



**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE  
ELCHE**  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA

Afectación de pacientes con  
enfermedad de Fabry sin expresión  
fenotípica: Valor diagnóstico de los  
biomarcadores

**Jessica Sánchez Quiñones**

2017



# **UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA**

**TESIS DOCTORAL**

Afectación de pacientes con enfermedad de Fabry sin expresión fenotípica: Valor diagnóstico de los biomarcadores

**Doctorando:** Jessica Sánchez Quiñones

**Directores de Tesis:** Dr. Vicente Climent Payá

Dra. Diana Hernández Romero

**Alicante, 2017**



## ***Agradecimientos y dedicatoria***

Quisiera mostrar mi agradecimiento a todas las personas que han colaborado en este proyecto de investigación, por su apoyo y ayuda incondicional, sin la que no hubiese podido llevar a cabo este trabajo.

En especial al Dr. Luis Caballero Jiménez, por su colaboración desinteresada desde el principio, porque además de un gran amigo y profesional, durante todo este tiempo siempre me ha brindado esas palabras de ánimo y de apoyo que todos necesitamos en algunos momentos.

Este trabajo sin duda se lo debo a mis directores de tesis por darme la oportunidad de participar en él e inculcarme desde el principio la pasión y entusiasmo por la investigación, así como por el trabajo bien hecho. Ha sido un privilegio contar a mi lado con el Dr. Vicente Climent Payá no sólo desde el principio de este trabajo, sino desde el principio de mi vida como cardióloga. Ha sido y siempre será mi ejemplo a seguir.

También de forma muy especial a mi esposo, amigo y compañero en este duro camino, que literalmente “ha compartido” todo lo bueno y lo no tan bueno de esta Tesis Doctoral. Por ser esa luz que todos necesitamos que nos ilumine el camino.

Por último, a mi hijo, esa personita que también ha vivido, ya desde antes de existir, el proceso de elaboración de este trabajo.

No finalizar sin mencionar a mis padres, sin su ayuda, nunca podría haber llevado a cabo el presente trabajo.



# ÍNDICES

## INDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	19
1.1 ¿Qué es la enfermedad de Fabry?.....	21
1.1.1 Concepto y definición.....	21
1.1.2 Incidencia.....	22
1.1.3 Antecedentes históricos.....	22
1.1.4 Genética.....	23
1.2 Manifestaciones clínicas generales de la enfermedad de Fabry.....	25
1.2.1 Manifestaciones cutáneas.....	28
1.2.2 Manifestaciones oculares.....	29
1.2.3 Manifestaciones neurológicas.....	29
1.2.4 Manifestaciones renales.....	31
1.3 Escalas de valoración clínica y pronóstica.....	32
1.4 Enfermedad de Fabry en la mujer.....	32
1.5 Manifestaciones cardíacas: la miocardiopatía en la enfermedad de Fabry .....	34
1.5.1 Patogénesis.....	34
1.5.1.1 Fisiopatología de la hipertrofia y fibrosis cardíaca.....	34
1.5.2 Métodos diagnósticos.....	39
1.5.2.1 Alteraciones electrocardiográficas.....	39
1.5.2.2 Alteraciones ecocardiográficas.....	42

---

1.5.2.3	Hallazgos en resonancia magnética cardíaca.....	47
1.5.3	Afectación cardíaca aislada.....	48
1.6	El papel de los biomarcadores.....	49
1.6.1	Biomarcadores de depósito lisosomal: Gb3 y liso-Gb3.....	51
1.6.2	Biomarcadores de daño miocárdico: troponina T ultrasensible....	53
1.6.3	Biomarcadores de estrés de pared: NT-proBNP.....	54
1.6.4	Biomarcadores de fibrosis: Galectina-3.....	55
1.6.5	Biomarcadores de inflamación: Interleucina-6.....	56
1.6.6	Biomarcadores de daño renal: proteína beta-traza.....	57
1.7	Criterios diagnósticos en la enfermedad de Fabry: la importancia de la detección precoz.....	57
1.8	Tratamiento: la importancia del inicio precoz.....	61
2.	<i>JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS</i> .....	67
2.1	Justificación del estudio.....	69
2.2	Hipótesis principal.....	70
3.	<i>OBJETIVOS</i> .....	71
3.1	Objetivos principales.....	73
4.	<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i> .....	75
4.1	Diseño del estudio.....	77
4.2	Ámbito.....	77
4.3	Población de estudio.....	78
4.3.1	Clasificación de la muestra en dos subgrupos.....	79
4.3.2	Grupos control.....	79

---

4.4	Tamaño de la muestra.....	80
4.5	Extracción, procesamiento y conservación de las muestras.....	80
4.6	Biomarcadores analizados.....	80
4.7	Datos demográficos, antropométricos y clínicos.....	83
4.8	Datos electrocardiográficos.....	87
4.9	Medidas ecocardiográficas convencionales.....	89
4.10	Cronograma.....	91
4.11	Análisis estadístico.....	92
4.12	Aspectos éticos.....	93
5.	<b>RESULTADOS</b> .....	95
5.1	Descripción clínica de los pacientes.....	99
5.2	Datos de afectación eléctrica.....	109
5.3	Datos ecocardiográficos convencionales.....	111
5.4	Valores de biomarcadores en enfermedad de Fabry: Análisis de las concentraciones de los diferentes biomarcadores en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca.....	113
5.4.1	Valores de troponina T ultrasensible.....	115
5.4.2	Valores de NT-proBNP.....	116
5.4.3	Valores de Galectina-3.....	117
5.4.4	Valores de Interleucina-6.....	118
5.4.5	Valores de proteína beta traza.....	119
5.5	Valores de biomarcadores en enfermedad de Fabry: Análisis de correlación entre los diferentes biomarcadores con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.....	120

5.6	Valores de biomarcadores en enfermedad de Fabry: Asociación con parámetros clínicos y ecocardiográficos.....	122
5.6.1	Valores de troponina T ultrasensible.....	123
5.6.2	Valores de NT-proBNP.....	124
5.6.3	Valores de Galectina-3.....	125
5.6.4	Valores de Interleucina-6.....	126
5.6.5	Valores de proteína beta traza.....	127
5.7	Construcción de curvas ROC y análisis de áreas bajo la curva.....	128
5.8	Selección de puntos de corte para afectación clínica con mejor sensibilidad y especificidad. Análisis de asociación con afectación cardíaca en nuestra cohorte.....	132
5.9	Valores de biomarcadores en EF: Análisis de la asociación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores en pacientes con EF según la afectación orgánica evaluada con la escala MSSI.....	134
6.	<i>DISCUSIÓN</i> .....	137
6.1	Análisis de la muestra de pacientes: Población estudiada.....	139
6.2	Utilidad de los biomarcadores troponina T ultrasensible, NT-proBNP, Galectina-3, Interleucina-6 y proteína beta traza en la enfermedad de Fabry.....	143
6.3	Utilidad del biomarcador en la troponina T ultrasensible en la enfermedad de Fabry.....	146
6.4	Utilidad del biomarcador NT-proBNP en la enfermedad de Fabry.....	149
6.5	Utilidad del biomarcador Galectina-3 en la enfermedad de Fabry.....	152
6.6	Utilidad del biomarcador Interleucina-6 en la enfermedad de Fabry.....	155

---

6.7	Utilidad del biomarcador proteína beta traza en la enfermedad de Fabry.....	158
6.8	Limitaciones.....	159
6.9	Implicaciones futuras.....	160
7.	CONCLUSIONES.....	163
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	167
9.	ANEXO.....	195
9.1	Anexo I. Hoja de recogida de datos.....	197
9.2	Anexo II. Certificado de autorización del proyecto del Comité Ético de Investigación Clínica de los diferentes hospitales.....	204
9.3	Anexo III. Documento de información al paciente y consentimiento informado del estudio.....	206
9.4	Anexo IV. Producción científica durante la realización de la tesis.....	209

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Mecanismo de actuación de la enzima $\alpha$ -Gal .....	22
Figura 2. Gen GLA codificador de la enzima $\alpha$ -Gal A.....	24
Figura 3. Afectación orgánica típica en las variantes clásicas de la EF según la edad.....	25
Figura 4. Síntomas y signos más frecuentes en la EF.....	28
Figura 5. Histología de una muestra de miocardio donde se visualiza la desorganización de las miofibrillas y el depósito del tejido conectivo.....	35
Figura 6. Alteraciones en la conducción y las arritmias más frecuentes en la EF.....	40
Figura 7. ECG de uno de los pacientes de este estudio.....	42
Figura 8. Ecocardiografía de una paciente de este estudio.....	44
Figura 9. Análisis del <i>strain</i> longitudinal en plano apical 4, 2 y 3 cámaras (A, B y C) y figura del ojo de buey con la representación en todos los segmentos y el <i>strain</i> global longitudinal (D).....	46
Figura 10. Plano apical de 4 cámaras y eje corto mediante RM cardíaca de un paciente con EF y afectación cardíaca de este trabajo, con hipertrofia ventricular izquierda y realce tardío con gadolinio de distribución mesocárdica en la cara lateral del VI.....	47
Figura 11. Formulación de la molécula liso-Gb3.....	52
Figura 12. Algoritmo para el diagnóstico y estudio del paciente con sospecha de EF, centrado en el papel del cardiólogo.....	61
Figura 13. Técnica de inmunoensayo ECLIA.....	82
Figura 14. Sistema de Analizador Cobas e411 para técnica de inmunoensayo ECLIA.....	82
Figura 15. Árbol de inclusión de pacientes y controles en el estudio.....	97

Figura 16. Distribución de pacientes según el centro de procedencia.....	99
Figura 17. Distribución de sexos en el grupo de pacientes.....	100
Figura 18. Actividad enzimática de la $\alpha$ -Gal A según el tipo de paciente y sexo	103
Figura 19. Afectación renal en cada subgrupo de pacientes, con y sin afectación cardíaca.....	104
Figura 20. Síntomas y afectación orgánica según el tipo de paciente.....	106
Figura 21. Puntuación global en la escala MSSI según el tipo de paciente.....	108
Figura 22. Concentración de hs-TnT en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.....	115
Figura 23. Concentración de NT-proBNP en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.....	116
Figura 24. Concentración de Gal-3 en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.....	117
Figura 25. Concentración de IL-6 en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.....	118
Figura 26. Concentración de BTP en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.....	119
Figura 27. Concentración de los biomarcadores según la puntuación en la escala MSSI global(Mainz Severity Score Index).....	129
Figura 28. Curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) para la valoración de las concentraciones de los diferentes biomarcadores en relación con la afectación orgánica evaluada mediante la escala MSSI global (Mainz Severity Score Index).....	131

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Signos y síntomas típicos de la enfermedad de Fabry según la edad...27	27
Tabla 2. Biomarcadores estudiados en diversas patologías cardíacas.....50	50
Tabla 3. Criterios de consenso específicos para el inicio del TSE según el órgano afectado en los pacientes con EF.....65	65
Tabla 4. Familias incluidas y mutaciones asociadas en cada una de ellas.....98	98
Tabla 5. Características clínicas de la población incluida.....101	101
Tabla 6. Puntuación en las escalas MSSI en los pacientes con y sin afectación cardíaca.....107	107
Tabla 7. Puntuación en las escalas MSSI en los pacientes con afectación cardíaca según el sexo.....107	107
Tabla 8. Datos de afectación cardíaca en la población incluida.....110	110
Tabla 9. Características ecocardiográficas de la población incluida.....111	111
Tabla 10. Análisis comparativo de los valores de los biomarcadores entre los pacientes con y sin afectación cardíaca y grupos control.....114	114
Tabla 11. Análisis de correlación entre los valores de los biomarcadores con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.....121	121
Tabla 12. Asociación de la concentración de hs-TnT en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.....123	123
Tabla 13. Asociación de la concentración de NT-proBNP en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.....124	124
Tabla 14. Asociación de la de concentración de Gal-3 en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.....125	125

---

Tabla 15. Asociación de la concentración de IL-6 en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.....	126
Tabla 16. Asociación de la concentración de BTP en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.....	127
Tabla 17. Parámetros clínicos y bioquímicos asociados a la existencia de afectación cardíaca.....	133
Tabla 18. Análisis de regresión lineal para estudiar la asociación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores y la afectación orgánica según las diferentes escalas MSSI (Mainz Severity Score Index).....	135



## **ABREVIATURAS**

**ABC:** Área bajo la curva ROC

**ACVA:** accidente cerebrovascular

**$\alpha$ -Gal A:**  $\alpha$  galactosidasa A

**AIT:** accidente isquémico transitorio

**BCRDHH:** bloqueo completo de rama derecha del haz de His

**BCRIHH:** bloqueo completo de rama izquierda del haz de His

**CAC:** cociente albúmina/creatinina

**BNP:** péptido natriurético tipo B

**BTP:** proteína  $\beta$ -traza

**DAI:** desfibrilador automático implantable

**DTI:** Doppler tisular

**ECG:** electrocardiograma

**EF:** enfermedad de Fabry

**FA:** fibrilación auricular

**FEVI:** fracción de eyección del ventrículo izquierdo

**Gal-3:** galectina-3

**Gb3:** globotriasilceramida

**GLA:** galactosidasa alfa

**HBA:** hemibloqueo anterior

**HBP:** hemibloqueo posterior

**hs-TnT:** troponina T ultrasensible

**HTA:** hipertensión arterial

**HVI:** hipertrofia ventricular izquierda

**IL-6:** interleucina-6

**Liso-Gb3:** globotriaosilesfingosina

**MSSI:** Mainz Severity Score Index

**NT-proBNP:** fragmento amino terminal del péptido natriurético tipo B

**RM:** resonancia magnética

**TAPSE:** desplazamiento sistólico del anillo tricúspide

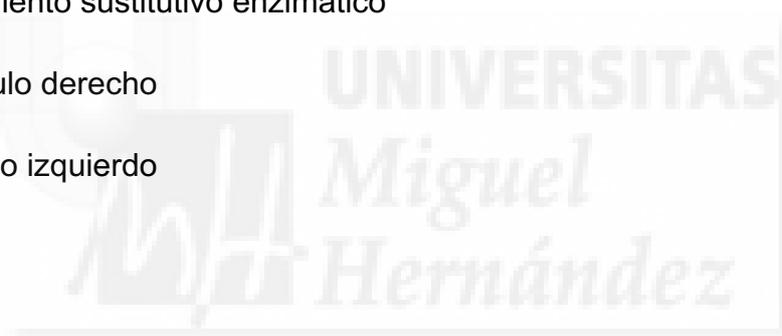
**TFG:** tasa de filtrado glomerular

**Tnl:** troponina I

**TSE:** tratamiento sustitutivo enzimático

**VD:** ventrículo derecho

**VI:** ventrículo izquierdo







# INTRODUCCIÓN

---



## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 ¿Qué es la enfermedad de Fabry?

#### 1.1.1 Concepto y definición

La enfermedad de Fabry (EF) es una enfermedad rara de depósito lisosomal, de base genética y con un patrón de herencia ligado al cromosoma X. En esta entidad, se produce una deficiencia en la actividad de la enzima lisosomal  $\alpha$ -galactosidasa A ( $\alpha$ -Gal A) que en condiciones normales degrada un glicosfingolípido neutro, la globotriasilceramida (Gb3), para dar galactosa y lactosilceramida (Figura 1) (1). El acúmulo de Gb3 en los lisosomas debido a esta deficiencia se produce a nivel de diferentes células, especialmente en las células del epitelio renal, las células miocárdicas, las neuronas de los ganglios raquídeos, las células del sistema nervioso autónomo y las células endoteliales, periteliales y del músculo liso del sistema vascular. Este continuo depósito a nivel del riñón, corazón, sistema nervioso y en la piel lleva a una disfunción de dichos órganos, causando insuficiencia renal, hipertrofia cardíaca y accidentes cerebrovasculares prematuros, reduciendo la esperanza de vida en 20 años para los pacientes varones y en 15 años para las mujeres.

Según las recomendaciones publicadas, se considera un paciente con EF a *"toda persona de cualquier edad y sexo con una alteración genética y/o bioquímica de la enzima  $\alpha$ -Gal A, y con manifestaciones clínicas compatibles o susceptibilidad conocida a desarrollarlas"* (2).

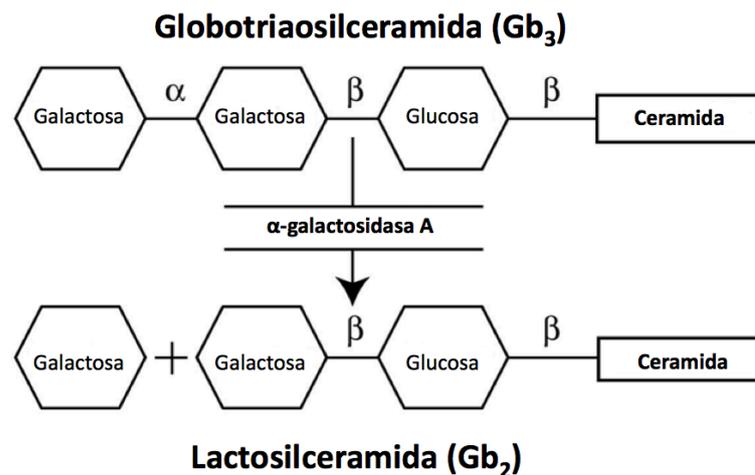


Figura 1. Mecanismo de actuación de la enzima  $\alpha$ -Gal A

### 1.1.2 Incidencia

La EF es la segunda enfermedad de depósito lisosomal más frecuente después de la enfermedad de Gaucher, con una incidencia mundial estimada de uno en 40.000 a uno en 117.000 nacimientos en la forma clásica de la enfermedad. En los últimos años se han publicado incidencias variables entre diferentes países y, teniendo en cuenta la concienciación actual en el despistaje de esta enfermedad, es posible que la prevalencia actual de la enfermedad sea mayor que la reportada previamente, especialmente si las formas tardías o no clásicas son tenidas en cuenta. De hecho, recientes estudios de muestreo en recién nacidos sugieren que la incidencia puede ser mucho mayor, del orden de 1 de cada 3100 nacimientos (3).

### 1.1.3 Antecedentes históricos

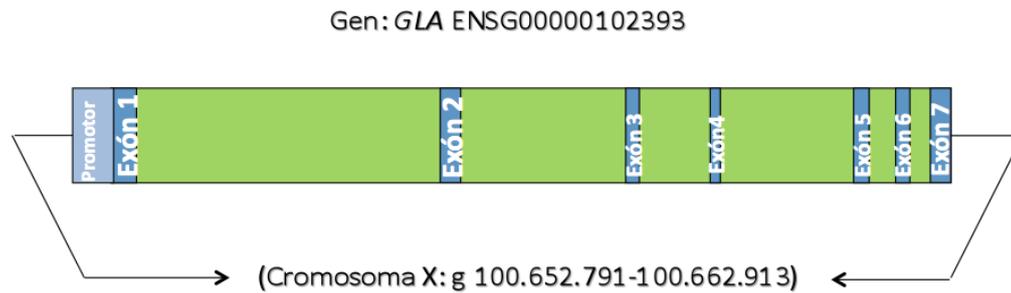
La entidad fue descrita inicialmente y de manera simultánea por dos médicos dermatólogos europeos. Johannes Fabry (1860-1930, Alemania) describió en 1898 el caso clínico de un varón de 13 años con púrpura nodular que desarrolló más tarde albuminuria, definiendo esta enfermedad como un tipo de angioqueratoma corporal difuso (*angiokeratoma corporis diffusum*) (4). William

Anderson (1842-1900, Inglaterra) describió también ese mismo año un caso de un varón de 39 años con angioqueratomas, afectación de la función renal con proteinuria y deformidad de los dedos, varices y linfedema (5). Debido a esta aportación, esta entidad fue conocida inicialmente como enfermedad de Anderson-Fabry, pero como cuando coexisten varios epónimos médicos sobrevive el más difundido, en la actualidad es más conocida como enfermedad de Fabry.

Durante la primera mitad del siglo XX se publicaron varios casos clínicos con anhidrosis, acroparestesias y afectación ocular. En 1947, Pompen *et al.* sugirieron que se trataba de una enfermedad de depósito sistémico tras descubrir en el estudio post-mortem la presencia de vacuolas anómalas en las células de dos pacientes hermanos afectados de esta enfermedad (6). Pocos años después, en 1953, Hornsostel y Scriba, con el conocimiento de que el material de depósito era de origen lipídico, fueron los primeros en confirmar el diagnóstico mediante biopsia cutánea (7). En la década de los 60 se profundizó en el conocimiento de esta enfermedad, clasificándose en 1963 como una esfingolipidosis tras aislar glicosfingolípidos neutros en las muestras (8). Dos años después, en 1965, Opitz *et al.* describieron que se trataba de una enfermedad genética con herencia ligada al cromosoma X y en 1967 Brady *et al.* (9) demostraron la deficiencia específica de la enzima ceramidatrihexosidasa (actualmente conocida como  $\alpha$ -Gal A) en esta enfermedad. Décadas después, en 1989, un estudio de Kornreich *et al.* (10) publicó la secuenciación completa del gen que codifica la enzima  $\alpha$ -Gal A, lo que supuso el primer paso necesario para la producción "in vitro" de la enzima recombinante y su uso como terapia de sustitución enzimática en la actualidad.

#### **1.1.4 Genética**

El gen Galactosidasa Alfa (gen GLA) que codifica la enzima  $\alpha$ -Gal A está localizado en el brazo largo del cromosoma X, en la región Xq22.1. Está compuesto por siete exones comprendidos en un rango de tamaño, que oscila entre las 92 y 291 pares de bases. El gen codifica un polipéptido de 429 aminoácidos (Figura 2).



**Figura 2. Gen *GLA* codificador de la enzima  $\alpha$ -Gal A**

Hasta la fecha han sido descritas más de 800 mutaciones que afectan los siete exones del gen *GLA*, principalmente mutaciones con cambio de sentido (missense), pero también mutaciones sin sentido (nonsense), así como deleciones y duplicaciones de un aminoácido, con efectos variables sobre la actividad de la enzima  $\alpha$ -Gal A dependiendo del tipo y el lugar de la mutación (11). Algunas familias, además, presentan mutaciones exclusivas, que podrían explicar la variabilidad en la presentación clínica de dicha enfermedad (12). Aunque la relación entre la mutación en el gen *GLA*, la reducción en la actividad enzimática y la acumulación del sustrato es cualitativamente clara, el rol de cada mutación individual en la generación de diferentes concentraciones de sustrato y su acumulación en los tejidos e impacto funcional en los órganos aún no está absolutamente dilucidado (13).

La transmisión de la enfermedad se produce por herencia ligada al cromosoma X y las mujeres portadoras por tanto, transmitirán el alelo defectuoso a la mitad de sus hijos varones y hacen heterocigotas al 50% de sus hijas. Los varones afectados, tendrán hijos sanos pero transmitirán el alelo defectuoso a todas sus hijas.

Hasta hace pocos años, se aceptaba que la herencia estaba ligada al cromosoma X de forma recesiva y que, por tanto, las mujeres únicamente serían portadoras y transmisoras del defecto genético pero no desarrollarían la

enfermedad debido a su actividad enzimática normal o ligeramente reducida. Actualmente se ha desechado esta hipótesis y estudios recientes han mostrado que las mujeres heterocigotas pueden presentar la enfermedad con la misma severidad que los varones, aunque frecuentemente con un inicio más tardío que en ellos, con una presentación clínica más variable y una progresión más lenta de la enfermedad (14)(15)(16).

## 1.2 Manifestaciones clínicas generales de la enfermedad de Fabry

Se han descrito dos formas clínicas de la enfermedad: la forma clásica, que aparece en el 90-95% de los casos, en la cual no existe actividad enzimática y presenta una evolución progresiva desde la infancia/adolescencia (Figura 3) por acúmulo de Gb3 en los diversos tejidos y otra forma, poco frecuente y tardía, en la cual existe una actividad enzimática residual, que conlleva que el acúmulo de Gb3 no sea tan importante y en la que la afectación orgánica queda restringida a un único órgano, que suele ser el corazón, riñón o sistema nervioso central. A estas formas clínicas restringidas a un único órgano se les denomina variante no clásica o de comienzo tardío o, simplemente, formas cardíacas o renales dependiendo de qué aspecto clínico se quiera enfatizar. Sin embargo, la evidencia clínica actual es que no existen dos formas clínicas separadas sino un espectro clínico continuado (17)(18).

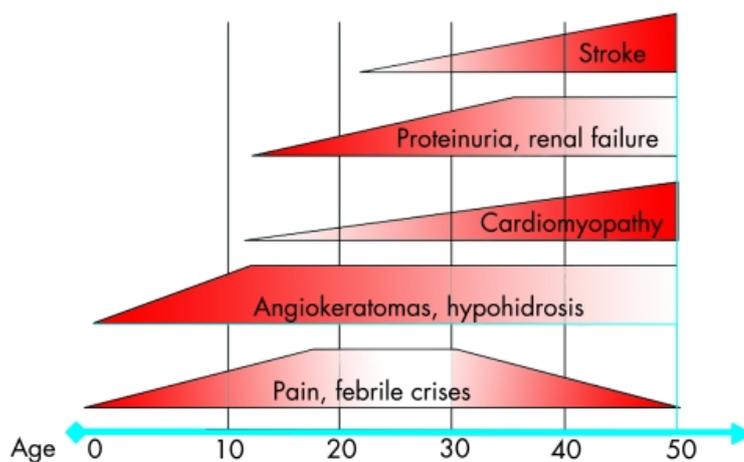


Figura 3. Afectación orgánica típica en las variantes clásicas de la EF según la edad (adaptado de Linhart et. al (19))

En general, los síntomas más frecuentes de la enfermedad en su forma clásica son el dolor neuropático, los angioqueratomas cutáneos y más tarde, la afectación renal y la cardíaca. Las manifestaciones clínicas típicas de la EF como son las acroparestesias (dolor crónico de tipo neuropático en palmas y plantas con crisis episódicas denominadas "crisis de Fabry"), la hipo o hiperhidrosis, los angioqueratomas típicamente en la zona genital y nalgas (conocido como "calzón del Fabry") y los síntomas gastrointestinales como la diarrea postprandial, las náuseas o el dolor abdominal, aparecen durante la infancia y la adolescencia. Durante la segunda década de la vida comienza frecuentemente la afectación renal, en forma de microalbuminuria inicialmente y posteriormente de proteinuria e insuficiencia renal. Progresivamente se sumará la afectación cardíaca en forma de miocardiopatía hipertrófica y la cerebral en forma de accidentes cerebrovasculares por depósito de Gb3 en la pared vascular, todo ello conllevando una pronunciada reducción de la calidad de vida y la esperanza de vida de dichos pacientes (Tabla 1 y Figura 4).



Edad típica de inicio	Síntomas y signos
Infancia y adolescencia (≤16 años)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor neuropático</li> <li>• Alteraciones oftalmológicas (córnea verticillata y tortuosidad de vasos de la retina)</li> <li>• Hipoacusia</li> <li>• Dishidrosis (hipohidrosis e hiperhidrosis)</li> <li>• Intolerancia al calor y al ejercicio</li> <li>• Fiebre</li> <li>• Molestias gastrointestinales como crisis de dolor, diarrea, náuseas</li> <li>• Letargia y cansancio</li> <li>• Angioqueratomas</li> <li>• Inicio de signos renales y cardíacos, como microalbuminuria, proteinuria y variabilidad anormal de la frecuencia cardíaca</li> </ul>
Adulto joven (17-30 años)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extensión de los previos: Proteinuria y fallo renal progresivo. Cardiomiopatía.</li> <li>• Accidentes isquémicos transitorios, ictus</li> <li>• Dismorfia facial con prognatismo y rasgos toscos</li> </ul>
Adulto mayor (edad >30 años)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Empeoramiento de los previos</li> <li>• Enfermedad cardíaca establecida (hipertrofia ventricular (generalmente simétrica), angina, arritmias y disnea)</li> <li>• Accidentes isquémicos transitorios, ictus</li> <li>• Osteopenia y osteoporosis</li> </ul>

**Tabla 1. Signos y síntomas típicos de la enfermedad de Fabry según la edad**

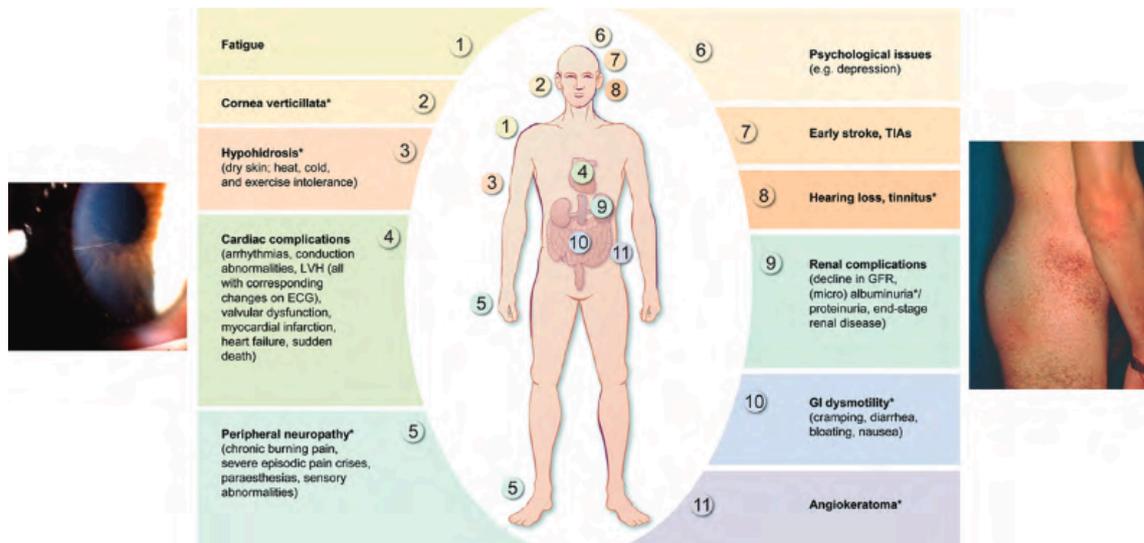


Figura 4. Síntomas y signos más frecuentes en la EF (los que suelen iniciarse en la infancia/adolescencia están marcados con un asterisco). A la izquierda se muestra una imagen de la típica cornea verticillata y a la derecha de los angioqueratomas (*adaptado de Yousef Z. et al (20)*)

### 1.2.1 Manifestaciones cutáneas

La afectación endotelial es la responsable de las lesiones cutáneas de la enfermedad, que aparecen habitualmente entre la infancia y la adolescencia en forma de angiomas superficiales, telangiectasias y angioqueratomas. Estos últimos son los más característicos de la entidad, a la que dieron nombre originariamente. Son lesiones pápuloeritematosas, con superficie queratósica, que no blanquean a la vitropresión y tienden a aumentar en número y tamaño con el paso del tiempo. Se localizan habitualmente en la zona inferior del abdomen, el escroto, los muslos y las nalgas, con distribución característicamente simétrica. En ocasiones pueden verse en localizaciones menos habituales, como en mucosas o regiones retroauriculares. Aparecen prácticamente en todos los varones durante la evolución y hasta en un 35% de la mujeres heterocigotas (21)(22).

Los pacientes con EF pueden presentar también hipohidrosis, incluso anhidrosis e hiperhidrosis, por depósito de Gb3 en las glándulas sudoríparas ecricinas. Esto origina intolerancia al calor y al ejercicio, disnea, cefalea, mareo o síncope (23)(24).

En un 50% de los pacientes de sexo masculino, a partir de la adolescencia se ponen de manifiesto algunas características fenotípicas propias de la enfermedad: cejas tupidas, frente hundida, nariz bulbosa, arcos supraciliares prominentes, labios gruesos, rasgos toscos y prognatismo, entre otras, que dan una apariencia acromegaloide a estos pacientes (21)(23).

Por último otra manifestación que puede aparecer en algunos casos es el linfedema debido a la alteración estructural y funcional de los vasos linfáticos cutáneos (25).

### **1.2.2 Manifestaciones oculares**

La anomalía ocular más característica de la EF, aunque no patognomónica, es la córnea verticillata. Se produce por la acumulación de glicoesfingolípidos en las células basales epiteliales, dando lugar a la opacidad de la córnea. Aparece en un 40% de los pacientes menores de 18 años y se ha descrito en algunos casos en varones de hasta 5 años de edad. Habitualmente no afecta a la visión y debe realizarse una exploración con lámpara de hendidura para su detección. Constituye, conjuntamente con los angioqueratomas, una de las manifestaciones objetivables y características de la enfermedad en los primeros años de vida. Con la edad, son frecuentes también la aparición de tortuosidad venosa conjuntival y/o retiniana, y la formación de cataratas subcapsulares posteriores (26).

### **1.2.3 Manifestaciones neurológicas**

En la EF típicamente se afectan tanto el sistema nervioso periférico en forma de crisis de dolor, siendo esta la principal manifestación en los primeros años de vida junto con las gastrointestinales, como el sistema nervioso central en forma de eventos cerebrovasculares precoces.

El dolor neuropático crónico, clásicamente denominado acroparestesias aunque se recomienda el abandono del término pues los pacientes realmente sufren dolor y no sensación de hormigueo no dolorosa que serían las parestesias, constituye una de las manifestaciones más características en los pacientes pediátricos y siendo el porcentaje de enfermos con dolor neuropático de alrededor del 70% en ambos sexos. Es un dolor constante, definido por los

pacientes como "punzante" o "quemante", al que se añaden episodios de dolor neuropático intenso ("crisis de Fabry"), de minutos a semanas de duración. En estos episodios, el dolor afecta predominantemente a manos y pies, y puede irradiar en sentido proximal, aunque puede afectar a cualquier parte del cuerpo. Pueden ser desencadenados por temperaturas extremas, ejercicio físico o situaciones de estrés. Estas crisis de dolor pueden persistir a lo largo de la vida y, aunque pueden aumentar o disminuir en su intensidad, la frecuencia suele verse reducida con el paso de los años. Los estudios neurofisiológicos convencionales (electromiograma y velocidad de conducción nerviosa) suelen ser normales, debido a que se trata de una afectación predominantemente de las fibras nerviosas de pequeño diámetro, amielínicas (27)(28). El origen del dolor se debe al depósito de Gb3 en los ganglios de la raíz dorsal y en las terminaciones axonales de los nervios periféricos. El grado de difusión está relacionado con la superficie total de los axones y el recubrimiento de mielina puede actuar como protector para evitar este depósito. Esto explicaría por qué son las pequeñas fibras nerviosas amielínicas las más susceptibles y por qué comienza el dolor en las zonas distales (axones más largos)(28).

También existe una afectación de las fibras nerviosas autonómicas de pequeño tamaño y dicha afectación parece ser la causante de las alteraciones gastrointestinales (diarreas, dolor abdominal cólico, náuseas o vómitos, distensión abdominal), hiper o hipohidrosis, disminución de la contracción pupilar, disminución de la producción de saliva y lágrima, así como del aumento de la frecuencia cardíaca con el ejercicio y en estados avanzados, de la hipotensión ortostática (28).

De forma secundaria y fundamentalmente debido a esta sintomatología descrita, con frecuencia los niños con EF son menos activos que otros chicos de su edad, rechazando la participación en actividades deportivas. Presentan un mayor índice de absentismo escolar y, a partir de la adolescencia, pueden mostrar una tendencia a la personalidad depresiva así como trastornos de ansiedad(29).

Respecto a los eventos cerebrovasculares, la edad media de aparición se sitúa alrededor de los 30 años en varones y los 45 en mujeres. Hasta un 48% de los varones y un 32% de las mujeres presentan según algunas series un episodio cerebrovascular en algún momento de su enfermedad (30). Dichos eventos son atribuidos generalmente a la existencia de una micro- y macro-vasculopatía cerebral (29). El depósito de Gb3 en el endotelio y en la capa muscular de la pared de los vasos sanguíneos cerebrales puede provocar accidentes cerebrovasculares precoces recurrentes, accidentes isquémicos transitorios y lesiones de sustancia blanca (31). La afectación vascular a nivel de los grandes vasos, hace que aparezcan en estudios de neuroimagen elongados, tortuosos y dilatados y afecta predominantemente al territorio vértebrobasilar, pero cualquier otro vaso puede verse afectado (32). Según algunos estudios, alrededor del 1.2% de los ictus isquémicos criptogénicos en pacientes jóvenes podrían atribuirse a la EF, por lo que dicha entidad debe ser considerada ante un ictus de causa desconocida en un paciente joven, especialmente ante la combinación de ictus en el territorio de la arteria vértebrobasilar o que se asocie con dilatación de las arterias del cerebro, máxime si tiene otros datos clínicos generales de EF como la proteinuria (33).

#### **1.2.4 Manifestaciones renales**

Las manifestaciones renales aparecen en al menos la mitad de los varones, siendo este porcentaje ligeramente inferior en las mujeres (34). Existe evidencia de que el depósito de glucoesfingolípidos a nivel renal se inicia ya en el periodo fetal, siendo éste principalmente en los podocitos glomerulares, en el endotelio vascular y a nivel tubular distal (35). Los primeros signos clínicos aparecen entre la primera y la tercera décadas de la vida, en forma de microalbuminuria, proteinuria, de una disminución de la capacidad de concentración urinaria (isostenuria) y de fenómenos de hiperfiltración glomerular, que podrían afectar negativamente a la función renal en etapas posteriores de la vida. La proteinuria es un signo de afectación precoz frecuente en la EF en ambos sexos. La evolución clínica de la enfermedad conduce al desarrollo de una insuficiencia renal crónica entre los 25 y los 50 años que, en algunos casos, evolucionará a una insuficiencia renal terminal, principal causa de muerte hasta la aparición del trasplante renal (36).

### 1.3 Escalas de valoración clínica y pronóstica

En los últimos años se han desarrollado varias escalas para medir el grado de severidad de la afectación y el pronóstico en los pacientes con EF. *Beck et al.* (37) desarrollaron y validaron el índice "Mainz Severity Score Index" (o MSSSI Score), que tiene una puntuación global de 0 a 76 puntos y que se obtiene a partir de la suma de la puntuación de la afectación general sistémica, neurológica, cardiovascular y renal. Las manifestaciones de cada órgano contribuyen a la puntuación en función del peso clínico dentro del espectro de la EF y es empleada, a falta de un biomarcador validado a día de hoy, como monitorización del seguimiento clínico del paciente, así como guía del tratamiento. Una puntuación inferior a 20 indicaría una afectación leve y una puntuación superior a 40 una afectación severa, indicando puntuaciones entre 20 y 40 una afectación moderada.

