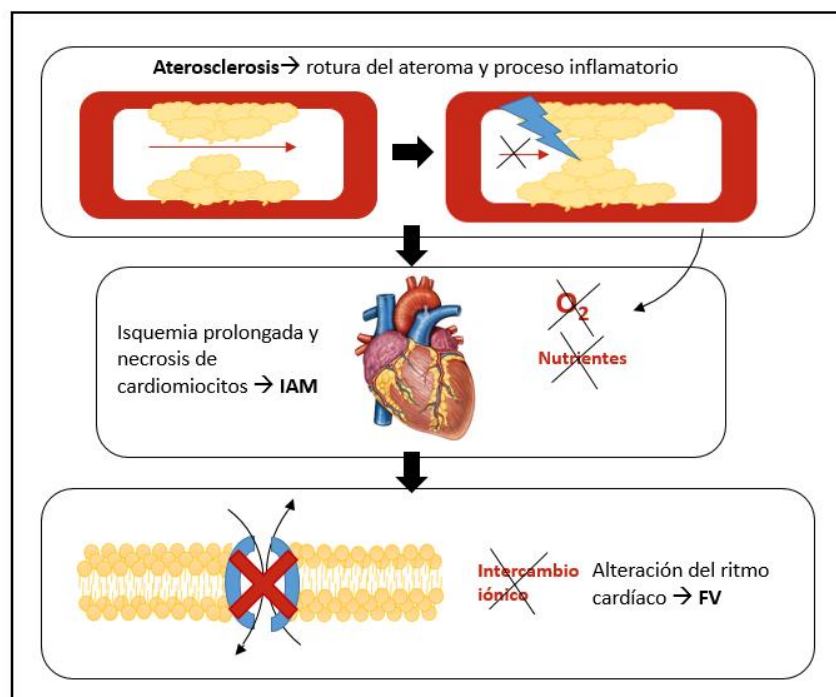


Figura 1. Explicación esquemática de la sucesión de eventos desde el desarrollo de la aterosclerosis hasta la FV durante el IAM.

Partiendo de la premisa de que la aterosclerosis es considerada la principal base patológica del IAM (Kanu *et al.*, 2016), conocer los genes involucrados en esta vía puede revelar nuevos factores de riesgo y esclarecer el efecto de variantes comunes y raras en la FV durante el IAM. Los genes implicados dentro de la ruta de la aterosclerosis tienen un papel importante relacionado con los lípidos, como *APOH*, involucrado en su metabolismo (Liu *et al.*, 2012),

ABCA1, que codifica para una proteína implicada en el transporte reverso de colesterol (Jung *et al.*, 2018), *APOE*, gen que interviene en el metabolismo de las lipoproteínas y relacionado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Kockx *et al.*, 2018) o *APOA1*, con función protectora frente a la aterosclerosis, relacionado con el transporte reverso de colesterol y asociado a IAM (Chistiakov *et al.*, 2016). También hay genes que se asocian con la diabetes mellitus, como en el caso de *ADIPOQ*, involucrado en la síntesis de insulina (Achari & Jain, 2017) y *ABCC8*, que regula la secreción de insulina (Haghverdizadeh *et al.*, 2014).

Además, hay variantes comunes y raras ya descritas para enfermedades cardiovasculares en los genes *AGTR1*, con un papel crítico en el desarrollo de hipertrofia cardíaca inducida (Wu *et al.*, 2014), *AGTR2*, implicado en la regulación de la presión arterial y asociado con el riesgo de hipertrofia ventricular izquierda (Katsuya & Morishita, 2013), *AKAP10*, relacionado con el pulso y ritmo cardíaco (Tingley *et al.*, 2007), *ALOX5*, que codifica para una enzima esencial en la inflamación y respuesta aterosclerótica (Lötzer *et al.*, 2005) y *ADRB2*, que promueve la resistencia a insulina en el IAM (Fu *et al.*, 2017).

2. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo son los siguientes:

1. Identificar variantes comunes en 11 genes implicados en la ruta de la aterosclerosis (*ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE*, *APOH*) en 24 pacientes que tuvieron IAM, de los cuales 12 presentaron FV.
2. Identificar variantes raras o mutaciones en 11 genes implicados en la ruta de la aterosclerosis (*ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE*, *APOH*) en 24 pacientes que tuvieron IAM, de los cuales 12 presentaron FV.
3. Realizar un estudio de asociación entre la presencia de variantes comunes en los genes analizados y la FV.

4. Realizar análisis *in silico* de las variantes encontradas con el fin de establecer hipótesis sobre el efecto de las mismas.
5. Revisar la literatura existente sobre las variantes identificadas para contextualizar su efecto.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Análisis bioinformático

Los datos se han obtenido a partir de la secuenciación masiva empleando la tecnología de *Illumina* (San Diego, USA). En el conjunto total de las muestras a secuenciar estaban incluidas las de los 24 pacientes que se analizan en este trabajo. Para la preparación de las librerías de los 4.813 genes (entre los que se encuentran los 11 seleccionados) se ha utilizado el kit *TruSight™ One Sequencing Panel Library Preparation* (Illumina Inc., 2017a, Illumina Inc., 2017b). El proceso de secuenciación fue realizado por el grupo de investigación de Cardiología del Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC).

Los 11 genes analizados (*ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE*, *APOH*) se seleccionaron por su importancia en la aterosclerosis y en el desarrollo de la FV durante el IAM.

Con la ayuda de las plataformas web *NCBI* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) y *Ensembl* (<http://www.ensembl.org/index.html>) se escogieron las isoformas más adecuadas de los genes siguiendo, en este caso, el criterio del mayor número de exones. En el gen *AGTR1* fue necesario analizar dos isoformas: la principal, NM_031850, y NM_032049. Esta contiene un exón que no está presente en la mayoritaria (el primero) y está localizado entre chr3:148447967 y chr3:148460790. Las isoformas escogidas se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1. Isoformas analizadas de los genes y características.

Gen	Posición	Hebra	Código Pubmed	Código Ensembl
<i>ABCA1</i>	chr9:107,481,684-107,632,927	Negativa	NM_005502	ENST00000374736.7
<i>ABCC8</i>	chr11:17,481,203-17,503,427	Negativa	NM_001351295	ENST00000389817
<i>ADBR2</i>	chr5:148,206,386-148,206,425	Positiva	NM_000024	ENST00000305988.5

Tabla 1. (Continuación) Isoformas analizadas de los genes y características.

Gen	Posición	Hebra	Código Pubmed	Código Ensembl
<i>AGTR1</i>	chr3:148,453,611-148,461,759	Positiva	NM_031850	ENST00000418473.6
			NM_032049	ENST00000402260.1
<i>AGTR2</i>	chrX:115,304,926-115,306,522	Positiva	NM_000686	ENST00000371906.4
<i>AKAP10</i>	chr17:19,804,433-19,817,798	Negativa	NM_007202	ENST00000225737.10
<i>ALOX5</i>	chr10:45,908,518-45,961,176	Positiva	NM_001256153	ENST00000374391.6
<i>ADIPOQ</i>	chr3:186,566,574-186,574,722	Positiva	NM_004797	ENST00000320741.6
<i>APOA1</i>	chr11:116,704,894-116,710,449	Negativa	NM_000039	ENST00000236850.4
<i>APOE</i>	chr19:45,406,841-45,411,706	Positiva	NM_001302688	ENST00000434152.5
<i>APOH</i>	chr17:64,204,980-64,211,662	Negativa	NM_000042	ENST00000205948.10

3.1.1. Visualización de las secuencias

La visualización de las secuencias se llevó a cabo utilizando la herramienta de alto rendimiento llamada *Integrative Genomics Viewer* (IGV), una plataforma de *software* libre desarrollado por el Broad Institute. IGV permite examinar el genoma hasta una resolución de pares de bases para identificar las variantes, tanto comunes, como raras, y analizar la cobertura de los genes (Robinson *et al.*, 2011). Para la visualización de las secuencias de cada paciente se deben cargar en el programa los archivos “mappings.bam” y “variants.vdf.gz”.

Para cada uno de los genes de interés (Tabla 1) se analizan las zonas codificantes, es decir, los exones. No obstante, se tienen en cuenta hasta 10 pares de bases tanto aguas arriba, como aguas abajo del exón. De esta forma se contempla la posibilidad de que una alteración en una base intrónica altere el corte y empalme (*splicing*) de los exones. Para considerar una variante detectada por NGS como válida, tiene que cumplir los siguientes requisitos:

- El principal es la calidad, entendida como la probabilidad estimada de error, con una puntuación asignada por el algoritmo utilizado de, al menos, 250.

En caso de no disponer del dato anterior sobre la calidad de la lectura, se contemplan los siguientes parámetros:

- La profundidad o número de lecturas que, en la posición dada, sea igual o superior a 15,
- Proporción de lecturas, si la variante se encuentra en heterocigosis, que tenga, al menos, un 40% de las lecturas.

Además, para considerar una mutación, a parte de los criterios descritos anteriormente, deberá cumplir que:

- No haya sido descrita previamente en artículos o bases de datos como *Pubmed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) y *ExAc* (Lek *et al.*, 2016),
- Su frecuencia deberá ser menor al 1%.

3.1.2. Análisis de asociación entre las variantes y la presencia/ausencia de FV

La información recogida en el paso anterior permite crear una base de datos para los siguientes análisis bioinformáticos, que analizan la existencia de asociación entre los SNPs y la presencia o ausencia de FV en los dos grupos. Para el análisis de estudios de asociación, se utiliza la herramienta web *SNPstats*, diseñada desde un punto de vista epidemiológico. Se analiza cada SNP según los modelos de herencia múltiple (codominante, dominante, recesivo, sobredominante y aditivo) y se evalúa el riesgo de asociación con la enfermedad (Solé *et al.*, 2006). Se realiza una comprobación con el programa R (*The R Project for Statistical Computing*) y el paquete *SNPassoc* que sigue los mismos modelos de herencia que *SNPStats* (The R Core Team, 2014). Si la asociación se mantiene, se realiza el Test Exacto de Fisher y si el resultado del análisis estadístico con este programa es significativo ($p\text{-valor} \leq 0.05$), indica que existe una asociación entre la variante detectada y la presencia o ausencia de FV.