Por otro lado, *Hugues et al.* (38) desarrollaron y validaron el índice "Fabry International Prognostic Index" (o FIPI), que permite predecir el pronóstico del paciente en cuanto a eventos cardíacos, renales, neurológicos o mortalidad global y por otro lado, *Giannini et al.* (39) desarrollaron la escala conocida como "Disease Severity Score System" (o DS3) que demostró tener una buena correlación con el grado de afectación o severidad de la enfermedad.

### 1.4 Enfermedad de Fabry en la mujer

El curso clínico y el pronóstico en las mujeres, difiere parcialmente del de los pacientes varones hemocigotos. Aunque vinculada al cromosoma X, cada vez hay más datos de que muchas mujeres afectadas por este trastorno presentan hipertrofia ventricular izquierda, ictus, función renal anormal, dolores neuropáticos y síntomas gastrointestinales crónicos. Dichas manifestaciones se deben probablemente, al menos en parte, al proceso normal aleatorio de inactivación cromosómica X (Lyonización) durante la embriogénesis, que causa una porción variable de células con cromosoma X normal y otras con la mutación de la  $\alpha$ -Gal A (40)(41). Al menos el 40% de las mujeres heterocigotas con EF presentan una actividad de la  $\alpha$ -Gal A en sangre que oscila entre normal y ligeramente por debajo de lo normal, debido a la presencia de leucocitos tanto normales como con expresión anormal de la  $\alpha$ -Gal A, de ahí que sea necesaria

la secuenciación del gen GLA para confirmar la heterocigosis (42)(43).

No obstante, es probable que la expresión de la enzima en sangre no sea representativa de la expresión en órganos individuales por la variabilidad de la inactivación del cromosoma X entre sangre y el resto de tejidos (42) , y aunque el fenotipo de la enfermedad en mujeres es a menudo menos grave y de aparición más tardía que en los varones, algunas mujeres presentan síntomas tan severos como los que afectan a los varones (44). Sin embargo, la alta prevalencia de características clínicas discapacitantes en mujeres heterocigotas, sólo se conoce desde que el advenimiento del tratamiento sustitutivo enzimático (TSE) ha aportado un incentivo para el estudio más cuidadoso de dichas pacientes. En un estudio de cohorte diseñado específicamente para la valoración de la EF en mujeres, se registró una supervivencia acumulada mediana de 70 años, lo que representa una reducción aproximada de 15 años respecto a la población general, presentando el 50% de las mujeres estudiadas complicaciones graves o debilitantes debidas a la enfermedad y el 70% alguna forma de dolor neuropático (45). Se ha descrito que hasta el 77% de las mujeres presentan sintomatología neurológica, el 59% cardíaca, aumentando el índice de masa ventricular izquierda exponencialmente con la edad y existe afectación renal hasta en un 40% de los casos, siendo las neurológicas las primeras en desarrollarse (media: 16 años) mientras que las cardíacas (media: 33,5 años) y renales (media: 37,3 años) aparecían más tarde (46).

El resto del espectro clínico abarca manifestaciones clínicas similares a los hemocigotos, habiéndose descrito síntomas gastrointestinales en la mitad de las mujeres estudiadas, hipohidrosis y acúfenos en el 33 y el 25% de los casos respectivamente, angioqueratomas en el 63% y afectación corneal en el 82% de los casos (45)(47).

## **1.5 Manifestaciones cardíacas: La miocardiopatía en la Enfermedad de Fabry**

La afectación cardíaca es frecuente en los pacientes con EF, habiéndose descrito manifestaciones cardíacas en aproximadamente el 40-60% de los pacientes con EF y es una de las tres mayores causas de morbimortalidad junto con la enfermedad renal crónica terminal y los accidentes cerebrovasculares.

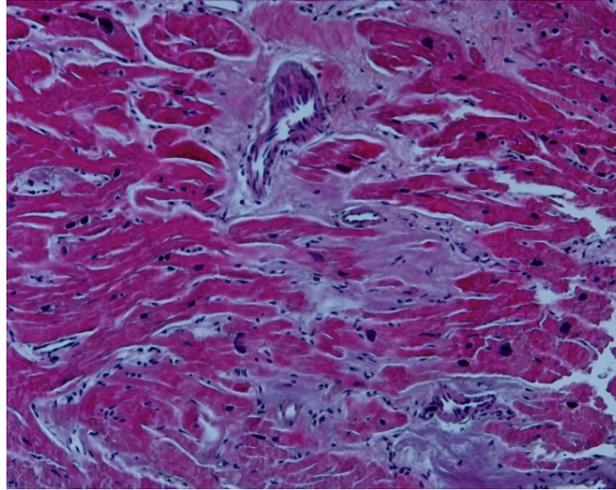
Los datos recientes obtenidos a partir del registro Fabry Outcome Survey (FOS) sugieren un cambio en el patrón del curso natural de la EF, mostrando un descenso en la importancia de la insuficiencia renal como una causa de mortalidad mientras que aumenta la importancia de la afectación cardíaca. De hecho, en los pacientes incluidos en el FOS cuyas muertes fueron registradas entre 2001 y 2007, la afectación cardíaca era la principal causa de mortalidad (48).

### **1.5.1 Patogénesis de la afectación cardíaca**

Todas las estructuras cardíacas, incluido el miocardio tanto de las aurículas como de los ventrículos, el sistema de conducción, las células endoteliales, los nervios y las válvulas pueden verse afectadas en los pacientes con EF (49). Aunque la presentación clínica en la EF ha sido estudiada ampliamente, los mecanismos patogénicos que tienen lugar desde el inicio del depósito de Gb3 hasta la disfunción celular y tisular y finalmente el desarrollo de las manifestaciones clínicas aún no han sido lo suficientemente clarificados (50).

#### **1.5.1.1 Fisiopatología de la hipertrofia cardíaca y fibrosis**

La historia natural de la EF desde el punto de vista cardíaco se caracteriza por una hipertrofia progresiva del músculo cardíaco, con fibrosis en el espacio intersticial, así como la desorganización o "disarray" de las fibras cardíacas (Figura 5).



**Figura 5. Histología de una muestra de miocardio teñido con tricrómico de Masson donde se visualiza la desorganización de las miofibrillas y el depósito de tejido conectivo. Amplificación x 100**

Se ha observado depósito de Gb3 en los cardiomiocitos, en las células endoteliales vasculares y en las células de músculo liso, así como en el tejido de conducción y en los fibroblastos valvulares.

La explicación más aceptada como causante del incremento de la masa del ventrículo izquierdo (VI) en la EF hasta hace unos años era el depósito progresivo de Gb3 en los miocitos. Dicho depósito de Gb3 a nivel lisosomal debido al déficit enzimático conlleva una expansión gradual del sistema lisosomal, que se extiende desde la zona típica perinuclear hacia el sarcoplasma. Este depósito interfiere en el funcionamiento de los cardiomiocitos llevando a la hipertrofia cardíaca, una reacción común a una serie de trastornos metabólicos que afectan al corazón (51). Pero posteriormente se vio que el depósito de Gb3 por sí mismo no era capaz de explicar el grado de hipertrofia cardíaca, así como el resto de alteraciones cardiológicas. Varios ensayos clínicos han demostrado que la cantidad de Gb3 encontrada en el miocardio no supera el 2% de la masa del VI, sugiriendo que otros mecanismos probablemente sean también responsables del remodelado miocárdico, sin conocerse aun exactamente cuál es el mecanismo molecular que une esta acumulación al eventual daño celular y tisular (52)(53).

Es por ello que, aunque no completamente descritos, es probable que múltiples **mecanismos inflamatorios y neurohormonales** estén detrás de la

disfunción celular y vascular que provoca la hipertrofia y fibrosis en la EF. A continuación, se detallan varios de dichos mecanismos:

- En los últimos años la teoría proinflamatoria e inmunológica ha cobrado valor y se ha objetivado que los esfingolípidos acumulados pueden actuar como segundos mensajeros simulando la función biológica de algunas citoquinas y factores de crecimiento, desencadenando la proliferación celular (54). Así, recientemente se ha publicado un ensayo clínico en el que se demuestra que las células mononucleares periféricas de los pacientes con EF muestran un estado proinflamatorio mayor, produciendo mayor cantidad de citoquinas como son la IL-1 $\beta$  y la IL-6 o el TNF- $\alpha$ . Además, la exposición de células de pacientes sanos a valores elevados de Gb3 y un inhibidor de la  $\alpha$ -Gal, muestran el mismo perfil que en los pacientes afectados (50).

- Por otro lado, un metabolito de Gb3, la globotriaosilesfingosina (liso-Gb3), también es un factor adicional en la patogénesis de la EF. Liso-Gb3 es un inhibidor de la enzima  $\alpha$ -Gal A que promueve la acumulación de Gb3 y además estimula la proliferación de las células lisas musculares (55) y podría estar asociada a la hipertrofia de las paredes arteriales y el daño renal en la EF (56).

- La depleción de energía en los componentes subcelulares también ha sido propuesta como un denominador común en un amplio espectro de miocardiopatías hipertróficas sarcoméricas y metabólicas y podría ser también un factor contribuyente. En este contexto, el mecanismo global de disfunción sería un incremento de la demanda energética debido a una ineficiente utilización del ATP a nivel del sarcómero. Esto comprometería la capacidad de los cardiomiocitos para mantener los niveles de energía en los compartimentos subcelulares responsables de la contracción, resultando en hipertrofia (57). La disfunción celular en los cardiomiocitos activaría además de las señales celulares de hipertrofia, también las de autofagia y apoptosis, que termina con la desorganización de las fibras musculares, la formación de vacuolas autofagocíticas y la fibrosis (58).

- Recientemente también se ha confirmado un aumento del estrés oxidativo por el incremento de la producción del óxido nítrico miocárdico, que provoca el daño oxidativo de los miofilamentos y del ADN cardiacos, y finalmente, disfunción y

muerte celular (59). También se ha vinculado el Gb3 con la vasculopatía en la EF, como inductor de estrés oxidativo y aumento de las moléculas de adhesión como la VCAM-1, a nivel del endotelio de la microvasculatura. Esta disfunción microvascular podría ser la clave como desencadenante inicial de los cambios fisiopatológicos precoces en la EF (60).

A **nivel macroscópico** la hipertrofia ventricular izquierda (HVI) se detecta en alrededor del 50% de los pacientes y es más frecuente y se desarrolla más precozmente en los varones que en las mujeres. Casi todos los pacientes varones una vez alcanzados los 40 años de edad y casi todas las mujeres mayores de 50 años presentan una miocardiopatía hipertrófica con diferentes grados de hipertrofia ventricular. La HVI es generalmente simétrica, aunque también se han descrito formas asimétricas. El patrón típico es el engrosamiento concéntrico (con unos espesores telediastólicos de más de 16 mm), sin obstrucción al flujo a nivel de tracto de salida del ventrículo izquierdo (VI), aunque también se han descrito casos aislados con obstrucción a dicho nivel, así como casos de hipertrofia apical (61). Otro hallazgo típico es la hipertrofia marcada de los músculos papilares, así como una fracción de eyección del VI (FEVI) preservada combinada con estadios precoces de disfunción diastólica. El ventrículo derecho (VD) está frecuentemente afectado presentando también hipertrofia en la EF y en las fases más avanzadas progresa a una dilatación y disfunción diastólica severa (62).

Además de la hipertrofia progresiva del músculo cardíaco, también aparecen como se ha comentado previamente progresivos cambios fibróticos y del espacio intersticial. Algunos estudios describen amplias áreas de sustitución fibrosa (alrededor del 15% del miocardio), asociadas a áreas de desorganización de miocitos (63). El proceso fibrótico suele iniciarse en las zonas intramurales del VI, progresando hacia una afectación transmural, donde casi siempre están afectados los segmentos pósterolaterales del VI (20). Este fenómeno de fibrosis puede detectarse actualmente mediante técnicas no invasivas como la resonancia magnética (RM) cardíaca mediante el realce tardío tras la administración de gadolinio. Típicamente presenta realce en la pared ínfero-lateral a nivel mesocárdico (61). Recientemente un estudio realizado en pacientes con EF mediante estudio híbrido con tomografía por emisión de

positrones y RM con diferentes secuencias ha sugerido que este realce podría ser debido a inflamación crónica en lugar de únicamente a fibrosis, por lo que la EF sería no sólo una enfermedad de depósito, si no también, una enfermedad inflamatoria crónica (64).

La fase más avanzada de la miocardiopatía se caracteriza por la coexistencia de HVI junto con zonas de adelgazamiento miocárdico y la presencia de alteraciones de la contractilidad segmentaria en los segmentos con fibrosis, así como diferentes grados de disfunción ventricular izquierda (65).

El resto de estructuras cardíacas también pueden verse afectadas en la EF. Así el depósito y la fibrosis a nivel del sistema de conducción se puede manifestar a nivel del electrocardiograma (ECG) de superficie como un acortamiento del intervalo PR, bradicardia y bloqueos aurículo-ventriculares o de rama, prolongación del intervalo QRS o QT, así como arritmias, siendo la más frecuente la fibrilación auricular (FA) y la taquicardia ventricular intermitente, incluso llegando a la muerte súbita (66) (67) .

Los fibroblastos de las válvulas pueden mostrar un intenso depósito lisosomal, lo que puede interferir con la degradación de todos los componentes de la matriz extracelular y promover el engrosamiento de la válvula. No obstante, la progresión hacia una valvulopatía con repercusión clínica relevante es infrecuente y sólo algunos pacientes muestran una insuficiencia mitral, aórtica o tricúspide leve o moderada (68).

A nivel de los vasos sanguíneos se ha observado que las células endoteliales y las células del músculo liso a nivel de la microcirculación están severamente afectadas por el depósito, contribuyendo, junto con la disfunción diastólica, al desarrollo de isquemia y síntomas como la angina debido a la disminución de la reserva de flujo coronario. Dicha angina puede ser la primera manifestación de la afectación cardíaca en la EF. La afectación de las grandes arterias coronarias epicárdicas no es frecuente en la EF, siendo el infarto de miocardio infrecuente en estos pacientes (2% de los pacientes) (69)(70).

### **1.5.2 Métodos diagnósticos**

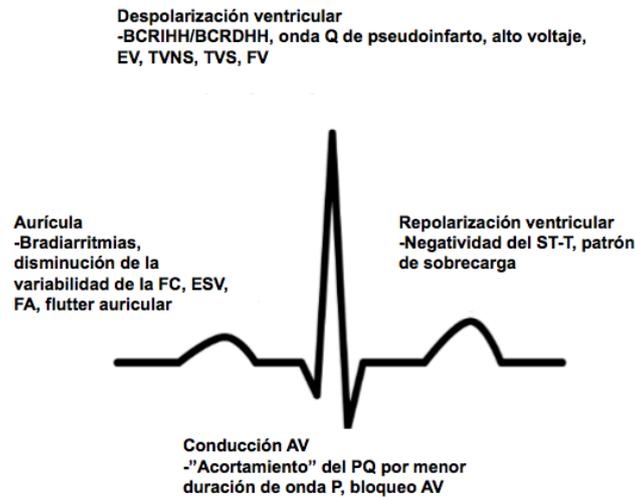
Como se ha descrito, todas las estructuras cardíacas pueden verse afectadas en la EF, siendo la hipertrofia del VI la manifestación clave, encontrándose en cerca del 50% de los varones y en hasta en un tercio de las mujeres afectadas como se ha comentado previamente.

A día de hoy, la HVI puede detectarse mediante diferentes técnicas como el ECG, la ecocardiografía y la RM cardíaca con administración de gadolinio. La fibrosis puede detectarse también de forma indirecta mediante nuevas técnicas ecocardiográficas, siendo la técnica de referencia o "gold estándar" para su diagnóstico la RM cardíaca con gadolinio.

#### **1.5.2.1 Alteraciones electrocardiográficas**

Mediante ECG pueden detectarse alteraciones a todos los niveles del sistema de conducción (Figura 6 y 7), habiéndose descrito múltiples alteraciones electrocardiográficas que ocurren no sólo durante la fase precoz, si no también antes de que se desarrollen las alteraciones morfológicas. No obstante, muchos de los pacientes incluidos en las diferentes series tienen también ECG normales. Queda por esclarecer si estas alteraciones electrocardiográficas tienen un mayor o menor valor diagnóstico y si se correlacionan con hallazgos clínicos o ecocardiográficos específicos y actualmente está siendo investigado (71)(72).

Los hallazgos electrocardiográficos que se han descrito en los pacientes con EF se enumeran a continuación:



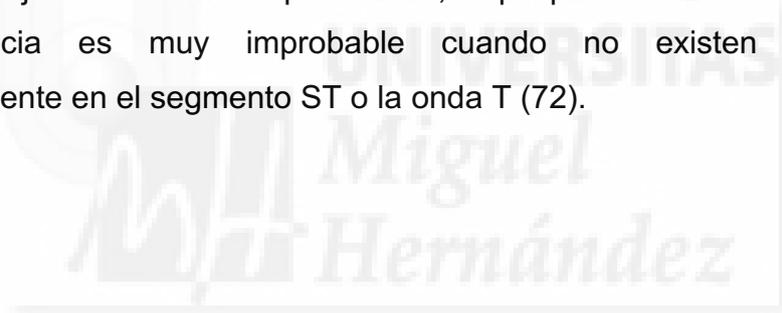
**Figura 6. Alteraciones en la conducción y las arritmias más frecuentes en la EF.** FC, frecuencia cardíaca; ESV, extrasístole supraventricular; FA, fibrilación auricular; BCRIHH, bloqueo completo de rama izquierda del haz de his; BCRDHH, bloqueo completo de rama derecha del haz de His; EV, extrasístolia ventricular; TVNS, taquicardia ventricular no sostenida; TVS, taquicardia ventricular sostenida; FV, fibrilación ventricular.

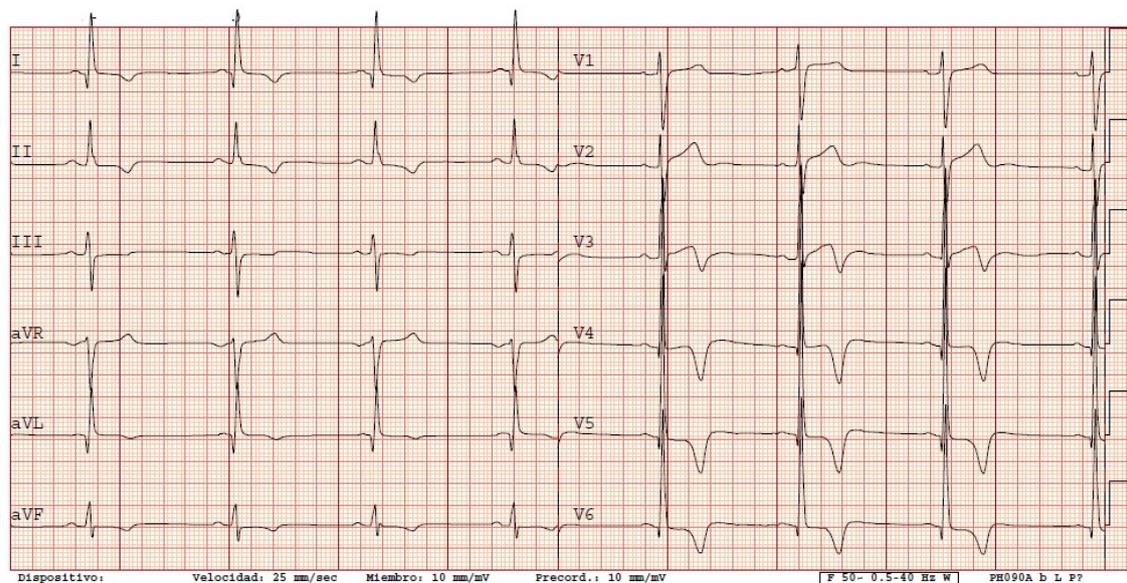
- A nivel auricular y de la conducción aurículo-ventricular puede objetivarse bradicardia o acortamiento del intervalo P-Q ( $< 0.12$  s), debido al acortamiento de la onda P y aunque es uno de los signos más precoces de afectación cardíaca, también puede existir en fases más avanzadas prolongación del intervalo P-Q o bloqueo aurículo-ventricular. Algunos autores han sugerido una prevalencia de FA paroxística cuatro veces superior en los pacientes con EF respecto a la población general, pero estos números deben tratarse con cautela, dado que obviamente el desarrollo de la miocardiopatía favorecería los episodios de FA. Otras anomalías incluirían también la extrasístolia supraventricular o la disminución de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (71).

- A nivel de la despolarización ventricular puede observarse bloqueo de rama, ondas Q de pseudoinfarto, alto voltaje, extrasístolia, así como episodios de taquicardia ventricular no sostenida o sostenida e incluso fibrilación ventricular, aunque desafortunadamente a día de hoy no existen aún datos detallados sobre la prevalencia de arritmias malignas en los pacientes con EF. Algunos estudios

con series pequeñas, describen una incidencia de taquicardia ventricular no sostenida del 38% en los varones mayores de 50 años, los cuales ya presentaban HVI avanzada (73). Aunque la presencia de fibrosis evidentemente juega un rol crucial en términos de una mayor incidencia de arritmias ventriculares, los datos disponibles a día de hoy tampoco han esclarecido aún si existe una clara relación causal y temporal entre el grado de HVI/fibrosis y el desarrollo de dichas arritmias (71).

- A nivel de la repolarización ventricular podemos encontrar las típicas alteraciones más frecuentemente descritas, a nivel del segmento ST (descenso o ascenso) y de la onda T (inversión), generalmente en derivaciones laterales V5 y V6 (que coinciden con la zona donde típicamente se objetiva el realce tardío en las imágenes de RM). Por ello, aunque no parece factible detectar la fibrosis evaluada mediante RM únicamente con un simple ECG según resultados de algunos trabajos recientemente publicados, sí que parece razonable afirmar que su existencia es muy improbable cuando no existen alteraciones específicamente en el segmento ST o la onda T (72).





**Figura 7. ECG de un paciente de este estudio representativo de signos de crecimiento ventricular izquierdo con ondas T negativas en derivaciones V3-V6, I, II, III, aVL y aVF, con ondas Q en I y aVL**

### 1.5.2.2 Alteraciones ecocardiográficas

La herramienta diagnóstica generalmente empleada para el cribado de la existencia de hipertrofia es la ecocardiografía, así como también para evaluar el patrón de remodelado o la masa del VI y para el seguimiento de la respuesta terapéutica. También puede detectar anomalías a nivel valvular, del VD, la afectación de la función sistólica y diastólica y el aumento de volumen de la aurícula izquierda.

La ecocardiografía puede detectar fases precoces de la enfermedad, generalmente caracterizada como ya se ha comentado por una HVI no obstructiva de tipo concéntrico, así como fases más avanzadas, con una hipertrofia asimétrica con un septo marcadamente engrosado y una pared pósterolateral menos engrosada en relación con las zonas de fibrosis (Figura 8). Los cambios hipertróficos son progresivos y aparecen de manera más precoz en varones que en mujeres y a veces incluso se pueden observar en niños y adolescentes (74)(75). Los estadios precoces se caracterizan por un leve incremento de la masa miocárdica, pero sin el desarrollo de una hipertrofia manifiesta, con un remodelado concéntrico del VI. Esta característica ha sido objetivada en aproximadamente un 50% de los adolescentes y niños con edad

por encima de los 10 años (75). En estadios más tardíos, los cambios hipertróficos son simétricos, con el desarrollo de hipertrofia concéntrica del VI. Una vez que hay una reducción en el aporte de energía o un aumento en la depleción de energía, pueden aparecer cambios excéntricos, con aumento de los diámetros y dimensiones telediastólicos del VI. Cambios hipertróficos asimétricos como la típica hipertrofia septal asimétrica de las miocardiopatías hipertróficas de origen sarcomérico son raramente vistas en la EF, pero pueden representar aproximadamente un 5% de todos los casos con afectación cardíaca severa (76)(77). Aunque la HVI es más severa en pacientes mayores que en jóvenes, hay escasos datos provenientes de estudios longitudinales de la progresión de la HVI en pacientes no tratados. (78). Además varios estudios observacionales en mujeres con EF han mostrado que la afectación cardíaca aparece ligeramente más tarde y como se ha comentado, con una progresión más lenta (79)(74)(80).

La ecocardiografía también nos permite estimar la masa del VI. Estudios ecocardiográficos seriados sobre la masa del VI en 78 pacientes con EF sin tratamiento (39 varones y 39 mujeres) mostraron que el incremento medio de la masa del VI por año en varones era de  $4.1 \pm 1$  gr/m<sup>2</sup> y en mujeres de  $2.3 \pm 0.8$  gr/m<sup>2</sup>. La tasa de aumento de la masa del VI era significativamente mayor en los varones que en las mujeres cuando eran analizados los pacientes que tenían HVI basalmente ( $6.6 \pm 8.5$  vs.  $3.8 \pm 7.7$  gr/m<sup>2</sup>/año) (81).

Otros hallazgos incluirían la existencia de unos músculos papilares muy prominentes (82).

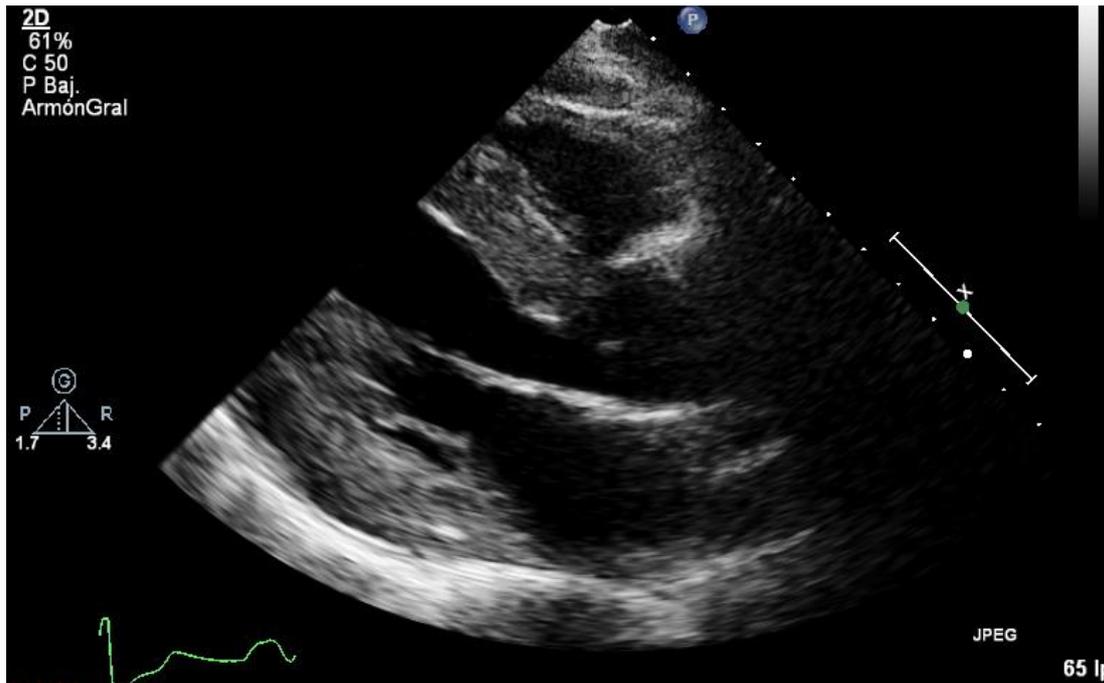


Figura 8. Ecocardiografía de una paciente de este estudio de 57 años con afectación cardíaca. Plano paraesternal eje largo mostrando hipertrofia ventricular concéntrica severa.

*Pieroni et al.* describieron en una serie de 40 pacientes un patrón ecocardiográfico denominado "signo binario" con una zona hiperecoica del endocardio junto con una zona hipoecoica entre el endocardio y mesocardio en los pacientes con HVI, generalmente en el septo interventricular, como un signo con bastante sensibilidad y especificidad a la hora del diagnóstico de la afectación cardíaca en la EF. Sin embargo, un estudio posterior realizado en una cohorte grande de pacientes con EF ha mostrado la baja sensibilidad de este signo ecocardiográfico para el diagnóstico de miocardiopatía por EF, no permitiendo realizar un diagnóstico diferencial con otras entidades (83).

Como se ha comentado previamente, también pueden aparecer afectaciones valvulares en principio relacionadas con el depósito de lípidos y la fibrosis a nivel del tejido valvular. Sin embargo, la estimación de la frecuencia de afectación valvular es variable y difiere significativamente en los diferentes registros o series. Los cambios se encuentran casi exclusivamente en las válvulas cardíacas izquierdas, probablemente debido al mayor estrés hemodinámico del lado izquierdo (76). Un estudio observacional reciente encontró afectación valvular en el 74% de los pacientes de la serie, no encontrando ninguna

valvulopatía severa y concluyendo que las afectaciones valvulares leves en la EF son frecuentes y generalmente no progresan hacia la relevancia hemodinámica. Las valvulopatías más frecuentemente descritas fueron la insuficiencia mitral leve, seguida de la insuficiencia tricúspide leve y finalmente la insuficiencia aórtica leve (68).

Mediante ecocardiografía también podemos determinar la función sistólica mediante parámetros tradicionales como la FEVI, que raramente se encuentra alterada en los pacientes con EF (77)(84). Sin embargo, sí que se puede evidenciar una disminución del acortamiento longitudinal del VI que refleja el empeoramiento de la contractilidad que puede estar enmascarado por los cambios geométricos estructurales y puede ser indetectable al medir la FEVI mediante métodos habituales. Mediante técnicas de imagen más sofisticadas como el Doppler tisular (DTI), *strain* y el *strain rate*, se pueden observar descensos significativos de la función contráctil, que aparecen de manera más precoz en la dimensión longitudinal que en la radial, y esto puede contribuir al desarrollo de la insuficiencia cardíaca con FEVI preservada (85)(86)(87). Diferentes estudios publicados han demostrado la utilidad de la evaluación mediante DTI del descenso de las velocidades diastólica (onda e') y sistólica (onda s') del anillo mitral para el diagnóstico precoz y seguimiento de pacientes portadores de la mutación relacionada con la enfermedad pero sin HVI desarrollada (87)(88). Otras técnicas derivadas del DTI, como son el *strain* y *strain rate* han sido estudiadas también en esta enfermedad. Así se ha mostrado una reducción del pico sistólico de *strain rate* y del *strain sistólico* radial y longitudinal respecto a grupos control y mejoría de estos parámetros así como de la HVI tras el TSE en los pacientes que no presentaban fibrosis en la RM cardíaca (89)(90).

Sin embargo, las técnicas de DTI y *strain* derivado de DTI tienen limitaciones en la práctica por la presencia de artefactos por el movimiento de traslación del corazón o de estructuras adyacentes, la baja resolución temporal y la dependencia del ángulo de insonación. Esto posibilita el análisis sólo de la deformación longitudinal en los segmentos basales y medios del VI, por lo que en los últimos años han aparecido técnicas de deformación miocárdica a partir del *speckle tracking*, que aporta ventajas como que se puede determinar la

deformación longitudinal de todos los segmentos, así como la radial y la circunferencial (Figura 9). Así, una reducción del *strain* longitudinal en los segmentos basales posteriores y laterales indican fibrosis miocárdica (91). También se han publicado en los últimos años diferentes estudios que correlacionan esta disminución con la cantidad de realce tardío con gadolinio en la RM cardíaca (92)(93)(91).

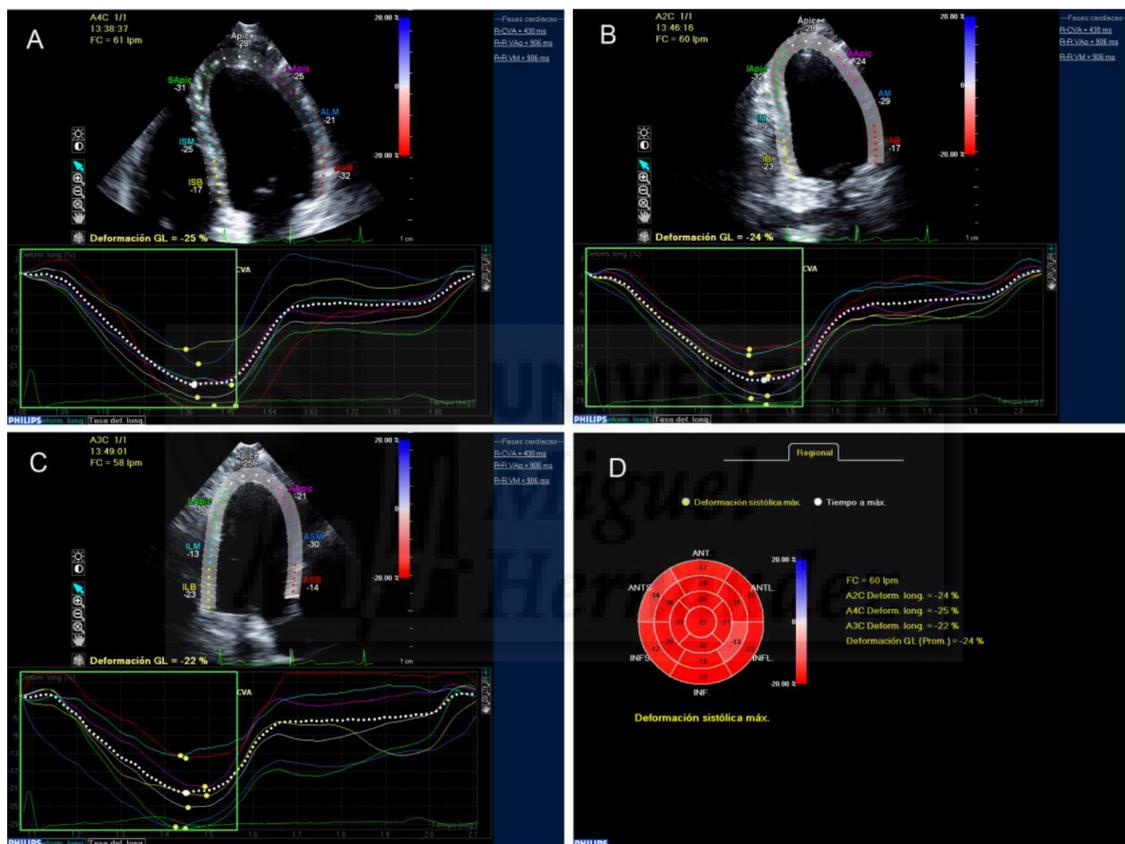


Figura 9. Análisis del strain longitudinal en plano apical 4, 2 y 3 cámaras (A, B y C) y figura del ojo de buey con la representación en todos los segmentos y el strain global longitudinal (D) en uno de los pacientes incluidos en este estudio.

### 1.5.2.3 Hallazgos en resonancia magnética cardíaca

La RM cardíaca es la técnica de referencia o "gold estándar" para la determinación de la fibrosis miocárdica mediante las secuencias con realce tardío con gadolinio, permitiendo también un análisis pormenorizado tanto del grado de hipertrofia como de su distribución (94). En las áreas con fibrosis, el espacio intercelular está aumentado, así el gadolinio, incapaz de atravesar la membrana celular, difunde dentro de este espacio. Mediante la aplicación de secuencias específicas de resonancia se detectan áreas miocárdicas donde la concentración de gadolinio es mayor comparado con las zonas sin fibrosis (62)(94).

Los datos publicados describen habitualmente un realce mesocárdico a nivel de los segmentos inferolaterales (Figura 10), aunque ensayos clínicos más recientes resaltan que el espectro no únicamente abarca la hipertrofia concéntrica y la escara mesocárdica inferolateral, si no que incluye casos morfológicamente iguales a la miocardiopatía hipertrófica asimétrica o a la apical, siendo el patrón de captación con gadolinio más llamativo a nivel medioventricular o apical (61).

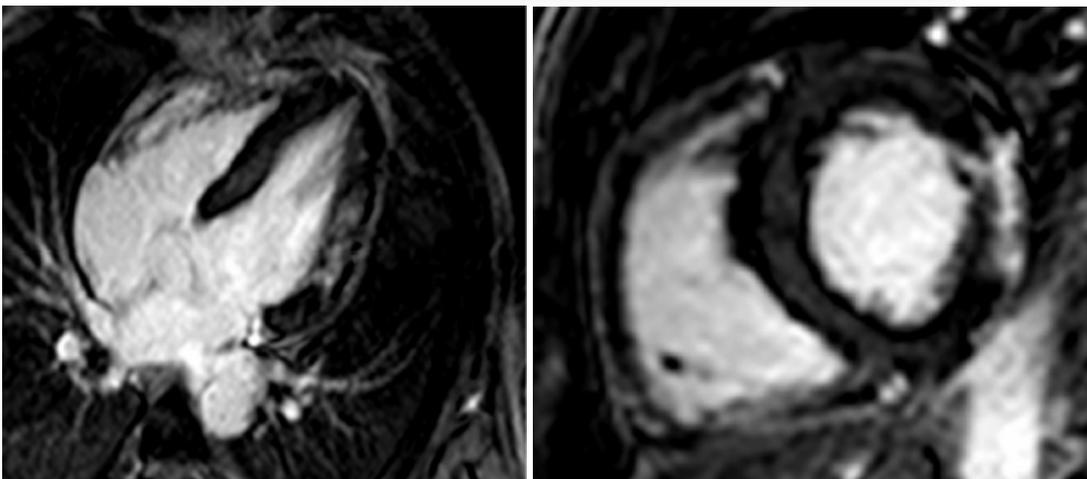


Figura 10. Plano apical de 4 cámaras y eje corto mediante RM cardíaca de un paciente con EF y afectación cardíaca de este trabajo, con hipertrofia ventricular izquierda y realce tardío con gadolinio de distribución mesocárdica en la cara lateral del VI.

### 1.5.3 Afectación cardíaca aislada

Como se ha comentado con anterioridad, recientemente en diferentes estudios ha quedado patente que existen pacientes con manifestaciones clínicas más llamativas a nivel de un único órgano como la insuficiencia renal, la HVI o el ictus, pacientes con aparente desarrollo tardío de las manifestaciones clínicas, que además presentan una actividad enzimática más respetada. A estas formas clínicas se les ha denominado variante no clásica o de comienzo tardío o, simplemente, formas cardíacas o renales dependiendo de qué aspecto clínico se quiera enfatizar. Aunque el diagnóstico generalmente es más tardío debido a la ausencia de los síntomas sugestivos en la infancia como las acroparestesias o los angioqueratomas, las manifestaciones a nivel del órgano afectado pueden ser comparables a las de la forma clásica.

Se solía utilizar la expresión "variante cardíaca" para designar a los pacientes con EF que desarrollaban MCH de aparición tardía, asociada a menudo con mutaciones de sentido equívoco y actividad enzimática residual. Así varios artículos sugirieron hace algunos años que existían pacientes con actividad residual de la  $\alpha$ -Gal A (aproximadamente entre un 1-5% de los valores normales) que se presentaban a edades medias con HVI y alteraciones en la conducción eléctrica en el ECG, en la ausencia de otras manifestaciones clásicas de la EF. Algunos pacientes con esta "variante cardíaca" tenían proteinuria, pero no desarrollaban enfermedad renal terminal; estos también diferían de los pacientes clásicos en que no presentaban depósitos de glicoesfingolípidos en el endotelio vascular (95)(96). Estudios más contemporáneos sugieren que si esta forma cardíaca realmente existe, es extremadamente rara y que si se realiza un análisis multisistémico pormenorizado, generalmente aparece afectación de otros órganos (19). No obstante, la presentación clínica en pacientes con actividad residual puede estar dominada por la afectación cardiovascular, significando esto que la EF debe considerarse en el diagnóstico diferencial de una HVI inexplicada, pudiendo ser dicha enfermedad la culpable de al menos el 3% de los casos de HVI inexplicada en pacientes de edad media según diferentes estudios (19).

## 1.6 El papel de los biomarcadores

De forma estricta, según el Instituto Nacional de Salud de los EEUU, un **biomarcador** se define como una característica o un analito (desde un metabolito simple hasta una proteína compleja) que puede medirse y evaluarse de forma objetiva como indicador de los procesos patógenos o de las respuestas farmacológicas ante una intervención terapéutica (97). Esta definición “genérica” de biomarcador incluiría desde variantes genéticas, técnicas de imagen, pruebas fisiológicas y determinación de sustancias en sangre y orina, hasta los propios estudios anatomopatológicos de las biopsias. Sin embargo, cuando en el lenguaje coloquial se habla de medición de biomarcadores, en general se está refiriendo a la detección y medida de sustancias biológicas como las mencionadas en líquidos corporales.

El interés por estos biomarcadores se ha ido incrementando de forma muy importante a lo largo de la última década y en el caso de las enfermedades por depósito, existen diferentes candidatos a biomarcadores y pueden dividirse en dos categorías. El primer grupo consistiría en aquellas moléculas que se acumulan en los diferentes tejidos y fluidos orgánicos debido directamente al déficit enzimático. El segundo grupo incluirían las moléculas producidas por las células que lo almacenan y que pueden medirse en plasma, orina o líquido cefalorraquídeo (98).

Las sustancias biológicas en cuestión guardan relación con distintos aspectos de la compleja red de la fisiopatología de esta enfermedad (algunos de forma imbricada con más de un aspecto) y, de forma paralela a lo que se realiza en otras patologías donde tienen un recorrido más amplio como es la insuficiencia cardíaca (99), podemos intentar clasificarlos en función de sus características en varios grupos. Así se podrían clasificar como neurohormonas, marcadores de lesión o daño miocárdico, marcadores de estrés miocárdico, marcadores de inflamación, marcadores de estrés oxidativo, marcadores de remodelado celular y de matriz extracelular, marcadores de disfunción endotelial y otros marcadores, grupo heterogéneo en el que pueden incluirse algunas sustancias a las que podríamos considerar como determinaciones analíticas clásicas o rutinarias, pero que sin duda cumplen los criterios de biomarcador y

que pueden ser expresión de comorbilidades, fallo orgánico, caquexia o desnutrición. A continuación, en la tabla 2, se resumen algunos de los biomarcadores que han sido estudiados en diversas patologías cardíacas.

<b>BIOMARCADOR</b>	<b>CLASIFICACIÓN</b>
<b>Glicosfingolípido Gb3 Globotriaosilesfingosina (liso-Gb3)</b>	Marcador de depósito
<b>Troponinas</b>	Marcador de daño miocárdico
<b>Péptidos natriuréticos</b>	Neurohormona y marcador de estrés
<b>Galectina-3 (Gal-3)</b>	Marcador de remodelado (celular y matriz extracelular) y fibrosis
<b>Interleucina 6 (IL-6)</b>	Marcador de inflamación y de remodelado (celular y matriz extracelular) y fibrosis
<b>Proteína <math>\beta</math>-traza (BTP)</b>	Marcador de disfunción endotelial y marcador de comorbilidad (insuficiencia renal)

Tabla 2. Biomarcadores estudiados en diversas patologías cardíacas

La evaluación de la existencia de afectación cardíaca en la EF mediante técnicas no invasivas es clínicamente muy importante, dado que definirá la existencia de miocardiopatía y un probable inicio de la terapia enzimática sustitutiva, además de marcarnos la evolución durante dicho tratamiento y el pronóstico del paciente (100). De ahí el creciente interés en estudiar diferentes biomarcadores que puedan ayudarnos en el diagnóstico y estratificación del paciente.

### 1.6.1 Biomarcadores de daño lisosomal: Gb3 y liso-Gb3

En la EF los biomarcadores tradicionalmente más estudiados hasta el momento son los de depósito lisosomal, la Gb3 y la liso-Gb3, tanto como herramientas diagnósticas como para el cribado de los pacientes de alto riesgo.

El **glicosfingolípido Gb3** ha sido considerado un marcador subrogado de la EF, no estando elevado únicamente dentro de las células sino que también está presente en concentraciones anormalmente elevadas en los fluidos corporales como plasma y orina. Está bien documentado que en pacientes hemicígotos con la forma clásica están elevados ambos valores, si bien en el caso de las mujeres, el Gb3 urinario está generalmente elevado, pero el plasmático suele rondar los valores normales (47)(30). El mejor método para determinar la concentración de Gb3 es la determinación en un sedimento de orina (55)(101)(102). La demostración de una concentración elevada de Gb3 tiene un gran valor diagnóstico, particularmente en mujeres portadoras de mutaciones del GLA. Pero en diferentes publicaciones se ha encontrado una correlación pobre con las manifestaciones clínicas de la EF así como con la respuesta al TSE (30)(103)(104)(105). El pobre valor predictivo de la concentración de Gb3 para el desarrollo de las manifestaciones clínicas no es sorprendente. La acumulación de Gb3 ocurre aparentemente incluso antes del nacimiento en los varones hemicígotos, mucho antes de que aparezca ningún síntoma significativo, habiéndose objetivado importante depósito en el tejido placentario al nacimiento (106)(107). Además las concentraciones en plasma de Gb3 en algunos varones presintomáticos son más elevadas que en pacientes adultos sintomáticos (30). Todo ello orienta a que la acumulación de Gb3 por sí sola no causa inmediatamente y quizás no directamente los signos de la enfermedad.

Ante estos hallazgos, diferentes investigadores re-examinaron el papel del Gb3 y de sus metabolitos en los pacientes con EF, descubriendo que el plasma de los pacientes hemicígotos con la forma clásica contenía una concentración elevada de una Gb3 desacilada, la globotriaosilesfingosina, **liso-Gb3**, un producto de la degradación de la Gb3 acumulada, estando también ligeramente elevada en los pacientes con formas tardías y en los casos de mujeres sintomáticas (Figura 11) (55). Además, los valores de liso-Gb3 excedían lo

esperado en relación con los valores de Gb3, que además eran normales en el caso de las mujeres sintomáticas, de ahí que se perfilara como una importante herramienta diagnóstica en la EF, especialmente en el caso de las mujeres (55)(108)(109). Se estudió como en el caso del Gb3 la relación entre las concentraciones en plasma y las manifestaciones clínicas, encontrando que en los varones hemicigotos también existían unos valores elevados al nacimiento y por lo tanto no existiendo una correlación estricta con éstos. No sucedía igual en el caso de las mujeres, en las que los valores de liso-Gb3 eran bajos al nacimiento y se incrementaban con la edad progresivamente, existiendo en este caso cierto grado de correlación (110)(111)(112). Además, también parece ser un indicador de riesgo independiente de lesiones en la sustancia blanca en varones y de HVI en mujeres (110). Todas estas observaciones sugerían, pero no probaban absolutamente, que el liso-Gb3 juega un rol directo en la patogénesis de la EF. Este rol se torna más importante tras los hallazgos en estudios in vitro con exposición en cultivos de podocitos glomerulares a liso-Gb3, un aumento de la expresión de moléculas mediadoras de daño glomerular comunes como el factor de crecimiento tumoral (TGF)-beta-1, proteínas de matriz extracelular (fibronectina y colágeno tipo IV) y CD 74 (113). Tras dichos hallazgos, la determinación de los valores de liso-Gb3 es muy útil si están elevados en el caso de la detección de formas atípicas tardías y de mujeres con valores de actividad de  $\alpha$ -Gal en los límites de la normalidad, siendo también una herramienta diagnóstica útil en los casos de mutaciones de significado incierto, pero no se puede descartar absolutamente la enfermedad si sus valores son normales (114)(115)(116). Por último se ha visto que los efectos de la terapia enzimática sustitutiva se sigue de la reducción de las concentraciones plasmáticas, efecto no demostrado claramente en estudios previos con Gb3 (117).

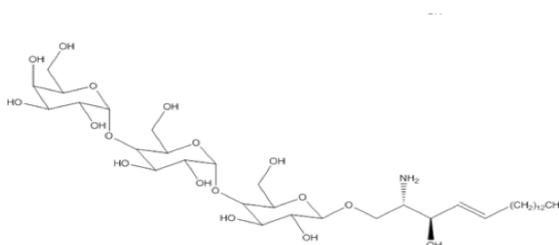


Figura 11. Formulación de la molécula liso-Gb3

### 1.6.2 Biomarcadores de daño miocárdico: troponina T ultrasensible

Otros ensayos clínicos recientemente publicados, han investigado la utilidad de las **troponinas** como marcadores de la existencia de afectación cardíaca en la EF. Las troponinas cardíacas, proteínas del aparato contráctil de los cardiomiocitos, son los biomarcadores de lesión o daño miocárdico más extensamente estudiados. Son cruciales en el diagnóstico de los síndromes coronarios agudos, en donde, además, pueden desempeñar también un papel pronóstico significativo. También se han mostrado útiles en la predicción de eventos adversos en pacientes con insuficiencia cardíaca tanto aguda como crónica, así como en la FA (118)(119)(120). Con la disponibilidad de determinaciones analíticas de alta sensibilidad, con mejoría de la precisión analítica en el límite inferior de detección, se ha hecho posible la detección de concentraciones muy bajas de troponinas. Diferentes grupos han estudiado el valor de la troponina T ultrasensible (hs-TnT) en el campo de la miocardiopatía hipertrófica en los últimos años y han objetivado valores elevados en alrededor de la mitad de los pacientes con dicha enfermedad, encontrando además una correlación con el grado de severidad de la misma (121)(122) así como con el espesor del septo interventricular (123). En el caso de las enfermedades de depósito, debido a la acumulación de esfingolípidos en los miocitos, éste sufre un daño continuo que puede generar una elevación permanente de las troponinas según habían evidenciado algunas series de casos publicadas (124)(125). En 2016, un grupo alemán estudia en una cohorte de 62 pacientes con EF el valor diagnóstico de la troponina I (TnI) en la discriminación de afectación cardíaca. Concluyen que, tras ajustar por diferentes factores, la HVI fue el único factor independientemente asociado a la elevación de TnI, con un valor predictivo negativo del 97.4% para valores de TnI < 0.04 ng/ml, encontrándose HVI en el 94.1% de los pacientes con valores por encima de dicho umbral (126). *Seydelmann et al.* (100) publican en 2016 un análisis que analiza datos retrospectivos y prospectivos con pacientes con EF con diferentes grados de afectación cardíaca en ecocardiografía y RM cardíaca, en el que investigaban la existencia de correlación entre los valores de hs-TnT con la existencia de fibrosis miocárdica medida mediante RM cardíaca con realce tardío con gadolinio. Varios son los hallazgos del estudio. En primer lugar, la fibrosis

miocárdica estaba relacionada con la elevación en plasma de la hs-TnT. En segundo, dicho valor se correlacionaba con la cantidad de fibrosis en la RM cardíaca y además podía predecir un incremento en la extensión de la fibrosis.

### 1.6.3 Biomarcadores de estrés de pared: NT-proBNP

El paradigma de los biomarcadores de estrés miocárdico son los **péptidos natriuréticos**, que pertenecen al grupo de las neurohormonas y tienen efecto diurético y vasodilatador. Han sido los biomarcadores más ampliamente estudiados en diferentes escenarios en los últimos años tanto en el campo de la insuficiencia cardíaca, como también en otras situaciones como HVI, isquemia miocárdica, hipoxemia, taquicardia, sobrecarga del ventrículo derecho, disfunción renal, edad avanzada, cirrosis hepática, sepsis e infección (127). Son secretados fundamentalmente en la aurícula (péptido natriurético tipo A, ANP) y en ventrículo (péptido natriurético tipo B, BNP) como un mecanismo compensador ante una sobrecarga de presión intracavitaria, por lo que sus concentraciones están aumentadas en pacientes con insuficiencia cardíaca y en otras cardiopatías estructurales como se ha comentado. El fragmento amino terminal del proBNP (NT-proBNP) es un fragmento fisiológicamente inactivo que se genera durante el desdoblamiento de la hormona activa BNP de la proteína precursora proBNP. En la miocardiopatía hipertrófica, las concentraciones de NT-proBNP están en relación con el grado de masa ventricular que se haya desarrollado. Los valores de NT-proBNP en estos casos se correlacionan con la presión telediastólica elevada y la tensión de la pared del VI (128). En el campo de la EF, algunas publicaciones han investigado el papel del NT-proBNP. Así en un ensayo observacional prospectivo publicado en 2013, en el que incluyen a 117 pacientes con EF, observan que en el 57% tenían valores elevados respecto a los puntos de corte por edad considerados normales, siendo estos valores también elevados en los pacientes que no presentaban HVI lo que podría ser útil a la hora de detectar precozmente una afectación cardíaca subclínica. Un valor de NT-proBNP  $\geq 20$  pmol/L tenía un valor predictivo positivo del 99.7% y un valor predictivo negativo del 9.2% para identificar alteraciones electrocardiográficas o ecocardiográficas (129).

#### 1.6.4 Biomarcadores de fibrosis: Galectina-3

La **Galectina-3 (Gal-3)** se considera una molécula enlace entre la inflamación y la fibrosis, mediadora de la fibrogénesis cardíaca y secretada vía exosomas. Es una beta-galactosidasa que se secreta por los macrófagos activados localizándose especialmente en las áreas de fibroblastos y fibrosis. Promueve la migración de macrófagos, la liberación y síntesis de colágeno y la fibrosis, induciendo en el miocardio el depósito de colágeno tipo I (130)(131) y siendo también un predictor independiente de fibrosis auricular (132). Recientemente se han publicado varios estudios que objetivan una elevación de dicha molécula en diferentes escenarios. Los valores de Galectina-3 están aumentados en pacientes con insuficiencia cardíaca y parece ser un mediador la fibrosis e inflamación en dicha patología y se consideran un buen predictor pronóstico en pacientes con insuficiencia cardíaca aguda y crónica, con beneficio aditivo a los péptidos natriuréticos (133)(134)(135). Así, se ha objetivado que los pacientes con insuficiencia cardíaca con concentración elevada de Gal-3 tienen entre dos o tres veces de sufrir un reingreso o fallecer, proponiéndose en este tipo de pacientes con insuficiencia cardíaca y dicho biomarcador elevado, un seguimiento más estrecho y tratamiento más agresivo (136)(137). Hay otras patologías en las que también se han encontrado valores elevados como es en el caso de la aterotrombosis (138), así como en pacientes en hemodiálisis que presentaban HVI (139). En el área de la miocardiopatía hipertrófica, un estudio ha encontrado recientemente también concentraciones de Gal-3 significativamente más elevadas en plasma comparado con un grupo control, correlacionándose además positivamente con el espesor y la masa del VI, no encontrándose asociación en dicho estudio con la función sistólica o diastólica, lo que sugiere que Gal-3 es un marcador de HVI y no de presiones de llenado como en el caso del BNP (140). En el caso de las enfermedades lisosomales no han sido muy estudiados existiendo únicamente publicaciones con series muy pequeñas de casos de pacientes con un espectro amplio de enfermedades lisosomales, que incluían algún paciente con EF. Aquí se investigaba el papel de dicho biomarcador, objetivándose unos valores incrementados respecto a enfermos control, pero únicamente en pacientes con mucopolisacaridosis, lo que podría sugerir un papel en dichas patologías (141).

### 1.6.5 Biomarcadores de inflamación: Interleucina-6

La **interleucina 6 (IL-6)** es una citocina ubicua, con una función crucial en la activación de los leucocitos y las células endoteliales, que promueve el aumento de la síntesis de una amplia variedad de proteínas reactantes de fase aguda, incluida la proteína C reactiva, y constituye el principal mediador sistémico de la respuesta aguda a la lesión tisular. Las citocinas inflamatorias como la IL-6 no se expresan habitualmente en un corazón normal, elevándose como respuesta a un daño o estrés mecánico del miocardio (142). La IL-6 puede disminuir la contractilidad miocárdica directamente e inducir el desarrollo de HVI, depósito de colágeno y fibrosis (142). En la miocardiopatía hipertrófica diferentes estudios han objetivado valores elevados de dicha citocina (143)(144), así como una asociación con el grado de fibrosis miocárdica, sugiriendo que dicha respuesta inflamatoria de bajo grado juega un rol significativo en la expresión fenotípica de la fibrosis miocárdica en dicha entidad (145). Además, la IL-6 es una citocina inflamatoria clave en los trastornos aterotrombóticos (146) y se ha observado también que las determinaciones seriadas en los síndromes coronarios agudos tienen valor predictivo de resultados adversos incluso para pacientes con troponina T sérica normal (147). Se ha estudiado recientemente su papel en la miocardiopatía de la EF, objetivándose valores elevados en los pacientes con EF e HVI respecto a los que no presentaban HVI, así como una reducción significativa de sus valores tras el inicio del TSE, hecho que se correlacionaba con la disminución de la masa del VI (148). Por otro lado, en determinadas mutaciones con desarrollo tardío de formas cardíacas, otra interleucina como es la interleucina 18, se ha perfilado como un biomarcador con un importante papel tanto en el diagnóstico como en la progresión de la miocardiopatía y se postula como un biomarcador que exhibe mejor correlación con los parámetros ecocardiográficos de respuesta al TSE que el liso-Gb3 (149).

### 1.6.6 Biomarcadores de daño renal: BTP

La **proteína  $\beta$ -traza (BTP)** es una glicoproteína lipocalina identificada como una prostaglandina D sintasa tipo-lipocalina y es una de las enzimas involucradas en la biosíntesis de prostaglandina D<sub>2</sub>, catalizando la isomerización de la prostaglandina H<sub>2</sub> D-isomerasa a prostaglandina D<sub>2</sub> (150)(151). La BTP se propuso tras varios estudios, como un biomarcador útil para estimar el filtrado glomerular, incluso con mayor validez que la creatinina dado que es poco dependiente de factores extrarrenales como la edad, la masa corporal, el sexo o el estado nutricional (152)(153)(154). La BTP se localiza en el corazón humano, a nivel de las células miocárdicas, del endocardio auricular y ventricular y de las placas ateroscleróticas de las coronarias con estenosis severas (155). Además se ha relacionado con múltiples procesos patológicos incluyendo la respuesta inflamatoria (156), la función endotelial (157), la aterosclerosis (158) o la hipertensión arterial (159). También se ha perfilado como un marcador de peor pronóstico en los pacientes con insuficiencia cardíaca aguda (160), en el síndrome coronario (161) y en la fibrilación auricular (162).

### 1.7 Criterios diagnósticos en la enfermedad de Fabry: la importancia de la detección precoz

La detección precoz de síntomas y signos de la EF debería generar un diagnóstico rápido, particularmente porque existe la posibilidad de TSE. Sin embargo, reconocer los datos iniciales no siempre es fácil por diferentes razones. Como se ha descrito ya, dado que la presentación clínica de la enfermedad es heterogénea, los síntomas pueden confundirnos con otras entidades clínicas comunes y las típicas manifestaciones cardíacas o renales de la EF no suelen estar presentes en la edad pediátrica. De ahí que el retraso diagnóstico puede ser aún considerable a día de hoy y los pacientes muchas veces tienen que visitar diferentes especialistas antes de que se realice el diagnóstico correcto. Datos recientes indican que globalmente existe un retraso diagnóstico de alrededor de 15 años en ambos sexos (17).

La EF debería sospecharse especialmente en dos grupos poblacionales, máxime si existen antecedentes familiares:

-En niños y adolescentes: ante crisis de dolor agudo o crónico en las extremidades (predominantemente distal) que no responda a analgesia, fiebre de origen desconocido, calor o intolerancia al ejercicio, alteraciones gastrointestinales crónicas, angioqueratomas, hipohidrosis, alteraciones corneales típicas, retraso del crecimiento o microalbuminuria.

-En edad adulta: ante persistencia de los síntomas previos, proteinuria o fracaso renal de causa incierta, HVI inexplicada después de los 40 años, ictus (2).

Ante la sospecha clínica de EF, el test bioquímico más utilizado históricamente era la medición de la actividad de la  $\alpha$ -Gal A en los leucocitos del paciente mediante una técnica fluorimétrica, pudiendo detectarse también en otras fuentes como los fibroblastos o en plasma. En el año 2001, el grupo de Dr. Chamoles describe un método para la detección de la actividad de la  $\alpha$ -Gal A en sangre seca sobre papel de filtro. Esta metodología, que también es fluorimétrica, está implementada hoy en muchos laboratorios dado que son muestras fáciles de transportar y estables a temperatura ambiente durante al menos 20 días y pudiendo ser usadas también como fuente de DNA. El rendimiento de este test, usando el punto de corte de actividad enzimática  $<40\%$ , alcanza una sensibilidad y especificidad del 100% en varones, mientras que en mujeres la sensibilidad es menor (66%), de ahí que se precise en estas un test genético porque las mujeres pueden presentar actividad enzimática desde normal hasta muy baja (163).

A lo largo del tiempo, los criterios diagnósticos han ido modificándose al ampliarse el conocimiento de la enfermedad. Así hasta el año 2011, se consideraba que un paciente tenía un diagnóstico de EF si cumplía los criterios de definición de paciente con EF según las guías de consenso publicadas en 2011 por la Fundación GETER (*toda persona de cualquier edad y sexo con una alteración genética y/o bioquímica de la enzima  $\alpha$ -Gal A, y con manifestaciones clínicas compatibles o susceptibilidad conocida a desarrollarlas*)(2).

Aunque en el pasado, en el caso de los varones una determinación enzimática era suficiente para diagnosticar o descartar EF, la detección en los últimos años de "seudodeficiencias" de dicha enzima (alteración D313Y GLA) que pueden generar valores reducidos en sangre de actividad enzimática, alrededor de un 40-60% de la media de controles, pero con varios síntomas clínicos asociados con la EF, sugieren que el proceso diagnóstico de EF no debe finalizar hasta que se ha detectado una mutación causal en el gen GLA (164). De ahí que actualmente el diagnóstico de la EF se confirme usando una combinación de test bioquímicos y moleculares (165). Cuando una mutación específica en el gen GLA ha sido detectada en un probando, puede ser usada para el diagnóstico en cascada del resto de familiares. Aunque la patogenicidad de algunas mutaciones del gen GLA están claramente relacionadas, algunos sujetos identificados en el despistaje familiar en ocasiones presentan mutaciones o variantes de significado incierto, de ahí que en 2014 se haya publicado unas recomendaciones europeas para adultos con HVI y con dichas mutaciones, de cara a orientar el diagnóstico definitivo (18).

El Grupo Europeo de Trabajo en la EF publicó recientemente unos criterios diagnósticos para el diagnóstico definitivo de EF (166):

**-En varones:**

Mutación GLA

+

déficit actividad de  $\alpha$ -Gal A en leucocitos  $\leq 5\%$  del valor normal de referencia

+

A o B o C

A:  $\geq 1$  signo/síntoma característico de la EF (crisis de dolor neuropático, cornea verticillata o angioqueratoma).

B: valores elevados de liso-Gb3 en plasma.

C: un familiar con diagnóstico definitivo de EF que sea portador de la misma mutación.

**-En mujeres:**

Mutación GLA

+

actividad normal o disminuida de  $\alpha$ -Gal A en leucocitos  $\leq 5\%$  del valor normal de referencia

+

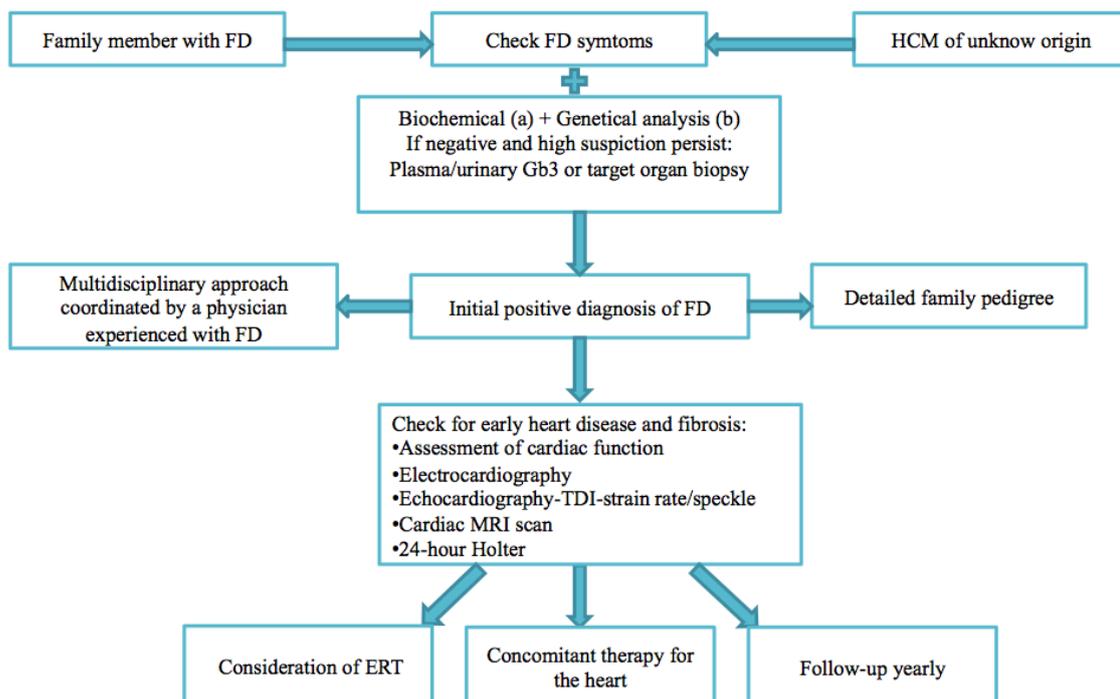
A o B o C

A:  $\geq 1$  signo/síntoma característico de la EF (crisis de dolor neuropático, cornea verticillata o angioqueratoma).

B: valores elevados de liso-Gb3 en plasma.

C: un familiar con diagnóstico definitivo de EF que sea portador de la misma mutación.

De ahí que el cardiólogo u otros especialistas puedan enfrentarse a una sospecha de EF desde diferentes situaciones clínicas tal y como se resume en el siguiente gráfico elaborado por nuestro grupo de trabajo (Figura 12):



**Figura 12. Algoritmo para el diagnóstico y estudio del paciente con sospecha de EF, centrado en el papel del cardiólogo.** a. Actividad de  $\alpha$ -Gal A en plasma/leucocitos o actividad enzimática en sangre seca sobre papel de filtro. b. Análisis del gen GLA o mutación familiar específica si se ha detectado previamente. FD, Fabry Disease; HCM, hypertrophic cardiomyopathy; Gb3, globotriaosylceramide; TDI, Tissue Doppler Imaging; MRI, magnetic resonance imaging.

### 1.8 Tratamiento: la importancia del inicio precoz

El tratamiento actual de la EF se basa en la administración intravenosa de preparaciones que contienen la enzima recombinante  $\alpha$ -Gal A cada dos semanas durante toda la vida del paciente. Se han desarrollado dos diferentes preparaciones de la enzima, una de ellas es la enzima agalsidasa alfa que es producida en una línea celular humana inmortalizada, mientras que la otra, la agalsidasa beta, es producida en una línea celular de ovario de hámster chino. Ambas preparaciones están disponibles para el tratamiento de la EF en Europa desde el año 2001. Las dos formas de TSE tienen idénticas secuencias de aminoácidos, pero con un patrón diferente de glicosilación debido a los diferentes cultivos celulares utilizados en su producción, lo que puede influenciar la biodistribución, captación celular, estabilidad y potencial de inmunogenicidad de

cada fármaco (167). Ambos fármacos se administran de manera intravenosa cada 2 semanas aunque con diferente dosis del fármaco, tiempo de dosificación y necesidad de pretratamiento por la presencia de reacciones adversas leves con la infusión (168)(167).

Los datos iniciales disponibles en los diferentes ensayos de corta duración objetivaban un aclaramiento de los depósitos endoteliales a nivel renal, de la piel y del corazón, así como una reducción de las crisis de dolor y de la HVI (169)(170) una mejoría de los síntomas como la hipohidrosis (171), audición y sensibilidad (172), alteraciones gastrointestinales (173) y la perfusión cerebral (174), así como una reducción de la progresión del daño renal, especialmente en pacientes sin enfermedad avanzada (175).

En relación con la afectación cardíaca, el TSE ha demostrado mejorar la conducción eléctrica del corazón reduciendo la duración del QRS (169)(176) y reducir significativamente los depósitos de Gb3 a este nivel (170)(157)(177). Ambas preparaciones han demostrado reducir la masa del VI en pacientes con HVI en estudios con ecocardiografía y RM cardíaca (178)(179)(180)(181). También se ha demostrado que los pacientes que eran capaces de normalizar los grosores parietales, mejorar los parámetros ecocardiográficos (*strain* y *SR*) así como la capacidad de ejercicio con el tratamiento en este caso con beta agalsidasa eran aquellos con HVI leve y sin fibrosis en la RM cardíaca. Por el contrario, los pacientes con fibrosis miocárdica leve tenían una mínima mejoría y aquellos con fibrosis severa no mostraban ningún beneficio (89).

Actualmente están apareciendo nuevos datos sobre eventos clínicos y mortalidad a largo plazo en pacientes que comenzaron con el tratamiento en una fase más o menos precoz de la enfermedad. En un estudio recientemente publicado se ha objetivado que los pacientes en tratamiento con agalsidasa beta estaban en un 81% libres de eventos adversos severos (diálisis, trasplante renal, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca, procedimientos cardiológicos relevantes, ictus o muerte) tras 10 años de tratamiento, siendo la supervivencia del 94% (182). Además, los pacientes que iniciaron el tratamiento siendo más jóvenes y con menor daño renal fueron los que más se beneficiaron del tratamiento. De forma similar, los que empezaron el tratamiento más tarde (sobre

los 40 años) tuvieron un incremento de los espesores ventriculares respecto a aquellos que lo empezaron por debajo de los 40 años, que no tuvieron cambios en los espesores.

En otro estudio retrospectivo en un único centro, con pacientes que habían recibido agalsidasa alfa durante 10 años, se objetivó una mejoría en la clase funcional en al menos un grado en 22 de 42 pacientes y la angina se estabilizó o mejoró en 41 de ellos. Durante este tiempo, ningún paciente sin HVI la desarrolló y además los varones con HVI previa al inicio del tratamiento redujeron la masa ventricular durante el seguimiento, no así las mujeres (183).

Por último, también se han publicado datos que intentan comparar los registros a largo plazo de pacientes tratados con TSE durante 5 años con la historia natural de los pacientes no tratados de las diferentes series publicadas. Se ha visto un empeoramiento más lento de la función renal así como una progresión más lenta de la HVI en los pacientes que recibían agalsidasa alfa respecto a los que no habían sido tratados y además los eventos clínicos ocurrían también más tarde (riesgo del 16% vs. 45% de un evento compuesto de morbilidad tras 24 meses de tratamiento) (184). Recientemente se han publicado dos estudios más que han utilizado un grupo de controles históricos como elemento de comparación tanto con agalsidasa alfa como beta. Ambos estudios mostraron modesta eficacia a largo plazo del TSE en la prevención de eventos clínicos. En ambos trabajos, el grupo de pacientes que recibieron TSE presentaban, en el momento de inicio del tratamiento, afectación orgánica importante sobre todo a nivel renal, lo cual pone de relieve otra vez la importancia de iniciar el tratamiento en fases precoces (185)(186).

Todos estos resultados, sobre todo los más recientes y a largo plazo, resaltan la importancia de iniciar el TSE en la EF en un estado prefibrótico, para conseguir la regresión o estabilización de los cambios estructurales y funcionales que ocurren asociados a esta enfermedad y la mejoría clínica de los pacientes. De ahí la importancia de la búsqueda de nuevos marcadores, humorales o mediante técnicas de imagen que nos ayuden a detectar la EF en ese estadio más precoz (13).

Con el uso del procedimiento de Delphi adaptado, un panel de consenso formado por expertos europeos en EF deliberó sobre las recomendaciones para el inicio y cese del TSE, plasmando en un documento las principales recomendaciones, basadas en la evidencia y la práctica actual (166). Este documento fue publicado en 2015 y según sus recomendaciones, el TSE debe iniciarse:

- En los pacientes varones con afectación clásica tan pronto como existan signos clínicos precoces de afectación renal, cardíaca o cerebral, dolor neuropático o síntomas gastrointestinales (nivel de recomendación I), pero puede considerarse también en pacientes mayores de 16 años en ausencia de dichos signos (nivel de recomendación IIB).

-En las pacientes mujeres con la forma clásica y los varones que tienen la forma no clásica de la enfermedad, tan pronto como existan signos clínicos precoces de afectación renal, cardíaca o cerebral (nivel de recomendación I).

-En las pacientes mujeres con la forma no clásica puede considerarse si los signos clínicos son debidos a la EF (nivel de recomendación IIB).

En la siguiente tabla se resumen los criterios de consenso específicos por órgano para el inicio del TSE, recogidos en dicho documento:

	No signos o síntomas	Renal	Cardiaco	Sistema Nervioso Central	Dolor	Gastrointestinal
EF clásica, varones	≥ 16 años (Clase IIB)	- Microalbuminuria (Clase I) - Proteinuria (Clase I) - Insuficiencia renal (TGF: 60-90) (Clase I) - Insuficiencia renal (TGF: 45-60) (Clase IIB)	- HVI (Grosor > 12 mm) con mínima fibrosis (Clase I) - Alteración ritmo cardiaco (Clase I)	- LSB (Clase IIB) - AIT/ACV (Clase IIA) - Pérdida auditiva (corregida por edad) (Clase IIB)	- Dolor neuropático (Clase IIA) - Dolor neuropático controlado con medicación (Clase IIB)	- < 16 años (Clase IIA) - > 16 años (Clase IIB)
EF atípica, varones		- Microalbuminuria (Clase I) - Proteinuria (Clase I) - Insuficiencia renal (TGF: 60-90) (Clase IIA) - Insuficiencia renal (TGF: 45-60) (Clase IIB)	- HVI (Grosor > 12 mm) con mínima fibrosis (Clase I) - Alteración ritmo cardiaco (Clase I)	- LSB (Clase IIB) - AIT/ACV (Clase IIA) - Pérdida auditiva (corregida por edad) (Clase IIB)	- Dolor neuropático (Clase IIA) - Dolor neuropático controlado con medicación (Clase IIB)	- < 16 años (Clase IIA) - > 16 años (Clase IIB)
EF clásica, mujeres		- Microalbuminuria (Clase IIB) - Proteinuria (Clase IIB) - Insuficiencia renal (TGF: 60-90) (Clase IIA) Insuficiencia renal (TGF: 45-60) (Clase IIB)	- HVI (Grosor > 12 mm) con mínima fibrosis (Clase I) - Alteración ritmo cardiaco (Clase I)	- LSB (Clase IIB) - AIT/ACV (Clase IIA) - Pérdida auditiva (corregida por edad) (Clase IIB)	- Dolor neuropático (Clase IIA) - Dolor neuropático controlado con medicación (Clase IIB)	- < 16 años (Clase IIA) - > 16 años (Clase IIB)
EF atípica, mujeres		- Microalbuminuria (Clase IIB) - Proteinuria (Clase IIB) - Insuficiencia renal (TGF: 60-90) (Clase IIB) Insuficiencia renal (TGF: 45-60) (Clase IIB)	- HVI (Grosor > 12 mm) con mínima fibrosis (Clase I) - Alteración ritmo cardiaco (Clase I)	- LSB (Clase IIB) - AIT/ACV (Clase IIA) - Pérdida auditiva (corregida por edad) (Clase IIB)	- Dolor neuropático (Clase IIA) - Dolor neuropático controlado con medicación (Clase IIB)	- < 16 años (Clase IIA) - > 16 años (Clase IIB)

**Tabla 3. Criterios de consenso específicos para el inicio del TSE según el órgano afectado en los pacientes con EF (adaptado de Biegstraaten M. et al (166)).** ACVA: accidente cerebrovascular agudo; AIT: accidente isquémico transitorio; EF: enfermedad de Fabry; TGF: tasa glomerular de filtrado; HVI: hipertrofia ventricular izquierda; LSB: lesiones de sustancia blanca.





## **JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS**

---



## 2.1 Justificación del estudio

En los últimos años se ha experimentado un gran avance en el conocimiento de la EF, tanto en el campo de su fisiopatología como en el de la genética y en el de las pruebas diagnósticas disponibles para la detección de la afectación orgánica, especialmente la cardíaca. Los biomarcadores se perfilan como una herramienta sencilla de detección de afectación cardíaca en la EF y diferentes estudios en los últimos años han objetivado que se encuentran elevados en los pacientes con EF, siendo estos valores mayores en aquellos que ya presentan afectación cardíaca en las técnicas de imagen. También, desde la disponibilidad desde hace ya 15 años del TSE, se ha demostrado en los análisis de riesgo que los pacientes que comienzan el tratamiento a edades más avanzadas y en estadios más avanzados de enfermedad, tienen menor probabilidad de presentar una buena respuesta al tratamiento, de ahí que sea de vital importancia el inicio de esta terapia precozmente para detener el progreso de la enfermedad. No obstante, en base a las últimas recomendaciones publicadas, únicamente existe un grado de recomendación I para el inicio del tratamiento en el caso de que exista evidencia de afectación orgánica, contemplándose un inicio del tratamiento en pacientes sin evidencia de enfermedad únicamente en el caso de varones con la forma clásica, pero el grado de evidencia que se le otorga es IIB. En el caso de la afectación cardíaca se debería iniciar tratamiento cuando se objetiva HVI o alteraciones en el ECG, ambas atribuibles al depósito de Gb3. Puesto que este depósito es progresivo y constante, disponer de una herramienta de diagnóstico no invasiva y sencilla como es la determinación de biomarcadores en sangre, nos permitiría el diagnóstico precoz de afectación del miocardio en la etapa prefibrótica, cuando el inicio del tratamiento ofrece mejores resultados. Uno de los motivos más importantes para desarrollar este trabajo es la falta de estudios que finalmente avalen el uso de dichos biomarcadores como herramienta de detección precoz e inicio del TSE en la EF. Pretendemos aportar información relevante acerca de nuevos biomarcadores que puedan ser utilizados en el marco de dicha enfermedad y cuál de ellos podría ser el más rentable a la hora del diagnóstico de afectación cardíaca.