3.1.3. Análisis de las mutaciones

Las variantes raras no descritas en bases de datos como dbSNP (Sherry *et al.*, 2001), Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), ExAc (Lek *et al.*, 2016) o HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php>) se consideran mutaciones. Para obtener información sobre el posible efecto de estas mutaciones se realizan análisis *in silico*, que predicen el posible impacto de la mutación sobre la estabilidad y función de la proteína. Las herramientas de predicción utilizadas son las siguientes:

- *Polymorphism Phenotyping v2 (Polyphen-2)* (Adzhubei *et al.*, 2007) (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>),
- *Sorting Intolerant from Tolerant (SIFT)* (Kumar *et al.*, 2009) (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/sift4g/>),
- *Predictor of human Deleterious Single Nucleotide Polymorphisms (PhD-SNP)* (Capriotti *et al.*, 2006) (<http://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html>),
- *MutationTaster* (Schwarz *et al.*, 2014) (<http://www.mutationtaster.org/>),
- *SNAP2* (Bromberg & Rost, 2007) (<https://rostlab.org/services/snap2web/>).

Si la mutación se encuentra localizada en el intrón, dentro de las 10 pares de bases aguas arriba o abajo del exón, es necesario analizar si ese cambio dará lugar a una alteración en el *splicing*. Las herramientas bioinformáticas utilizadas son:

- *Human Splicing Finder (HSF)* (Desmet *et al.*, 2009) (<http://www.umd.be/HSF3/HSF.shtml>),
- *GeneScan* (Burge & Karlin, 1997) (<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>),
- *MutationTaster* (Schwarz *et al.*, 2014) (<http://www.mutationtaster.org/>),
- *NetGen2* (Hebsgaard *et al.*, 1996) (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>),
- *Splice site predictions* (Reese *et al.*, 1997) (http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html).

3.1.4. Representación de las variantes

La localización de las mutaciones en los dominios correspondientes de las proteínas se realiza a través del programa *Prosite* (Sigrist *et al.*, 2013) y la aplicación *Expert Protein Analysis System (ExPASy)* (Gasteiger *et al.*, 2003).

Si la estructura cristalográfica de la proteína en la que se ha encontrado la variante está resuelta, se utiliza el programa *Swiss-PdbViewer (SPDBV)* (Guex & Peitsch, 1997). Este *software* permite la visualización en 3D de la estructura cristalográfica, indica la mutación y representa el cambio estructural provocado por el cambio de aminoácido.

3.2. Búsqueda bibliográfica

Para contextualizar el efecto de los SNPs y las mutaciones se realiza una revisión bibliográfica en diferentes bases de datos. En el caso de los SNPs se han empleado: *ExAc*

(Lek *et al.*, 2016) *Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP)* (Sherry *et al.*, 2001) y *SNPedia* (Cariaso & Lennon, 2011), utilizando como palabras clave la posición de la base y el rs, si lo hubiere.

Para las mutaciones, las bases de datos utilizadas han sido: *Pubmed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) y *HGMD* (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php>), y como palabra clave la posición del aminoácido afectado.

4. RESULTADOS

De las 57 variantes, el 63.16% se encuentran tanto en el grupo casos, como en el control, el 19.30% se encuentran sólo en el grupo casos y el porcentaje restante (17.54%) sólo en el grupo controles.

4.1. Pacientes analizados

Las muestras biológicas de los pacientes, utilizadas para este proyecto, pertenecen a la “Colección de muestras para la línea de investigación en hemodinámica” inscrita en el Registro Nacional de Biobancos, en la sección de Colecciones, con código C.0002483. Las muestras fueron recogidas entre 2013 y 2018 en la Unidad de Hemodinámica del Servicio de Cardiología del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC). Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) de Galicia, cuya referencia es 2013/109, y se realizó en conformidad con la guía ética de la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes incluidos firmaron el consentimiento informado para la utilización de muestras biológicas en el estudio.

Este trabajo se plantea como un estudio caso-control en el que se analiza una población de n=24 (pareados por edad y sexo) diferenciada en dos grupos:

- Grupo “Control”, en el que se incluyen 12 pacientes con IAM,
- Grupo “FV”, compuesto por 12 pacientes que tuvieron FV durante el IAM.

En la Tabla 2 se incluyen las características de los pacientes con edades comprendidas entre los 31 y 91 años, entre las cuales, es notable la mayor presencia de hombres en ambos grupos (83.33%).

Tabla 2. Datos demográficos de la cohorte de estudio.

	Edad (años)	Hombres	Mujeres
Control (n= 12)	57 ± 22.2	83.33% (n=10)	16.66% (n=2)
FV (n= 12)	58 ± 14.2	83.33% (n=10)	16.66% (n=2)

4.2. Profundidad de los genes

La profundidad o *coverage* de los genes indica el número de veces que se secuencian una base determinada. Este dato es imprescindible para determinar si la profundidad media es suficiente para seguir con el análisis. Cuanto mayor *coverage*, mayor será la resolución y sensibilidad de los resultados. En este caso, la profundidad media de todos los genes de interés es 95.20 ± 3.99 , que es suficiente para seguir con el análisis (Tabla 3, Figura 2).

Tabla 3. Profundidad de los genes analizados.

Gen	Promedio ± Error estándar
<i>ABCA1</i>	81.87 ± 0.99
<i>ABCC8</i>	92.71 ± 1.44
<i>ADRB2</i>	144.14 ± 7.69
<i>AGTR1</i>	104.41 ± 5.72
<i>AGTR2</i>	73.04 ± 4.76
<i>AKAP10</i>	84.99 ± 2.33
<i>ALOX5</i>	113.24 ± 2.39
<i>ADIPOQ</i>	66.42 ± 5.64
<i>APOA1</i>	78.16 ± 2.86
<i>APOE</i>	108.23 ± 6.44
<i>APOH</i>	99.87 ± 3.62

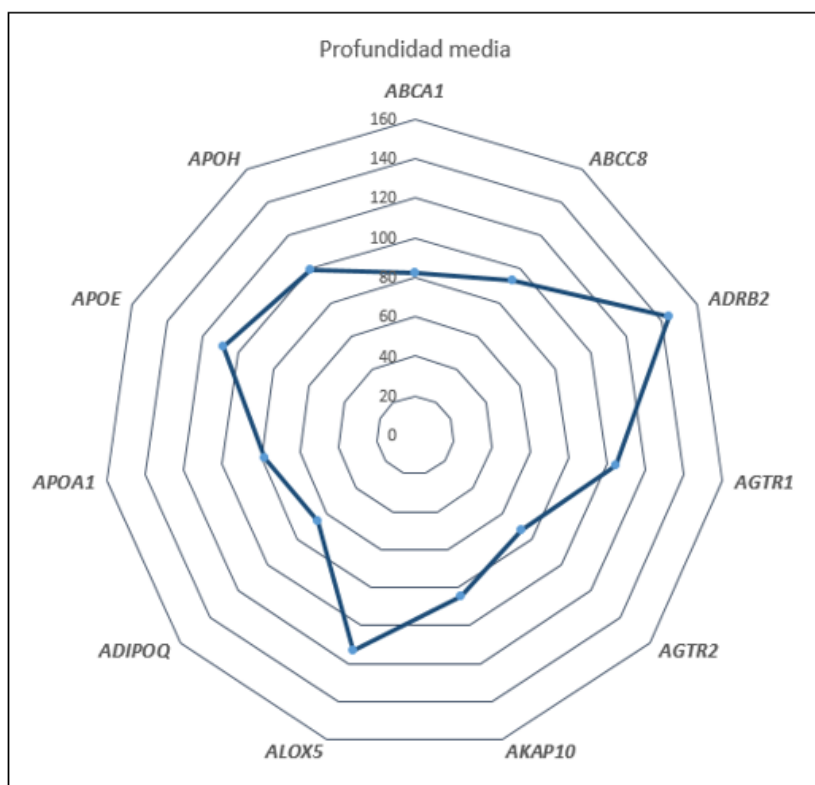


Figura 2. Esquema de la profundidad de los genes analizados.

4.3. Variantes encontradas

En el análisis de los genes *ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE* y *APOH* implicados en la ruta de la aterosclerosis en relación con la FV durante el IAM, en los 24 pacientes, se encontraron un total de 57 variantes (Anexo): en el grupo de controles se encuentra el 57.1% y en los casos el 42.9%. De los polimorfismos totales, 27 son *missense*, 26 sinónimos y 4 intrónicas.

Tras los análisis en *SNPStats* se obtuvieron 6 variantes (rs2274873, rs2246841, rs1048099, rs1042714, rs1042713, rs429358) que presentaban asociación con alguno de los modelos de herencia empleados (Tabla 4). A continuación, estos resultados se comprobaron con R y se mantenía esta asociación en tres SNPs (rs1048099, rs1042714, rs429358) (Tabla 4). Se realizó entonces el test de Fisher, tras el cual solo se obtuvo significación para el polimorfismo rs429358 en el gen *APOE* (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de los análisis estadísticos con los programas *SNPStats*, R y test de Fisher, marcando en azul los significativos y en rojo los que no pierden la significación tras el test de Fisher.

		Gen <i>ABCA1</i>		Gen <i>ABCC8</i>	Gen <i>ADRB2</i>		Gen <i>APOE</i>
		rs2274873	rs2246841	rs1048099	rs1042714	rs1042713	rs429358
SNPStats (p-valor)	M. Codo.		0.11	0.042	0.082	0.065	
	M. Dom.	0.012	0.078	0.078	0.078	0.1	0.004
	M. Recesivo		0.086	0.23	0.051	0.024	
	M. Sobred.		0.34	0.02	1.00	0.91	
	M. Aditivo		0.044	0.27	0.026	0.038	
R (p-valor)	M. Codo.	0.093	0.24	0.068	0.081	0.14	0.037
	M. Dom.		0.078	0.087	0.078	0.10	
	M. Recesivo		0.47	1.00	0.051	0.086	
	M. Sobred.		0.34	0.019	1.00	0.90	
	M. Aditivo	0.093	0.24	0.068	0.026	0.14	0.037
Test Fisher (p-valor)		—	—	0.068	0.096	—	0.037

M.: modelo; codo.: codominante; dom.: dominante; sobred.: sobredominante; —: test no realizado por no mantener la significación en R.

4.3.1. Variante rs429358 con asociación significativa en el gen *APOE* y la FV en el IAM

En el gen *APOE*, que codifica para una apolipoproteína que interviene en el transporte de colesterol, se ha encontrado un polimorfismo con asociación significativa en cinco pacientes del grupo control (IAM sin FV). La variante rs429358, cuyo cambio es de timina (T) a citosina (C) en el nucleótido 466, es de tipo *missense*. En la proteína, da lugar a un cambio de aminoácido de cisteína (Cys) a arginina (Arg) en la posición 156, dentro del dominio receptor del LDL (*Low Density Lipoprotein*) (Figura 3).