## 2.2 Hipótesis principal

La concentración de los biomarcadores de diferentes vías fisiopatológicas (hs-TnT, NT-proBNP, Gal-3, IL-6 y BTP) determinados en sangre periférica en pacientes con EF se asocian con la existencia de afectación cardíaca y podrían ser una herramienta útil en la predicción temprana de afectación cardíaca.





## **OBJETIVOS**

---



## 2. OBJETIVOS

### Objetivos principales

1. Estudiar la concentración de los distintos biomarcadores de diferentes vías fisiopatológicas (hs-TnT, NT-proBNP, Gal-3, IL-6 y BTP) determinados en sangre periférica en una población de pacientes diagnosticados de EF:
  - 1.1 Determinar si existen diferencias en las concentraciones de los biomarcadores estudiados entre pacientes con EF con y sin afectación cardíaca.
  - 1.2 Determinar si existen diferencias en las concentraciones de los biomarcadores estudiados entre pacientes con EF con afectación cardíaca y controles sanos.
  - 1.3 Determinar si existen diferencias en las concentraciones de los biomarcadores estudiados entre los pacientes con EF sin afectación cardíaca y controles sanos.
2. Estudiar la capacidad predictiva de los biomarcadores para afectación cardíaca y su utilidad clínica:
  - 2.1 Establecer puntos de corte para afectación clínica global evaluada con la escala de afectación validada MSSI.
  - 2.2 Evaluar la asociación de los puntos de corte seleccionados para cada biomarcador con la existencia de afectación cardíaca.
  - 2.3 Analizar el rendimiento o capacidad diagnóstica de dichos biomarcadores para el diagnóstico precoz en los pacientes con EF sin afectación cardíaca.
3. Analizar la asociación de los distintos biomarcadores estudiados con el grado de afectación orgánica evaluada mediante las diferentes subescalas MSSI.





## **MATERIAL Y METODOS**

---



## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 Diseño del estudio

Para alcanzar los objetivos del trabajo de Tesis Doctoral se diseñó un estudio descriptivo transversal multicéntrico en una cohorte de pacientes con diagnóstico genético de EF. Se consideró en aquel momento que un paciente tenía un diagnóstico de EF si cumplía los criterios de definición de paciente con EF según las guías de consenso publicadas en 2011 por la Fundación GETER (*toda persona de cualquier edad y sexo con una alteración genética y/o bioquímica de la enzima  $\alpha$ -Gal A, y con manifestaciones clínicas compatibles o susceptibilidad conocida a desarrollarlas*) (2).

Todos los pacientes se valoraron clínicamente mediante entrevista y revisión de su historia clínica. En todos se evaluó la función renal mediante la revisión de los resultados de las analíticas previas, así como la afectación cardíaca mediante la valoración del ECG y ecocardiografía y a todos se les realizó una extracción de sangre venosa para la determinación de los biomarcadores hs-TnT, NT-proBNP, Gal-3, IL-6 y BTP.

El análisis de las muestras de suero y plasma para la determinación de biomarcadores se realizó en el laboratorio del Instituto Murciano de Investigaciones Biosanitarias Virgen de la Arrixaca de Murcia (IMIB-Arrixaca).

Para la comparación de la muestra de pacientes se utilizó un grupo control de voluntarios sanos apareados por edad y sexo.

### 4.2 Ámbito

Se incluyeron todos los pacientes diagnosticados de EF mediante análisis genético que se encontraban en seguimiento en Unidades de Cardiopatía Familiares o consultas de cardiología o nefrología en 3 hospitales españoles: Hospital General Universitario de Alicante (HGUA), Hospital General de Elda (HGE) y Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia (HCUVA). La inclusión de pacientes se realizó entre el 5 de mayo de 2012 y el 25 de junio de 2014.

### 4.3 Población de estudio

Pacientes con diagnóstico de EF mediante análisis genético que estaban en seguimiento en las Unidades de Cardiopatía Familiares o consultas de cardiología o nefrología en los 3 centros incluidos:

- **Criterios de inclusión:**

1. Pacientes hombres y mujeres mayores de 16 años que estén diagnosticados de EF mediante análisis genético que demuestre presencia de una mutación en el gen GLA previamente asociada con el desarrollo de EF.
2. Disponibilidad de una muestra sanguínea para la medición de biomarcadores.
3. Firma de consentimiento informado para la realización de exploración y pruebas complementarias, así como participación en el estudio.

- **Criterios de exclusión:**

1. Pacientes menores de 16 años.
2. Rechazo del paciente a participar en el estudio.
3. Imposibilidad de trasladarse al centro hospitalario de referencia para la entrevista, pruebas complementarias y extracción de muestra sanguínea.
4. Pacientes portadores de algún polimorfismo en el análisis genético que pueda estar en relación con el desarrollo de la enfermedad pero que no haya sido demostrada su asociación o no haya sido descrita previamente en la literatura.
5. Muestra sanguínea insuficiente o de calidad insuficiente para su procesado.
6. Paciente con insuficiencia renal terminal en hemodiálisis crónica que pudiera interferir en los valores de los biomarcadores.

7. Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia, donde embarazo se define como el estado de una mujer después de la concepción y hasta que finalice la gestación.
8. Antecedentes de cáncer de cualquier órgano, tratado o no tratado, durante los últimos 5 años, independientemente de que existan o no pruebas de recurrencia local o metástasis.
9. Pacientes con enfermedad inflamatoria sistémica crónica o con proceso infeccioso activo en el momento de la extracción de la muestra.
10. Síndrome coronario agudo, accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio, cirugía cardíaca o carótida u otra intervención vascular mayor, intervención coronaria percutánea o angioplastia de carótida los tres meses previos a la inclusión y obtención de la muestra.

#### **4.3.1 Clasificación de la muestra en dos subgrupos**

A partir de la cohorte global con todos los pacientes incluidos, se crearon dos subgrupos: i) uno formado por aquellos pacientes con diagnóstico genético de EF y con afectación cardíaca considerando como tal la presencia de HVI (definida como un grosor parietal máximo del VI mayor o igual a 13 mm) y/o la existencia de alteraciones típicas en el ECG (presentar al menos una de las siguientes alteraciones:  $PR < 120$  o  $> 200$  ms,  $QRS > 120$  ms, el cumplir el criterio de HVI, la inversión de la onda T en más de una derivación diferente a V1 y aVR, así como el antecedente de arritmia significativa como fibrilación o flutter auricular o taquicardia ventricular) y ii) otro subgrupo de pacientes con el diagnóstico genético de EF pero sin afectación cardíaca.

#### **4.3.2 Grupos control**

Para realizar la comparación de los datos analíticos de los pacientes con EF con la población sana, se incluyó un grupo control con sujetos voluntarios sanos reclutados a partir del personal del hospital y estudiantes. Estos sujetos no tenían relación con las familias del paciente del estudio, todos eran sanos y

seleccionados para no mostrar diferencias por edad y sexo para cada grupo de pacientes anteriormente descritos y a todos se le realizó una extracción de muestra sanguínea venosa siguiendo el protocolo del estudio y un cuestionario para descartar posibles antecedentes de cardiopatía o nefropatía, así como sobre sus factores de riesgo cardiovascular.

#### **4.4 Tamaño de la muestra**

Al tratarse de una enfermedad rara de baja prevalencia y con un número limitado de pacientes disponibles en el ámbito geográfico de nuestra población, no se realizó un cálculo de tamaño muestral. Debido a las limitaciones propias derivadas de este esperado bajo número de pacientes, se propuso incluir todos los pacientes que cumplieran los criterios diagnósticos.

#### **4.5 Extracción, procesamiento y conservación de las muestras**

Se extrajeron muestras de sangre de los pacientes, sin traumatismo ni estasis, a primera hora de la mañana, tras 12 horas de ayuno y en reposo, de la vena antecubital. Se obtuvieron muestras de plasma citratado y suero tras la centrifugación a 3500 rpm durante 15 minutos. Las muestras se almacenaron a -80 °C en los distintos hospitales, hasta un análisis posterior.

#### **4.6 Biomarcadores analizados**

Para los objetivos de esta tesis como se ha comentado previamente, se contó con la medición de la concentración de hs-TnT, NT-ProBNP, Gal-3, IL-6 y BTP, en la muestra de sangre venosa extraída al paciente. Las concentraciones de cada biomarcador se determinaron mediante los siguientes analizadores:

-hs-TnT: Test inmunológico in vitro Elecsys TropT hs mediante inmunoensayo ECLIA (electrochemiluminescence immunoassay) con inmunoanalizador Cobas® en suero (Roche Diagnostics; Mannheim, Alemania). El límite de detección fue de 3 ng/L, y los coeficientes de variación intra- e inter-análisis fueron 1,4% y 2,4%, respectivamente.

-NT-proBNP: Test inmunológico Roche CARDIAC proBNP+ con inmunoanalizador Cobas® en suero (Roche Diagnostics; Mannheim, Alemania).

El límite de detección fue de 5 pg/mL, y los coeficientes de variación intra- e inter-análisis fueron 1,4% y 3,5%, respectivamente.

-Gal-3: Test Vidas Galectina-3 en suero (BioMérieux; Francia), mediante técnica ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay) con analizador VIDAS®. El límite de detección fue de 2,2 ng/mL, y los coeficientes de variación intra- e inter-análisis fueron 1,6% y 6,5%, respectivamente.

-BTP: BN ProSpec® en plasma (Siemens Healthcare Diagnostics). El límite de detección fue de 0,25 mg/L, y los coeficientes de variación intra- e inter-análisis fueron 2.8% y 4.7%, respectivamente.

-IL-6: Test inmunológico in vitro Elecsys IL-6 mediante inmunoensayo ECLIA con inmunoanalizador Cobas® en suero (Roche Diagnostics; Mannheim, Alemania). El límite de detección fue de 1,5 pg/mL, y los coeficientes de variación intra- e inter-análisis fueron <2% y 4,9%, respectivamente.

En el caso de la técnica ECLIA, como ejemplo de técnica de inmunoensayo, se combina la reacción convencional Antígeno-Anticuerpo (técnica sándwich) en la superficie de una micropartícula magnética con la reacción electroquímica sobre la superficie de un electrodo para generar luminiscencia. Es un método basado en la interacción entre un quelato de rutenio y tripropilamina (TPA) sobre la superficie de un electrodo de platino. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente, y al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador. El analizador está diseñado para dar resultados mediante tecnología ECLIA. (Figura 13 y 14)

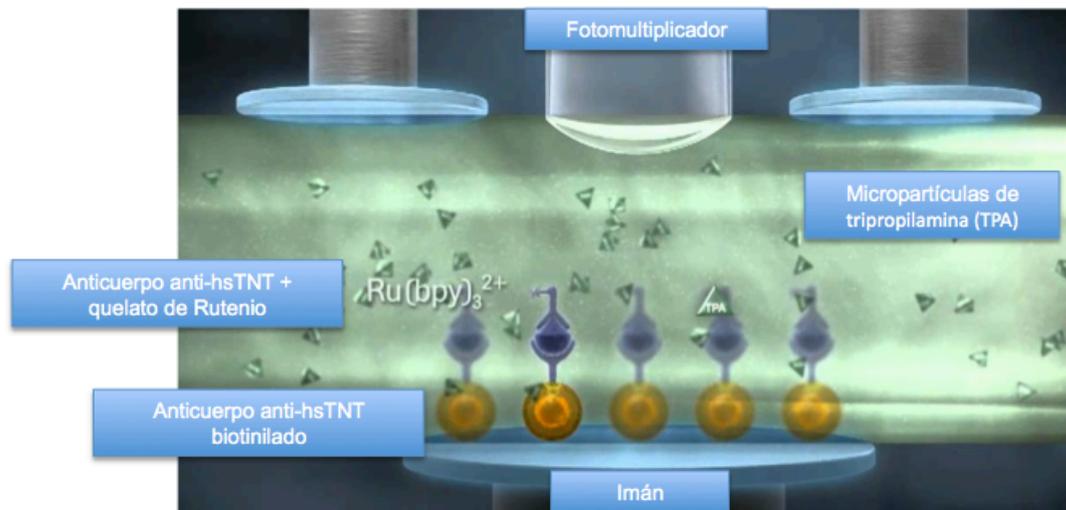


Figura 13. Técnica de inmunoensayo ECLIA (Adaptado de [www.Roche.com](http://www.Roche.com))



Figura 14. Sistema de Analizador Cobas e 411 para técnica de inmunoensayo ECLIA (Adaptado de [www.Roche.com](http://www.Roche.com))

#### 4.7 Datos demográficos, antropométricos y clínicos

El sexo y edad en años de los pacientes en el momento de la extracción de la muestra sanguínea se consignó de acuerdo con los datos de filiación de la historia clínica. La edad calculada se obtuvo a partir de la fecha de nacimiento y la fecha de la extracción. Los pacientes fueron tallados y medidos en el lugar de la extracción previamente a la realización de la prueba. El cálculo de la superficie corporal se llevó a cabo mediante la fórmula de Mosteller ( $\sqrt{[\text{altura (cm)} \times \text{peso (kg)}]/3600}$ ) (188).

Se registró dentro del protocolo habitual del manejo de estos pacientes la mutación genética identificada relacionada con la EF, la actividad enzimática residual presente, así como la edad al diagnóstico y se asignó un número para cada familia de pacientes de cada centro. También se registró las variables clínicas mediante una entrevista en el momento de la extracción así como mediante la revisión de la historia clínica de su médico responsable y resto de especialistas implicados en el seguimiento, para valorar el grado de afectación clínica y orgánica de los pacientes, tanto a nivel general (síntomas característicos de la EF) como más específicamente a nivel de la afectación renal o cardíaca, completándose en cada caso la escala de afectación en esta enfermedad (Mainz Severity Score Index (MSSI)) (Anexo I) (37). El grado de afectación de la función renal se estudió mediante los resultados de una analítica sanguínea y de orina reciente del mismo año, para medir los valores de la creatinina, aclaramiento de creatinina y albuminuria (en 24 horas si estaba disponible o en orina aleatoria estimándose el cociente albúmina/creatinina según las Recomendaciones sobre la Valoración de la Proteinuria en el Diagnóstico y Seguimiento de la Enfermedad renal crónica publicadas en 2011 (189)). Además, a partir de la historia clínica se registraron variables como la presencia de trasplante renal y fecha del mismo, así como si el paciente estaba en diálisis y fecha de inicio de la misma. También se registró si el paciente estaba con TSE, tipo y fecha de inicio del tratamiento y fin si fuese el caso.

Las variables registradas fueron:

1. Edad
2. Sexo
3. Peso
4. Talla
5. Superficie corporal (SC)
6. Mutación genética diagnóstica de la EF
7. Actividad enzimática residual
8. Antecedentes familiares de EF
9. Número de familia asignado
10. Hospital o centro de procedencia:
  - a. Hospital General Universitario de Alicante
  - b. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia
  - c. Hospital General de Elda
11. Tratamiento enzimático sustitutivo:
  - a. Fecha de inicio
  - b. Tipo de tratamiento: alfa-agalsidasa o beta-agalsidasa

12. Hipertensión arterial
13. Clase funcional de la New York Heart Association (NYHA)
14. Antecedente de fibrilación o flutter auricular
15. Resonancia magnética cardíaca realizada
16. Presencia de realce tardío con gadolinio en la RM cardíaca
17. Portador de marcapasos y fecha de implante
18. Portador de desfibrilador automático implantable y fecha de implante
19. Creatinina en sangre (mg/dL)
20. Tasa de filtrado glomerular (TFG) según la fórmula "4-variable Modification of Diet in Renal Disease" (MDRD-4) en ml/min/1.73 m<sup>2</sup>.
21. Enfermedad renal crónica durante al menos tres meses (definida según el último Documento de Consenso para la Detección y Manejo de la Enfermedad Renal Crónica de la Sociedad Española de Nefrología en 2014, como TFG<60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> ó lesión renal, definida como albuminuria (en orina de 24 horas >30 mg/24 horas o cociente albúmina/creatinina en orina aleatoria > 17 mg/g en varones y 25 mg/g en mujeres), alteraciones en el sedimento, alteraciones en técnicas de imagen o evidencia de daño en biopsia renal (190)
22. Trasplante renal y fecha del mismo
23. Diálisis y fecha de inicio y fin de la misma
24. Enfermedad cerebrovascular previa (accidente cerebrovascular (ACV) y/o accidente isquémico transitorio (AIT))

25. Angioqueratomas cutáneos
26. Afectación ocular con cornea verticilata
27. Hipoacusia y/o tinnitus
28. Acroparestesias en manos y pies (sensación de quemazón, a veces irradiado a proximal, espontáneo o exacerbado por cambios de temperatura, fiebre, estrés, alcohol o ejercicio)
29. Hipo o hiperhidrosis
30. Intolerancia al calor
31. Alteraciones gastrointestinales crónicas (diarrea episódica o dolor abdominal generalmente después de comer)
32. Hipotensión postural
33. Puntuación MSSI Global (máximo 76 puntos)
  - a. General (máximo 18 puntos)
  - b. Cardiovascular (máximo 20 puntos)
  - c. Renal (máximo 18 puntos)
  - d. Neurológico (máximo 20 puntos)

#### 4.8 Datos Electrocardiográficos

Se revisó el ECG de 12 derivaciones estándar (25 mm/s y 10 mm/mV) más reciente de ese mismo año en cada uno de los pacientes a partir de la historia clínica. En caso de no tener ningún ECG se realizó un ECG en el mismo momento de la evaluación. En caso de ser pacientes portadores de marcapasos o en TSE, se registró también el último ECG realizado previo al implante del marcapasos o inicio del TSE.

Las variables registradas fueron:

1. Ritmo ECG actual:

a. Ritmo sinusal

b. Fibrilación auricular o flutter auricular

c. Ritmo ventricular estimulado por marcapasos

2. Duración intervalo PR (ms)

3. Duración intervalo QRS (ms)

4. Duración intervalo QT corregido (QTc) (ms)

5. Alteraciones de la conducción intraventricular:

a. Bloqueo completo de rama izquierda del haz de His (BCRIHH)

b. Bloqueo completo de rama derecha del haz de His (BCRDHH)

c. Hemibloqueo anterior izquierdo (HBAI)

d. Hemibloqueo posterior izquierdo (HBPI)

e. BCRDHH + HBA

f. BCRDHH + HBP

g. Ninguna

6. Alteraciones de la conducción aurículo-ventricular:

a. Bloqueo aurículo-ventricular (BAV) de 1° grado

b. BAV de 2° grado Mobitz I

c. BAV de 2° grado Mobitz II

d. BAV de 3° grado

e. Ninguna

7. Hipertrofia ventricular izquierda por criterio ECG de Estes-Romhilt (192).

Criterio de HVI: puntuación mayor o igual a 5 puntos.

8. Antecedente de taquicardia ventricular.

9. Antecedente de FA o flutter auricular.

10. Onda T negativa en más de una derivación diferente a aVR ó V1.

Se consideraron anormales una duración del QRS > a 120 ms, un intervalo PR < 120 ó > 200 ms, el cumplir el criterio de HVI Estes-Romhilt, las alteraciones

en la repolarización características como la inversión de la onda T en más de una derivación diferente a aVR ó V1, así como el antecedente de arritmia significativa como fibrilación o flutter auricular o taquicardia ventricular.

#### 4.9 Medidas ecocardiográficas convencionales

El ecocardiograma transtorácico se realizó con el paciente en decúbito lateral izquierdo empleando un equipo de imagen por ultrasonidos iE33 (Philips Medical System, Andover, Massachusetts, Estados Unidos) equipado con una sonda sectorial X5-1 para la adquisición de todas las modalidades de la imagen. Todos los estudios fueron realizados por un mismo cardiólogo especialista en ecocardiografía avanzada en el mismo periodo de la evaluación clínica y de la extracción de muestras sanguíneas.

Para la medida de las dimensiones lineales del VI se emplearon las imágenes bidimensionales del eje largo obtenidas desde una ventana paraesternal. Empleando la técnica de primer eco al primer eco se midió manualmente (a nivel del extremo de los velos mitrales en su máxima apertura) el espesor del septo interventricular (SIV), pared posterior o ínferolateral del VI (PPVI) y los diámetros telediastólico (DTDVI) y telesistólico del VI (DTSVI) (193). La masa del VI en gramos indexada por SC se calculó mediante el método lineal a partir de los diámetros y espesores ventriculares con la fórmula  $Masa\ VI = 0.8 \times [1.04 \times (SIV + DTDVI + PP)^3 - DTDVI^3] + 0.6$  (193) (194). También se realizó una descripción y clasificación del tipo de HVI caracterizándola como concéntrica, asimétrica o apical según la distribución de los grosores parietales (195). La fracción de eyección del VI (FEVI) se midió con método Simpson biplano (apical cuatro y dos cámaras) (193). Las dimensiones de la aurícula izquierda (AI) fueron calculadas a través del diámetro ánteroposterior de la AI medido en el plano paraesternal eje largo y a través del volumen de la AI (VAI) medido por el método Simpson biplano (apical cuatro y dos cámaras) (193). Tanto los volúmenes del VI como de la AI se indexaron por SC. Respecto al VD, se valoró su función sistólica mediante la medición del desplazamiento sistólico del anillo tricúspide (TAPSE) y se midió a partir del plano apical de 4 cámaras con el cursor de modo M alineado sobre la dirección del anillo tricúspide lateral,

de acuerdo a las recomendaciones actuales (193). Mediante estudio con Doppler pulsado de las velocidades de flujo transmitral en diástole se estudió el flujo de llenado del VI en la vista apical de cuatro cámaras. Con la ayuda de la imagen del Doppler-Color se orientó el haz de Doppler con la dirección del flujo y se situó un volumen de muestra de 1 a 4 mm al nivel del extremo de los velos de la válvula mitral. El espectro Doppler se obtuvo con una velocidad de barrido de 50-75 mm/s, con el ajuste de filtros y ganancias para obtener la mejor definición de las ondas protodiastólica (onda E) y telediastólica (onda A) de llenado transmitral, estimándose así tanto la relación E/A como el tiempo de desaceleración de la onda E (196). Si el paciente estaba en FA, se estimó la velocidad de la onda E promediada de cinco ciclos. Otro parámetro que se midió como parte de la evaluación de la función diastólica del VI fue el ratio entre el flujo transmitral protodiastólico (onda E) y el pico precoz de velocidad con Doppler tisular (ratio E/e') septal, lateral y promediado. Para ello se empleó un plano apical cuatro cámaras situando un volumen de muestra de 5-10 mm en la porción septal y lateral del anillo mitral y con una velocidad de barrido de 50-75 mm/s se registró la velocidad de desplazamiento del anillo mitral en todo el ciclo cardíaco. Se midieron así las velocidades máximas de la onda sistólica (s') y de las ondas prodiastólica (e') y telediastólica (a') (196). Con la imagen en Doppler color, se posicionó el sector a nivel de las válvulas mitral, aórtica, tricúspide y pulmonar y se registraron aquellos casos de insuficiencias moderadas o severas, tras estudiar su severidad de acuerdo a las directrices de las últimas guías de la Sociedad Europea de Imagen Cardiovascular (197). También con la imagen en modo Doppler color a nivel de la válvula tricúspide se orientó el haz de Doppler continuo con la dirección del flujo de la insuficiencia tricúspide y se obtuvo la curva Doppler y se midió la velocidad máxima de la insuficiencia tricúspide. A partir de ella se estimó la presión sistólica de la arteria pulmonar utilizando la ecuación de Bernoulli simplificada y sumándole la presión de la aurícula derecha estimada a partir de la anchura y el colapso inspiratorio de la vena cava inferior (198).

#### 4.10 Cronograma

La primera fase de reclutamiento y selección de los pacientes candidatos en los tres centros la llevaron a cabo los responsables de las unidades de Cardiopatías Familiares de dichos centros: el Dr. Vicente Climent del HGUA, el Dr. Juan Ramón Gimeno y el Dr. Gonzalo de la Morena en el HCUVA y la Dra. Marina Martínez del HGE.

En la segunda fase se citaron a los pacientes según su revisión prevista proponiéndosele en ese momento la participación o se les llamó telefónicamente para intentar concertar una cita en su hospital de referencia explicándoles el motivo de la llamada si no tenían una revisión prevista en los meses venideros. El doctorando supervisó la recogida de datos demográficos, clínicos y analíticos, realización del cuestionario clínico del paciente, realización del ECG en los casos necesarios, realización de ecocardiografía reglada con equipos similares tal y como se ha descrito, así como obtención de muestras sanguíneas para la determinación de biomarcadores en último lugar según protocolo. Posteriormente se realizó el procesamiento de las muestras obtenidas en el Departamento de Investigación del HGUA según protocolo previamente descrito y se almacenó las muestras en congelador. La selección de los controles sanos se realizó atendiendo a criterios de edad y sexo de los pacientes.

La tercera etapa del postprocesado de muestras se realizó en el laboratorio del Instituto Murciano de Investigaciones Biosanitarias Virgen de la Arrixaca de Murcia (IMIB-Arrixaca), donde se remitieron vía mensajería urgente las muestras congeladas.

Finalmente, se realizó el análisis estadístico de los datos e interpretación de los resultados.

#### 4.11 Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos a partir de la historia clínica, cuestionario, estudio ecocardiográfico y datos de biomarcadores fueron introducidos en una base de datos protegida en Microsoft Access 2010. Posteriormente se procedió al volcado de los datos para su procesamiento al paquete estadístico SPSS versión 19.0 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos). La normalidad de la distribución de las variables fue valorada con el test de Kolmogorov-Smirnov. Para su descripción las variables categóricas se describieron como proporciones y las variables continuas, mediante la media  $\pm$  desviación estándar o mediana (intervalo intercuartílico), según tuvieran o no distribución normal. La comparación de dos variables cuantitativas continuas se llevó a cabo mediante la prueba t de Student para medias independientes. El supuesto de homogeneidad de varianzas se comprobó con la prueba de Levene. En el caso de que las variables no tuvieran una distribución normal se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Para la comparación de la distribución de variables cualitativas se empleó la prueba  $\chi^2$  de Pearson (con la prueba exacta de Fisher en caso de no cumplirse sus criterios de aplicabilidad). En caso de variables con datos ausentes en alguno de sus registros, se procedió al análisis con los registros con todos sus datos disponibles. La correlación entre dos variables continuas se realizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman, según fuese necesario. La comparación entre variables continuas y las diferentes variables discretas se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) o la prueba de Kruskal Wallis según estuviese indicado.

Se calculó la sensibilidad, la especificidad y las curvas ROC de las concentraciones de cada biomarcador en relación con el grado de afectación sistémica según la puntuación  $MSSI \geq 20$ . Los mejores puntos de corte (mayor sensibilidad y menor 1-especificidad) de cada biomarcador fueron elegidos según las curvas ROC. Para determinar qué variables clínicas y ecocardiográficas se asociaron con las concentraciones de los diferentes biomarcadores, se realizó un análisis univariado de regresión lineal. Las variables que tenían una  $p < 0.15$  se incluyeron en el análisis multivariado para determinar qué variables se asociaron de forma independiente con los valores de los biomarcadores. Se realizó análisis de regresión logística uni y multivariado

(con los criterios anteriormente expuestos) para evaluar la asociación independiente entre el punto de corte seleccionado previamente para cada biomarcador, así como otros parámetros clínicos y demográficos, con la existencia de afectación cardíaca.

Para la estimación de la asociación entre los subescores MSI y las concentraciones de los biomarcadores se realizó un análisis de regresión lineal.

Las estimaciones se consideraron estadísticamente significativas para el valor bilateral del riesgo  $\alpha < 0.05$ .

#### **4.12 Aspectos éticos**

La inclusión en este trabajo de los pacientes no comportó un incremento del riesgo de los mismos ni alteraciones en el seguimiento habitual de los pacientes con EF.

La recogida, tratamiento y uso de los datos requeridos para este estudio se ha realizado de acuerdo con la declaración de Helsinki (2013) (199), las normas de Buena Práctica Clínica y la legislación vigente en España relativa a este tipo de estudios observacionales (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, sobre Protección de datos de Carácter Personal y Real Decreto 1720/2007 de 21 de diciembre por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de dicha Ley) (200). El protocolo del estudio fue evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica de los hospitales de referencia de ambas áreas geográficas, que emitió un dictamen favorable (Anexo II). El acceso a los datos de la historia clínica se ha realizado guardando la más estricta confidencialidad, de forma que no se viole la intimidad personal de los participantes en el estudio. La información clínica ha sido tratada de manera anónima asignándosele un código numérico. El estudio se ha desarrollado sin interferir ni modificar los cuidados clínicos de cada uno de los casos. Las decisiones clínicas en cuanto al inicio del TSE fueron tomadas por sus médicos responsables de acuerdo a los criterios clínicos actuales, de manera independiente y ciega al resultado de las técnicas de estudio. El estudio por tanto tampoco implicó aumentar el número de revisiones clínicas ni el tipo o cantidad de exploraciones complementarias en la mayoría de los casos, ya que se intentó realizar la evaluación de los pacientes según sus citas concertadas previamente o aprovechando el día que acudían para realizar su revisión

habitual. Todos los pacientes otorgaron su consentimiento por escrito para la inclusión en el estudio (Anexo III).





## **RESULTADOS**

---



## 5. RESULTADOS

La inclusión global fue de 45 pacientes con diagnóstico de EF. Finalmente registramos 44 pacientes con diagnóstico de EF mediante análisis genético, 21 pacientes con HVI y/o alteraciones en el ECG y 23 pacientes sin HVI ni alteraciones en ECG, excluyéndose un paciente por fallecer antes de poder recoger los datos mínimos para entrar en el estudio. Se incluyeron 73 sujetos controles sin diferencias significativas en edad y sexo con los pacientes con EF, divididos a su vez en 2 subgrupos como controles de los pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, resultando 46 controles en el primer caso y 27 en el segundo. El árbol de inclusión de pacientes y controles del estudio viene representado en la figura 15.

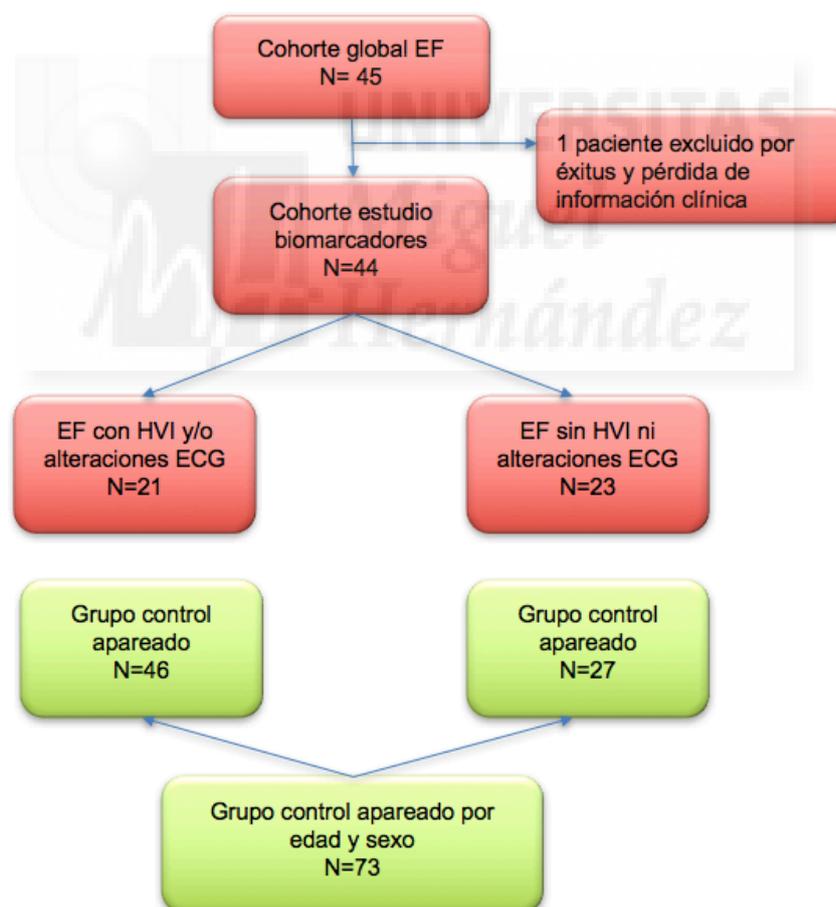


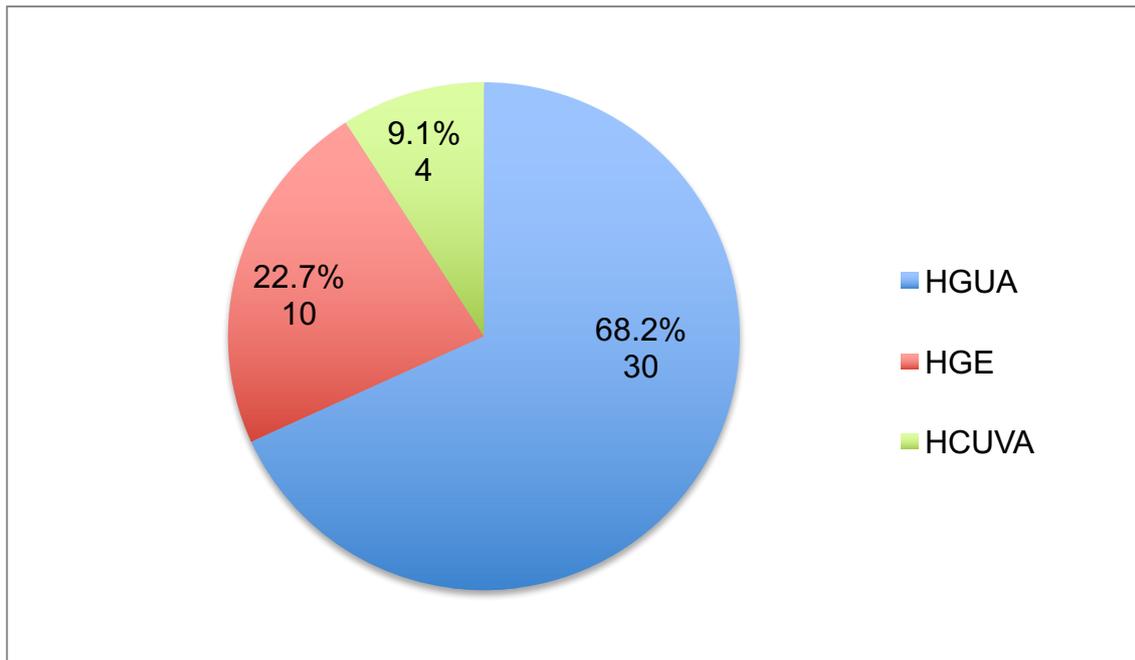
Figura 15. Árbol de inclusión de pacientes y controles del estudio

Los 44 pacientes pertenecían a un total de 11 familias, 9 de ellas en seguimiento en el HGUA, 1 en el HCUVA y 1 en el HGE. La familia con mayor número de pacientes incluidos fue la familia de HGE con un total de 10 pacientes y la familia de HGUA ALC 7 con un total de 10 pacientes. El listado de las familias y las mutaciones asociadas se describe en la tabla 4.

Familias	N	Mutación
ALC1	3	p.W226C (c.226G>T) y p.R227X (c.227C>T)
ALC2	2	p.Arg227x (c.679C>T)
ALC3	4	p.S238N (c.9091G>A)
ALC4	3	p.S238N (c.9091G>A)
ALC5	1	p.I253T(c.758T>C)
ALC6	4	c.194+39delAT
ALC7	10	g.5052_5079del28
ALC8	1	p.S238N (c.9091G>A)
ALC9	2	p.S126G (c.376A>G)
ELD1	10	p.S238N (c.9091G>A)
M1	4	p.M187R

**Tabla 4. Familias incluidas y mutaciones asociadas en cada una de ellas.** ALC: Alicante; ELD: Elda; M: Murcia; N: número de miembros de la familia.

El centro con mayor número de pacientes incluidos fue el HGUA, con un total de 30 pacientes (68.2%) y posteriormente el HGE con 10 pacientes (22.7%). En el HCUVA se incluyeron 4 pacientes (9.1%). La distribución de los pacientes según el centro de procedencia se muestra en la figura 16.

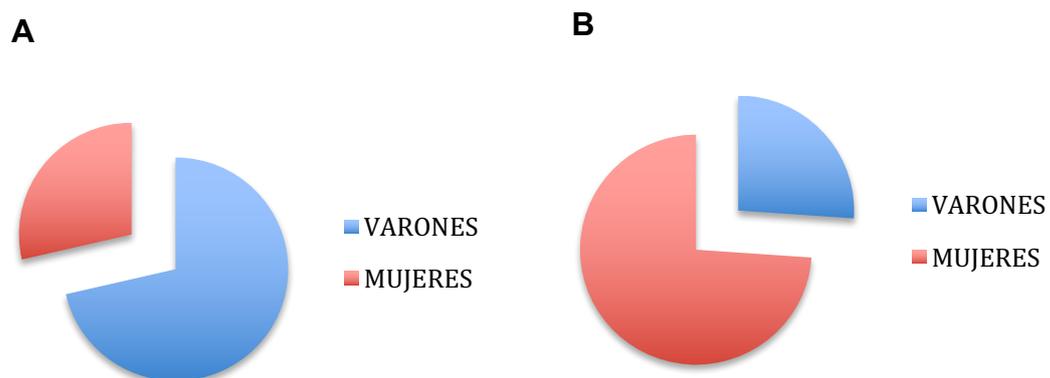


**Figura 16. Distribución de los pacientes según el centro de procedencia.** HGUA: Hospital General Universitario de Alicante; HGE: Hospital General de Elda; HCUVA: Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

### 5.1 Descripción clínica de los pacientes

Las características demográficas y clínicas de la cohorte global y de los subgrupos con y sin afectación cardíaca (definida previamente como HVI y/o alteraciones características en el ECG), se describen en la tabla 5.

La cohorte global del estudio presentó una media de edad de  $45.9 \pm 16.6$  años y contó con 21 varones y 23 mujeres. De los 44 pacientes, 21 tenían afectación cardíaca, que suponía el 47.7% de la muestra. Dentro del grupo con afectación cardíaca, el porcentaje de varones fue superior que en el grupo sin afectación cardíaca (71.4% vs. 26.1;  $p=0.006$ ), presentando además este grupo también una mayor edad (media de 52.2 vs. 39.9 años;  $p<0.008$ ) (tabla 5 y figura 17).



**Figura 17. Distribución de sexos en el grupo de pacientes.** Distribución de sexos en los subgrupos de pacientes con afectación cardíaca (A) y sin ella (B).



<b>Variab</b> les	<b>Global</b> <b>N=44</b>	<b>EF sin HVI ni</b> <b>alteraciones ECG</b> <b>N=23</b>	<b>EF con HVI y/o</b> <b>alteraciones ECG</b> <b>N=21</b>	<b>p*</b>
Edad (años)	45.9±16.6	38.4±18.3	52.2±11.4	0.004
Sexo varón [n(%)]	21 (47.7)	6 (26.1)	15 (71.4)	0.006
Peso (kg)	66.6±13.9	61.1±13.1	72.7±12.5	<0.004
Altura (m)	163 (157-173)	161(156-165)	170(159-177)	0.086
SC (m2)	1.70 (1.59-1.83)	1.65 (1.55-1.75)	1.78 (1.70-2.02)	0.007
Actividad enzimática (%)	16.5 (9-36.4)	38 (17.0-75.0)	12.5 (8.0-18.0)	0.007
TSE [n(%)]	23 (52.3)	5 (21.7)	18 (85.7)	<0.001
NYHA [n(%)]				<0.001
I	32 (72.7)	22 (95.7)	10 (47.6)	
II	11 (25)	1 (4.4)	10 (47.6)	
III	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
IV	1 (2.3)	0 (0.0)	1 (4.8)	
HTA [n(%)]	17(38.6)	6 (26.1)	11 (52.4)	0.074
Creatinina (mg/dl)	0.80 (0.68-1.00)	0.72 (0.60-0.82)	1 (0.76-1.38)	0.002
TFG (ml/min/m2)	93.7±38.3	112.1±31.2	74.5±36.1	0.001
Enfermedad renal [n(%)]	15 (35.7)	2 (9.5)	13 (61.9)	0.001
Albuminuria [n(%)]	14 (37.8)	2 (10.5)	12 (66.8)	0.001
CAC (mg/g)	6.00 (1.50-31.00)	3.55 (1.40-7.40)	31.00 (3.00-159.00)	0.015
Trasplante renal [n(%)]	4 (9.1)	0 (0.0)	4 (19.1)	0.044
ACV o AIT [n(%)]	5 (11.4)	1 (4.4)	4 (19.1)	0.176
Angioqueratomas [n(%)]	3 (6.8)	0 (0.0)	3 (14.3)	0.100
Cornea verticillata [n(%)]	6 (13.6)	1 (4.4)	5 (23.8)	0.088
Acroparestesias [n(%)]	14 (31.8)	5 (21.7)	9 (42.9)	0.133
Hipoacusia [n(%)]	8 (18.2)	3 (13.0)	7 (33.3)	0.155
Hipo o hiperhidrosis [n(%)]	9 (20.5)	4 (17.4)	5 (23.8)	0.716
Intolerancia al calor [n(%)]	6 (13.6)	2 (8.7)	4 (19.1)	0.403
Hipotensión postural [n(%)]	4 (9.1)	2 (8.7)	2 (9.5)	1.000
Alteración GI [n(%)]	5 (11.4)	2 (8.7)	3 (14.3)	0.658
Concentración Liso-Gb3	3.13 (0.99-7.38)	1.56 (0.76-3.13)	5.57 (4.40-9.24)	0.003

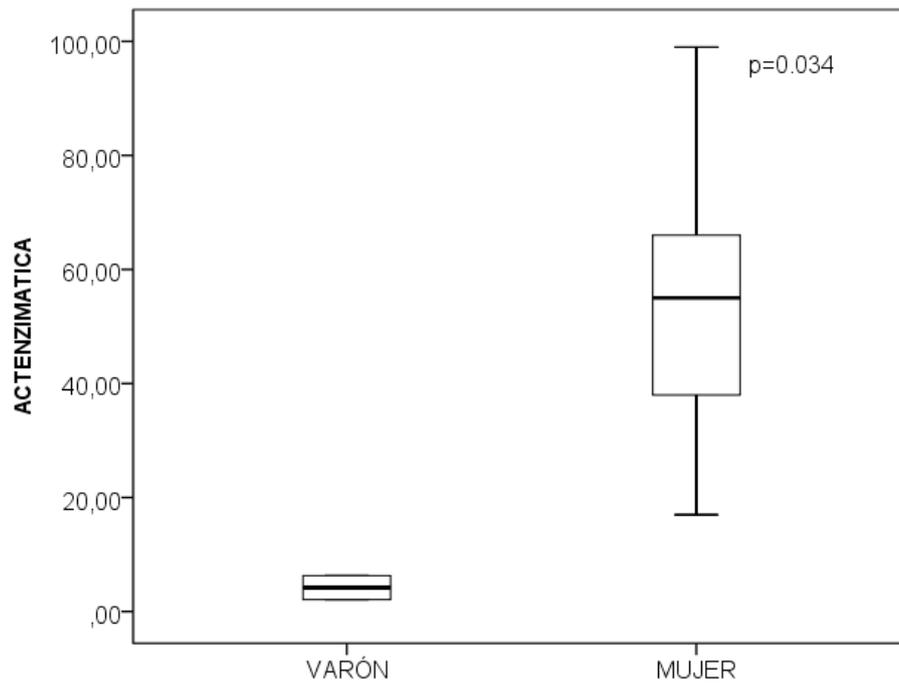
**Tabla 5. Características clínicas de la población incluida.** Las magnitudes expresan el número de pacientes y el porcentaje respecto al total de los pacientes con datos en cada variable, media y desviación estándar, o mediana y rango intercuartílico, según corresponda. \*Nivel de significación estadística de la comparación entre los subgrupos con y sin afectación cardíaca. ACV: accidente cerebrovascular; AIT: accidente isquémico transitorio; CAC: cociente albúmina/creatinina (mg/g); ECG: electrocardiograma; EF: enfermedad de Fabry; GI: gastrointestinales; HTA: hipertensión arterial; HVI: hipertrofia ventrículo izquierdo; SC: superficie corporal; TFG: tasa de filtrado glomerular; TSE: tratamiento sustitutivo enzimático.

En cuanto a las diferencias de edad por sexos, no hubo diferencias significativas en la edad de hombres respecto a mujeres en la cohorte global (44.4 vs. 47.4;  $p=0.520$ ), aunque las mujeres presentaron una mayor edad media respecto a los varones en el subgrupo con afectación cardíaca (60.5 vs. 48.9;  $p=0.034$ ), siendo esta diferencia no estadísticamente significativa en el grupo sin dicha afectación ( $p=0.160$ ).

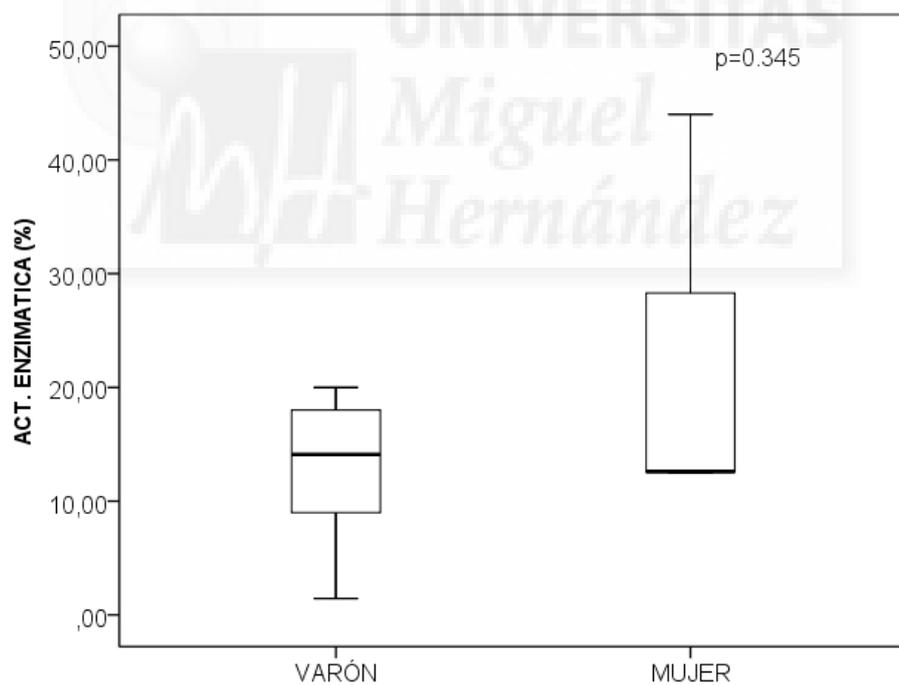
Respecto a las medidas antropométricas, entre los hombres con y sin afectación cardíaca no existían diferencias estadísticamente significativas en su superficie corporal, así como tampoco entre las mujeres con y sin dicha afectación (1.86 vs. 1.60 m<sup>2</sup>;  $p=0.098$  para varones y 1.71 vs. 1.63 m<sup>2</sup>;  $p=0.260$  para mujeres). Sí existían diferencias estadísticamente significativas respecto al peso entre los varones con y sin afectación cardíaca ( $74.3\pm 13.4$  vs.  $58.8\pm 17.3$ ;  $p=0.039$ ), no siendo estas diferencias significativas en el grupo femenino ( $p=0.230$ ).

Los pacientes con afectación cardíaca presentaron una menor actividad enzimática residual de la  $\alpha$ -Gal A en plasma que los pacientes sin afectación cardíaca (mediana de 12.5% [8.0-18.0%] vs. 38% [17.0-75.0%];  $p=0.007$ ), siendo también menor la actividad enzimática en los varones que en las mujeres tanto en la cohorte global (mediana de 10.5% [6.3-16.0%] vs. 37.2% [18.8-70.5%];  $p<0.001$ ), como en el subgrupo con afectación cardíaca (4.2% [2.1-6.3%] vs. 55% [36.4-75.0%];  $p=0.034$ ), no así en el subgrupo sin afectación (12.4% [7.4-17.0%] vs. 12.3% [12.5-20.6%];  $p=0.345$ ) (figura 18).

A.



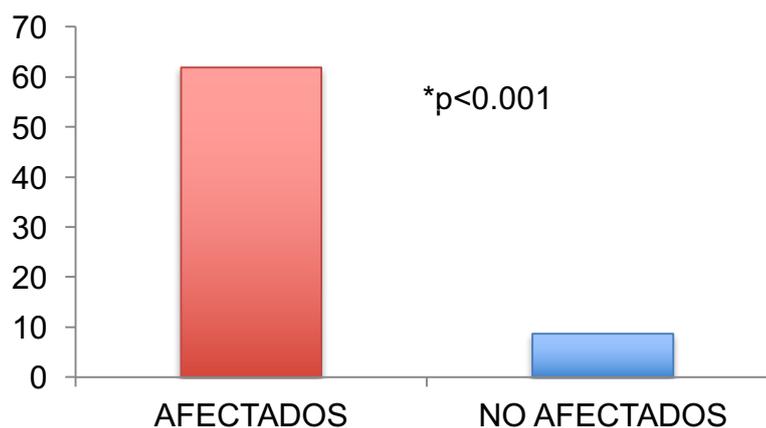
B.



**Figura 18. Actividad de la  $\alpha$ -Gal A según el tipo de paciente y sexo:** Actividad enzimática según el sexo en los pacientes con afectación cardíaca (A) y sin ella (B).

Los pacientes con afectación cardíaca presentaron una clara tendencia a una mayor prevalencia de hipertensión arterial (HTA) que aquellos sin HVI, pero sin alcanzar la significación (52.4% vs. 26.1%;  $p=0.074$ ). Sí presentaron una peor clase funcional evaluada mediante la escala NYHA. De los pacientes con afectación cardíaca, 10 (47.6%) estaban en CF I y otros 10 en CF II de la NYHA, estando el paciente restante en CF IV de la NYHA (4.8%). Por el contrario, la gran mayoría de los pacientes sin afectación cardíaca (95.7%) estaban en CF I de la NYHA y sólo 1 paciente (4.4%) estaba en CF II de la NYHA. No se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de hipertensos en varones respecto a mujeres (52.9% vs. 47.1%;  $p=0.583$ ) ni en cuanto a la clase funcional según el sexo del paciente ( $p=0.225$ ).

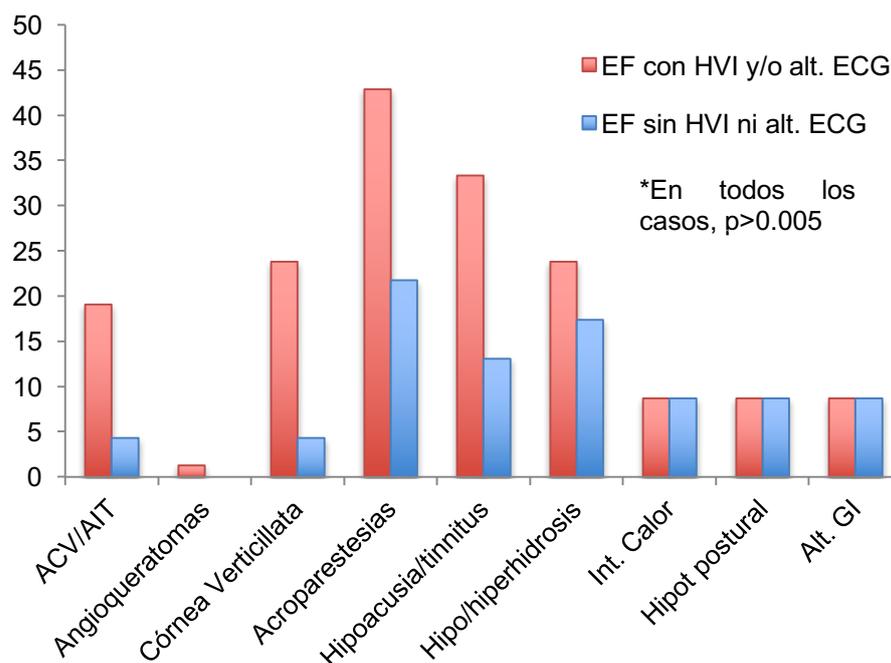
Respecto a la afectación renal 13 de los pacientes (61.9%) con afectación cardíaca presentaban afectación (TFG $<60$  mg/ml/1.73m $^2$  y/o albuminuria). Por el contrario, en el grupo sin afectación cardíaca sólo 2 pacientes (8.7%) tenían afectación renal, siendo dicha diferencia estadísticamente significativa ( $p<0.001$ ) (figura 19). Los 4 pacientes sometidos a trasplante renal, pertenecían al grupo con afectación cardíaca (9% del total de pacientes de la muestra), siendo todos ellos varones.



**Figura 19. Afectación renal en cada subgrupo de pacientes, con y sin afectación cardíaca.** Porcentaje de pacientes con afectación renal en los subgrupos de pacientes con afectación cardíaca y sin ella.

En nuestra cohorte de pacientes con EF, sólo 2 (4.6%) presentaban una forma cardíaca aislada, que suponen el 8% de los que han presentado sintomatología relacionada con la EF, no presentando otro tipo de afectación sistémica. El resto de pacientes con afectación cardíaca la presentan en el contexto de una forma clásica de EF (19 pacientes, 76.0% de los pacientes con sintomatología relacionada con la EF). En cambio, del total de pacientes con EF en su forma clásica (27 pacientes, 61.4% de la cohorte), 8 no presentaban afectación cardíaca (29.6%). No existía ningún paciente con afectación renal o neurológica aislada en nuestra cohorte.

Atendiendo al tipo de manifestaciones sistémicas (ACV/AIT, acroparestesias, angioqueratomas, hipo/hiperhidrosis, alteraciones gastrointestinales, hipoacusia/*tinnitus* o hipotensión postural) aunque el porcentaje de cada una de ellas fue mayor en el grupo con afectación cardíaca, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos subgrupos. Únicamente en el caso de la *cornea verticillata* existía una tendencia, que no alcanzaba la significación estadística (23.8% vs. 4.4%;  $p=0.088$ ) (tabla 5 y figura 20). En cuanto a la afectación por sexos, en todas las manifestaciones el porcentaje de afectados era mayor en el grupo masculino, menos en el caso de la hipotensión postural que fue mayor en el femenino, no alcanzando en ninguno de los casos, menos en el de la hipoacusia/*tinnitus*, la significación estadística (38.1% vs. 8.7%;  $p=0.031$  en el caso de la hipoacusia/*tinnitus*). No se encontró ninguna mujer afectada de angioqueratomas y sólo una presentó un ACV y otra describía afectación gastrointestinal.



**Figura 20. Síntomas y afectación orgánica según el tipo de paciente.** Prevalencia en porcentaje de síntomas o afectación de órganos en los pacientes con afectación cardíaca en rojo (HVI y/o alteraciones ECG características) o sin ella en azul. ACV: accidente cerebrovascular; AIT: accidente isquémico transitorio; alt. ECG: alteraciones en electrocardiograma; EF: enfermedad de Fabry; HVI: hipertrofia ventrículo izquierdo; Int. Calor: Intolerancia al calor; Hipot postural: hipotensión postural; Alt. GI: alteraciones gastrointestinales.

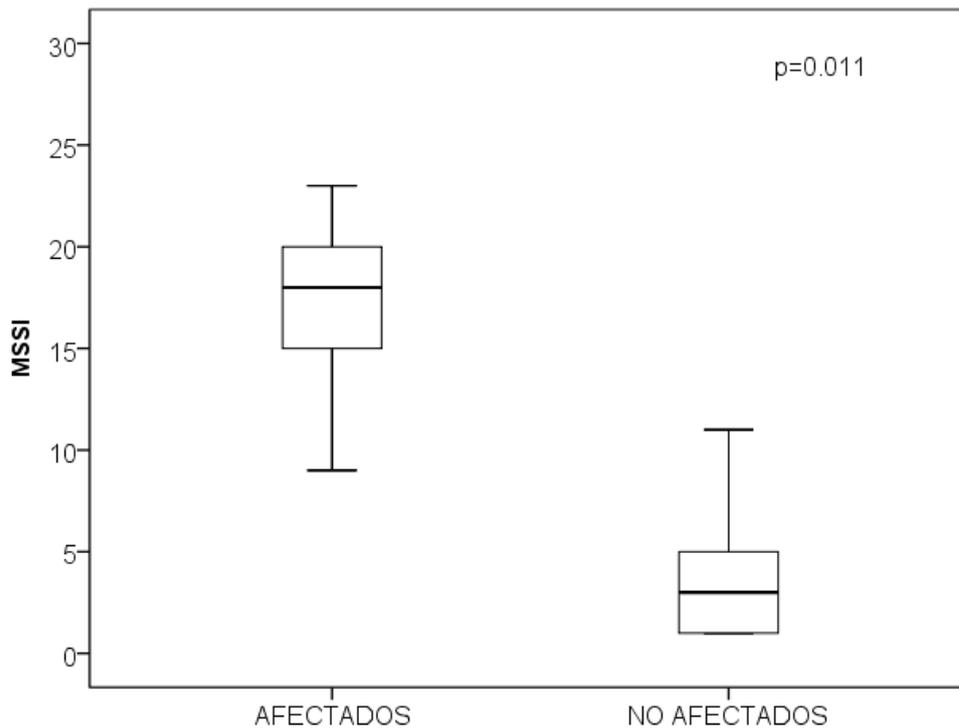
Teniendo en cuenta las escalas de afectación analizadas en esta cohorte, los pacientes con afectación cardíaca presentaron una mayor puntuación en la escala MSSI global que los pacientes sin ella (mediana 18 vs. 3;  $p < 0.001$ ). Lo mismo ocurrió con el resto de puntuaciones específicas por afectación orgánica, excepto en el MSSI neurológico donde las diferencias no alcanzaron la significación estadística (mediana 0 vs. 2;  $p = 0.062$ ) (tabla 6 y figura 21). Al analizar estos resultados por sexos, los varones presentaron una mayor puntuación MSSI global (mediana 20 vs. 4;  $p = 0.002$ ), MSSI cardíaco (mediana 14 vs. 1;  $p = 0.002$ ) y MSSI renal (ambas medianas 0,  $p = 0.016$ ). Al hacer este análisis en el grupo seleccionado de afectación cardíaca se encontraron diferencias estadísticamente significativas también en la puntuación MSSI global y cardíaca entre hombres y mujeres (tabla 7).

	<b>Global N=44</b>	<b>EF sin HVI ni alteraciones ECG N=23</b>	<b>EF con HVI y/o alteraciones ECG N=21</b>	<b>p*</b>
MSSI Global	12 (3-20)	3 (1-5)	18 (15-21)	0.011
MSSI General	1 (1-3)	1.0 (1-2)	3 (1-4)	0.011
MSSI Neurológico	1 (0-4)	0 (0-2)	2 (0-2)	0.062
MSSI Renal	0 (0-4)	0 (0-0)	4 (0-9)	<0.001
MSSI Cardíaco	2 (0-14)	0 (0-1)	14 (12-15)	<0.001

**Tabla 6. Puntuación en las escalas MSSI en los pacientes con y sin afectación cardíaca.** Las magnitudes expresan la mediana y rango intercuartílico entre paréntesis. \*Nivel de significación estadística de la comparación entre los subgrupos con y sin afectación cardíaca. EF: enfermedad de Fabry, HVI: hipertrofia ventrículo izquierdo; ECG: electrocardiograma; MSSI: Mainz Severity Score Index.

	<b>Varones N=21</b>	<b>Mujeres N=23</b>	<b>p*</b>
MSSI Global	29 (19-37)	18 (17-19)	0.035
MSSI General	3 (1-4)	2 (1-4)	0.654
MSSI Neurológico	2 (0-8)	4 (1-4)	0.696
MSSI Renal	4 (0-18)	1 (0-4)	0.169
MSSI Cardíaco	15 (13-15)	11 (9-13)	0.028

**Tabla 7. Puntuación en las escalas MSSI en los pacientes con afectación cardíaca según el sexo.** Las magnitudes expresan la mediana y rango intercuartílico entre paréntesis. \*Nivel de significación estadística de la comparación entre los subgrupos con y sin afectación cardíaca. MSSI: Mainz Severity Score Index.



**Figura 21. Puntuación global en la escala MSSI según el tipo de paciente.** MSSI: Mainz Severity Score Index.

Si nos centramos en el TSE, 23 de los 44 pacientes (52.3%) estaban en tratamiento, 18 pacientes en el grupo con afectación cardíaca y 5 en el subgrupo sin ella (85.7% vs. 21.7%;  $p < 0.001$ ). En relación con el sexo, el 17% de los pacientes tratados eran varones y el 6% mujeres ( $p < 0.001$ ). La edad media de inicio del TSE fue de  $46.40 \pm 11.40$  años, sin diferencias entre los varones y las mujeres (43.2 vs. 44.5;  $p = 0.659$ ). Respecto al tipo de TSE, el total de pacientes tratados lo estaba con tratamiento con alfa-agalsidasa. El tiempo medio con TSE era de  $3.4 \pm 0.5$  años, sin diferencias estadísticamente significativas entre el grupo con y sin HVI (3.7 vs. 2.7;  $p = 0.419$ ) (tabla 5).

Por último, al analizar los valores de Liso-Gb3, se encontraron unas concentraciones inferiores en el grupo sin afectación cardíaca, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (1.56 [0.76-3.13] vs. 5.57 [4.40-9.24];  $p = 0.003$ ) (tabla 5).

## 5.2 Datos de afectación eléctrica

Los datos de afectación eléctrica de los pacientes incluidos en el estudio están descritos en la tabla 8.

Cuando estudiamos el ritmo en el ECG, todos los pacientes sin afectación cardíaca se encontraban en ritmo sinusal y ninguno era portador de marcapasos o DAI. Tampoco encontramos episodios previos de FA o flutter auricular. En cambio, el porcentaje de pacientes en FA o flutter auricular, era significativamente superior en el grupo con afectación cardíaca (9.5% vs. 0.0%;  $p=0.010$ ), así como el haber presentado algún episodio previamente (23.8% vs, 0.0%;  $p=0.020$ ). En el grupo con afectación cardíaca, el 23.8% de los pacientes eran portadores de marcapasos o DAI, siendo las diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo sin afectación ( $p=0.019$ ).

Los pacientes con afectación cardíaca presentaron una mayor duración del intervalo QRS en el ECG ( $110.6\pm 23.2$  ms vs.  $77.7\pm 20.1$  ms;  $p<0.001$ ). No encontramos diferencias estadísticamente significativas respecto a la duración del intervalo PR (145 ms [120-168 ms] vs. 122 ms [120-146 ms]  $p=0.108$ ) ni del intervalo QT corregido ( $411.0$  ms [391.5-462.5 ms ] vs.  $395.0$  ms [370.0-416.0 ms];  $p=0.154$ ). En el caso de los pacientes portadores de marcapasos, se midieron todos los intervalos en los latidos no estimulados o en el ECG previo al implante del marcapasos en el caso de que la estimulación fuese del 100%, no pudiéndose analizar en dos de los casos por no disponer de ECG previo al implante.

Los pacientes con afectación cardíaca cumplieron el criterio de HVI de Estes-Rohmhilt en el 52.4% de los casos y ninguno de los pacientes sin afectación lo cumplía ( $p<0.001$ ). En el caso de los pacientes portadores de marcapasos, se hizo la estimación en los latidos no estimulados o en el ECG previo al implante del marcapasos en el caso de que la estimulación fuese del 100%. Se excluyeron para las estimaciones los pacientes que tenían alteraciones en la conducción intraventricular.

	Global N=44	EF sin HVI ni alteraciones ECG N=23	EF con HVI y/o alteraciones ECG N=21	p*
Antecedentes FA/flutter auricular, [n(%)]	5 (11.4)	0 (0.0)	5 (23.8)	0.021
Ritmo ECG, [n(%)]				
Ritmo sinusal	35 (79.5)	23 (100.0)	13 (61.9)	0.010
FA/Flutter auricular	2 (4.5)	0 (0.0)	2 (9.5)	
Ritmo de MP	6 (11.4)	0 (0.0)	6 (28.6)	
Intervalo PR (ms)	125 (120-160)	122 (120-146)	145 (120-168)	0.108
Intervalo QRS (ms)	95.3±27.1	77.7±20.1	110.6±23.2	<0.001
Intervalo QTc (ms)	404.0(381.5- 434.0)	395.0(370.0- 416.0)	411.0(391.5- 462.5)	0.154
Criterio HVI en ECG, [n(%)] <sup>∞</sup>	11 (25.0)	0 (0.0)	11 (52.4)	p<0.001
Marcapasos, [n(%)]	5 (11.4)	0 (0.0)	5 (23.8)	0.019
DAI, [n(%)]	3 (6.8)	0 (0.0)	3 (14.3)	0.100

**Tabla 8. Datos de afectación cardíaca en la población incluida.** Las magnitudes expresan el número de pacientes y el porcentaje respecto al total de los pacientes con datos en cada variable, media y desviación estándar, o la mediana y rango intercuartílico según corresponda. \*Nivel de significación estadística de la comparación entre los subgrupos con y sin afectación cardíaca. <sup>∞</sup> Se excluyeron en este caso los pacientes que presentaban alteraciones en la conducción intraventricular. DAI: desfibrilador automático implantable; ECG: electrocardiograma; EF: enfermedad de Fabry; FA: fibrilación auricular; HVI: hipertrofia ventrículo izquierdo; QTc: QT corregido; RM: resonancia magnética; RTG: realce tardío con gadolinio.

El 66.7% de los pacientes con afectación cardíaca no presentaba alteraciones de la conducción aurículo ventricular. Entre ellos se objetivó un paciente con bloqueo aurículoventricular de primer grado, otro con un bloqueo aurículoventricular de segundo grado tipo I y otro de tipo II, así como un paciente con un bloqueo de tercer grado (4.8% en cada caso). Respecto a las alteraciones en la conducción intraventricular de los pacientes con afectación cardíaca, 4 pacientes (19.1%) presentaban un BCRIHH, 2 (9.5%) BCRDHH y 3 (14.3%) un bloqueo avanzado con BCRDHH y HBAI. En el subgrupo sin afectación cardíaca no hubo ningún paciente con alteración a nivel de la conducción aurículoventricular ni intraventricular debido a los propios criterios de división en subgrupos. 5 pacientes (11.4%), todos ellos con afectación cardíaca, eran

portadores de marcapasos y 3 pacientes (14.30%) lo eran de desfibrilador automático implantable (DAI), también siendo estos últimos pacientes con afectación. Dos de los DAI se implantaron como prevención primaria en pacientes con diagnóstico de miocardiopatía hipertrófica con factores de riesgo de muerte súbita previo al diagnóstico de EF y el otro era un DAI implantado como prevención primaria por disfunción sistólica severa.

### 5.3 Datos ecocardiográficos convencionales

	EF sin HVI ni alteraciones ECG N=23	EF con HVI y/o alteraciones ECG N=21	p*
Septo (mm)	9.1 ± 1.7	15.7 ± 2.3	<0.001
Pared posterior (mm)	9.2 ± 1.4	14.9 ± 2.6	<0.001
Grosor máximo (mm)	9.6 (9.0-11.0)	16.4 (15.0-18.0)	<0.001
DTDVI (mm)	43.0 (41.0-52.0)	42.5 (41.0-53.0)	0.766
DTSVI (mm)	27.0 (24.0-32.0)	29.5 (26.0-36.0)	0.348
Masa VI (g)	116.1 ± 39.9	280.5 ± 90.2	<0.001
I.Masa VI (g/m <sup>2</sup> )	63.8 ± 22.9	148.6 ± 48.1	<0.001
VTDi (ml/m <sup>2</sup> )	45.7 ± 8.5	54.2 ± 12.2	0.021
VTSi (ml/m <sup>2</sup> )	17.2 ± 7.0	20.0 ± 9.3	0.298
FEVI (%)	66.1 ± 6.5	62.2 ± 11.9	0.195
Diámetro AI (mm)	30.2 ± 4.7	38.4 ± 5.2	<0.001
TAPSE (mm)	24.3 ± 3.3	23.0 ± 3.7	0.413
E (cm/s)	0.90 ± 0.20	0.70 ± 0.10	<0.001
A (cm/s)	0.60 ± 0.20	0.70 ± 0.20	0.442
E/A	1.51 (1.21-2.07)	0.96 (0.89-1.29)	0.003
E/e' septal	10.70 ± 3.70	13.90 ± 4.10	0.042
E/e' lateral	8.60 ± 3.20	11.30 ± 4.40	0.067
TDE (ms)	188.0 ± 37.8	229.6 ± 43.5	0.005

**Tabla 9. Características ecocardiográficas de la población incluida.** Las magnitudes expresan la media y desviación estándar, o la mediana y rango intercuartílico según corresponda. \*Nivel de significación estadística de la comparación entre los subgrupos con y sin afectación cardíaca. A: velocidad máxima de la onda telediastólica del flujo de llenado transmitral; AI: aurícula izquierda; E: velocidad máxima de la onda protodiastólica del flujo de llenado transmitral; ECG: electrocardiograma; DTDVI: diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo; DTSVI: diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo; EF: enfermedad de Fabry; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; HVI: hipertrofia ventricular izquierda; I. Masa VI: índice de masa del ventrículo izquierdo; TAPSE: tricupid annulus plane systolic excursion; TDE: tiempo de desaceleración de la onda E; VI: ventrículo izquierdo; VTDi: volumen telediastólico indexado; VTSi: volumen telesistólico indexado.

En el grupo de pacientes con afectación cardíaca, el 85.7% (18 pacientes) presentaban una HVI concéntrica, el 14.3% (3 pacientes) presentaban una HVI de predominio septal y ningún paciente presentó hipertrofia de predominio apical. Sólo 4 pacientes (9% de la cohorte), tuvieron una FEVI deprimida, 3 de ellos entre el 40 y 50% y uno de ellos menor del 35%. Los datos del estudio ecocardiográfico, en función de la existencia o no de afectación cardíaca, se resumen en la tabla 9.

Los pacientes con afectación cardíaca presentaron un mayor grosor del septo interventricular, pared posterior y grosor parietal máximo respecto al grupo sin afectación cardíaca, así como un mayor índice de masa ventricular izquierda ( $148.6 \pm 48.1$  vs.  $63.8 \pm 22.9$  g/m<sup>2</sup>;  $p < 0.001$ ), diferencias que se mantenían estadísticamente significativas al analizar por sexos. No se encontraron diferencias en cuanto a los diámetros del VI ni tampoco en el volumen telediastólico (VTD) indexado, encontrándose en el volumen telesistólico (VTS) diferencias que no eran significativas al analizar estos resultados por sexos (VTD indexado en varones  $57.1 \pm 11.3$  vs.  $45.7 \pm 8.4$  ml/m<sup>2</sup>;  $p = 0.118$  y en mujeres  $45.1 \pm 10.8$  vs.  $45.6 \pm 8.9$  ml/m<sup>2</sup>;  $p = 0.908$ ; VTS indexado en varones  $20.9 \pm 8.9$  vs.  $17.5 \pm 11.2$  ml/m<sup>2</sup>;  $p = 0.52$  y en mujeres  $17.1 \pm 7.7$  vs.  $17.4 \pm 11.2$  ml/m<sup>2</sup>;  $p = 0.949$ ). En cuanto al tamaño de la aurícula izquierda, los pacientes afectados tenían un mayor diámetro anteroposterior ( $38.4 \pm 5.2$  vs.  $30.2 \pm 4.7$  mm;  $p < 0.001$ ). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en la función sistólica de ambos ventrículos (FEVI  $62.2 \pm 11.9$  vs.  $66.1 \pm 6.5\%$ ;  $p = 0.195$  y TAPSE  $23.0 \pm 3.7$  vs.  $24.3 \pm 3.3$  mm;  $p = 0.413$ ).

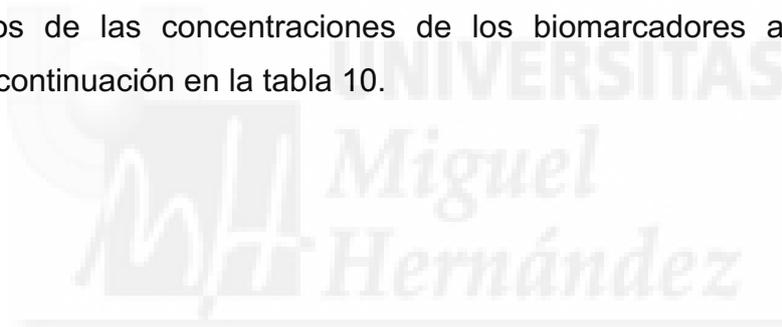
En relación con el patrón Doppler de llenado transmitral, se observó una menor velocidad máxima de la onda E en el grupo con afectación cardíaca ( $0.70 \pm 0.10$  vs.  $0.90 \pm 0.20$ ;  $p < 0.001$ ), diferencias que no fueron significativas al analizar la onda A ( $0.70 \pm 0.20$  vs.  $0.60 \pm 0.20$ ;  $p = 0.442$ ). Respecto a la relación E/A sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas, siendo dicha relación menor en el grupo con afectación ( $1.51$  vs.  $0.96$ ;  $p = 0.003$ ) y también el tiempo de desaceleración de la onda E (TDE) fue más largo de forma estadísticamente significativa en el grupo con afectación cardíaca ( $229.6 \pm 43.5$  vs.  $188.0 \pm 37.8$ ;  $p = 0.005$ ).

Sólo 4 pacientes presentaron algún tipo de valvulopatía significativa en el grupo con afectación cardíaca: 3 presentaron una insuficiencia aórtica moderada y uno una insuficiencia mitral moderada. En el caso de los pacientes sin afectación cardíaca, ninguno presentó una valvulopatía significativa.

Respecto al estudio con RM cardíaca, ésta se realizó en un porcentaje pequeño de pacientes (22.8%). Todos ellos, además, eran pacientes pertenecientes al grupo con afectación cardíaca, presentando el 47.6% de los casos realce tardío tras la administración de gadolinio.

#### **5.4 Valores de biomarcadores en EF: Análisis de las concentraciones de los diferentes biomarcadores en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca:**

Los datos de las concentraciones de los biomarcadores analizados se exponen a continuación en la tabla 10.



Biomarcador	EF sin HVI ni alteraciones ECG N=23	Grupo control sano 1 N=27	EF con HVI y/o alteraciones ECG N=21	Grupo control sano 2 N=46	p*	p**	p***
hs-TnT (ng/L)	4.5 (3.3-7.0)	4.7 (3.6-7.6)	25.3 (12.3-62.1)	5.9 (4.0-8.2)	0.516	<0.001	<0.001
NT-proBNP (pg/mL)	50.2 (28.3-90.1)	31.7 (19.6-54.9)	1056.0 (69.4-2922.5)	33.8 (19.8-61.9)	0.089	<0.001	<0.001
Galectina-3 (ng/mL)	11.2±2.7	9.6±1.8	16.6±6.3	10.9±2.5	0.018	0.002	0.004
IL-6 (pg/mL)	1.5 (1.5-1.5)	1.5 (1.5-1.5)	1.5 (1.5-2.6)	1.5 (1.5-1.5)	0.036	0.001	0.006
BTP (mg/L)	0.62 (0.56-0.68)	0.51 (0.47-0.53)	0.83 (0.64-1.2)	0.52 (0.48-0.57)	<0.001	<0.001	0.001

**Tabla 10. Análisis comparativo de los valores de los biomarcadores entre los pacientes con y sin afectación cardíaca y grupos control.** Las magnitudes expresan la media y desviación estándar, o la mediana y rango intercuartílico según corresponda. p\*: Nivel de significación estadística de la comparación entre el grupo con EF sin afectación cardíaca y su grupo control. p\*\*: Nivel de significación estadística de comparación entre el grupo con EF con afectación cardíaca y su grupo control. p\*\*\*: Nivel de significación estadística de comparación entre el grupo con EF con afectación cardíaca y sin ella. BTP: proteína  $\beta$ -traza; ECG: electrocardiograma; EF: enfermedad de Fabry; hs-TnT: troponina T ultrasensible; HVI: hipertrofia ventrículo izquierdo; NT-proBNP: fragmento amino terminal del propéptido natriurético tipo B; IL-6: interleucina 6

#### 5.4.1 Valores de troponina T ultrasensible

Los pacientes con EF sin afectación cardíaca presentaron valores de hs-TnT similares a los sujetos control (4.5 ng/L [3.3-7.0 ng/L] vs. 4.7 ng/L [3.6-7.6 ng/L];  $p=0.516$ ) (tabla 10). Sin embargo, dichos valores sí eran superiores al grupo control en el caso de los pacientes con EF y afectación cardíaca (25.3 ng/L [12.3-62.1 ng/L] vs. 5.9 ng/L [4.0-8.2 ng/L];  $p<0.001$ ). Al comparar los pacientes con diagnóstico de EF, el grupo con afectación cardíaca también presentaba mayores concentraciones que el grupo sin dicha afectación (25.3 ng/L [12.3-62.1 ng/L] vs. 4.5 ng/L [3.3-7.0 ng/L];  $p<0.001$ ) (figura 22 y tabla 10).