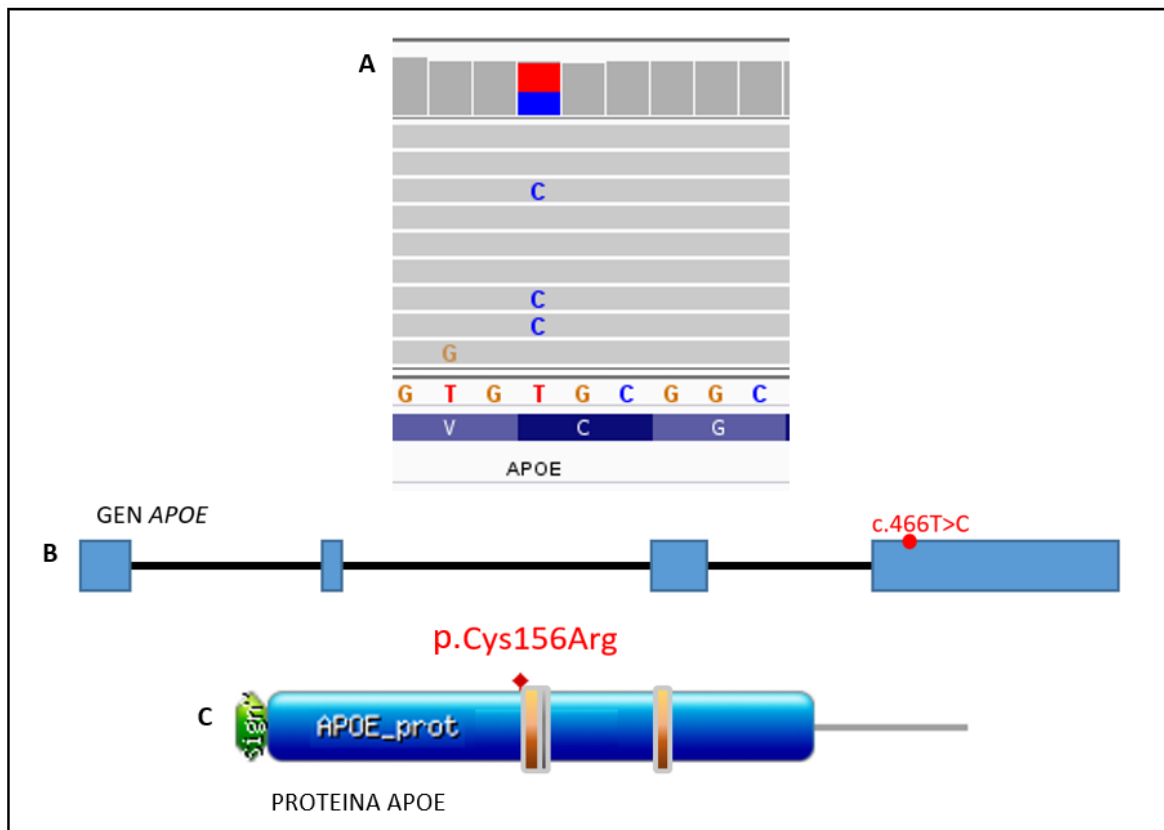


Figura 3. **A.** Imagen obtenida del IGV para la variante rs429358; **B.** Representación esquemática del gen *APOE* y localización del SNP en rojo; **C.** Representación de los dominios de la proteína *APOE*, indicando en rojo la posición de la variante en el dominio de unión del LDL, señalado en naranja.

En este caso, la estructura cristalográfica de la proteína *APOE* está resuelta en PDB (<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/>) con el número identificativo ID: IBZ4. Por lo tanto, se puede visualizar el cambio estructural del aminoácido cisteína (Cys) al aminoácido arginina (Arg) producido en la variante rs429358 en *SPDB*. En la Figura 4 se señala el lugar en el que se encuentra el aminoácido en la estructura global y se compara con el mutado. En la Figura 5B, en verde, está el aminoácido común y en la 5C, en azul, el cambio de p.Cys156Arg, en donde se representan los nuevos enlaces que se forman.

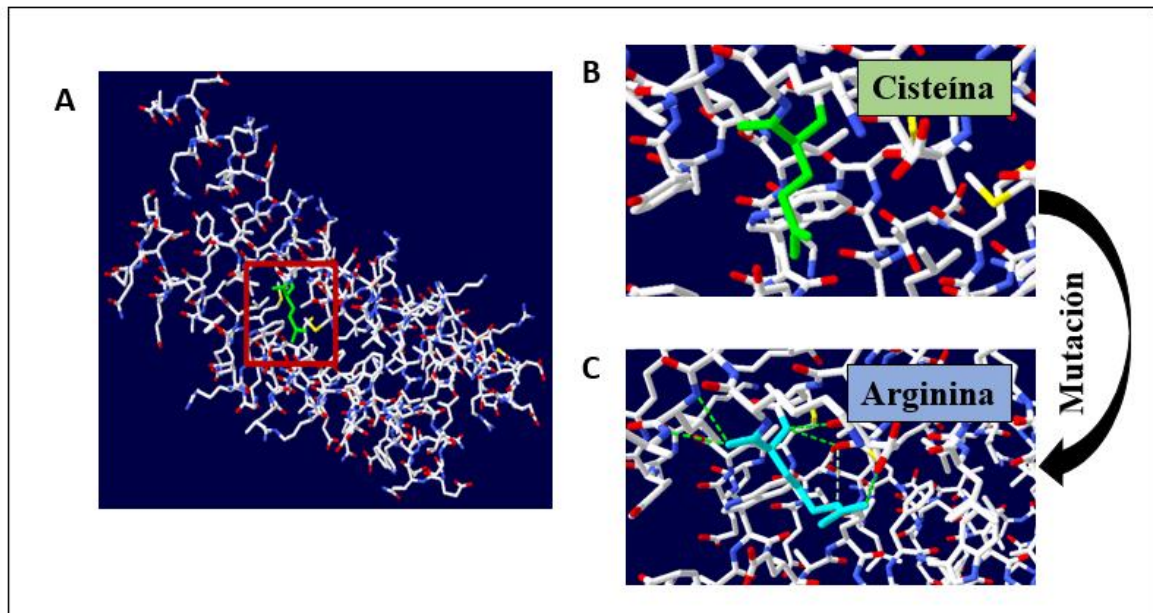


Figura 4. Representación de la estructura cristalográfica de la proteína APOE (PDB ID: IBZ4). **A.** Estructura global, en la que se enmarca en rojo dónde está la mutación; **B.** Representación del aminoácido salvaje en verde, p.Cys156; **C.** Representación del aminoácido mutado en azul, p.Arg156.

El efecto de esta variante obtenido con las herramientas bioinformáticas *SIFT* y *Polyphen* es tolerado (0.91) y benigno (0.002), respectivamente. Esta variante no está asociada a FV, ya que solamente se ha encontrado en pacientes control, por lo tanto está asociada a la ausencia de FV durante el IAM. Serían necesarias investigaciones adicionales para conocer el efecto de esta variante, si podría tener un papel en el desarrollo del IAM o un efecto protector frente a FV.

4.4. Mutaciones encontradas en los genes estudiados

Siguiendo los criterios descritos en el apartado Material y Métodos se encontraron 3 mutaciones en heterocigosis, en 3 pacientes diferentes, en los genes *ABCA1*, *AKAP10* y *ALOX5* (Tabla 5). El tipo de mutación encontrada en los dos primeros genes es *missense*, es decir, produce un cambio de aminoácido en la proteína resultante, sin embargo, en *ALOX5*, la mutación es una inserción intrónica situada en la cuarta base aguas abajo del exón 7, cerca de la región de *splicing*.

Tabla 5. Características de las mutaciones encontradas.

Gen	Posición	Exón	ref	al	Efecto	codón	HGVB-cdna	HGVB-prot
<i>ABCA1</i>	chr9:107550232	46	G	C	<i>missense</i>	gCt/gGt	c.6173C>G	p.Ala2058Gly
<i>AKAP10</i>	chr17:19880940	1	T	G	<i>missense</i>	gAc/gCc	c.53A>C	p.Asp18Ala
<i>ALOX5</i>	chr10:45924215	7	A	G	intrónica		c.981+3_981+4insG	

Ref: nucleótido en la secuencia de referencia, al: nucleótido mutado, HGVB-cdna: posición de la mutación en la secuencia de ADN indicando el cambio de base, HGVBs-prot: posición de la mutación en la secuencia de la proteína, indicando el cambio de aminoácido.

4.4.1. Mutación en *ABCA1*

La mutación en el gen *ABCA1* se ha encontrado en un paciente control, es decir, que ha presentado IAM sin FV. En el exón 46, en la base c.6173, se produce un cambio de citosina (C) a guanina (G), dando lugar a un cambio en la posición p.2058 de la proteína final de alanina (Ala), a glicina (Gly) (Figura 5). La mutación se encuentra en el dominio *ABC-transporter-2*, un sitio de unión al ATP.