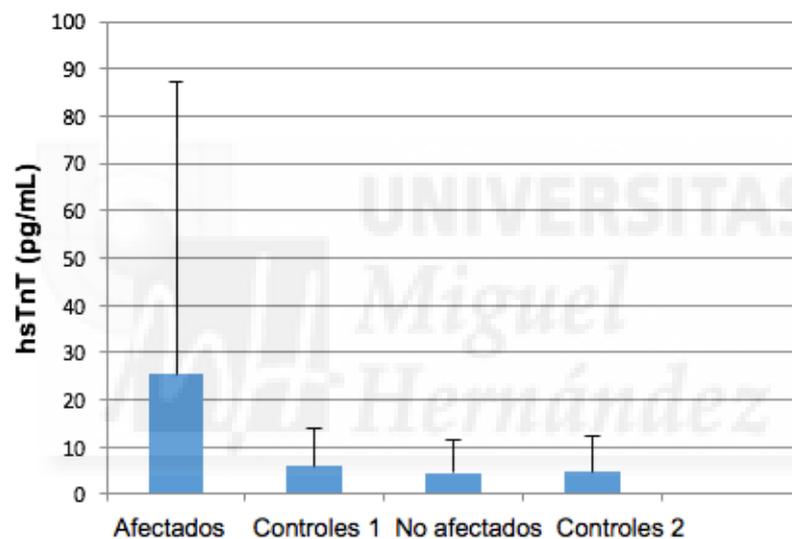


Figura 22. Concentración de hs-TnT en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.

### 5.4.2 Valores de NT-proBNP

Los pacientes con EF sin afectación cardíaca mostraron concentraciones de NT-proBNP con una tendencia claramente superior al grupo control, pero estas diferencias no llegaron a mostrar significación estadística, únicamente una tendencia (50.2 pg/mL [28.3-90.1 pg/mL] vs. 31.7 pg/mL [19.6-54.9 pg/mL];  $p=0.089$ ). Sin embargo, estos valores sí eran muy superiores al grupo control en el caso de los pacientes con EF y afectación cardíaca (1056.0 pg/mL [69.4-2922.5 pg/mL] vs. 33.8 pg/mL [19.8-61.9 pg/mL];  $p<0.001$ ). Al comparar los pacientes con diagnóstico de EF, el grupo con afectación cardíaca también presentaba unos valores muy superiores al grupo sin dicha afectación (1056.0 pg/mL [69.4-2922.5 pg/mL] vs. 50.2 pg/mL [28.3-90.1 pg/mL];  $p<0.001$ ) (figura 23 y tabla 10).

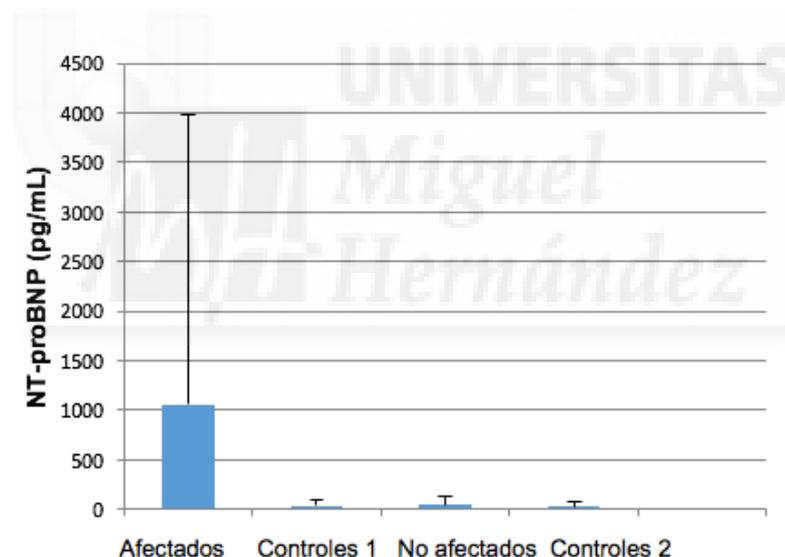


Figura 23. Concentración de NT-proBNP en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.

### 5.4.3 Valores de Galectina-3

Al analizar el biomarcador Gal-3 las diferencias en los valores entre todos los grupos fueron estadísticamente significativas. Así los pacientes con EF sin y con afectación cardíaca presentaron mayor concentración de Gal-3 que el grupo control ( $11.2 \pm 2.7$  vs.  $9.6 \pm 1.8$  ng/mL;  $p=0.018$  y  $16.6 \pm 6.3$  vs.  $10.9 \pm 2.5$  ng/mL;  $p=0.002$  respectivamente), siendo también superior en los pacientes con EF y afectación cardíaca que en los no afectados ( $16.6 \pm 6.3$  vs.  $11.2 \pm 2.7$  ng/mL;  $p=0.004$ ) (figura 24 y tabla 10).

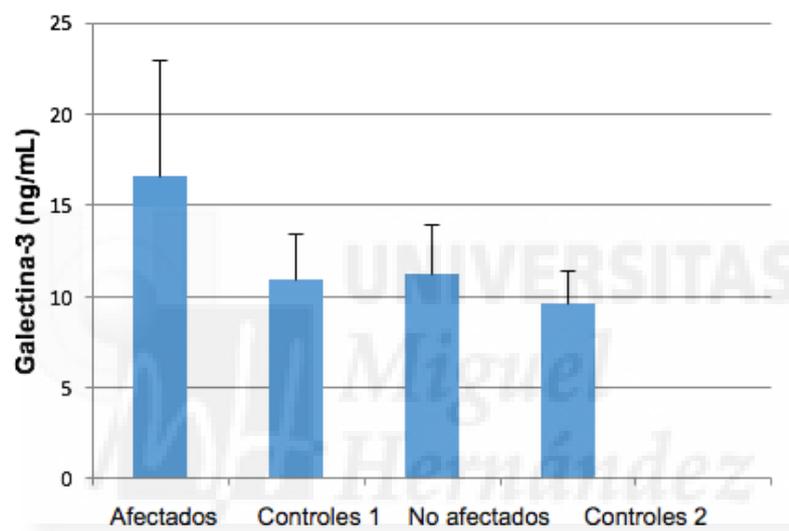


Figura 24. Concentración de Gal-3 en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.

#### 5.4.4 Valores de interleucina-6

Al analizar el biomarcador IL-6 las diferencias en los valores entre todos los grupos fueron estadísticamente significativas. Tanto las concentraciones como las asociaciones de ellas derivadas con el presente biomarcador han de tomarse con cautela, pues la mayoría de los pacientes no alcanzaban el límite inferior de detección del kit, 1.5 pg/mL, únicamente algunos pacientes en el subgrupo con afectación cardíaca presentaron concentraciones superiores al límite inferior. Aunque las diferencias fueron estadísticamente significativas entre los diferentes subgrupos, así como respecto al grupo control, no podemos asegurar que dichas diferencias realmente existan por lo previamente expuesto. Los pacientes con EF sin afectación cardíaca presentaron concentraciones similares al grupo control (1.5 pg/mL (1.5-1.5 pg/mL)), siendo dicha concentración superior únicamente en el grupo con EF y afectación cardíaca (1.5 pg/mL (1.5-2.6 pg/mL)). Las diferencias entre todos los grupos resultaron estadísticamente significativas (todas las  $p=0.001$ ) (figura 25 y tabla 10).

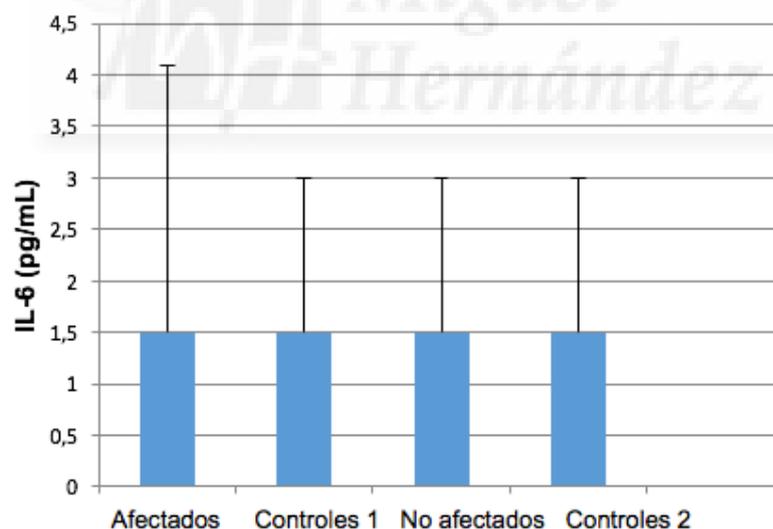


Figura 25. Concentración de IL-6 en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.

#### 5.4.5 Valores de proteína beta traza

También en el caso de la BTP las diferencias en los valores entre todos los grupos fueron estadísticamente significativas. Así los pacientes con EF sin y con afectación cardíaca mostraron concentraciones de BTP superiores a su respectivo grupo control (0.62 mg/L [0.56-0.68 mg/L] vs. 0.51 mg/L [0.47-0.53 mg/L];  $p < 0.001$  y 0.83 mg/L [0.64-1.20 mg/L] vs. 0.52 mg/L [0.48-0.57 mg/L];  $p < 0.001$ , respectivamente). Estos valores también fueron superiores en los pacientes con EF y afectación cardíaca que en los que no la tenían (0.83 mg/L [0.64-1.2 mg/L] vs. 0.62 mg/L [0.56-0.68 mg/L];  $p = 0.001$ ) (figura 26 y tabla 10).

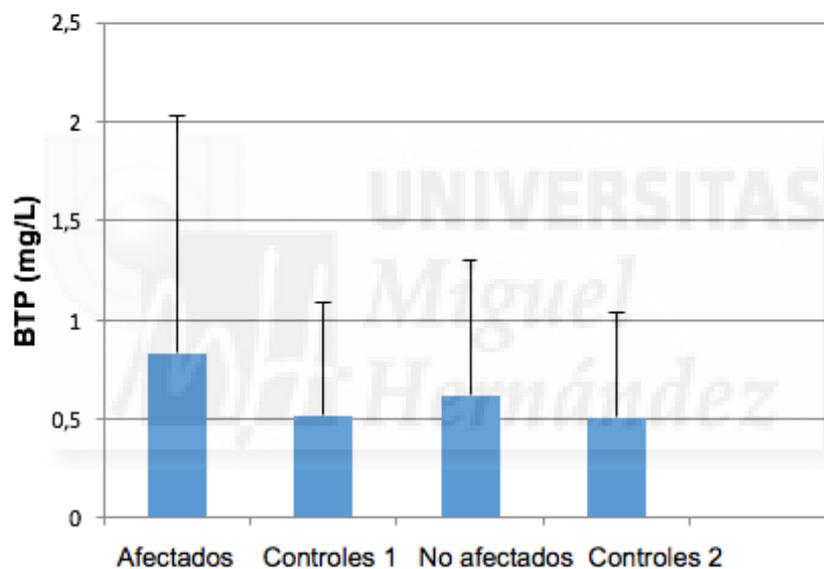


Figura 26. Concentración de BTP en pacientes con EF con y sin afectación cardíaca, así como en controles sanos.

### 5.5 Valores de biomarcadores en EF: Análisis de correlación entre los biomarcadores con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos

Dentro de los objetivos del trabajo, se investigó la correlación existente entre la concentración de los biomarcadores y distintas variables clínicas y ecocardiográficas mediante el análisis de correlación bivariada. Los resultados se muestran a continuación en la tabla 11.

En el análisis, se observó una correlación positiva fuerte entre la NYHA y los biomarcadores Gal-3 ( $r=0.50$ ;  $p=0.001$ ), NT-proBNP ( $r=0.53$ ;  $p<0.001$ ), hsTnT ( $r=0.55$ ;  $p<0.001$ ) y BTP ( $r=0.50$ ;  $p<0.001$ ), siendo esta correlación moderada en el caso de la IL-6 ( $r=0.40$ ;  $p=0.010$ ).

Al analizar los datos ecocardiográficos, se observó una correlación positiva fuerte entre el espesor máximo del VI y los valores de hs-TnT ( $r=0.75$ ;  $p<0.001$ ) y los de BTP ( $r=0.52$ ;  $p=0.001$ ), siendo moderada con el resto de biomarcadores. Al correlacionar dichos valores con el índice de masa del VI, se observó una fuerte correlación positiva con la concentración de Gal-3 ( $p=0.86$ ;  $p<0.001$ ), la de IL-6 ( $r=0.57$ ;  $p<0.001$ ) y la de BTP ( $r=0.51$ ;  $p=0.002$ ). Dicha correlación fue moderada o leve en el caso del NT-proBNP y de la hs TnT. No se encontró ninguna correlación estadísticamente significativa entre la FEVI y los diferentes biomarcadores.

Se encontró una correlación negativa fuerte entre la tasa de filtrado glomerular y los valores de los biomarcadores Gal-3, NT-proBNP y hsTnT ( $r=-0.57$ ,  $-0.67$  y  $-0.64$ ;  $p=0.002$ ,  $p<0.001$  y  $p<0.001$  respectivamente). Esta correlación resultó moderada en el caso del BTP ( $r=0.44$ ;  $p=0.025$ ) y no se encontró ninguna correlación estadísticamente significativa con los valores de IL-6.

Tomando todos estos datos en conjunto, el biomarcador que mejor se comportó fue la Gal-3, que se correlacionó con todas las variables menos con la FEVI.

Además, todos los biomarcadores, se correlacionaron entre sí a excepción del BTP y la IL-6, que únicamente mostraron una tendencia ( $p=0.074$ ).

	<b>r, p</b>	<b>r, p</b>	<b>r, p</b>	<b>r, p</b>	<b>r, p</b>
	<b>Gal-3</b>	<b>NT-proBNP</b>	<b>hs-TnT</b>	<b>IL-6</b>	<b>BTP</b>
<b>NYHA</b>	0.50, <b>0.001</b>	0.53, <b>&lt;0.001</b>	0.55, <b>&lt;0.001</b>	0.40, <b>0.010</b>	0.50, <b>0.001</b>
<b>HVI</b>	0.53, <b>&lt;0.001</b>	0.61, <b>&lt;0.001</b>	0.75, <b>&lt;0.001</b>	0.41, <b>0.008</b>	0.40, <b>0.010</b>
<b>Grosor máximo (mm)</b>					
<b>I.Masa VI (g/m<sup>2</sup>)</b>	0.86, <b>&lt;0.001</b>	0.39, <b>0.019</b>	0.25, 0.127	0.57, <b>&lt;0.001</b>	0.51, <b>0.002</b>
<b>FEVI (%)</b>	-0.26, 0.111	-0.09, 0.588	-0.29, 0.064	-0.06, 0.705	-0.16, 0.328
<b>TAPSE (mm)</b>	-0.50, <b>0.019</b>	-0.12, 0.558	-0.21, 0.318	-0.25, 0.260	-0.13, 0.558
<b>TFG (ml/m/1.73m<sup>2</sup>)</b>	-0.57, <b>0.002</b>	-0.67, <b>&lt;0.001</b>	-0.64, <b>&lt;0.001</b>	-0.24, 0.245	-0.44, <b>0.025</b>
<b>Gal-3</b>					
<b>NT-proBNP</b>	0.43, <b>0.004</b>				
<b>hs-TnT</b>	0.75, <b>&lt;0.001</b>	0.64, <b>&lt;0.001</b>			
<b>IL-6</b>	0.38, <b>0.015</b>	0.52, <b>0.001</b>	0.40, <b>0.010</b>		
<b>BTP</b>	0.62, <b>&lt;0.001</b>	0.33, <b>0.037</b>	0.54, <b>&lt;0.001</b>	0.29, 0.074	

**Tabla 11. Análisis de correlación entre los valores de los biomarcadores con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.** r= coeficiente de correlación de Spearman; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; HVI: hipertrofia ventricular izquierda; NYHA: New York Heart Association; TAPSE: desplazamiento sistólico del anillo tricúspide; TFG: tasa de filtrado glomerular.

## **5.6 Valores de biomarcadores en EF: Asociación con parámetros clínicos y ecocardiográficos**

Posteriormente realizamos un análisis de regresión múltiple para identificar aquellos factores clínicos o demográficos asociados de manera independiente con los valores de los diferentes biomarcadores. Se realizó un análisis univariado en primer lugar para identificar las variables que se asociaban con un incremento de los valores de los diferentes biomarcadores y que se incluirían posteriormente en dicho análisis multivariado. Los resultados para los diferentes biomarcadores se muestran en las tablas 12-16.



### 5.6.1 Valores de troponina T ultrasensible

En el análisis univariado se objetivó que las concentraciones de hs-TnT se asociaban con la edad, el sexo, la clase funcional evaluada mediante la escala NYHA y la función renal, pero no con variables ecocardiográficas relacionadas con la función diastólica del VI como el diámetro de la AI o la relación E/E' promediada ni con el TSE. Al realizar el análisis multivariado con regresión lineal se evidenció que los valores de hs-TnT se asocian de manera independiente con el sexo ( $p=0.005$ ) y con la TFG ( $p=0.001$ ), no así con el resto de variables analizadas como la edad, la clase funcional, el diámetro de la AI y el valor del E/e' promediado ni con el TSE (tabla 12).

	Univariado	Multivariado
	B (IC 95%); p	B (IC 95%); p
Edad (años)	0.79 (0.25-1.33); 0.005	0.22 (-0.31-0.74); 0.411
Sexo	-26.77 (-44.19-9.74); 0.003	-24.26 (-40.50- -8.01); 0.005
TFG (ml/m/1.73m <sup>2</sup> )	-0.51 (0.67-0.35); <0.001	-0.37 (-0.58- -0.17); 0.001
NYHA	28.36 (14.80-41.87); <0.001	7.29 (-5.44- 20.02); 0.253
Diámetro AI (mm)	0.36 (-0.67-1.39); 0.482	
E/e' promediado	-0.79 (-3.33-1.75); 0.531	
TSE	19.45 (1.25-37.66); 0.037	-5.00 (-20.87- 10.87); 0.526

**Tabla 12. Asociación de la concentración de hs-TnT en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.** Análisis regresión lineal uni y multivariado entre los valores de hs-TnT y parámetros clínicos y ecocardiográficos. B (IC95%): Coeficiente B e intervalo de confianza al 95%. AI: aurícula izquierda; E/e': ratio entre el flujo transmitral protodiastólico (E) y el pico precoz de velocidad con Doppler tisular (e'); NYHA: New York Heart Association; TFG: tasa de filtrado glomerular; TSE: tratamiento sustitutivo enzimático.

### 5.6.2 Valores de NT-proBNP

En el caso del NT-proBNP las variables que se asociaron en el análisis univariado fueron la TFG, la clase funcional y el TSE, así como el diámetro de la AI. Al realizar el análisis multivariado con regresión lineal se objetivó que los valores de NT-proBNP se asocian de manera independiente con la NYHA ( $p < 0.001$ ) y con el diámetro de la AI ( $p = 0.032$ ), no así con el resto de variables analizadas como la edad, el sexo, la TFG, el valor del E/e' promediado ni con el TSE (tabla 13).

	Univariado	Multivariado
	B (IC 95%); p	B (IC 95%); p
Edad (años)	38.00 (-0.76- 82.77); 0.094	-11.68 (-56.34- 32.99); 0.598
Sexo	-1399.80 (-2830.65- 35.05); 0.056	-231.96 (-1548.76- 1084.84); 0.722
TFG (ml/m/1.73m <sup>2</sup> )	<b>-29.70 (-44.70- -14.71); &lt;0.001</b>	-12.99 (-29.66- 3.66); 0.122
NYHA	<b>2999.83 (2158.91- 3840.74); &lt;0.001</b>	2107.89 (1032.71- 3183.07); <b>&lt;0.001</b>
Diámetro AI (mm)	<b>133.46 (59.27- 257.67); 0.001</b>	74.95 (6.73- 143.17); <b>0.032</b>
E/e' promediado	-103.59 (-502.70- 95.52); 0.297	
TSE	<b>1545.85 (128.21- 2963.49); 0.033</b>	17.35 (-1365.30- 1399.99); 0.980

**Tabla 13. Asociación de la concentración de NT-proBNP en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.** Análisis regresión lineal uni y multivariado entre los niveles de NT-proBNP y parámetros clínicos y ecocardiográficos. B (IC95%): Coeficiente B e intervalo de confianza al 95%. AI: aurícula izquierda; E/e': ratio entre el flujo transmitral protodiastólico (E) y el pico precoz de velocidad con Dopple tisular (e'); NYHA: New York Heart Association; TFG: tasa de filtrado glomerular; TSE: tratamiento sustitutivo enzimático.

### 5.6.3 Valores de Galectina-3

Las concentraciones de Gal-3 se asociaron con casi todas las variables analizadas (edad, sexo, TFG, clase funcional NYHA, diámetro de la AI y TSE), no así con la relación E/E'. Al realizar el análisis multivariado con regresión lineal se objetivó que los valores de Gal-3 se asocian de manera independiente con el sexo ( $p < 0.030$ ), la TFG ( $p = 0.007$ ), la NYHA ( $p = 0.038$ ), no así con el resto de variables analizadas como la edad, el diámetro de la AI, el valor del E/e' promediado ni con el TSE (tabla 14).

	Univariado	Multivariado
	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)
Edad (años)	0.17 (0.04- 0.23); 0.006	0.06 (-0.05- 0.16); 0.287
Sexo	-3.77 (-6.96- -0.58); 0.002	-3.92 (-7.44- -0.40); 0.030
TFG (ml/m/1.73m <sup>2</sup> )	-0.09 (-0.13- -0.56); <0.001	-0.06(-0.11- -0.02); 0.007
NYHA	6.55 (2.86- 10.24) 0.001	3.73 (0.22- 7.24); 0.038
Diámetro AI (mm)	0.43 (0.19- 0.67) 0.001	0.10 (-0.19- 0.38); 0.485
E/e' promediado	0.28 (0.22- 0.77) 0.262	
TSE	3.65 (0.45- 6.85) 0.027	-2.45 (-5.88- 0.98); 0.155

**Tabla 14. Asociación de la concentración de Gal-3 en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.** Análisis regresión lineal uni y multivariado entre los niveles de Gal-3 y parámetros clínicos y ecocardiográficos. B (IC95%): Coeficiente B e intervalo de confianza al 95%. AI: aurícula izquierda; E/e': ratio entre el flujo transmitral protodiastólico (E) y el pico precoz de velocidad con Doppler tisular (e'); NYHA: New York Heart Association; TFG: tasa de filtrado glomerular; TSE: tratamiento sustitutivo enzimático.

#### 5.6.4 Valores de interleucina-6

Tal y como ya se ha comentado previamente, todas las asociaciones derivadas con el presente biomarcador han de tomarse con cautela, pues la mayoría de los pacientes no alcanzaban el límite inferior de detección del kit. No obstante, se encontró asociación con la edad y la TFG. Al realizar el análisis multivariado con regresión lineal se objetivó que los valores de IL-6 no se asociaban independientemente con ninguna de las variables analizadas (tabla 15).

	Univariado	Multivariado
	B (IC 95%); p	B (IC 95%); p
Edad (años)	<b>0.02(0.00- 0.03); 0.001</b>	0.01 (-0.01- 0.02); 0.278
Sexo	0.04(-0.39- 0.48); 0.836	
TFG (ml/m/1.73m <sup>2</sup> )	<b>-0.01( -0.01- 0.00); 0.092</b>	0.00 (-0.01- 0.01); 0.647
NYHA	0.38 (-0.15- 0.90); 0.153	
Diámetro AI (mm)	0.02 (-0.01- 0.05); 0.137	0.01 (-0.02- 0.05); 0.452
E/e' promediado	0.02 (-0.05- 0.09); 0.592	
TSE	-0.07 (-0.50- 0.36); 0.730	

**Tabla 15. Asociación de la concentración de IL-6 en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.** Análisis regresión lineal uni y multivariado entre los niveles de IL-6 y parámetros clínicos y ecocardiográficos. B (IC95%): Coeficiente B e intervalo de confianza al 95%. AI: aurícula izquierda; E/e': ratio entre el flujo transmitral protodiastólico (E) y el pico precoz de velocidad con Doppler tisular (e'); NYHA: New York Heart Association; TFG: tasa de filtrado glomerular; TSE: tratamiento sustitutivo enzimático.

### 5.6.5 Valores de proteína beta traza

Por último, en el caso de las concentraciones de BTP, se objetivó en el análisis univariado asociación con el sexo, la TFG y el TSE. Al realizar el análisis multivariado con regresión lineal se objetivó que los valores de BTP se asocian de forma independiente con el sexo ( $p=0.027$ ), y con la TFG ( $p=0.002$ ), no así con el resto de variables analizadas (tabla 16).

	Univariado	Multivariado
	B (IC 95%); p	B (IC 95%); p
Edad (años)	0.01 (-0.00- 0.01); 0.292	
Sexo	<b>-0.38 (-0.66- -0.08); 0.012</b>	-0.45 (-0.84- -0.05); <b>0.027</b>
TFG (ml/m/1.73m <sup>2</sup> )	<b>-0.01 (-0.01- -0.00); 0.001</b>	-0.01(- 0.01- -0.00); <b>0.002</b>
NYHA	0.29 (-0.09- 0.67); 0.124	0.04 (-0.35- 0.43); 0.840
Diámetro AI (mm)	0.02 (-0.01- 0.05); 0.140	-0.02 (-0.05- 0.01); 0.245
E/e' promediado	0.03 (-0.03- 0.08); 0.308	
TSE	<b>-0.33 (0.04- 0.063); 0.027</b>	0.01 (-0.37- -0.40); 0.941

**Tabla 16. Asociación de la concentración de BTP en relación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos.** Análisis regresión lineal uni y multivariado entre los niveles de BTP y parámetros clínicos y ecocardiográficos. B (IC95%): Coeficiente B e intervalo de confianza al 95%. AI: aurícula izquierda; E/e': ratio entre el flujo transmitral protodiastólico (E) y el pico precoz de velocidad con Doppler tisular (e'); NYHA: New York Heart Association; TFG: tasa de filtrado glomerular; TSE: tratamiento sustitutivo enzimático.

### 5.7 Construcción de curvas ROC y análisis de áreas bajo la curva

Por último, dado que la escala MSSSI ha sido validada en los últimos años como una herramienta útil a la hora de la evaluación del paciente con EF tal y como se ha comentado previamente, nos propusimos estudiar la evolución de las concentraciones de los biomarcadores en función de la afectación orgánica. Para ello, clasificamos a los pacientes en dos categorías en función de la puntuación global (puntuación mayor o menor a 20 puntos) (1). Como se muestra en la figura 27, las concentraciones de hs-TnT, NT-proBNP y Gal-3 resultaron significativamente superiores en los pacientes con una puntuación MSSSI mayor a 20 puntos ( $p=0.005$ ,  $p=0.003$  y  $p=0.005$ , respectivamente), mientras que las concentraciones de IL-6 y BTP solamente mostraron una tendencia estadística ( $p=0.112$  y  $p=0.065$ , respectivamente).





Figura 27. Concentración de los biomarcadores según la puntuación en la escala MSSl global (Mainz Severity Score Index). (A) hs-TnT, (B) NT-proBNP, (C) Gal-3, (D) IL-6, (E) BTP.

Para estudiar la validez interna y la capacidad diagnóstica de los diferentes biomarcadores en la detección precoz de afectación clínica por EF realizó un estudio de la sensibilidad, especificidad y de la relación entre afectación medida por la escala MSSl y el punto de corte seleccionado a través de la representación gráfica de la curva ROC (receiver operating characteristics) y el área bajo la curva (AUC). Como se ha explicado en materiales y métodos del presente trabajo de Tesis Doctoral, esta escala se emplea en la evaluación habitual del paciente con EF y ha sido validada en diferentes estudios (37).

El resultado de AUC e IC 95% para la hs-TnT fue de 0.97 (IC 95% 0.91-1.00), para el NT-proBNP de 0.96 (IC 95% 0.91-1.00), para la Gal-3 de 0.88 (IC 95% 0.70-1.00), para la IL-6 de 0.77 (IC 95% 0.56-0.98) y para el BTP de 0.85 (IC 95% 0.69-1.00), todas ellas significativas ( $p < 0.05$ ) (figura 28).



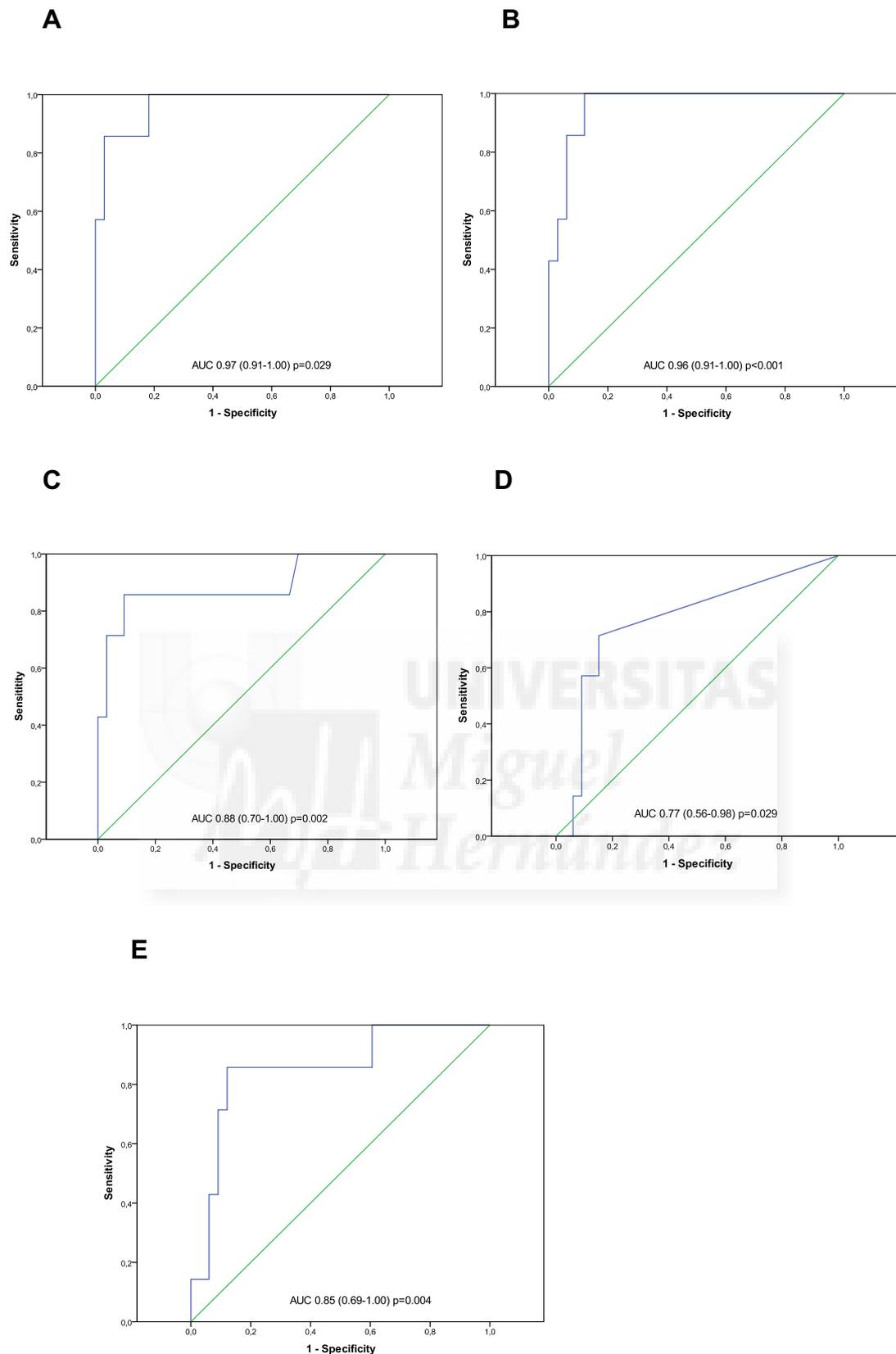


Figura 28. Curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) para la valoración de las concentraciones de los diferentes biomarcadores en relación con la afectación orgánica evaluada mediante la escala MSSJ global. AUC: area under curve. (A) hs-TnT, (B) NT-proBNP, (C) Gal-3, (D) IL-6, (E) BTP.

### **5.8 Selección de puntos de corte para afectación clínica con mejor sensibilidad y especificidad. Análisis de asociación con afectación cardíaca en nuestra cohorte**

En la tabla 17 se recoge la sensibilidad y especificidad para los puntos de corte óptimos obtenidos de cada uno de los biomarcadores en las curvas ROC anteriores atendiendo al grado de afectación con la escala MSSI. Nosotros encontramos para la hs-TnT un punto de corte de 12.42 pg/mL mostrando una sensibilidad del 1.00 y una especificidad de 0.82. Para las concentraciones de NT-proBNP, el mejor punto de corte seleccionado resultó ser 206.4 pg/mL, con una sensibilidad de 1.00 y una especificidad de 0.88 respectivamente. Cuando el análisis se realizó para las concentraciones de Gal-3, el punto de corte de 9.5 ng/mL mostró una sensibilidad también de 1.00 y una especificidad sensiblemente inferior a los otros dos biomarcadores, de 0.70. En las curvas ROC para el BTP, el mejor punto de corte fue la concentración de 0.81 mg/L, con un rendimiento global ligeramente inferior a los biomarcadores previamente descritos (sensibilidad 0.86, especificidad 0,88). Por último, el punto de corte para IL-6 de 1.57 pg/mL mostró una sensibilidad del 0.71 y una especificidad de 0.85.

A continuación, se evaluó la asociación entre dichos puntos de corte de los diferentes biomarcadores con la existencia de afectación cardíaca evaluada según nuestros criterios diagnósticos y todos los biomarcadores a excepción de la Gal-3 se asociaron con dicha afectación (tabla 17). La elevación de la hs-TnT por encima del punto de corte de 12.42 pg/mL se asociaría a la existencia de afectación cardíaca presentando los pacientes con elevación por encima de dicho umbral una probabilidad muy elevada de presentar dicha afectación con una OR de 198.00 (IC95%;p:16.58-2369.88;p<0.001). En el caso del NT-proBNP también objetivamos una asociación significativa, mostrando una OR de 40.86 (IC95%;p:4.51-370.44;p=0.001). La OR en el caso de la BTP fue menor, de 24.75 (IC95%;p:2.69-227.61;p=0.005). No se encontró asociación con el biomarcador Gal-3 (OR (IC95%);p: 2.04(0.44-9.34);p=0.361) y sí en el caso de la IL-6 (OR (IC95%);p: 9.33 (1.65-52.92);p=0.012), siempre teniendo en cuenta las limitaciones anteriormente descritas con este biomarcador. Además, la edad, el sexo y la TFG también se asociaron con la afectación.

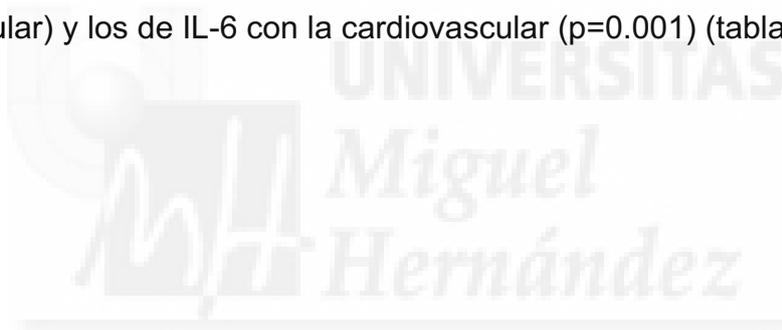
Por último, realizamos un análisis multivariado que incluyó a todos los biomarcadores, la edad, el sexo y la TFG y de entre los diferentes biomarcadores, únicamente la hs-TnT fue un predictor independiente de afectación cardíaca (OR (IC95%;p: 30.69 (2.10-348.42);p=0.006) de tener alteraciones eléctricas y/o HVI). También el sexo se mostró como un predictor independiente (OR (IC95%;p: 8.17(1.16-57.75);p=0.035) (tabla 17).

<b>BIOMARCADOR:</b>	<b>ANÁLISIS UNIVARIADO</b>	<b>ANÁLISIS MULTIVARIADO</b>
<b>PUNTO DE CORTE;</b>		(modo condicional)
<b>Sensibilidad, Especificidad</b>	<b>OR (IC 95%);p</b>	<b>OR (IC 95%);p</b>
<b>Gal-3:</b>		
9.5 ng/mL; 1.00, 0.70	2.04 (0.44-9.34); 0.361	
<b>NT-proBNP:</b>		
206.4 pg/mL; 1.00, 0.88	40.86 (4.51-370.44); <b>0.001</b>	3.93 (0.19-81.60); 0.116
<b>hs-TnT:</b>		
12.42 pg/mL; 1.00, 0.82	198.00 (16.58-2364.88); <b>&lt;0.001</b>	30.69 (2.70-348.42); <b>0.006</b>
<b>BTP:</b>		
0.81 mg/L; 0.86, 0.88	24.75 (2.69-227.61); <b>0.005</b>	1.74 (0.11-27.24); 0.597
<b>IL-6:</b>		
1.57 pg/mL; 0.71, 0.85	9.33 (1.65-52.92); <b>0.012</b>	3.76 (0.13-106.42); 0.095
<b>Edad (años)</b>	1.06 (1.04-1.11); <b>0.011</b>	1.05(0.94-1.18); 0.179
<b>Sexo</b>	7.08 (1.88-26.72); <b>0.004</b>	8.17 (1.16-57.75); <b>0.035</b>
<b>TFG (ml/m/1.73m<sup>2</sup>)</b>	10.3 (1.01-1.06); <b>0.005</b>	0.99 (0.95-1.05); 0.454

**Tabla 17. Parámetros clínicos y bioquímicos asociados a la existencia de afectación cardíaca.** Análisis regresión logística uni y multivariado para estudio de la asociación entre afectación cardíaca según los puntos de corte seleccionados para los diferentes biomarcadores según las curvas ROC de afectación cardíaca que se muestran previamente en la figura 28, así como según diferentes parámetros clínicos. AI: aurícula izquierda; E/e': ratio entre el flujo transmitral protodiastólico (E) y el pico precoz de velocidad con Dopple tisular (e'); NYHA: New York Heart Association; TFG: tasa de filtrado glomerular; TSE: tratamiento sustitutivo enzimático.

### **5.9 Valores de biomarcadores en EF: Análisis de la asociación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores en pacientes con EF según la afectación orgánica evaluada con la escala MSSI**

Por último, se investigó la asociación de cada una de las diferentes subescalas con las concentraciones de los diferentes biomarcadores (tabla 18). Objetivamos una asociación estadísticamente significativa entre las concentraciones de hs-TnT y las puntuaciones de la escala MSSI general ( $p < 0.001$ ), cardiovascular ( $p < 0.001$ ) y renal ( $p = 0.001$ ). Las concentraciones de NT-proBNP se asociaron también con las mismas puntuaciones general, cardiovascular y renal ( $p < 0.001$ ,  $0.001$  y  $0.014$ , respectivamente). Las concentraciones de Gal-3 y BTP lo hicieron con las subescalas cardiovascular y renal ( $p < 0.001$  en todos los casos y  $p = 0.001$  para la asociación entre BTP y cardiovascular) y los de IL-6 con la cardiovascular ( $p = 0.001$ ) (tabla 18).



Escalas MSSI	Coefficiente B (IC 95%)	p
<b>hs-TnT</b>		
General	7.58 (3.99-11.17)	<b>&lt;0.001</b>
Neurológica	1.89 (-1.04-4.81)	0.200
Cardiovascular	3.05 (2.01-4.09)	<b>&lt;0.001</b>
Renal	2.68 (1.15-4.21)	<b>0.001</b>
<b>NT-proBNP</b>		
General	823.82 (629.84-1037.81)	<b>&lt;0.001</b>
Neurológica	118.80 (-111.23-348.71)	0.303
Cardiovascular	170.82 (74.51-207.11)	<b>0.001</b>
Renal	161.73 (35.01-288.40)	<b>0.014</b>
<b>Gal-3</b>		
General	0.98 (-0.41-2.67)	0.162
Neurológica	-0.23 (-0.79-0.33)	0.406
Cardiovascular	0.51 (0.32-0.70)	<b>&lt;0.001</b>
Renal	0.58(0.34-0.82)	<b>&lt;0.001</b>
<b>IL-6</b>		
General	0.05 (-0.13-0.23)	0.575
Neurológica	-0.03 (-0.10-0.04)	0.402
Cardiovascular	0.04 (0.01-0.07)	<b>0.011</b>
Renal	0.03 (-0.01-0.06)	0.196
<b>BTP</b>		
General	0.05 (-0.08-0.18)	0.436
Neurológica	-0.02 (-0.05-0.05)	0.934
Cardiovascular	0.04(0.01-0.06)	<b>0.001</b>
Renal	0.06 (0.04-0.08)	<b>&lt;0.001</b>

Tabla 18. Análisis de regresión lineal para estudiar la asociación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores y la afectación orgánica según las diferentes escalas MSSI (Mainz Severity Score Index).





## **DISCUSIÓN**

---



## 6. DISCUSIÓN

El trabajo que hemos realizado se basa en un análisis de las concentraciones plasmáticas de distintos biomarcadores implicados en diferentes vías fisiopatológicas que juegan un papel relevante en la EF como son el daño miocárdico (hs-TnT), el estrés miocárdico (NT-proBNP), la fibrosis (Gal-3), la inflamación (IL-6) y el daño renal (BTP) determinados en una población de pacientes con diagnóstico genético de EF. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de los diferentes biomarcadores entre los pacientes con afectación cardíaca respecto a los que no la presentaban. Interesantemente, en el caso de la Gal-3 y la BTP, las concentraciones del grupo sin afectación respecto a su grupo control, también fueron superiores. Además, los biomarcadores se correlacionaron con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos tales como la escala NYHA, el espesor parietal y la masa ventricular, así como con la función renal. Por último, seleccionamos un punto de corte óptimo para cada biomarcador en función del grado de afectación clínica evaluada mediante la puntuación MSSI y después de un análisis multivariado solamente la hs-TnT de entre los diferentes biomarcadores analizados y el sexo varón se mostraron como predictores independientes de afectación cardíaca. A la luz de dichos hallazgos hemos evidenciado que la Gal-3 y el BTP se asocian con la afectación precoz por la EF, mientras que la hs-TnT y el sexo son predictores independientes de afectación cardíaca clínica definida en nuestro trabajo como HVI y/o alteraciones electrocardiográficas.

### 6.1 Análisis de la muestra de pacientes: Población estudiada

En primer lugar, interesa analizar las características de nuestra población de estudio. Se trata de una muestra de 44 pacientes con diagnóstico genético de EF con una media de edad de 45.9 años en la que varones y mujeres están bien representados (46.7% y 53.3% respectivamente). Los pacientes del subgrupo con afectación cardíaca eran pacientes mayores (media de 52.2 años), con un predominio de varones (71.4%) y con una afectación cardíaca y multisistémica significativa evaluada mediante la puntuación MSSI (MSSI global de 18.0). Por

el contrario, los pacientes del subgrupo sin afectación cardíaca eran pacientes más jóvenes (media de 38.4 años), predominantemente mujeres (73.9%) y con escasa afectación multisistémica, siendo la mayor parte de ellos pacientes portadores de la mutación asintomáticos diagnosticados a partir del estudio familiar. Dichos hallazgos son acordes con la evolución temporal de la EF descrita en la introducción, en la que el depósito de Gb3 a nivel orgánico es progresivo, estando descrito en la forma clásica de la enfermedad que casi todos los varones una vez alcanzados los 40 años y casi todas las mujeres mayores de 50 años presentan HVI en diferente grado. Dicha evolución típica de la EF justificaría que nuestro grupo sin afectación cardíaca sea un grupo más joven y con mayor porcentaje de mujeres que el grupo con dicha afectación.

La edad de los pacientes en ambos subgrupos es similar a otros estudios publicados en los que también se han analizado diferentes biomarcadores en pacientes con EF. Estos estudios incluyeron pacientes con mayor severidad tanto de afectación cardíaca como multisistémica (126)(129)(148). Tampoco existían diferencias significativas en la SC entre los hombres y las mujeres ni en el porcentaje de hipertensos de ambos subgrupos.

En cuanto al sexo, la muestra es representativa y equitativa, con una proporción de varones y mujeres similar a las series publicadas (100)(126)(129), con un mayor porcentaje de varones en el subgrupo con afectación cardíaca tal y como se ha comentado. No obstante, confirmamos en nuestra serie también que las mujeres pueden expresar fenotípicamente la EF de forma similar al varón, tal y como hemos valorado en nuestra muestra mediante las diferentes escalas MSSI, con afectación visceral en mayor o menor medida, de ahí que el término "portadoras" deba ya a día de hoy desecharse.

Un 52.3% de la población total recibía TSE, un 85.7% de los pacientes con afectación cardíaca y tan solo un 21.74% de aquellos sin afectación. En los trabajos similares publicados en los que se reporta el porcentaje de pacientes tratados, dicho porcentaje era superior, siendo en un trabajo publicado donde estudian concentraciones de IL-6 el total de la muestra y en otro trabajo publicado analizando NT-proBNP, el 83% de la muestra total (129)(148). Estos hallazgos ponen de manifiesto que, si la TSE pudiese modificar los valores de

algunos de los biomarcadores evaluados, en el subgrupo sin afectación cardíaca donde se presuponen unos valores menores, el poco porcentaje de TSE no sería el causante de una concentración menor. Además, nuestros resultados son acordes a esta hipótesis, dado que en los análisis de asociación multivariado de factores que pueden elevar los biomarcadores, individualizados para cada uno de ellos, no existe asociación independiente significativa con el TSE.

La TFG en nuestra cohorte global fue de  $93.7 \pm 38.3$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, ligeramente superior a la de los estudios con biomarcadores en la EF de metodología similar a la nuestra ( $87 \pm 27$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> en el estudio de *Coats et al.* (129) con NT-proBNP y de  $83 \pm 23$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> en el de *Seydelman et al.* (100) con hs-TnT). En el subgrupo con afectación cardíaca, el porcentaje de pacientes con enfermedad renal definida según las últimas recomendaciones, como FG < 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> o lesión renal, era superior al del subgrupo sin afectación (61.90% vs. 9.52%). Además la TFG era significativamente menor en el subgrupo con afectación cardíaca ( $74.5 \pm 36.1$  vs.  $112.1 \pm 31.2$ ), lo que podría haber modificado las concentraciones de algunos de los biomarcadores según se constata en estudios previamente publicados (202). No obstante, en el presente trabajo, los pacientes en hemodiálisis fueron excluidos porque está demostrado que las concentraciones de algunos biomarcadores podrían elevarse en los pacientes en hemodiálisis (203). No en todos los estudios con metodología similar al nuestro se excluyeron los pacientes en hemodiálisis (201), aunque sí era un criterio de exclusión en la mayoría de ellos (100)(126)(129). Como se analizará más pormenorizadamente con posterioridad, biomarcador a biomarcador, en el análisis multivariado la TFG se asoció de manera independiente a la elevación de los biomarcadores hs-TnT, Gal-3 y BTP, no así con el resto (NT-proBNP e IL-6).

En cuanto a la metodología, para la clasificación de los pacientes, hemos asumido que existía afectación cardíaca cuando el paciente presentó HVI en el ecocardiograma y/o alteraciones típicas en el electrocardiograma. No existe a día de hoy una guía de consenso publicada sobre la miocardiopatía en la EF donde se indique el punto de corte idóneo a la hora de la detección de la HVI, como en el caso de otras miocardiopatías como la miocardiopatía hipertrófica,

donde unos espesores mayores o iguales a 15 mm sin un factor causal o de 13 mm en familiares, serían diagnósticos de dicha entidad (199). De ahí, que en línea con los estudios previos publicados así como con los criterios de consenso para el TSE en la EF, el criterio de HVI empleado fue la presencia de un grosor parietal máximo del VI mayor o igual a 13 mm (125)(129)(166). En otros trabajos en EF en los que se analizaban otros biomarcadores, el punto de corte empleado para la definición de HVI fueron los 12 mm (100) y otros autores incluyen también como criterio alternativo el presentar una masa del VI indexada superior o igual a 95 g/m<sup>2</sup> en mujeres o a 115 g/m<sup>2</sup> en varones (129). Empleando el punto de corte de 12 mm podría haberse incluido a pacientes sin afectación cardíaca por EF, con grosores límite, de ahí que se eligiese el criterio recomendado en el documento de consenso para el inicio de TSE publicado recientemente, tal y como se ha comentado. En el caso del criterio de alteraciones electrocardiográficas típicas se eligió dicho criterio en línea con otros estudios similares publicados al respecto (129). La existencia de alteraciones electrocardiográficas son el segundo criterio recomendado como inicio del TSE, pero en este caso sólo reflejan como indicación de inicio de TSE la existencia de bradicardia sinusal, FA o alteraciones en la repolarización. Por tanto, decidimos no emplear en nuestro trabajo únicamente estos criterios y ampliar el espectro de las manifestaciones eléctricas consideradas anormales en los pacientes con EF eligiendo como criterio de afectación cardíaca además otras alteraciones electrocardiográficas también típicas tal y como se ha detallado en el apartado de material y métodos. No obstante, un único paciente de nuestra cohorte que no cumplía el criterio de afectación cardíaca por los grosores del VI se clasificó como afectado por cumplir el criterio de alteraciones ECG, que en ese caso fue un trastorno de la conducción aurículo-ventricular avanzado.

Es importante remarcar que los pacientes con EF eran pacientes estables, seleccionados en consultas de seguimiento habitual en sus consultas externas, lo que evitaría una elevación de las concentraciones de los biomarcadores debidas a algún tipo de descompensación aguda.

## **6.2 Utilidad de los biomarcadores troponina T ultrasensible, NT-proBNP, Galectina-3, Interleucina-6 y proteína beta traza en la enfermedad de Fabry**

La elección de los diferentes biomarcadores se realizó en base a los estudios previamente publicados tanto en EF como en otras patologías cardíacas, así como en la disponibilidad en la práctica clínica habitual en el caso de la hs-TnT y el NT-proBNP, con el fin de evaluar diferentes vías fisiopatológicas implicadas en la afectación cardíaca por la EF.

En cuanto a las concentraciones de los diferentes biomarcadores, núcleo de nuestro trabajo, al analizar globalmente los resultados, hemos podido observar una elevación de la concentración de los biomarcadores hs-TnT, NT-proBNP, Gal-3 y BTP en los pacientes con afectación cardíaca por EF respecto a los que no presentaron dicha afectación. Además, de forma interesante, se han encontrado concentraciones elevadas de los biomarcadores Gal-3 y BTP en los pacientes que no mostraban aún dicha afectación clínica respecto a un grupo control de características similares, con una tendencia en el caso del NT-proBNP, sugiriendo que la medición de dichos biomarcadores podría ser una herramienta extra útil a la hora de identificar a los pacientes con afectación cardíaca subclínica por EF y que, quizás, si la muestra del estudio hubiese sido mayor, también el caso del NT-proBNP se hubiese alcanzado la significación estadística. En el caso de las concentraciones de la IL-6, los datos, aunque estadísticamente significativos, han de tomarse con cautela dado que la mayoría de los sujetos presentaron unas concentraciones por debajo del límite inferior de detección del kit, de lo que se deriva que quizás la IL-6 no sea el biomarcador de elección a la hora de evaluar a estos pacientes.

El análisis de correlación mostró que existe una fuerte correlación positiva entre los diferentes biomarcadores y parámetros clínicos y ecocardiográficos relevantes, como son la clase funcional, la HVI evaluada mediante el espesor máximo del VI y la masa del VI indexada (todos  $p < 0.005$ ), con la excepción de la hs-TnT con la masa del VI indexada. Se encontró así mismo una correlación negativa fuerte entre la tasa de filtrado glomerular y los valores de los biomarcadores Gal-3, NT-proBNP y hs-TnT, siendo moderada en el caso del BTP y no significativa para la IL-6. Tomando todos estos datos en conjunto, el

biomarcador que mejor se comportó fue la Gal-3, que se correlacionó con todas las variables analizadas menos con la FEVI, en línea con el estudio publicado por *Tülüce et al.* en el que se estudiaban sus concentraciones en pacientes con miocardiopatía hipertrófica y en el que tampoco se encontró asociación con la FEVI (140). Este hallazgo podría deberse a que la Gal-3, biomarcador de fibrosis y remodelado, esté involucrada en los estadios iniciales de deterioro cardíaco o renal con remodelado subclínico, cuando otros marcadores clínicos de afectación más avanzada aún no están elevados.

El TSE en la EF ha supuesto un cambio en la historia natural y el pronóstico de estos enfermos, ya que ha demostrado aumentar la supervivencia, mejorar la calidad de vida y desde el punto de vista cardíaco, disminuir los grosores parietales, mejorar la función cardíaca y prevenir el deterioro de la capacidad funcional. Sin embargo, estudios como el de *Weidemann et al.* (186) demostraron que la mejoría se producía únicamente en aquellos pacientes con afectación cardíaca poco evolucionada y escasa fibrosis miocárdica. Por ello, el principio fundamental del TSE en la afectación cardíaca debe ser el inicio precoz antes de que aparezca una afectación cardíaca irreversible. Está bien establecido que las características morfológicas de la miocardiopatía en la EF son la HVI concéntrica y la fibrosis miocárdica. La función sistólica normalmente representada por la FE está preservada y son frecuentes las alteraciones de la función diastólica. La recomendación actual de esperar a que se desarrolle la HVI para iniciar la TSE supone un retraso claro en el inicio del tratamiento, particularmente en las mujeres, ya que se ha demostrado que la fibrosis aparece conforme se desarrolla la HVI, hecho que parece reforzarse por las concentraciones de Gal-3, biomarcador de fibrosis, halladas en nuestros pacientes. Los métodos diagnósticos convencionales con ECG, ecocardiografía Doppler e incluso la RM cardíaca no son útiles para el diagnóstico precoz del daño miocárdico, porque sólo pueden detectar pacientes con un estadio avanzado de la enfermedad. Además, hay pacientes que no son candidatos a realizarse un estudio con RM cardíaca por ser portadores de marcapasos o desfibriladores o presentar insuficiencia renal avanzada que supone una contraindicación a la administración de contraste con gadolinio. Por ello, durante los últimos años se han estudiado nuevos métodos más sensibles capaces de

detectar precozmente dicha afectación, como es el estudio ecocardiográfico de la deformación miocárdica, pero dichas técnicas sólo han mostrado una modesta especificidad y reproductibilidad dado que precisan de experiencia en su realización y su análisis es laborioso. Por todos estos motivos, contar con una técnica ampliamente disponible, de fácil medición y más económica, que además pueda repetirse frecuentemente, como es el caso de la medición de biomarcadores, y que además sea un subrogado de afectación cardíaca, facilitaría la evaluación de la afectación clínica, así como la decisión del momento idóneo de inicio del TSE. Por los resultados de nuestro estudio, proponemos la medición de los biomarcadores en la valoración habitual de los pacientes con EF, en línea con otros estudios recientemente publicados. En este sentido, la determinación de las concentraciones de los biomarcadores Gal-3 y BTP, significativamente superiores en nuestro trabajo en el grupo sin afectación respecto al grupo control, podría ser una determinación útil a la hora de evaluar a dichos pacientes.

En el presente trabajo, además se ha seleccionado en nuestro trabajo un punto de corte para la detección de afectación clínica para cada biomarcador según un análisis de curvas ROC. Al analizar la asociación con la existencia de afectación cardíaca en base a nuestro criterio en los pacientes con EF, únicamente la hs-TnT y el sexo evidenciaron una asociación independiente en el análisis multivariado, mostrándose como predictores independientes de afectación cardíaca. Así nosotros proponemos que concentraciones de hs-TnT  $\geq 12.42$  pg/mL podrían ser útiles como punto de corte a la hora de evaluar qué pacientes presentan afectación cardíaca, pudiendo ser una ayuda a la hora de decidir, en casos limítrofes, cuándo iniciar el TSE. También en nuestro trabajo el sexo varón se mostró como predictor independiente de afectación cardíaca.

A continuación, se discuten los principales hallazgos en relación con cada uno de los biomarcadores analizados.

### 6.3 Utilidad del biomarcador troponina T ultrasensible en la enfermedad de Fabry

En los últimos años, las troponinas se han perfilado como biomarcadores de máxima utilidad en la valoración del daño miocárdico, siendo cruciales en el diagnóstico de los síndromes coronarios agudos. En otras patologías en fase estable como son la insuficiencia cardíaca crónica o la cardiopatía isquémica crónica, también se han detectado valores circulantes elevados. En el campo de las miocardiopatías, en 2010 nuestro grupo de investigación (9) publicó un estudio en el que por primera vez detectaron concentraciones elevadas de hs-TnT en pacientes con miocardiopatía hipertrófica respecto a un grupo control sano, empleando en este caso un punto de corte de 14 ng/L con el mismo test que empleamos en el trabajo actual. En el caso de las enfermedades de depósito, debido a la acumulación de esfingolípidos en los miocitos, el miocardio sufre un daño continuo que puede generar una elevación permanente de las troponinas según habían evidenciado algunas series de casos publicadas, hecho que confirmamos con las concentraciones superiores halladas en nuestros pacientes con afectación cardíaca. Pero hasta 2016 no aparecen publicaciones donde se estudie su valor clínico en la EF. Dos estudios de diseño similar al nuestro, con análisis retrospectivo de datos prospectivos, hasta el día de la escritura de este trabajo, avalan el empleo de este biomarcador como parte de la evaluación del paciente con EF. En el primero de ellos, *Tanislav et al.* (126) estudia la utilidad de las concentraciones en este caso de la TnI, empleando un punto de corte de 0.04 ng/mL. En su caso estudian la concentración de TnI según los diferentes síntomas y signos característicos de la EF, encontrando concentraciones elevadas de TnI en los pacientes con EF respecto a un grupo control, siendo dichas concentraciones superiores en el grupo con HVI y siendo ésta el único factor independientemente asociado a la elevación de TnI por encima de dicho punto de corte. En el caso del segundo trabajo, publicado también en 2016 por el grupo de *Seydelmann et al.* (100), en el que emplean como en nuestro trabajo la hs-TnT y considerando en este caso un valor mayor a 14 ng/L como elevado, de forma análoga al estudio realizado por nuestro grupo en el campo de la miocardiopatía hipertrófica (121), se analiza su asociación con diferentes parámetros clínicos y ecocardiográficos, pero orientado a la

búsqueda de una relación con la fibrosis detectada en la RM cardíaca con gadolinio, en este caso sin contar con grupo control. Nuevamente los valores de hs-TnT son superiores en los pacientes que presentan miocardiopatía avanzada definida como realce tardío con gadolinio o FEVI deprimida, teniendo en cuenta que eran casos aislados los que presentaban HVI sin realce en la RM cardíaca. Otro hallazgo fue que el valor de la hs-TnT se correlacionaba de forma muy positiva con la cantidad de fibrosis en la RM cardíaca. En nuestro trabajo, de forma análoga al segundo trabajo también hemos encontrado concentraciones significativamente superiores entre los subgrupos con y sin afectación cardíaca y nuestro estudio además compara estos valores con un grupo control sano apareado por edad y sexo lo que lo dota de mayor robustez, no encontrando en este caso diferencias significativas respecto al grupo control como sí se objetivaron en el estudio de *Tanislav et al.* con TnI. Los valores de hs-TnT en los pacientes que presentaron valores elevados (97% de ellos con afectación cardíaca) reportados en el estudio de *Seydelmann et al.* fueron similares a los encontrados en los pacientes con afectación cardíaca en nuestro trabajo (mediana 24.2 pg/mL en el estudio de *Seydelmann* y 25.3 pg/mL en nuestro trabajo), lo que apoya la fiabilidad de nuestros resultados bioquímicos, teniendo además en consideración que el test empleado en dicho estudio es el mismo que se ha empleado en nuestro trabajo.

En nuestro estudio se ha cuantificado tanto las concentraciones de hs-TnT como el grado de HVI mediante diferentes parámetros como el espesor ventricular y la masa ventricular indexada y además se ha definido también de forma exhaustiva si existía o no otro tipo de afectación como la electrocardiográfica. En esta línea, objetivamos que existía una fuerte correlación con la clase funcional NYHA, así como con el espesor ventricular y la masa ventricular. Cuando se realizó un análisis multivariado de los factores independientemente asociados a la elevación de la hs-TnT, únicamente la afectación renal evaluada con la TFG y el sexo alcanzaron la significación estadística, volviendo a indicar que, efectivamente, este biomarcador se asocia con la función renal, cuya alteración en pacientes cardiopatas está más que demostrada. En el estudio de *Seydelman et al.* la TFG también presentaba una correlación negativa con las concentraciones de hs-TnT, pero no se asoció de

forma independiente como en nuestro caso con la elevación de la hs-TnT en su análisis multivariado. No obstante, sí reseñan que la TFG era significativamente menor en el subgrupo de pacientes con concentraciones superiores de hs-TnT.

También demostramos en nuestro estudio que las concentraciones de la hs-TnT son superiores en los pacientes con una mayor afectación global por la EF evaluada por la escala MSSI. Esta escala es empleada a día de hoy a la hora de la evaluación habitual del paciente con EF y ha sido validada en varios estudios (200). Además, son las subescalas de riesgo cardiovascular y renal las que se asocian de forma significativa a dicha elevación, pudiendo, las concentraciones de dicho biomarcador, ayudarnos a la hora de predecir la puntuación en dichas escalas.

En el trabajo de *Tanislav et al.* se estima una sensibilidad del 94.1% para la Tnl y una especificidad del 84.4% para la detección de HVI si los valores superaban el umbral de 0.04 ng/mL, no realizándose dichas estimaciones en el estudio con la hs-TnT. Nosotros hemos determinando un punto de corte para la hs-TnT según los criterios clínicos de afectación en los pacientes con EF, obteniendo una especificidad cercana al 100% y una sensibilidad del 82% para la detección de afectación clínica significativa para la concentración de 12.42 pg/mL. La elevación de la hs-TnT por encima de dicho punto de corte se asociaría de forma independiente a la existencia afectación cardíaca tal y como objetivamos tras el análisis multivariado, presentando los pacientes con elevación por encima de dicho umbral mayor probabilidad de presentar afectación cardíaca (OR (IC95%;p: 30.69 (2.10-348.42);p=0.006) de tener alteraciones eléctricas y/o HVI). En el estudio comentado previamente de *Tanislav et al.*, dicha OR fue de 65.6 para el punto de corte de 0.04 ng/mL. Hemos de tener en cuenta, que la Tnl ha demostrado ser mucho menos sensible como marcador de daño celular miocárdico que la hs-TnT, que es la que hemos empleado en el presente trabajo (200).

Tomando todos los datos en conjunto podríamos concluir que la hs-TnT, biomarcador de daño miocárdico, parece ser un buen marcador de afectación cardíaca entre los diferentes biomarcadores analizados dada dicha asociación independiente en el análisis multivariado, así como por las correlaciones con las

manifestaciones cardíacas expuestas más arriba, no obstante, no parece ser el mejor predictor de afectación cardíaca incipiente, pues sus valores no se elevan significativamente respecto a un grupo control sano. Así, nuestros resultados son acordes a los estudios previamente publicados, situando a la hs-TnT como un factor predictor independiente de afectación cardíaca y proponemos unas concentraciones superiores a 12.42 pg/mL como punto de corte útil para la predicción de dicha afectación cardíaca clínica. Dado que se trata de una medida sencilla y no excesivamente costosa, su determinación por todo lo comentado en el marco de la evaluación habitual del paciente con EF sería útil. Si su valor supera el umbral propuesto y el paciente aún no ha desarrollado HVI, la probabilidad de la existencia de afectación cardíaca establecida es muy elevada y quizás deberíamos plantearnos el inicio del TSE.

#### **6.4 Utilidad del biomarcador NT-proBNP en la enfermedad de Fabry**

El paradigma de los biomarcadores de estrés miocárdico son los péptidos natriuréticos y han mostrado su utilidad en diferentes escenarios clínicos, siendo una herramienta diagnóstica y pronóstica de máxima utilidad en el campo de la insuficiencia cardíaca tanto con FEVI deprimida como preservada, secretándose en el corazón ante estímulos de sobrecarga de presión y volumen. Ya dentro del apartado de las miocardiopatías, como en el caso de la hs-TnT, también ha sido estudiada su utilidad en la miocardiopatía hipertrófica (127)(128), correlacionándose (como en el caso de la insuficiencia cardíaca) con las presiones de llenado elevadas evaluadas mediante parámetros como el tamaño de la AI o la relación  $E/e'$ , así como con el elemento clave de dicha patología, la HVI. Estudios posteriores en 2011 y 2013 han estudiado su valor en el campo de la miocardiopatía en la EF. El primer estudio publicado al respecto por el grupo de *Torralba-Cabeza* (201), de metodología similar al nuestro, incluyendo un grupo control, analizó los valores de diferentes biomarcadores entre los que se encontraba el NT-proBNP, objetivándose concentraciones en los pacientes con afectación cardiovascular similares a las que presentaron los pacientes afectados en nuestro trabajo (mediana 1716 pg/mL y 1056 pg/mL en cada uno de los trabajos), siendo las concentraciones superiores en su subgrupo sin

afectación (mediana 113.67 pg/mL), que en el nuestro (mediana 50.20 pg/mL). Las concentraciones en el grupo con afectación en el segundo estudio, publicado en 2013 por *Coats et al.* (129) sin embargo, son bastante inferiores a los valores que tanto en nuestro trabajo como en el de *Torralba-Cabeza et al.* se observan, teniendo en cuenta la misma premisa previamente indicada. En nuestro estudio además se analizaron las concentraciones respecto a un grupo control, encontrando concentraciones significativamente muy superiores en el grupo con afectación cardíaca respecto a su grupo control. Las concentraciones también fueron superiores respecto a los controles en el grupo sin afectación, pero únicamente se alcanzó una tendencia estadística. Probablemente con una muestra de pacientes mayor, dichas diferencias también alcanzarían la significación estadística.

En el estudio publicado por *Coats et al.* que incluye a 117 pacientes con EF con y sin afectación cardíaca aplicando un criterio muy similar al de nuestro trabajo, pero sin grupo control, observan que en el 57% presentaron concentraciones elevadas respecto a los puntos de corte por edad consideradas normales, siendo estas concentraciones también elevadas en los pacientes que no presentaban HVI. Nosotros al analizar las concentraciones respecto al grupo control también hemos detectado concentraciones mayores en el grupo con EF sin afectación cardíaca, sin llegar a alcanzar la significación estadística tal y como se ha comentado con anterioridad. Dichos hallazgos nuevamente podrían ser útiles a la hora de detectar precozmente una afectación cardíaca subclínica.

En el presente trabajo de Tesis encontramos únicamente correlaciones moderadas con la clase funcional estimada con la NYHA, así como con el espesor ventricular y la masa ventricular. Además, las concentraciones se asociaron en el análisis univariado con la TFG, el diámetro de la AI y el TSE. Cuando se realizó un análisis multivariado de los factores independientemente asociados a la elevación de la NT-proBNP, únicamente la clase funcional de la NYHA y el diámetro de la AI, subrogado de elevación de las presiones de llenado, alcanzaron la significación estadística, no así la TFG, la relación E/E', ni el sexo o la edad. En el estudio de *Coats et al.* se objetivó una asociación independiente de la concentración de NT-proBNP con la TFG, así como con el tamaño de la AI en el estudio multivariado. En nuestro trabajo, corroboramos dicha asociación

significativa, resultando el único biomarcador independientemente asociado al tamaño de la AI, no así con el cociente E/E' promediado. La disfunción diastólica en la EF ha sido atribuida a la fibrosis miocárdica y al acúmulo de Gb3, precediendo generalmente al desarrollo de la HVI. Incluso en la afectación cardíaca subclínica, se ha demostrado que la contractilidad de los miocitos está alterada y existe una mayor tensión de los miofilamentos en reposo. De ahí, que un biomarcador que se correlacione con marcadores de las presiones de llenado, como el tamaño de la AI, pueda ser potencialmente útil a la hora de identificar una afectación cardíaca subclínica (87). En el estudio publicado por *Torralba-Cabeza et al.* también se objetivó una correlación positiva moderada ( $r=0.362$ ) con la función diastólica (evaluada como un índice E/A menor a 1 o un aumento de tamaño de AI/masa VI en pacientes sintomáticos).

También demostramos en este estudio que las concentraciones del NT-proBNP son superiores en los pacientes con una mayor afectación global por la EF evaluada por la escala MSS1, de manera análoga a como se ha descrito con la hs-TnT. Nuevamente, son las subescalas de riesgo cardiovascular y renal las que se asocian de forma significativa a dicha elevación, pudiendo, las concentraciones de dicho biomarcador, ayudarnos a la hora de predecir la afectación y en la toma de decisiones, como en el caso de la hs-TnT.

*Coats et al.* proponen un punto de corte óptimo de NT-proBNP  $\geq 169.14$  pg/mL (20 pmol/L) con un valor predictivo positivo del 99.7% y un valor predictivo negativo del 9.2% para identificar afectación cardíaca (HVI y/o alteraciones ECG). En nuestro trabajo, de igual forma que con la hs-TnT, determinamos un punto de corte para el NT-proBNP según los criterios clínicos de afectación global en los pacientes con EF, obteniendo una especificidad cercana al 100% y una sensibilidad del 88% para la detección de afectación clínica significativa para la concentración de 206.4 pg/mL, valor cercano al propuesto por el grupo de *Coats et al.* Empleando este punto de corte, en el análisis univariado encontramos una asociación claramente significativa entre la existencia de afectación cardíaca (evaluada según nuestro criterio clínico) y la elevación del NT-proBNP por encima del punto de corte. De este modo, los pacientes con elevación por encima de dicho umbral presentarían una probabilidad mucho mayor de presentar afectación cardíaca (OR de 40.86) frente a pacientes por

debajo del punto de corte con alteraciones eléctricas y/o HVI. En el análisis multivariado en cambio, no se mostró como predictor independiente de afectación cardíaca. Es muy posible que como se ha comentado, un aumento del tamaño de la muestra también en este caso hubiese revelado una asociación independiente y esto es algo que se podrá comprobar con futuros estudios con mayor tamaño muestral. La rentabilidad diagnóstica global del NT-proBNP en el estudio de *Torralba-Cabeza et al.* fue inferior a la de nuestro trabajo, siendo del 74% para la valoración de afectación cardiovascular global, siendo en este caso su definición más amplia que en nuestro trabajo (disfunción diastólica, alteración de FEVI, HVI), lo que podría explicar dichas diferencias.

Tomando todos los datos en conjunto podríamos concluir que el NT-proBNP, biomarcador de estrés miocárdico, está significativamente elevado en los pacientes con afectación cardíaca por EF respecto a los pacientes que no presentan afectación y se asocia con peor clase funcional y mayor tamaño de la AI. No obstante, no parece ser el mejor predictor de afectación cardíaca incipiente en pacientes sin evidencia de HVI o alteraciones eléctricas, pues sus valores no se elevan significativamente respecto a un grupo control sano. Además, en el análisis multivariado no se mostró como predictor independiente de afectación cardíaca clínica. Sin embargo, dado que se trata de una medida sencilla y no excesivamente costosa, su determinación por todo lo comentado en el marco de la evaluación habitual del paciente con EF también podría ser útil.

### **6.5 Utilidad del biomarcador Galectina-3 en la enfermedad de Fabry**

La Gal-3, biomarcador de inflamación y fibrosis en múltiples órganos, juega un papel también en la fibrosis cardíaca siendo propuesto como un marcador de remodelado cardíaco (132). Tal y como se describió en la introducción, se ha estudiado su papel en diferentes escenarios como la insuficiencia cardíaca y el infarto agudo de miocardio, limitándose su determinación al campo de la investigación y no tratándose de un biomarcador de uso rutinario como era el caso de la hs-TnT o el NT-proBNP. En el campo de las miocardiopatías, hasta el día de la escritura del presente trabajo, únicamente se había publicado un

trabajo que estudiaba su valor específicamente en la miocardiopatía hipertrófica en 2016 (140), no existiendo ningún trabajo publicado en el área de la EF. En dicho trabajo, se investiga tanto la concentración del biomarcador en pacientes, contando con un grupo control para la comparación, así como la asociación de su concentración con diferentes índices ecocardiográficos que incluyen el strain. Finalmente concluyen que la concentración de Gal-3 está elevada en dicho contexto y que dicha concentración se correlaciona con el espesor y la masa del VI, no encontrándose asociación con la función diastólica o sistólica, lo que sugiere que la Gal-3 es un marcador de HVI y no de presiones de llenado como el BNP.

En el presente trabajo, hemos evidenciado también en el caso de este biomarcador, por primera vez hasta el día de hoy, que las concentraciones están elevadas de forma significativa en los pacientes con EF respecto a la población sana, tanto en el subgrupo con afectación cardíaca como en el subgrupo sin dicha afectación. Además, las concentraciones son superiores también de forma significativa en el subgrupo con afectación cardíaca respecto al subgrupo que no la presenta. En el estudio de *Tülüce et al.*, se objetivaron concentraciones muy similares a las que presentaron los pacientes afectados en nuestro trabajo (media de  $16.6 \pm 6.3$  ng/mL en nuestro trabajo y  $16.9 \pm 6.64$  ng/mL en el trabajo en miocardiopatía hipertrófica), siendo las concentraciones también similares tanto en nuestro grupo control como en el suyo, teniendo en cuenta que los test empleados no fueron los mismos. En su trabajo dichas concentraciones se correlacionaron de forma moderada con el diámetro del septo interventricular y con la masa ventricular, mientras que en nuestro estudio se observó correlación fuerte en el caso de la masa y moderada en el caso del espesor ventricular. La correlación con la FEVI en ambos trabajos no fue significativa.

Al analizar si la elevación de la Gal-3 se asociaba a diferentes factores clínicos y ecocardiográficos en el análisis univariado, casi todos los parámetros evaluados lo hicieron (edad, sexo, TFG, NYHA, diámetro de la AI y TSE), no así la relación E/E'. Tanto la NYHA como la TFG, permanecieron, junto con el sexo, como predictores independientes de elevación de las concentraciones del biomarcador en el análisis multivariado. En el trabajo publicado por *Tülüce et al.* en miocardiopatía hipertrófica, tampoco se encontró asociación con la relación

E/E', ni con el strain longitudinal (asociado con la fibrosis en estudios previos publicados en miocardiopatía hipertrófica), de ahí que los autores sugieran que la Gal-3 es un biomarcador de HVI, no asociado con la elevación de las presiones de llenado (evaluada mediante la relación E/E') ni con la fibrosis miocárdica asociada al remodelado (evaluada mediante el strain longitudinal), resultados que contrastan con toda la literatura publicada al respecto en la que queda patente una clara asociación de la Gal-3 con la fibrosis miocárdica en otros escenarios clínicos como la insuficiencia cardíaca, la FA o el infarto de miocardio (132). Así, recientemente, *Besler et al.* publican un trabajo con muestras histológicas obtenidas mediante biopsia endomiocárdica en pacientes con miocardiopatía dilatada en el que se estudia la asociación de la Gal-3 tanto miocárdica como circulante con el grado de fibrosis en las muestras histológicas, encontrando correlación entre la fibrosis y la Gal-3 miocárdica, no así con la circulante (203). También en nuestros trabajos publicados estudiando la asociación entre la fibrosis auricular y el riesgo de FA postquirúrgica, dicha asociación es significativa (132). En el presente trabajo, el tamaño de la AI en el análisis multivariado tampoco se mostró como predictor independiente de elevación de la Gal-3.