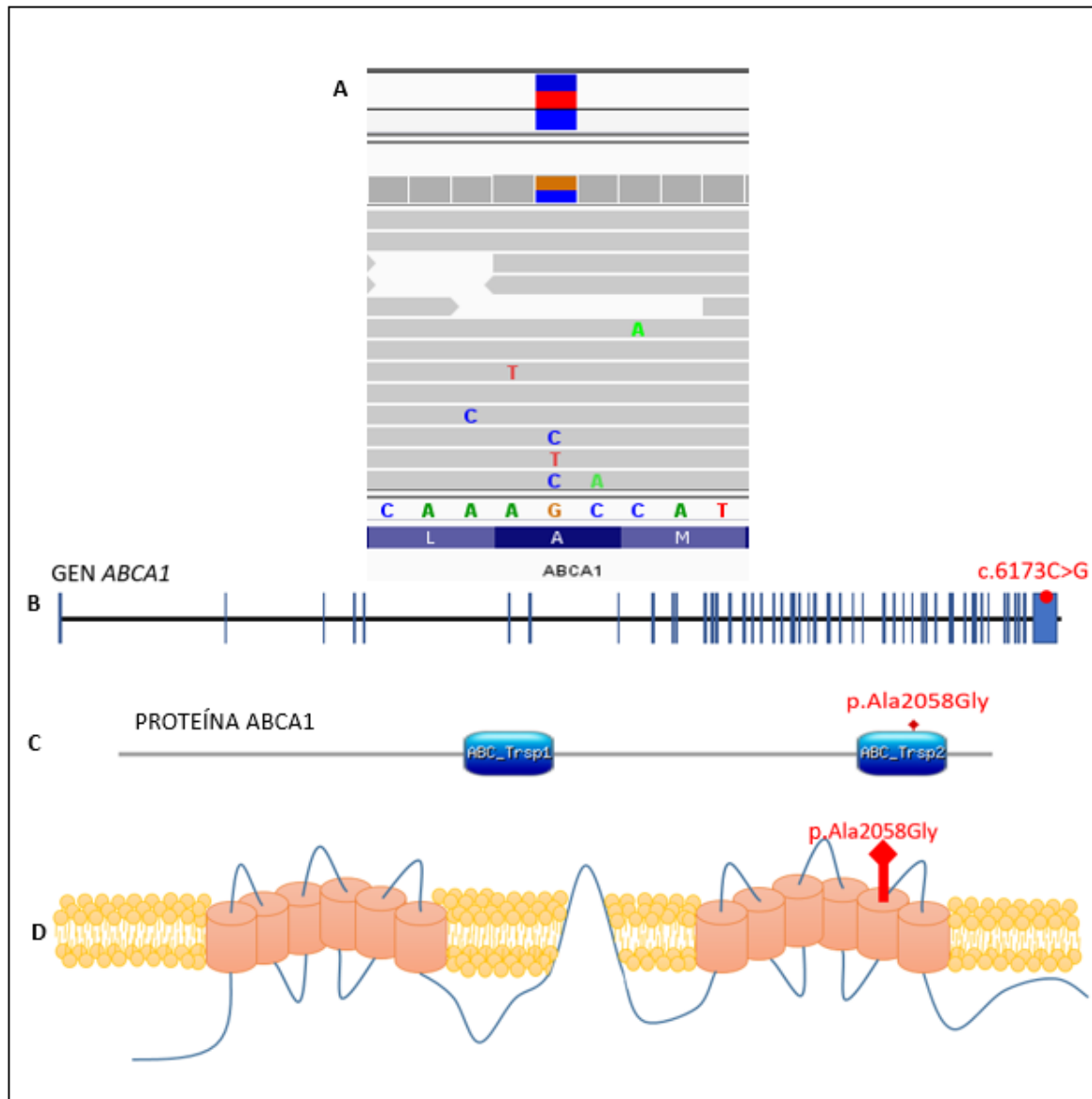


Figura 5. A. Imagen obtenida del IGV; B. Representación esquemática del gen *ABCA1* y localización del SNP en el exón 46, en rojo; C. Representación de los dominios de la proteína *ABCA1*, indicando en rojo la posición de la mutación p.Ala2058Gly en el dominio ABC-transporter-2; D. Representación de la proteína transmembrana *ABCA1*, señalando en rojo la mutación (modificada de Clee *et al.*, 2001).

El efecto de esta mutación, tras el análisis *in silico* con las 5 herramientas bioinformáticas, es probablemente dañino sobre la función de la proteína (Tabla 6).

Tabla 6. Estudio *in silico* del efecto de la mutación encontrada en *ABCA1* c.6173C>G y los scores que dan los diferentes programas informáticos.

MutationTaster	SNAP2	SIFT	PolyPhen	PhD-SNP
Causante de la enfermedad (0.9999)	Efecto (31; 63%)	Deletérea (0.01)	Probablemente dañina (0.979)	Causante de la enfermedad (3)

En este caso, la estructura cristalográfica de la proteína *ABCA1* también está resuelta en PDB con el número identificativo ID: 5XJY. Por lo tanto, se puede visualizar el cambio

estructural del aminoácido alanina (Ala) a glicina (Gly) en la posición p.2058, gracias al *SPDV*. En la representación se señala la posición en la que se encuentra el aminoácido en la estructura global y se compara con el mutado. En la Figura 6B, en verde, está el aminoácido común y en la 6C, en azul, el cambio de p.Ala2058Gly que, como se puede observar, no da lugar a nuevos enlaces.

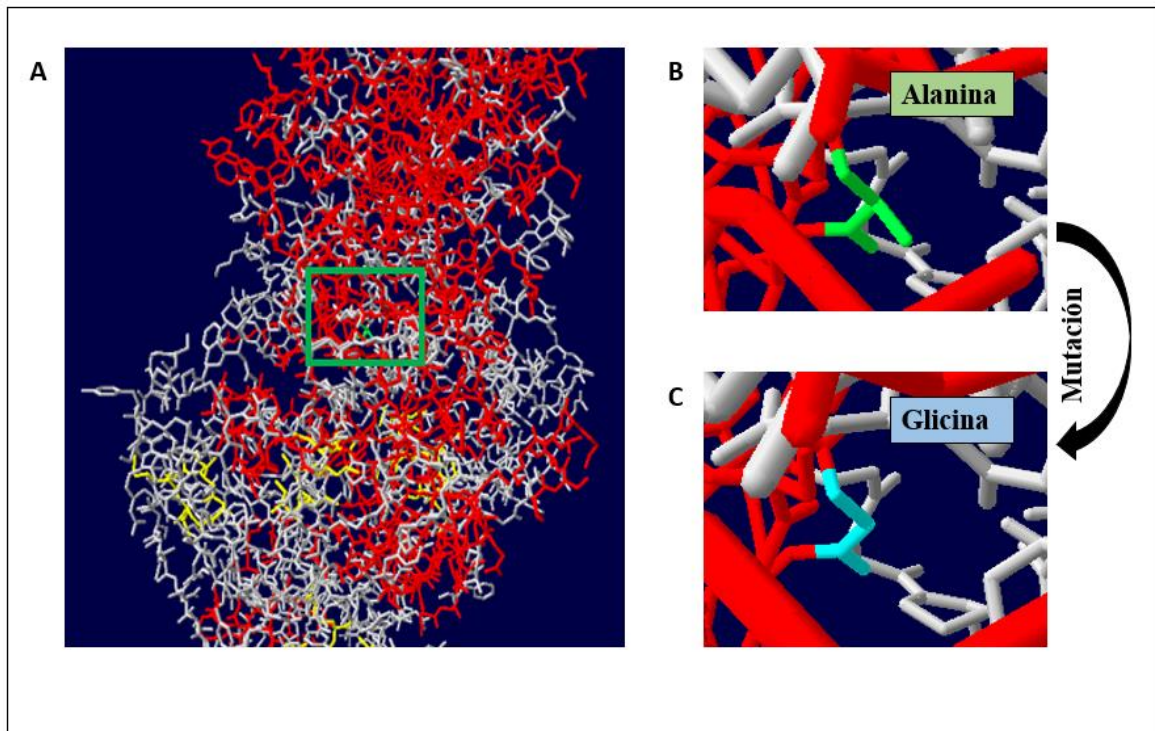


Figura 6. Representación de la estructura cristalográfica de la proteína ABCA1 (PDB ID: 5XJY). **A.** Estructura global, en la que se enmarca en rojo dónde está la mutación; **B.** Representación del aminoácido salvaje en verde, alanina (Ala); **C.** Representación del aminoácido mutado en azul, p.Gly2058.

Esta mutación, p.Ala2058Gly, se ha encontrado en un paciente control, por lo que no está asociada a FV. Para conocer su efecto, como un posible papel protector frente a FV, serán necesarios estudios funcionales complementarios.

4.4.2. Mutación en *AKAP10*

La mutación en el gen *AKAP10* se ha encontrado en un paciente del grupo casos (IAM con FV), en la que el cambio de base es de una timina (T) a una guanina (G). El tipo de mutación es *missense* y en la proteína produce un cambio del aminoácido asparragina (Asp) a alanina (Ala) en la posición 18 dentro del dominio *mitochondrion* (Figura 7).

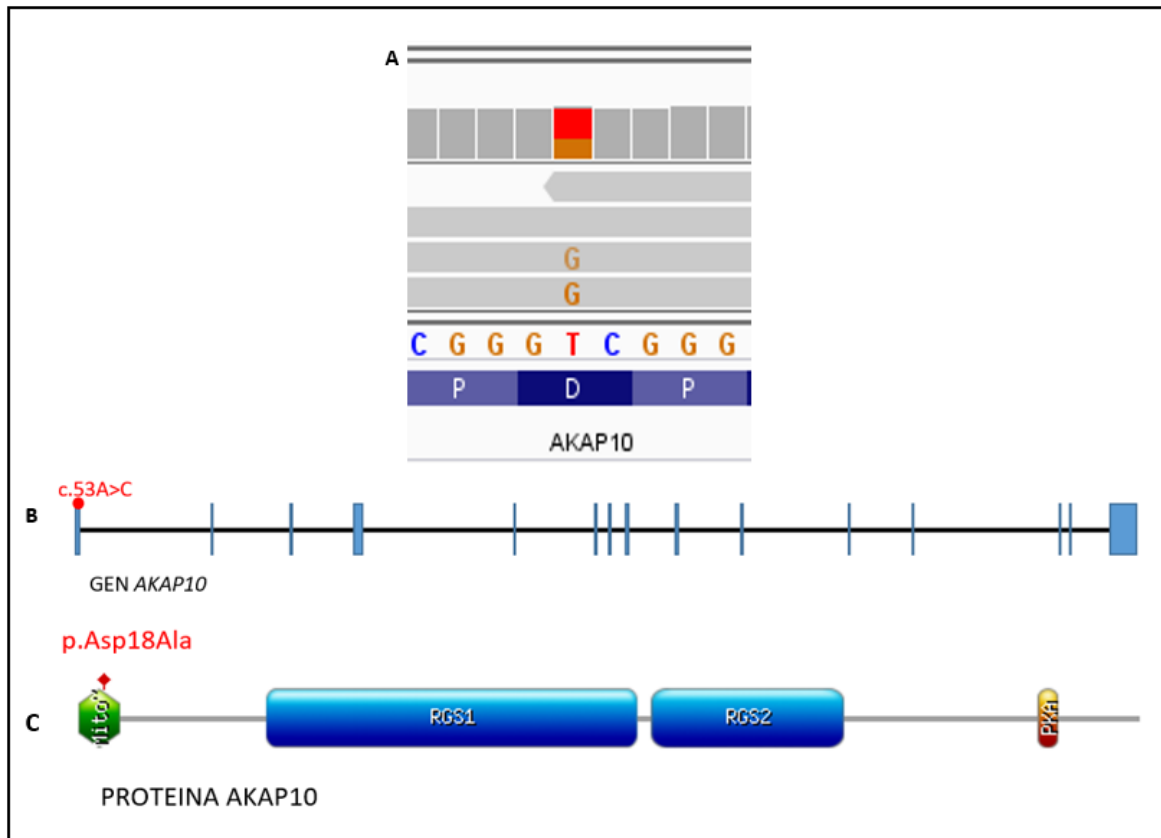


Figura 7. A. Imagen obtenida del IGV; B. Representación esquemática del gen *AKAP10* y localización de la mutación en rojo; C. Representación de los dominios de la proteína *AKAP10* indicando en rojo la mutación p.Asp18Ala en el dominio *mitochondrion*.

Los resultados del análisis *in silico* obtenidos con las diferentes herramientas bioinformáticas se muestran en la Tabla 7. De las cinco herramientas utilizadas, en cuatro de ellas se obtiene un efecto deletéreo que indica que la estructura de la proteína puede verse afectada por el cambio.

Tabla 7. Estudio *in silico* del efecto de la mutación encontrada en *AKAP10* p.Asp18Ala. En rojo las que afectan a la proteína.

MutationTaster	SNAP2	SIFT	PolyPhen	PhD-SNP
Causante de la enfermedad (0.9092)	Efecto (9; 53%)	No tolerada (0.5)	Probablemente dañina (0.675)	Neutral (9)

La mutación p.Asp18Ala en el gen *AKAP10* se ha encontrado en un paciente con IAM y FV y, tras los resultados obtenidos en la predicción, podría estar relacionada tanto con el IAM, como con la FV. Sin embargo, será necesario el diseño de estudios funcionales para corroborar dicha hipótesis.

4.4.3. Mutación en *ALOX5*

En *ALOX5*, la mutación c.981+3_981+4insG fue localizada en un paciente caso (IAM con FV). Es una inserción de una guanina (G) y no está dentro de la zona codificante del gen, sino que está situada 4 nucleótidos fuera del exón 7, en la región donadora (Figura 8).

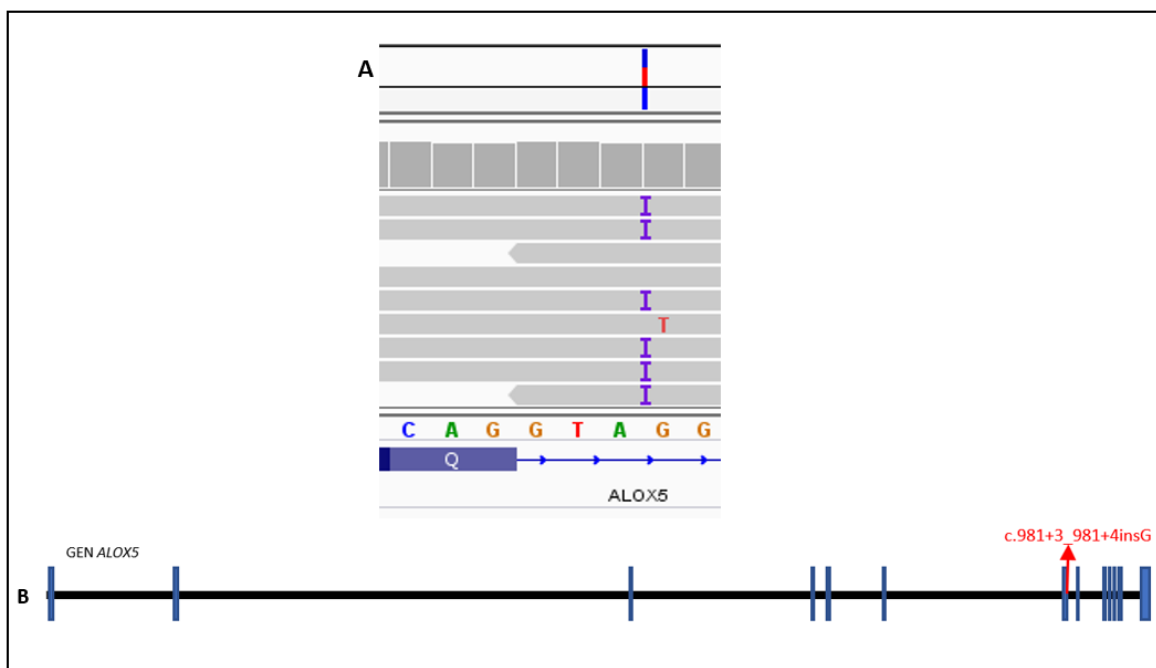


Figura 8. A. Imagen obtenida del IGV; B. Representación esquemática del gen *ALOX5* y localización de la inserción intrónica en rojo.

Para saber si la inserción afecta al *splicing* se hizo un análisis bioinformático con herramientas que predicen el efecto en la proteína (Tabla 8).

Tabla 8. Estudio *in silico* de cómo afecta la inserción en *ALOX5* al *splicing*.

HSF	GeneScan	MutTaster	NetGen	Splice site predictions
88.49 vs 89.3	29.42 vs 28.92	0.7786 vs 0.7886	1.00 vs 1.00	0.87 vs 0.85
+0.81%	-0.5%	+1%	0%	-2%

Para considerar una mutación con posible efecto sobre el *splicing*, la diferencia entre las puntuaciones de las predicciones debe ser de, al menos, el 20% (Houdayer *et al.*, 2008). La inserción c.981+3_981+4insG obtiene diferencias de un máximo del 2%, por lo que, siguiendo el criterio definido por Houdayer y colaboradores, esta mutación intrónica no afectaría a la conformación final de la proteína. A pesar de ello, serían necesarios estudios funcionales para confirmarlo.

5. DISCUSIÓN

En este trabajo se han analizado 11 genes que codifican para proteínas involucradas en el metabolismo de lípidos y en la ruta de la aterosclerosis (*ABCA1*, *ABCC8*, *ADRB2*, *AGTR1*, *AGTR2*, *AKAP10*, *ALOX5*, *ADIPOQ*, *APOA1*, *APOE* y *APOH*) en 24 pacientes que presentaron IAM, de los cuales 12 desarrollaron FV. Se encontraron un total de 57 variantes, de las cuales 27 son *missense*, 26 son sinónimas y 4 intrónicas. En el análisis de todos los pacientes, se ha identificado asociación significativa en la variante rs429358 del gen *APOE*, encontrada en 5 pacientes. Es un polimorfismo *missense* que produce un cambio de cisteína (Cys) a arginina (Arg) en la posición 156 de la apolipoproteína E (p.Cys156Arg). Además, se han detectado 3 mutaciones en 3 pacientes diferentes, de las cuales dos son *missense* en los genes *ABCA1* (p.Ala2058Gly) y *AKAP10* (p.Asp18Ala), y una última intrónica en *ALOX5* (c.981+3_981+4insG). Por tanto, aparecen mutaciones en el 3 de los pacientes estudiados, 1 control y 2 casos.

5.1. Variante significativa rs429358 en el gen *APOE*

El análisis caso-control de asociación de las variantes polimórficas de *APOE* dio como resultado una asociación significativa con la ausencia de FV durante el IAM para el rs429358 (p.Cys156Arg). En la literatura, la variante rs429358 se ha relacionado con la hiperlipoproteinemia (Havel *et al.*, 1983, Rall *et al.*, 1989), que es la incapacidad de descomponer lípidos, en especial colesterol y triglicéridos, estando directamente relacionado con el desarrollo de EC. En este trabajo, en el que se estudia la FV en el IAM, se ha encontrado la variante en cinco pacientes, todos del grupo control, es decir, IAM sin FV.

El gen humano *APOE* tiene 3 alelos: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$, que codifican para proteínas con tres isoformas diferentes. Estas isoformas difieren entre sí en los residuos 112 y 158: *APOE* $\epsilon 3$ tiene Cys112 y Arg158, *APOE* $\epsilon 4$, Arg en ambas posiciones y *APOE* $\epsilon 2$ Cys en ambas posiciones. En la mayoría de las poblaciones, el alelo $\epsilon 3$ es el mayoritario con un porcentaje entre el 70-80%, el $\epsilon 4$ con el 10-15% y el $\epsilon 2$ con el 5-10% (Lahiri *et al.*, 2004). Los polimorfismos épsilon de *APOE* están asociados a enfermedades cardiovasculares, en concreto con IAM, y está descrito que las variantes $\epsilon 4$ se asocian con el riesgo de desarrollar IAM, mientras que las $\epsilon 2$ tienen un efecto protector (Xu *et al.*, 2014, Wang *et al.*, 2015).

La variante encontrada en este estudio se localiza en la posición 156 con el cambio de Ala a Arg. A pesar de no ser la misma posición descrita para *APOE* $\epsilon 4$ es casi adyacente (dos

posiciones aguas arriba) y el cambio de aminoácido coincide, por lo que podría tener un efecto similar. Además, hay publicaciones basadas en estudios caso-control en los que el rs429358 se asocia significativamente con el IAM. Kukava y colaboradores realizaron una búsqueda de marcadores genéticos de riesgo de IAM en la población rusa. Los genes analizados: *APOE*, *PCSK9* y *LPL*, están todos relacionados con el metabolismo de lípidos. Dentro del gen *APOE* se analiza la misma variante encontrada en este estudio con resultado significativo en cuanto a asociación con IAM (Kukava *et al.*, 2017).

Por lo tanto, la variante rs429358 descrita del gen *APOE* podría tener un papel protector frente a FV o un papel en el desarrollo de IAM. No obstante, para probar esta hipótesis se requiere el diseño de un nuevo estudio funcional con una cohorte de pacientes mayor.

5.2. Mutación en *ABCA1*

La superfamilia de transportadores de membrana dependientes de ATP o también llamados ABC están presentes en casi todos los organismos vivos conservando su estructura, por lo que se supone que desempeña un papel fundamental en el transporte de metabolitos, como el colesterol (Jung *et al.*, 2018).

En este gen hay variantes que previamente se han asociado al IAM. En la base de datos HGMD se han identificado más de 145 mutaciones *missense*, asociadas a diferentes patologías como la enfermedad de Tangier (Tada *et al.*, 2015), asociación con aterosclerosis (Pisciotta *et al.*, 2004) y aumento de riesgo de IAM (Zwarts *et al.*, 2002), entre otras.

La mutación p.Ala2058Gly encontrada en un paciente control no ha sido descrita previamente en la bibliografía. Tampoco se han descrito otras mutaciones en la misma posición. Según el criterio de la localización, se encontraron dos mutaciones cercanas a la posición p.2058: p.Ser2046Asn (Tada *et al.*, 2015) en relación a la enfermedad de Tangier y p.Thr2073Ala (Cohen *et al.*, 2004) ligado a niveles bajos de HDL (*High Density Lipoprotein*).

En los resultados obtenidos tras los análisis se podría especular un posible papel en el desarrollo de IAM en ausencia de FV, aunque en la búsqueda bibliográfica no se han encontrado mutaciones descritas en localizaciones próximas a p.2058 asociadas a esta enfermedad. Para conocer el efecto de esta mutación será necesaria la realización de estudios funcionales.

5.3. Mutación en *AKAP10*

Las AKAPs son una familia de proteínas de anclaje a las quinasas-A (PKA) y a otras proteínas de señalización (Li *et al.*, 2017) y se han descrito más de 70 AKAPs en humanos hasta ahora. Todas ellas, a pesar de no estar relacionadas estructuralmente entre sí, comparten las siguientes características clave (Survayavanshi *et al.*, 2018):

- Todas tienen entre 14 y 18 secuencias de aminoácidos α -hélice anfipáticas que se unen a subunidades reguladoras de PKA.
- Tienen un dominio guía o de orientación que ancla las AKAPs a orgánulos específicos como mitocondria, núcleo y membrana plasmática, entre otros.
- Constan de dominios de unión con otras quinasas como: fosfatasa, fosfodiesterasa, etc.

Durante las últimas décadas, se han identificado varios AKAPs en el sistema cardiovascular (Kritzer *et al.*, 2012). La fosforilación mediada por las PKA es esencial para el funcionamiento fisiológico correcto del corazón (Rababa'h *et al.*, 2013). La proteína AKAP10, en concreto, está localizada en la membrana mitocondrial externa de los cardiomiocitos y es esencial en el control del pulso y ritmo cardíaco (Tingley *et al.*, 2007). Los polimorfismos en este gen pueden estar asociados con un mayor riesgo de arritmias y muerte súbita (Huang *et al.*, 1997). Aunque hay un número limitado de publicaciones sobre el impacto de *AKAP10* en la genética de las enfermedades cardiovasculares, se ha descrito el polimorfismo p.Ile646Val en *AKAP10* asociado al incremento de riesgo de IAM y muerte súbita (Kammerer *et al.*, 2003).

Las mutaciones en *AKAP10* podrían tener consecuencias directas en la etiología de las enfermedades cardiovasculares y dar lugar a una modificación del riesgo de desarrollo de arritmias e IAM, a pesar de que los mecanismos moleculares son aún desconocidos (Nishihama *et al.*, 2007). Para este gen se han descrito un total de 2 mutaciones *missense* en la base de datos HGMD, relacionadas con cáncer de pulmón (Rudd *et al.*, 2006) y asociación a enfermedades cardiovasculares (Kammerer *et al.*, 2003).

En este estudio se ha encontrado una mutación *missense* en *AKAP10* que produce un cambio de asparragina (Asp) a alanina (Ala) en la posición 18 de la proteína. Esta mutación no ha sido descrita anteriormente en la bibliografía y ninguna de las ya publicadas presenta la misma posición. p.Asp18Ala se sitúa en el dominio *mitochondrion*, lo que podría afectar a

las funciones de transducción de señal en la mitocondria (Wang *et al.*, 2001). Esta mutación se ha detectado en un paciente caso y, sabiendo que la literatura científica respalda la posibilidad de que variaciones y mutaciones en el gen *AKAP10* influyan potencialmente en el riesgo de arritmias e IAM, se podría sugerir que esta mutación podría tener un papel importante en el desarrollo de FV durante el IAM, sin embargo sería necesario realizar estudios funcionales para corroborarlo.

5.4. Mutación en *ALOX5*

El gen *ALOX5* codifica para la 5-lipoxigenasa, enzima clave en la inflamación y respuesta aterosclerótica que oxida las moléculas de LDL en las paredes vasculares (Lötzer *et al.*, 2005).

En la revisión bibliográfica realizada sobre asociación de variantes en *ALOX5* y FV en IAM, hay resultados controvertidos, ya que se demuestra su asociación con procesos ateroscleróticos, pero no se llega a un acuerdo en cuanto a su asociación con IAM. Un claro ejemplo es el estudio de la variante rs00000213, descrita previamente como factor de riesgo de la aterosclerosis, en el que se estudia si este polimorfismo se relaciona significativamente con parada cardíaca, y el resultado fue negativo. Sin embargo, la interacción epistática con otras tres variantes rs10900213, rs4293222 y rs2107545 sí confiere susceptibilidad genética frente al IAM (Liu *et al.*, 2017). En una publicación realizada por Löhmußaar y colaboradores se detalla un estudio caso-control en la población de Islandia (pareados por edad y sexo) con el objetivo de determinar la posible asociación entre los genes *ALOX5* y *PDE4D* con el IAM. Los resultados obtenidos sugieren que las variantes de *ALOX5* se asocian significativamente con el IAM, sobre todo en los hombres (Löhmußaar *et al.*, 2005).

Por otro lado, no se han descrito mutaciones asociadas a aterosclerosis, IAM o FV. En la base de datos HGMD se han identificado un total de 4 mutaciones, siendo una *missense* asociada al asma (Bai *et al.*, 2008), otra, pequeñas deleciones y las otras dos, pequeñas inserciones, estas dos últimas, intrónicas. En este trabajo, la mutación encontrada en un paciente caso, es una inserción de guanina (G) cuatro pares de bases aguas abajo del exón 7, cerca de la región de *splicing*. Los análisis bioinformáticos de predicción del efecto de c.981+3_981+4insG sobre la proteína dieron como resultado que no afecta al *splicing* y la conformación final de la proteína no se vería perjudicada. Por lo tanto, se podría decir que

la mutación encontrada en *ALOX5* no tendría efecto en el desarrollo de FV durante el IAM, aunque para asegurarlo sería necesario llevar a cabo estudios funcionales.

6. CONCLUSIONES

Una vez realizado el Trabajo de Fin de Máster se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- 1- El polimorfismo rs429358 del gen *APOE* se asocia estadísticamente con la ausencia de FV durante el IAM.
- 2- Para conocer el efecto del polimorfismo en *APOE* será necesario el diseño de un estudio funcional con una población más numerosa.
- 3- La mutación p.Ala2058Gly en *ABCA1* situada en el dominio *ABC-transporter 2*, encontrada en un paciente control, es probablemente dañina y podría desempeñar un papel en la aparición del IAM.
- 4- La mutación p.Asp18Ala en *AKAP10* situada en el dominio *mitochondrion*, encontrada en un paciente con FV, es probablemente dañina y podría tener alguna función en el desarrollo de esta patología.
- 5- La mutación c.981+3_981+4insG en *ALOX5* no tiene efecto sobre el *splicing* de la proteína, por lo que probablemente no tenga efecto en el desarrollo de la FV durante el IAM.
- 6- Para confirmar el efecto de las mutaciones en *ABCA1*, *AKAP10* y *ALOX5* en la estructura proteica, será necesario llevar a cabo estudios funcionales.

7. REFERENCIAS

Achari, A., Jain, S. (2017). Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* 18(6): 1321.

Adzhubei, I. A., Schmidt, S., Peshkin, L., Ramensky, V. E., Gerasimova, A., Bork, P. *et al.* (2007). SNAP: predict effect of non-synonymous polymorphisms on function. *Nucleic. Acids. Res.* 35(11): 3823-3835.

- Aouizerat, B. E., Vittinghoff, E., Musone, S. L., Pawlikowska, L., Kwok, P. Y., Olgin, J. E. *et al.* (2011). GWAS for discovery and replication of genetic loci associated with sudden cardiac arrest in patients with coronary artery disease. *BMC Cardiovasc. Disord.* 11(1): 29.
- Bai, C., Matsui, E., Ohnishi, H., Kimata, K., Kasahara, K., Kaneko, H. *et al.* (2008). A novel polymorphism, E254K, in the 5-lipoxygenase gene associated with bronchial asthma. *Int. J. Mol. Med.* 21(2): 139-144.
- Bezzina, C. R., Pazoki, R., Bardai, A., Marsman, R. F., De Jong, J. S., Blom, M. T. *et al.* (2010). Genome-wide association study identifies a susceptibility locus at 21q21 for ventricular fibrillation in acute myocardial infarction. *Nat. Genet.* 42(8): 688.
- Boehringe, T., Bugert, P., Borggrefe, M., Elmas, E. (2014). *SCN5A* mutations and polymorphisms in patients with ventricular fibrillation during acute myocardial infarction. *Mol. Med. Rep.* 10(4): 2039-2044.
- Bromberg, Y., Rost, B. (2007). SNAP: predict effect of non-synonymous polymorphisms on function. *Nucleic Acids Res.* 35(11): 3823-3835.
- Burge, C., Karlin, S. (1997). Prediction of complete gene structures in human genomic DNA. *J. Mol. Biol.* 268: 78-94.
- Capriotti, E., Calabrese, R., Casadio, R. (2006). Predicting the insurgence of human genetic diseases associated to single point protein mutations with support vector machines and evolutionary information. *Bioinformatics.* 22: 2729-2734.
- Cariaso, M., Lennon, G. (2011). SNPedia: a wiki supporting personal genome annotation, interpretation and analysis. *Nucleic Acids research.* 40(D1): D1308-D1312.
- Chistiakov, D. A., Orekhov A. N., Bobryshev, Y. V. (2016). *ApoA1* and ApoA1-specific self-antibodies in cardiovascular disease. *Lab. Invest.* 96(7): 708.
- Clee, S. M., Kastelein, J. J., van Dam, M., Marcil, M., Roomp, K., Zwarts, K. Y. *et al.* (2000). Age and residual cholesterol efflux affect HDL cholesterol levels and coronary artery disease in *ABCA1* heterozygotes. *J. Clin. Invest.* 106(10): 1263-1270.
- Cohen, J. C., Kiss, R. S., Pertsemlidis, A., Marcel, Y. L., McPherson, R., Hobbs, H. H. (2004). Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of HDL cholesterol. *Science.* 305(5685): 869-872.
- Crotti, L., Hu, D., Barajas-Martinez, H., De Ferrari, G. M., Oliva, A., Insolia, R. *et al.* (2012). Torsades de pointes following acute myocardial infarction: evidence for a deadly link with a common genetic variant. *Heart Rhythm.* 9(7): 1104-1112.
- Dekker, L. R., Bezzina, C. R., Henriques, J. P., Tanck, M. W., Koch, K. T., Alings, M. W. *et al.* (2006). Familial sudden death is an important risk factor for primary ventricular fibrillation: a case-control study in acute myocardial infarction patients. *Circulation.* 114(11): 1140-1145.
- Desmet, F. O., Hamroun, D., Lalande, M., Collod-Beroud, G., Claustres, M., Beroud, C. (2009). Human Splicing Finder: An online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acid Res.* 37(9): e67.
- Deyell, M. W., Krahn, A. D., Goldberger, J. J. (2015). Sudden cardiac death risk stratification. *Circ. Res.* 116(12): 1907-1918.
- Ferreira-González, I. (2014). Epidemiología de la enfermedad coronaria. *Rev. Esp. Cardiol.* 67(2): 139-144.
- Gasteiger, E., Gattiker, A., Hoogland, C., Ivanyi, I., Appel, R. D., Bairoch, A. (2003). ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucleic Acids Res.* 31: 3784-3788.
- Glinge, C., Sattler, S., Jabbari, R., Tfelt-Hansen, J. (2016). Epidemiology and genetics of ventricular fibrillation during acute myocardial infarction. *J. Geriatr. Cardiol.* 13(9): 789.
- Gräsner, J. T., Lefering, R., Koster, R. W., Masterson, S., Böttiger, B. W., Herlitz, J. *et al.* (2016). EuReCa ONE 27 Nations, ONE Europe, ONE Registry: A prospective one month analysis of out-of-hospital cardiac arrest outcomes in 27 countries in Europe. *Resuscitation.* 105: 188-195.

- Guex, N., Peitsch, M. C. (1997). SWISS-MODEL and the *Swiss-PdbViewer*: An environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis*. 18(15): 2714-2723.
- Haghverdizadeh, P., Haerian, M. S., Haghverdizadeh, P., Haerian, B. S. (2014). *ABCC8* genetic variants and risk of diabetes mellitus. *Gene*. 545(2): 198-204.
- Havel, R. J., Kotite, L. E. I. L. A., Kane, J. P., Tun, P. E. G. G. Y., Bersot, T. (1983). Atypical familial dysbetalipoproteinemia associated with apolipoprotein phenotype E3/3. *J. Clin. Invest.* 72(1): 379-387.
- Hebsgaard, S. M., Korning, P. G., Tolstrup, N., Engelbrecht, J., Rouze, P., Brunak, S. (1996). Splice site prediction in *Arabidopsis thaliana* pre-mRNA by combining local and global sequence information. *Nucleic Acids Res.* 24(17): 3439-3452.
- Houdayer, C., Dehainault, C., Mattler, C., Michaux, D., Caux-Moncoutier, V., Pagès-Berhouet, S. *et al.* (2008). Evaluation of in silico splice tools for decision-making in molecular diagnosis. *Hum. Mutat.* 29(7): 975-982.
- Huang, L. J. S., Durick, K., Weiner, J. A., Chun, J., Taylor, S. S. (1997). D-AKAP2, a novel protein kinase A anchoring protein with a putative RGS domain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94(21): 11184-11189.
- Hundahl, L. A., Tfelt-Hansen, J., Jespersen, T. (2017). Rat Models of Ventricular Fibrillation Following Acute Myocardial Infarction. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 22(6): 514-528.
- Illumina Inc. (2017a). Prepare Library. Sequence. Analyze Data. TruSight™ One Series of Sequencing Panels. Pub. No. 670-2013-015-C.
- Illumina Inc. (2017b). Local Run Manager. Variante Germline Módulo de análisis. Guía de flujo de trabajo para MiSeqDx. Nº de documento 1000000041554 v00 ESP.
- Jabbari, R., Glinge, C., Jabbari, J., Risgaard, B., Winkel, B. G., Terkelsen, C. J. *et al.* (2017a). A common variant in *SCN5A* and the risk of ventricular fibrillation caused by first ST-segment elevation myocardial infarction. *PLoS ONE*. 12(1): e0170193.
- Jabbari, R., Jabbari, J., Glinge, C., Risgaard, B., Sattler, S., Winkel, B. G. *et al.* (2017b). Association of common genetic variants related to atrial fibrillation and the risk of ventricular fibrillation in the setting of first ST-elevation myocardial infarction. *BMC Med. Genet.* 18(1): 138.
- Jung, D., Cao, S., Liu, M., Park, S. (2018). A meta-analysis of the associations between the ATP-binding cassette transporter *ABCA1* R219K (rs2230806) polymorphism and the risk of type 2 diabetes in Asians. *Horm. Metab. Res.* 50(04): 308-316.
- Kammerer, S., Burns-Hamuro, L. L., Ma, Y., Hamon, S. C., Canaves, J. M., Shi, M. M. *et al.* (2003). Amino acid variant in the kinase binding domain of dual-specific A kinase-anchoring protein 2: a disease susceptibility polymorphism. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100(7): 4066-4071.
- Kanu, J. S., Yu, M., Zhi, S., Yu, Y., Liu, Y., Cong, Y. *et al.* (2016). Single nucleotide polymorphism rs3774261 in the *AdipoQ* gene is associated with the risk of coronary heart disease (CHD) in Northeast Han Chinese population: a case-control study. *Lipids Health Dis.* 15(1): 6.
- Kockx, M., Traini, M., Kritharides, L. (2018). Cell-specific production, secretion, and function of apolipoprotein E. *J. Mol. Med.* 1: 11.
- Kovács, M., Kiss, A., Gönczi, M., Miskolczi, G., Seprényi, G., Kaszaki, J. *et al.* (2015). Effect of sodium nitrite on ischaemia and reperfusion-induced arrhythmias in anaesthetized dogs: is protein S-nitrosylation involved? *PLoS ONE*. 10(4): e0122243.
- Kritzer, M. D., Li, J., Dodge-Kafka, K., Kapiloff, M. S. (2012). AKAPs: the architectural underpinnings of local cAMP signaling. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 52(2): 351-358.
- Kukava, N. G., Titov, B. V., Osmak, G. J., Matveeva, N. A., Kulakova, O. G., Favorov, A. V. *et al.* (2017). Multilocus Analysis of Genetic Susceptibility to Myocardial Infarction in Russians: Replication Study. *Acta Naturae (англоязычная версия)*. 9(4): 34.
- Kumar, P., Henikoff, S., Ng, P. C. (2009). Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat. Protoc.* 4(7): 1073-1081.

- Lahiri, D. K., Sambamurti, K., Bennett, D. A. (2004). Apolipoprotein gene and its interaction with the environmentally driven risk factors: molecular, genetic and epidemiological studies of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. 25(5): 651-660.
- Lek, M., Karczewski, K. J., Minikel, E. V., Samocha, K. E., Banks, E., Fennell, T. *et al.* (2016). Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 536(7616): 285-291.
- Li, Z., Singh, S., Suryavanshi, S. V., Ding, W., Shen, X., Wijaya, C. S. *et al.* (2017). Force development and intracellular Ca²⁺ in intact cardiac muscles from gravin mutant mice. *Eur. J. Pharmacol.* 807: 117-126.
- Liu, D., Liu, L., Song, Z., Hu, Z., Liu, J., Hou, D. (2017). Genetic variations of oxidative stress related genes *ALOX5*, *ALOX5AP* and *MPO* modulate ischemic stroke susceptibility through main effects and epistatic interactions in a Chinese population. *Cell. Physiol. Biochem.* 43(4): 1588-1602.
- Löhmussaar, E., Gschwendtner, A., Mueller, J. C., Org, T., Wichmann, E., Hamann, G. *et al.* (2005). *ALOX5AP* gene and the *PDE4D* gene in a central European population of stroke patients. *Stroke*. 36(4): 731-736.
- Lötzer, K., Funk, C. D., Habenicht, A. J. (2005). The 5-lipoxygenase pathway in arterial wall biology and atherosclerosis. *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Biol. Lipids.* 1736(1): 30-37.
- Malik, R., Bevan, S., Nalls, M. A., Holliday, E. G., Devan, W. J., Cheng, Y. C. *et al.* (2014). Multilocus genetic risk score associates with ischemic stroke in case-control and prospective cohort studies. *Stroke*. 45(2): 394-402.
- Marsman, R. F., Tan, H. L., Bezzina, C. R. (2014). Genetics of sudden cardiac death caused by ventricular arrhythmias. *Nat. Rev. Cardiol.* 11(2): 96-111.
- Matus, M., Kucerova, D., Kruzliak, P., Adameova, A., Doka, G., Turcekova, K. *et al.* (2015). Upregulation of SERCA2a following short-term ACE inhibition (by enalaprilat) alters contractile performance and arrhythmogenicity of healthy myocardium in rat. *Mol. Cell. Biochem.* 403(1-2): 199-208.
- Nishihama, K., Yamada, Y., Matsuo, H., Segawa, T., Watanabe, S., Kato, K. *et al.* (2007). Association of gene polymorphisms with myocardial infarction in individuals with or without conventional coronary risk factors. *Int. J. Mol. Med.* 19(1): 129-141.
- Pisciotta, L., Hamilton-Craig, I., Tarugi, P., Bellocchio, A., Fasano, T., Alessandrini, P. *et al.* (2004). Familial HDL deficiency due to *ABCA1* gene mutations with or without other genetic lipoprotein disorders. *Atherosclerosis*. 172(2): 309-320.
- Rababa'h, A., Craft Jr, J. W., Wijaya, C. S., Atrooz, F., Fan, Q., Singh, S. *et al.* (2013). Protein kinase A and phosphodiesterase-4D3 binding to coding polymorphisms of cardiac muscle anchoring protein (mAKAP). *J. Mol. Biol.* 425(18): 3277-3288.
- Rall, S. C., Newhouse, Y. M., Clarke, H. R., Weisgraber, K. H., McCarthy, B. J., Mahley, R. W., Bersot, T. P. (1989). Type III hyperlipoproteinemia associated with apolipoprotein E phenotype E3/3. Structure and genetics of an apolipoprotein E3 variant. *J. Clin. Invest.* 83(4): 1095-1101.
- Reese, M. G., Eeckman, F. H., Kulp, D., Haussler, D. (1997) Improved splice site detection in Genie. *J. Comput. Biol.* 4: 311-323.
- Robinson, J. T., Thorvaldsdóttir, H., Winckler, W., Guttman, M., Lander, E. S., Getz, G. *et al.* (2011). Integrative Genomics Viewer. *Nat. Biotechnol.* 29(1): 24-26.
- Rudd, M. F., Webb, E. L., Matakidou, A., Sellick, G. S., Williams, R. D., Bridle, H. *et al.* (2006). Variants in the GH-IGF axis confer susceptibility to lung cancer. *Genome Res.* 16(6): 693-701.
- Schwarz, J. M., Cooper, D. N., Schuelke, M., Seelow, D. (2014). MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat. Methods.* 11(4): 361.
- Sherry, S. T., Ward, M. H., Kholodov, M., Baker, J., Phan, L., Smigielski, E. M. *et al.* (2001). dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 29(1): 308-311.
- Sigrist, C. J. A., de Castro, E., Cerutti, L., Cucho, B. A., Hulo, N., Bridge, A. *et al.* (2013). New and continuing developments at PROSITE. *Nucleic Acids Res.* 41(Database issue): D344-347.

Solé, X., Guinó, E., Valls, J., Iñesta, R., Moreno, V. (2006). SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 22(15): 1928-1929.

Suryavanshi, S., Jadhav, S., McConnell, B. (2018). Polymorphisms/mutations in A-kinase anchoring proteins (AKAPs): Role in the cardiovascular system. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 5(1): 7.

Tada, H., Kawashiri, M. A., Okada, H., Teramoto, R., Konno, T., Yoshimuta, T. *et al.* (2015). Assessment of coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia by coronary computed tomography angiography. *Am. J. Cardiol.* 115(6): 724-729.

The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee (2000). Myocardial infarction redefined - A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur. Heart J.* 21(18): 1502-1513.

The R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing.

Tingley, W. G., Pawlikowska, L., Zaroff, J. G., Kim, T., Nguyen, T., Young, S. G. *et al.* (2007). Gene-trapped mouse embryonic stem cell-derived cardiac myocytes and human genetics implicate *AKAP10* in heart rhythm regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104(20): 8461-8466.

Tseng, Z. H., Aouizerat, B. E., Pawlikowska, L., Vittinghoff, E., Lin, F., Whiteman, D. *et al.* (2008). Common β -adrenergic receptor polymorphisms are not associated with risk of sudden cardiac death in patients with coronary artery disease. *Heart Rhythm*. 5(6): 814-821.

Wang, H., Eitzman, D. T. (2013). Acute myocardial infarction leads to acceleration of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 229(1): 18-22.

Wang, L., Sunahara, R. K., Krumins, A., Perkins, G., Crochiere, M. L., Mackey, M. *et al.* (2001). Cloning and mitochondrial localization of full-length D-AKAP2, a protein kinase A anchoring protein. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98(6): 3220-3225.

Wang, Y. L., Sun, L. M., Zhang, L., Xu, H. T., Dong, Z., Wang, L. Q. *et al.* (2015). Association between apolipoprotein E polymorphism and myocardial infarction risk: a systematic review and meta-analysis. *FEBS Open Bio*. 5: 852-858.

White, H. D., Chew, D. P. (2008). Acute myocardial infarction. *The Lancet*. 372(9638): 570-584.

Xu, H., Li, H., Liu, J., Zhu, D., Wang, Z., Chen, A. *et al.* (2014). Meta-analysis of apolipoprotein E gene polymorphism and susceptibility of myocardial infarction. *PLoS One*. 9(8): e104608.

Zwarts, K. Y., Clee, S. M., Zwinderman, A. H., Engert, J. C., Singaraja, R., Loubser, O. *et al.* (2002). *ABCA1* regulatory variants influence coronary artery disease independent of effects on plasma lipid levels. *Clin. Genet.* 61(2): 115-125.

ANEXO

Anexo. Polimorfismos encontrados y sus características.

Gen	dbSNP	Ref	Genotipo	AI	1Kg_MAF	Pacientes (HM/HZ)	Efecto	HGVS-prot
ABCA1	rs2066714	T	T/C	C	0.3658 (C)	10HZ	<i>missense</i>	p.Ile883Met
	rs2066715	C	C/T	T	0.1277 (T)	6HZ	<i>missense</i>	p.Val825Ile
	rs2066716	C	T/T	T	0.1584 (T)	2HM/2HZ	sinónima	c.4281G>A(p.=)
	rs2066718	C	C/T	T	0.0609 (T)	1HM/4HZ	<i>missense</i>	p.Val771Met
	rs2230805	C	C/T	T	0.3512 (T)	4HM/9HZ	sinónima	c.474G>A(p.=)
	rs2230806	C	C/T	T	0.4194 (T)	4HM/10HZ	<i>missense</i>	p.Arg219Lys
	rs2230808	C	C/C	T	0.4103 (T)	11HM/10HZ	<i>missense</i>	p.Lys1587Arg
	rs2246841	C	C/T	T	0.1291 (T)	2HM/6HZ	sinónima	c.948G>A(p.=)
	rs2274873	G	G/A	A	0.0861 (A)	4HM	sinónima	c.936C>T(p.=)
	rs2853579	G	G/T	T	0.3535 (T)	10HZ	sinónima	c.2040C>A(p.=)
	rs9282537	G	G/A	A	0.0636 (A)	2HZ	sinónima	c.6183C>T(p.=)
	rs33918808	C	C/G	G	0.0508 (G)	1HZ	<i>missense</i>	p.Glu1172Asp
	rs34879708	G	G/A	A	0.00001 (A)	1HZ	sinónima	c.6729C>T(p.=)

Anexo. (Continuación) Polimorfismos encontrados y sus características.

Gen	dbSNP	Ref	Genotipo	AI	1Kg_MAF	Pacientes (HM/HZ)	Efecto	HGVS-prot
ABCA1	rs35871586	A	A/C	C	0.0064 (C)	1HZ	sinónima	c.3159T>G(p.=)
	rs41277763	C	C/A	A	0.0114 (A)	2HZ	sinónima	c.4536G>T(p.=)
	rs113058638	C	C/T	T	0.00004 (T)	1HZ	<i>missense</i>	p.Val380Ile
	rs145183203	G	G/A	A	0.0005 (A)	1HZ	<i>missense</i>	p.Pro85Leu
	rs374418354	C	C/A	A	0.00024 (A)	1HZ	sinónima	c.2235G>T(p.=)
ABCC8	rs757110	A	A/A	C	0.2853 (C)	11HM/10HZ	<i>missense</i>	p.Ala1369Ser
	rs1048099	A	G/G	G	0.4393 (G)	15HM/6HZ	sinónima	c.207T>C(p.=)
	rs1799854	G	G/A	A	0.4158 (A)	7HM/11HZ	intrónica	
	rs1799857	G	G/A	A	0.4299 (A)	5HM/8HZ	sinónima	c.1686C>T(p.=)
	rs1799858	C	C/T	T	0.2021 (T)	1HM/6HZ	sinónima	c.1947G>A(p.=)
	rs1799859	C	C/T	T	0.3310 (T)	2HM/10HZ	sinónima	c.3819G>A(p.=)
	rs1805036	G	G/A	A	0.1039 (A)	2HZ	sinónima	c.2485C>T(p.=)
	rs8192690	C	C/T	T	0.0316 (T)	1HZ	<i>missense</i>	p.Val1572Ile

Anexo. (Continuación) Polimorfismos encontrados y sus características.

Gen	dbSNP	Ref	Genotipo	Al	1Kg_MAF	Pacientes (HM/HZ)	Efecto	HGVS-prot
ABCC8	rs8192695	G	G/A	A	0.0545 (A)	3HZ	sinónima	c.330C>T(p.=)
	rs113873225	G	G/A	A	0.0078 (A)	1HZ	intrónica	
	rs138687850	C	C/T	T	0.0009 (T)	1HZ	<i>missense</i>	p.Ala726Thr
	rs369049969	G	G/A	A	0.00011 (A)	1HZ	<i>missense</i>	p.Ala640Val
ADRB2	rs1042713	G	G/A	A	0.4702 (A)	3HM/9HZ	<i>missense</i>	p.Gly16Arg
	rs1042714	C	G/C	G	0.2386 (G)	8HM/10HZ	<i>missense</i>	p.Glu27Gln
	rs1042717	G	G/A	A	0.2839 (A)	2HM/6HZ	sinónima	c.252G>A(p.=)
ADRB2	rs1042718	C	C/A	A	0.2729 (A)	1HM/5HZ	sinónima	c.523C>A(p.=)
	rs1042719	G	G/C	C	0.3553 (C)	2HM/10HZ	sinónima	c.1053G>C(p.=)
	rs1042720	G	A/A	A	0.4757 (A)	8HM/4HZ	sinónima	c.1239G>A(p.=)
	rs1800888	C	C/T	T	0.0050 (T)	2HZ	<i>missense</i>	p.Thr164Ile
AGTR1	rs5182	C	C/T	T	0.4744 (T)	6HM/12HZ	sinónima	c.573C>T(p.=)

Anexo. (Continuación) Polimorfismos encontrados y sus características.

Gen	dbSNP	Ref	Genotipo	AI	1Kg_MAF	Pacientes (HM/HZ)	Efecto	HGVS-prot
AKAP10	rs203462	T	T/C	C	0.3947 (C)	2HM/9HZ	<i>missense</i>	p.Ile646Val
	rs2108978	C	C/T	T	0.3897 (T)	2HM/9HZ	<i>missense</i>	p.Arg249His
	rs61749865	C	C/T	T	0.0792 (T)	3HZ	intrónica	
ALOX5	rs2228064	G	G/A	A	0.1026 (A)	1HZ	sinónima	c.270G>A(p.=)
	rs2229136	A	A/G	G	0.0975 (G)	3HZ	sinónima	c.1728A>G(p.=)
	rs4987105	C	C/T	T	0.1685 (T)	7HZ	sinónima	c.21C>T(p.=)
ADIPOQ	rs2241766	T	T/G	G	0.1442 (G)	1HM/6HZ	sinónima	c.45T>G(p.=)
	rs17366743	T	T/C	C	0.0174 (C)	1HZ	<i>missense</i>	p.Tyr111His
	rs143606172	G	G/A	A	0.00007 (A)	1HZ	<i>missense</i>	p.Arg55His
APOE	rs7412	C	C/T	T	0.0742 (T)	2HZ	<i>missense</i>	p.Arg202Cys
	rs429358	T	T/C	C	0.1493 (C)	5HZ	<i>missense</i>	p.Cys156Arg

Anexo. (Continuación) Polimorfismos encontrados y sus características.

Gen	dbSNP	Ref	Genotipo	Al	1kg_MAF	Pacientes (HM/HZ)	Efecto	HGVS-prot
APOH	rs4581	C	C/A	A	0.4739 (A)	1HM/7HZ	<i>missense</i>	p.Val266Leu
	rs1801689	A	A/C	C	0.0201 (C)	4HZ	<i>missense</i>	p.Cys325Gly
	rs1801690	C	G/G	G	0.0449 (G)	2HM	<i>missense</i>	p.Trp335Ser
	rs1801692	C	C/T	T	0.0284 (T)	1HZ	<i>missense</i>	p.Ser107Asn
	rs8178847	C	T/T	T	0.0765 (T)	2HM	<i>missense</i>	p.Arg154His
	rs52797880	A	G/G	G	0.0765 (G)	2HM	<i>missense</i>	p.Ile141Thr
	rs79228460	T	G/G	G	0.0703 (G)	2HM	intrónica	
	rs150652035	G	G/T	T	0.0041 (T)	1HZ	sinónima	c.954C>A(p.=)

dbSNP: nomenclatura que recibe en la base de datos dbSNP; Ref: alelo de referencia; Al: alelo mutado; MAF: *minimum allele frequency* o frecuencia del alelo menos común (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/Pubmed>); HM: homocigosis; HZ: heterocigosis; Efecto: tipo de mutación; HGVS-prot: posición de la mutación en la secuencia de la proteína, indicando el cambio de aminoácido.