La función renal se asoció en el análisis univariado y de correlación con la elevación de las concentraciones de dicho biomarcador de forma significativa, apareciendo como factor predictor independiente en el análisis multivariado y asociándose también con la subescala renal del MSSl. La Gal-3 es un biomarcador eliminado fundamentalmente por el hígado, de ahí que el deterioro de la función renal no tenga por qué ser *per se* el culpable de la elevación de sus concentraciones, si no que sea al revés, que la elevación de la Gal-3 esté en relación con el daño orgánico renal o cardiovascular ya en estadios iniciales, ya sea renal o cardiovascular tal y como parecen apuntar nuestros resultados de asociación con las correspondientes puntuaciones en las escalas MSSl.

Como con el resto de biomarcadores, también se realizó una curva ROC para establecer el mejor punto de corte para la afectación clínica global, encontrando que una concentración superior a 9.5 ng/mL mostraba una sensibilidad del 100% y una especificidad del 70%, siendo ésta la menor de todos los biomarcadores.

En el caso de este biomarcador, dicho punto de corte en el análisis multivariado no se mostró como un predictor independiente de afectación cardíaca.

A la luz de dichos resultados, la Gal-3 quizás sea un biomarcador no asociado a la elevación de las presiones de llenado como es el caso del NT-proBNP, ni de utilidad a la hora de predecir de forma independiente si existe afectación cardíaca empleando nuestro punto de corte. No obstante, dada su excelente correlación con casi todos los parámetros clínicos y ecocardiográficos, así como con las subescalas MSSI cardiovascular y renal sí parece ser un biomarcador asociado con el remodelado cardíaco y la afectación renal, que se eleva ya desde estadios iniciales de la enfermedad. Por todo esto, su determinación podría ser de gran utilidad a la hora de la evaluación global del paciente con EF, del seguimiento de su evolución y, lo que es más interesante, establecer un criterio de comienzo temprano de TSE. Estudios futuros con un mayor tamaño muestral, diseñados específicamente para el estudio de dichas asociaciones, en los que se definan más detalladamente los parámetros elegidos para la evaluación tanto de la función diastólica como de las presiones de llenado, así como de la fibrosis miocárdica, arrojarán más luz sobre todos estos aspectos.

### **6.6 Utilidad del biomarcador Interleucina-6 en la enfermedad de Fabry**

Tal y como se ha comentado en el apartado de resultados, tanto las concentraciones como las asociaciones de ellas derivadas con el presente biomarcador han de tomarse con cautela, pues la mayoría de los pacientes no alcanzaban el límite inferior de detección del test, 1.5 pg/mL. Únicamente algunos pacientes en el subgrupo con afectación cardíaca presentaron concentraciones superiores al límite inferior, pudiendo arrojar valores de concentraciones útiles. Aunque las diferencias fueron estadísticamente significativas entre los diferentes subgrupos, así como respecto al grupo control, no podemos asegurar que dichas diferencias realmente existan o sea hallazgo casual a la luz de lo previamente expuesto.

Las citocinas inflamatorias como la IL-6 no se expresan habitualmente en un corazón normal, elevándose como respuesta a un daño o estrés mecánico del miocardio. Igualmente, este biomarcador de inflamación, como ya se ha indicado, no es específico de localización miocárdica, sino que se eleva de manera sistémica con multitud de patologías que cursan con procesos inflamatorios (142).

En el campo de la miocardiopatía hipertrófica (143)(144) se han objetivado concentraciones elevadas, así como una asociación con el grado de fibrosis. En la EF, un estudio reciente que estudia múltiples biomarcadores proinflamatorios encuentran concentraciones elevadas en los pacientes respecto al grupo control, no siendo dichas diferencias significativas entre los subgrupos de pacientes con EF con y sin HVI (148). En dicho trabajo, todos los pacientes con EF estaban bajo TSE, lo que puede haber arrojado resultados diferentes por tratarse de estadios clínicos más avanzados de la enfermedad, en que pueda existir un estado inflamatorio mayor por el mayor grado de afectación multiorgánica, hecho que se refleja en que más del 50% de los pacientes en la cohorte global presentaba un FG menor a 60mL/min/m<sup>2</sup> y en que la puntuación en la escala MSSl era mayor que en el presente trabajo (media de 22.2 en dicho trabajo vs. mediana 3.0 en nuestro estudio en los pacientes sin HVI y 24.7 vs. 18 en los pacientes con HVI). En nuestro subgrupo de pacientes sin afectación cardíaca, únicamente 5 pacientes (21.74%) estaban con TSE y sólo presentaban afectación renal el 9.5% de ellos (en el subgrupo sin HVI del estudio reseñado, la presentaba el 32%). También tenemos que tener en cuenta, que el test empleado en dicho estudio no era el mismo al empleado en nuestro trabajo y los resultados podrían no ser absolutamente comparables. Las concentraciones de IL-6 en su trabajo fueron de 165.7±30.1 pg/mL en los pacientes con EF y de 6.2±0.2 pg/mL en el grupo control. En nuestro trabajo, dichas concentraciones tanto el grupo control como en el de los pacientes fueron marcadamente más inferiores, no superando en la mayoría de los sujetos, tal y como se ha comentado, el límite inferior de detección. Otro estudio más antiguo, publicado en 2009 por el grupo de *Vedder et al.* (200) en el que se analizaban múltiples biomarcadores de coagulación y de activación endotelial en pacientes con EF, únicamente encontró diferencias al analizar el subgrupo de mujeres, no

encontrando correlación con la función renal o la escala MSSI. En este trabajo se reportan concentraciones más parecidas a las de los pacientes en nuestro trabajo, con una concentración en pacientes varones de 1.4 pg/mL (0.6-10.0 pg/mL) y de 1.0 pg/mL (0.3-3.3 pg/mL) en los controles, siendo las concentraciones en las pacientes mujeres de 19 pg/mL (0.6-10.2 pg/mL).

Teniendo en cuenta todas las consideraciones descritas, en nuestro trabajo también parece que las concentraciones de IL-6 están elevadas en los pacientes con HVI respecto al grupo control y entre los pacientes con y sin afectación cardíaca. En nuestro estudio, la concentración de IL-6 se correlacionó de forma moderada con la NYHA, la HVI evaluada como el grosor máximo y con la masa del VI, mientras que en el análisis de asociación univariado no se encontró ningún parámetro clínico o ecocardiográfico asociado a la elevación de dicho biomarcador. Respecto a la asociación con las diferentes escalas clínicas MSSI, las concentraciones de IL-6 únicamente se asociaron a la subescala cardiovascular.

El punto de corte obtenido tras el análisis del AUC se superpone al límite inferior de detección, lo que confirma nuevamente que dichos resultados han de interpretarse con cautela.

Teniendo en cuenta los resultados de estudios previos, e interpretando con todas las reservas anteriormente expuestas los nuestros, la IL-6 no parece ser el biomarcador ideal a la hora de la valoración clínica del paciente con EF, algo que no podemos confirmar absolutamente con los resultados obtenidos en el presente trabajo. Quizás ensayos de IL-6 de mayor sensibilidad arrojarán luz en este interesante aspecto.

### 6.7 Utilidad del biomarcador proteína beta traza en la enfermedad de Fabry

La BTP, molécula implicada en la regulación de varias funciones biológicas relevantes por su efecto antiinflamatorio, antiapoptótico, antitrombótico y antiaterogénico (202), es un biomarcador de demostrada utilidad a la hora de estimar la función renal, dado que es poco dependiente de factores extrarrenales, como lo pueda ser la creatinina, siendo además más sensible que ésta en la detección de las fases precoces de daño renal. Además de su papel establecido en la valoración de la función renal, en los últimos años, la BTP ha sido propuesta como un biomarcador novedoso en la valoración del riesgo cardiovascular, mostrando utilidad pronóstica en la insuficiencia cardíaca aguda, el síndrome coronario agudo o la FA entre otros escenarios clínicos. Nunca ha sido estudiada ni en el campo de las miocardiopatías ni en la EF.

Nuestros pacientes con EF mostraron significativamente concentraciones de BTP superiores al grupo control y, además, los pacientes con afectación cardíaca también presentaron concentraciones superiores a los no afectados. De manera análoga a lo que ocurrió con la Gal-3, los valores estaban ya elevados en el subgrupo sin afectación cardíaca respecto al grupo control de forma significativa, de ahí que se trate de un biomarcador asociado con la afectación precoz por la EF. Las concentraciones de BTP en nuestro estudio fueron de 0.62 mg/L (0.56-0.68 mg/L) en el subgrupo con EF sin afectación cardíaca y de 0.83 mg/L (0.64-1.2 mg/L) en el subgrupo con afectación. En otro trabajo publicado por nuestro grupo en 2013, *Vilchez et al.* (162) evaluaron su valor pronóstico en el contexto clínico de la FA y se encontraron concentraciones de BTP medias de 0.632 mg/L (0.497-0.823 mg/L), en rango similar a las mostradas para los pacientes con EF sin afectación cardíaca en el actual trabajo.

Dichas concentraciones se correlacionaron con varios de los parámetros clínicos y ecocardiográficos evaluados (TFG, NYHA, espesor y masa de VI) de forma moderada o fuerte, encontrándose asociación en el análisis univariado con la TFG y el sexo, manteniéndose únicamente dichos factores clínicos como predictores independientes de su elevación en el análisis multivariado. Además, también se asoció a la puntuación en las subescalas MSSI cardiovascular y renal. Acorde a los datos publicados hasta el momento y a la luz de los presentes

resultados, la BTP en estos pacientes también parece ser un biomarcador relacionado con la función renal, que detecte afectación renal en estadios más precoces que la TFG o la microalbuminuria (160)(161), presentando un valor adicional en la evaluación precoz de la afectación cardiovascular o multiorgánica del paciente con EF. El diámetro de la AI y la relación E/E' no se asociaron con las concentraciones, de ahí que quizás sea un biomarcador no asociado a la elevación de las presiones de llenado, siendo otros mecanismos fisiopatológicos los responsables de su elevación. A nivel de los vasos sanguíneos de los pacientes con EF se ha observado que las células endoteliales y las células de músculo liso a nivel de la microcirculación están severamente afectadas por el depósito, contribuyendo al desarrollo de isquemia. Las concentraciones de BTP quizás puedan verse elevadas en el plasma en dicho escenario de manera similar a como lo hacen en los pacientes con coronariopatía según ha quedado constatado en otras publicaciones (158)(161).

El punto de corte que mostró mejor rendimiento a la hora de la detección de afectación clínica fue 0.81 mg/L, con una sensibilidad del 86%, menor a la que mostraron tanto la hs-TnT, el NT-proBNP y la Gal-3 y una especificidad del 88%, similar al resto de biomarcadores. Dicho punto de corte ofrece una OR de 24.75 para la detección de afectación cardíaca, no alcanzando la significación como predictor independiente de dicha afectación al realizar el análisis multivariado.

## 6.8 Limitaciones

Este estudio tiene limitaciones por su naturaleza transversal, pudiendo analizar sólo asociaciones y no establecer causalidad al no tratarse de un estudio longitudinal. Aunque las concentraciones de los biomarcadores eran claramente superiores en los pacientes afectados, no podemos descartar posibles cambios en sus concentraciones a lo largo del tiempo, ni evaluar si al iniciar el TSE las concentraciones de los biomarcadores se verían afectadas. Además, no podemos excluir la influencia de otras variables no incluidas en el presente trabajo. Nuestro trabajo además cuenta con una muestra pequeña de pacientes, teniendo en cuenta que la EF es una enfermedad rara. La comparación con los resultados de otros estudios publicados, también con muestras pequeñas, han

de realizarse con precaución porque el método de medición del biomarcador puede no ser el mismo en todos los centros. Se necesitan estudios más amplios, quizás multicéntricos e internacionales, para poder corroborar nuestros resultados. Además, destacar la limitación que ofrece la medición del biomarcador IL-6, pues la mayoría de los pacientes no alcanzaban el límite inferior de detección del test y no podemos asegurar que las diferencias encontradas realmente existan o sean un hallazgo casual.

### **6.9 Implicaciones futuras**

Hasta el día de hoy, el actual trabajo es el primero diseñado para analizar diferentes biomarcadores de diferentes vías moleculares como la fibrosis miocárdica, la sobrecarga de presión, el daño miocárdico, la función renal y la inflamación, en pacientes con un diagnóstico genético de EF con y sin afectación clínica, incluyendo además a un grupo control sano. Este trabajo es importante por diferentes razones. En primer lugar, las concentraciones de los diferentes biomarcadores fueron superiores en los pacientes con EF y con afectación cardíaca respecto a los que no la presentaban, aportando evidencia en el valor de los biomarcadores analizados a la hora de discriminar entre pacientes con EF con y sin afectación cardíaca. En segundo lugar, en el caso de la Gal-3 y la BTP, las concentraciones del grupo sin afectación respecto a su grupo control, también fueron superiores por lo que probablemente resulten buenos biomarcadores de afectación clínica precoz. En tercer y último lugar, que la hs-TnT y el sexo son factores predictores independientes de afectación cardíaca clínica de ahí que la hs-TnT se muestre como el mejor biomarcador a la hora de la evaluación de la existencia de una afectación cardíaca en el paciente con EF o para el seguimiento de esta afectación en pacientes con EF establecida y quizás sería el biomarcador ideal a incorporar dentro de un algoritmo diagnóstico que facilitase la evaluación de la afectación cardíaca en la EF. El principio fundamental del TSE en la afectación cardíaca debe ser el inicio precoz antes de que aparezca una afectación cardíaca irreversible y la recomendación actual de esperar a que se desarrolle la HVI para iniciar la TSE supone un retraso claro en el inicio del tratamiento. Tras los resultados de nuestro estudio, proponemos la medición de los biomarcadores hs-TnT, NT-proBNP, Gal-3 y BTP en la valoración habitual de los pacientes con EF, dado que además de tratarse de

una técnica ampliamente disponible, fácil y económica, puede repetirse frecuentemente, con el objetivo final de contribuir a un diagnóstico precoz y al mejor manejo de los pacientes con la EF y de forma complementaria a otras técnicas que también evalúan la afectación cardíaca precoz como el strain o la RM cardíaca con mapeo T1.







## **CONCLUSIONES**

---



## 7. CONCLUSIONES

**CONCLUSIÓN 1:** La concentración de los biomarcadores estudiados (hs-TnT, NT-proBNP, Gal-3, IL-6 y BTP) muestran diferencias significativas en función del grupo de pacientes o controles en los que se determine:

**Conclusión 1.1:** Las concentraciones de los diferentes biomarcadores fueron superiores en los pacientes con EF y con afectación cardíaca respecto a los que no la presentaban.

**Conclusión 1.2:** Los pacientes con EF que presentan afectación cardíaca muestran una elevación de la concentración de distintos biomarcadores respecto a controles sanos apareados por edad y sexo.

**Conclusión 1.3:** Los pacientes con EF que no presentan afectación cardíaca, muestran una concentración superior de los biomarcadores Gal-3 y BTP respecto a los controles sanos apareados por edad y sexo. Los pacientes con EF que no presentan afectación cardíaca no muestran una concentración superior de los biomarcadores hs-TnT y NT-proBNP respecto a su grupo control.

**CONCLUSIÓN 2:** Los biomarcadores estudiados muestran capacidad predictiva para afectación cardíaca y utilidad clínica:

**Conclusión 2.1:** Los puntos de corte óptimos seleccionados para la evaluación de la afectación clínica global evaluada con la escala MSSl resultaron para la hs-TnT la concentración de 12.42 pg/mL, para el NT-proBNP de 206.4 pg/mL, para la Gal-3 de 9.5 ng/mL, para el BTP de 0.81 mg/L y para IL-6 de 1.57 pg/mL.

**Conclusión 2.2:** De entre los diferentes biomarcadores, la concentración de hs-TnT por encima de dicho punto de corte seleccionado de 12.42 pg/mL es un factor predictor independiente de afectación cardíaca, tras ajustar por variables de confusión. La hs-TnT se muestra como el mejor biomarcador a la hora de la evaluación de la existencia de una afectación cardíaca en el paciente con EF.

**Conclusión 2.3:** Los mejores biomarcadores para la detección precoz de

afectación cardíaca en pacientes con EF sin hipertrofia ventricular izquierda son la Gal-3 y la BTP, tanto por su concentración mayor respecto al grupo control, como por la capacidad diagnóstica mostrada.

**CONCLUSIÓN 3:** Las concentraciones de hs-TnT y NT-proBNP se asocian con las puntuaciones de las subescalas MSSI general, cardiovascular y renal en los pacientes con EF. Las concentraciones de Gal-3 y BTP lo hacen con las subescalas cardiovascular y renal y las de IL-6 con la cardiovascular.





## **BIBLIOGRAFÍA**

---



## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Schiffmann R. Fabry disease. *Pharmacol Ther* 2009;122(1):65–77.
2. García de Lorenzo A, en nombre del grupo de enfermedad de FABRYGETER. [Consensus for the study and treatment of Fabry disease. GETER Foundation]. *Med Clínica* 2011;137(4):178–83.
3. Spada M, Pagliardini S, Yasuda M, Tukul T, Thiagarajan G, Sakuraba H, et al. High incidence of later-onset fabry disease revealed by newborn screening. *Am J Hum Genet* 2006;79(1):31–40.
4. Fabry J. Purpura papulosa haemorrhagica Hebrae. *Arch Derm Syph* 1898;43:187–200.
5. Anderson W. A case of angiokeratomas. *Br J Dermatol* 1898;10:113–7.
6. Pompen AWM, Ruiters M, Wyers HJG. Angiokeratoma corporis diffusum (universale) Fabry, as a sign of an unknown internal di.
7. Hornbostel H, Scriba K. [Excision of skin in diagnosis of Fabry's angiokeratoma with cardio-vasorenal syndrome as phosphatide storage disease]. *Klin Wochenschr* 1953;31(3–4):68–9.
8. Sweeley CC, Klionsky B. FABRY'S DISEASE: CLASSIFICATION AS A SPHINGOLIPIDOSIS AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF A NOVEL GLYCOLIPID. *J Biol Chem*;238:3148–50.
9. Brady RO, Gal AE, Bradley RM, Martensson E, Warshaw AL, Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med* 1967;276(21):1163–7.
10. Kornreich R, Desnick RJ, Bishop DF. Nucleotide sequence of the human alpha-galactosidase A gene. *Nucleic Acids Res* 1989;17(8):3301–2.
11. Lukas J, Scaglia S, Eichler S, Pockrandt A-M, Dehn N, Cozma C, et al.

- Functional and Clinical Consequences of Novel  $\alpha$ -Galactosidase A Mutations in Fabry Disease. *Hum Mutat* 2016;37(1):43–51.
12. Ashton-Prolla P, Tong B, Shabbeer J, Astrin KH, Eng CM, Desnick RJ. Fabry disease: twenty-two novel mutations in the alpha-galactosidase A gene and genotype/phenotype correlations in severely and mildly affected hemizygotes and heterozygotes. *J Investig Med Off Publ Am Fed Clin Res* 2000;48(4):227–35.
  13. Hughes DA. Fabry disease: will markers of early disease enable early treatment and better outcomes? *Curr Opin Cardiol* 2016;31(4):434–9.
  14. Mehta A, Beck M, Eyskens F, Feliciani C, Kantola I, Ramaswami U, et al. Fabry disease: a review of current management strategies. *QJM Mon J Assoc Physicians* 2010;103(9):641–59.
  15. Lyon MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *Nature* 1961;190:372–3.
  16. Lyon MF. X-chromosome inactivation and human genetic disease. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 Suppl. 2002;91(439):107–12.
  17. Germain DP. Fabry disease. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:30.
  18. Smid BE, van der Tol L, Cecchi F, Elliott PM, Hughes DA, Linthorst GE, et al. Uncertain diagnosis of Fabry disease: consensus recommendation on diagnosis in adults with left ventricular hypertrophy and genetic variants of unknown significance. *Int J Cardiol* 2014;177(2):400–8.
  19. Linhart A, Elliott PM. The heart in Anderson-Fabry disease and other lysosomal storage disorders. *Heart Br Card Soc* 2007;93(4):528–35.
  20. Yousef Z, Elliott PM, Cecchi F, Escoubet B, Linhart A, Monserrat L, et al. Left ventricular hypertrophy in Fabry disease: a practical approach to diagnosis. *Eur Heart J* 2013;34(11):802–8.
  21. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical

- manifestations and impact of disease in a cohort of 98 hemizygous males. *J Med Genet* 2001;38(11):750–60.
22. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 60 obligate carrier females. *J Med Genet* 2001;38(11):769–75.
  23. Giuseppe P, Daniele R, Rita BM. Cutaneous complications of Anderson-Fabry disease. *Curr Pharm Des* 2013;19(33):6031–6.
  24. Lidove O, Ramaswami U, Jaussaud R, Barbey F, Maisonobe T, Caillaud C, et al. Hyperhidrosis: a new and often early symptom in Fabry disease. International experience and data from the Fabry Outcome Survey. *Int J Clin Pract* 2006;60(9):1053–9.
  25. Amann-Vesti BR, Gitzelmann G, Widmer U, Bosshard NU, Steinmann B, Koppensteiner R. Severe lymphatic microangiopathy in Fabry disease. *Lymphat Res Biol* 2003;1(3):185–9.
  26. Nguyen TT, Gin T, Nicholls K, Low M, Galanos J, Crawford A. Ophthalmological manifestations of Fabry disease: a survey of patients at the Royal Melbourne Fabry Disease Treatment Centre. *Clin Experiment Ophthalmol* 2005;33(2):164–8.
  27. Politei JM, Bouhassira D, Germain DP, Goizet C, Guerrero-Sola A, Hilz MJ, et al. Pain in Fabry Disease: Practical Recommendations for Diagnosis and Treatment. *CNS Neurosci Ther* 2016;22(7):568–76.
  28. Burlina AP, Sims KB, Politei JM, Bennett GJ, Baron R, Sommer C, et al. Early diagnosis of peripheral nervous system involvement in Fabry disease and treatment of neuropathic pain: the report of an expert panel. *BMC Neurol* 2011;11:61.
  29. Tuttolomondo A, Pecoraro R, Simonetta I, Miceli S, Arnao V, Licata G, et al. Neurological complications of Anderson-Fabry disease. *Curr Pharm Des* 2013;19(33):6014–30.

30. Vedder AC, Linthorst GE, van Breemen MJ, Groener JEM, Bemelman FJ, Strijland A, et al. The Dutch Fabry cohort: diversity of clinical manifestations and Gb3 levels. *J Inherit Metab Dis* 2007;30(1):68–78.
31. Feldt-Rasmussen U. Fabry Disease and Early Stroke. *Stroke Res Treat*. 2011; 2011:615218.
32. Mitsias P, Levine SR. Cerebrovascular complications of Fabry's disease. *Ann Neurol* 1996;40(1):8–17.
33. Rolfs A, Böttcher T, Zschesche M, Morris P, Winchester B, Bauer P, et al. Prevalence of Fabry disease in patients with cryptogenic stroke: a prospective study. *Lancet Lond Engl* 2005;366(9499):1794–6.
34. Mehta A, Ricci R, Widmer U, Dehout F, Garcia de Lorenzo A, Kampmann C, et al. Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey. *Eur J Clin Invest* 2004;34(3):236–42.
35. Sessa A, Meroni M, Battini G, Maglio A, Brambilla PL, Bertella M, et al. Renal pathological changes in Fabry disease. *J Inherit Metab Dis* 2001;24 Suppl 2:66–70; discussion 65.
36. Waldek S, Feriozzi S. Fabry nephropathy: a review – how can we optimize the management of Fabry nephropathy? *BMC Nephrol* 2014;15:72.
37. Beck M. The Mainz Severity Score Index (MSSI): development and validation of a system for scoring the signs and symptoms of Fabry disease. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 Suppl 2006;95(451):43–6.
38. Hughes DA, Malmenäs M, Deegan PB, Elliott PM, Ginsberg L, Hajioff D, et al. Fabry International Prognostic Index: a predictive severity score for Anderson-Fabry disease. *J Med Genet* 2012;49(3):212–20.
39. Giannini EH, Mehta AB, Hiltz MJ, Beck M, Bichet DG, Brady RO, et al. A validated disease severity scoring system for Fabry disease. *Mol Genet Metab* 2010;99(3):283–90.

40. Carrel L, Willard HF. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature* 2005;434(7031):400–4.
41. Guffon N. Clinical presentation in female patients with Fabry disease. *J Med Genet* 2003;40(4):e38.
42. Echevarria L, Benistan K, Toussaint A, Dubourg O, Hagege AA, Eladari D, et al. X-chromosome inactivation in female patients with Fabry disease. *Clin Genet* 2016;89(1):44–54.
43. Linthorst GE, Poorthuis BJHM, Hollak CEM. Enzyme activity for determination of presence of Fabry disease in women results in 40% false-negative results. *J Am Coll Cardiol* 2008;51(21):2082; author reply 2082–2083.
44. Desnick RJ, Brady R, Barranger J, Collins AJ, Germain DP, Goldman M, et al. Fabry Disease, an Under-Recognized Multisystemic Disorder: Expert Recommendations for Diagnosis, Management, and Enzyme Replacement Therapy. *Ann Intern Med* 2003;138(4):338–46.
45. MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 60 obligate carrier females. *J Med Genet* 2001;38(11):769–75.
46. Deegan PB, Baehner AF, Barba Romero M-A, Hughes DA, Kampmann C, Beck M, et al. Natural history of Fabry disease in females in the Fabry Outcome Survey. *J Med Genet* 2006;43(4):347–52.
47. Gupta S, Ries M, Kotsopoulos S, Schiffmann R. The relationship of vascular glycolipid storage to clinical manifestations of Fabry disease: a cross-sectional study of a large cohort of clinically affected heterozygous women. *Medicine (Baltimore)* 2005;84(5):261–8.
48. Mehta A, Clarke JTR, Giugliani R, Elliott P, Linhart A, Beck M, et al. Natural course of Fabry disease: changing pattern of causes of death in FOS - Fabry Outcome Survey. *J Med Genet* 2009;46(8):548–52.

49. Schiffmann R, Rapkiewicz A, Abu-Asab M, Ries M, Askari H, Tsokos M, et al. Pathological findings in a patient with Fabry disease who died after 2.5 years of enzyme replacement. *Virchows Arch Int J Pathol* 2006;448(3):337–43.
50. De Francesco PN, Mucci JM, Ceci R, Fossati CA, Rozenfeld PA. Fabry disease peripheral blood immune cells release inflammatory cytokines: role of globotriaosylceramide. *Mol Genet Metab* 2013;109(1):93–9.
51. Gilbert-Barness E. Review: Metabolic cardiomyopathy and conduction system defects in children. *Ann Clin Lab Sci* 2004;34(1):15–34.
52. Barbey F, Brakch N, Linhart A, Rosenblatt-Velin N, Jeanrenaud X, Qanadli S, et al. Cardiac and Vascular Hypertrophy in Fabry Disease Evidence for a New Mechanism Independent of Blood Pressure and Glycosphingolipid Deposition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26(4):839–44.
53. Elleder M. Sequelae of storage in Fabry disease--pathology and comparison with other lysosomal storage diseases. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 Suppl 2003;92(443):46–53; discussion 45.
54. Barbey F, Brakch N, Linhart A, Rosenblatt-Velin N, Jeanrenaud X, Qanadli S, et al. Cardiac and vascular hypertrophy in Fabry disease: evidence for a new mechanism independent of blood pressure and glycosphingolipid deposition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26(4):839–44.
55. Aerts JM, Groener JE, Kuiper S, Donker-Koopman WE, Strijland A, Ottenhoff R, et al. Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(8):2812–7.
56. Kalliokoski RJ, Kalliokoski KK, Penttinen M, Kantola I, Leino A, Viikari JS, et al. Structural and functional changes in peripheral vasculature of Fabry patients. *J Inher Metab Dis* 2006;29(5):660–6.
57. Ashrafian H, Redwood C, Blair E, Watkins H. Hypertrophic cardiomyopathy: a paradigm for myocardial energy depletion. *Trends Genet*

TIG 2003;19(5):263–8.

58. Chimenti C, Hamdani N, Boontje NM, DeCobelli F, Esposito A, Bronzwaer JGF, et al. Myofilament degradation and dysfunction of human cardiomyocytes in Fabry disease *Am J Pathol*. 2008;172(6):1482–90.
59. Chimenti C, Scopelliti F, Vulpis E, Tafani M, Villanova L, Verardo R, et al. Increased oxidative stress contributes to cardiomyocyte dysfunction and death in patients with Fabry disease cardiomyopathy *Hum Pathol*. 2015;46(11):1760–8.
60. Namdar M, Gebhard C, Studiger R, Shi Y, Mocharla P, Schmied C, et al. Globotriaosylsphingosine accumulation and not alpha-galactosidase-A deficiency causes endothelial dysfunction in Fabry disease. *PloS One* 2012;7(4):e36373.
61. Deva DP, Hanneman K, Li Q, Ng MY, Wasim S, Morel C, et al. Cardiovascular magnetic resonance demonstration of the spectrum of morphological phenotypes and patterns of myocardial scarring in Anderson-Fabry disease. *J Cardiovasc Magn Reson Off J Soc Cardiovasc Magn Reson* 2016;18:14.
62. Seydelmann N, Wanner C, Störk S, Ertl G, Weidemann F. Fabry disease and the heart. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2015;29(2):195–204.
63. Sheppard MN, Cane P, Florio R, Kavantzias N, Close L, Shah J, et al. A detailed pathologic examination of heart tissue from three older patients with Anderson-Fabry disease on enzyme replacement therapy. *Cardiovasc Pathol Off J Soc Cardiovasc Pathol* 2010;19(5):293–301.
64. Nordin S, Kozor R, Bulluck H, Castelletti S, Rosmini S, Abdel-Gadir A, et al. Cardiac Fabry Disease With Late Gadolinium Enhancement Is a Chronic Inflammatory Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2016;68(15):1707–8.
65. Takenaka T, Teraguchi H, Yoshida A, Taguchi S, Ninomiya K, Umekita Y, et al. Terminal stage cardiac findings in patients with cardiac Fabry disease:

- an electrocardiographic, echocardiographic, and autopsy study. *J Cardiol* 2008;51(1):50–9.
66. Laney DA, Fernhoff PM. Diagnosis of Fabry disease via analysis of family history. *J Genet Couns* 2008;17(1):79–83.
67. Frustaci A, Chimenti C. Images in cardiovascular medicine. Cryptogenic ventricular arrhythmias and sudden death by Fabry disease: prominent infiltration of cardiac conduction tissue. *Circulation* 2007;116(12):e350-351.
68. Weidemann F, Strotmann JM, Niemann M, Herrmann S, Wilke M, Beer M, et al. Heart valve involvement in Fabry cardiomyopathy. *Ultrasound Med Biol* 2009;35(5):730–5.
69. Spinelli L, Giudice CA, Riccio E, Castaldo D, Pisani A, Trimarco B. Endothelial-mediated coronary flow reserve in patients with Anderson-Fabry disease. *Int J Cardiol* 2014;177(3):1059–60.
70. Chimenti C, Morgante E, Tanzilli G, Mangieri E, Critelli G, Gaudio C, et al. Angina in Fabry Disease Reflects Coronary Small Vessel Disease. *Circ Heart Fail* 2008;1(3):161–9.
71. Namdar M. Electrocardiographic Changes and Arrhythmia in Fabry Disease. *Front Cardiovasc Med* 2016;3:7
72. Niemann M, Hartmann T, Namdar M, Breunig F, Beer M, Machann W, et al. Cross-sectional baseline analysis of electrocardiography in a large cohort of patients with untreated Fabry disease. *J Inherit Metab Dis* 2013;36(5):873–9.
73. Shah JS, Hughes DA, Sachdev B, Tome M, Ward D, Lee P, et al. Prevalence and clinical significance of cardiac arrhythmia in Anderson-Fabry disease. *Am J Cardiol* 2005;96(6):842–6.
74. Kampmann C, Linhart A, Baehner F, Palecek T, Wiethoff CM, Miebach E, et al. Onset and progression of the Anderson-Fabry disease related cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2008;130(3):367–73.

75. Kampmann C, Wiethoff CM, Whybra C, Baehner FA, Mengel E, Beck M. Cardiac manifestations of Anderson-Fabry disease in children and adolescents. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2008;97(4):463–9.
76. Linhart A, Lubanda JC, Palecek T, Bultas J, Karetová D, Ledvinová J, et al. Cardiac manifestations in Fabry disease. *J Inherit Metab Dis* 2001;24 Suppl 2:75–83; discussion 65.
77. Linhart A, Palecek T, Bultas J, Ferguson JJ, Hrudová J, Karetová D, et al. New insights in cardiac structural changes in patients with Fabry's disease. *Am Heart J* 2000;139(6):1101–8.
78. Linhart A, Kampmann C, Zamorano JL, Sunder-Plassmann G, Beck M, Mehta A, et al. Cardiac manifestations of Anderson-Fabry disease: results from the international Fabry outcome survey. *Eur Heart J* 2007;28(10):1228–35.
79. Chimenti C, Pieroni M, Morgante E, Antuzzi D, Russo A, Russo MA, et al. Prevalence of Fabry disease in female patients with late-onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2004;110(9):1047–53.
80. Kampmann C, Wiethoff CM, Whybra C, Baehner FA, Mengel E, Beck M. Cardiac manifestations of Anderson-Fabry disease in children and adolescents. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2008;97(4):463–9.
81. Kampmann C, Linhart A, Baehner F, Palecek T, Wiethoff CM, Miebach E, et al. Onset and progression of the Anderson-Fabry disease related cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2008;130(3):367–73.
82. Weidemann F, Wanner C, Breunig F. Nomen est Omen. *Eur Heart J - Cardiovasc Imaging* 2008;9(6):831–2.
83. Mundigler G, Gaggl M, Heinze G, Graf S, Zehetgruber M, Lajic N, et al. The endocardial binary appearance ('binary sign') is an unreliable marker for echocardiographic detection of Fabry disease in patients with left ventricular hypertrophy. *Eur J Echocardiogr J Work Group Echocardiogr Eur Soc*

- Cardiol 2011;12(10):744–9.
84. Goldman ME, Cantor R, Schwartz MF, Baker M, Desnick RJ. Echocardiographic abnormalities and disease severity in Fabry's disease. *J Am Coll Cardiol* 1986;7(5):1157–61.
  85. Weidemann F, Breunig F, Beer M, Sandstede J, Störk S, Voelker W, et al. The variation of morphological and functional cardiac manifestation in Fabry disease: potential implications for the time course of the disease. *Eur Heart J* 2005;26(12):1221–7.
  86. Pieroni M, Chimenti C, Russo A, Russo MA, Maseri A, Frustaci A. Tissue Doppler imaging in Fabry disease. *Curr Opin Cardiol* 2004;19(5):452–7.
  87. Pieroni M, Chimenti C, Ricci R, Sale P, Russo MA, Frustaci A. Early detection of Fabry cardiomyopathy by tissue Doppler imaging. *Circulation* 2003;107(15):1978–84.
  88. Zamorano J, Serra V, Pérez de Isla L, Feltes G, Calli A, Barbado FJ, et al. Usefulness of tissue Doppler on early detection of cardiac disease in Fabry patients and potential role of enzyme replacement therapy (ERT) for avoiding progression of disease. *Eur J Echocardiogr J Work Group Echocardiogr Eur Soc Cardiol* 2011;12(9):671–7.
  89. Weidemann F, Niemann M, Breunig F, Herrmann S, Beer M, Störk S, et al. Long-term effects of enzyme replacement therapy on fabry cardiomyopathy: evidence for a better outcome with early treatment. *Circulation* 2009;119(4):524–9.
  90. Weidemann F, Breunig F, Beer M, Sandstede J, Turschner O, Voelker W, et al. Improvement of cardiac function during enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: a prospective strain rate imaging study. *Circulation* 2003;108(11):1299–301.
  91. Krämer J, Niemann M, Liu D, Hu K, Machann W, Beer M, et al. Two-dimensional speckle tracking as a non-invasive tool for identification of

- myocardial fibrosis in Fabry disease. *Eur Heart J* 2013;34(21):1587–96.
92. Perk G, Tunick PA, Kronzon I. Non-Doppler two-dimensional strain imaging by echocardiography--from technical considerations to clinical applications. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr* 2007;20(3):234–43.
93. Morris DA, Blaschke D, Canaan-Kühl S, Krebs A, Knobloch G, Walter TC, et al. Global cardiac alterations detected by speckle-tracking echocardiography in Fabry disease: left ventricular, right ventricular, and left atrial dysfunction are common and linked to worse symptomatic status. *Int J Cardiovasc Imaging* 2015;31(2):301–13.
94. Moon JCC, Sachdev B, Elkington AG, McKenna WJ, Mehta A, Pennell DJ, et al. Gadolinium enhanced cardiovascular magnetic resonance in Anderson-Fabry disease. Evidence for a disease specific abnormality of the myocardial interstitium. *Eur Heart J* 2003;24(23):2151–5.
95. Nakao S, Takenaka T, Maeda M, Kodama C, Tanaka A, Tahara M, et al. An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1995;333(5):288–93.
96. Sachdev B, Takenaka T, Teraguchi H, Tei C, Lee P, McKenna WJ, et al. Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002;105(12):1407–11.
97. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69(3):89–95.
98. Aerts JMFG, Kallemeijn WW, Wegdam W, Joao Ferraz M, van Breemen MJ, Dekker N, et al. Biomarkers in the diagnosis of lysosomal storage disorders: proteins, lipids, and inhibodies. *J Inherit Metab Dis* 2011;34(3):605–19.
99. Van Kimmenade RRJ, Januzzi JL. Emerging biomarkers in heart failure. *Clin Chem* 2012;58(1):127–38.

100. Seydelmann N, Liu D, Krämer J, Drechsler C, Hu K, Nordbeck P, et al. High-Sensitivity Troponin: A Clinical Blood Biomarker for Staging Cardiomyopathy in Fabry Disease *J Am Heart Assoc* 2016;5(6).
101. Manwaring V, Boutin M, Auray-Blais C. A metabolomic study to identify new globotriaosylceramide-related biomarkers in the plasma of Fabry disease patients. *Anal Chem* 2013;85(19):9039–48.
102. Schiffmann R, Waldek S, Benigni A, Auray-Blais C. Biomarkers of Fabry disease nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN* 2010;5(2):360–4.
103. Young E, Mills K, Morris P, Vellodi A, Lee P, Waldek S, et al. Is globotriaosylceramide a useful biomarker in Fabry disease? *Acta Paediatr Oslo Nor 1992 Suppl* 2005;94(447):51-54-38.
104. Whitfield PD, Calvin J, Hogg S, O'Driscoll E, Halsall D, Burling K, et al. Monitoring enzyme replacement therapy in Fabry disease--role of urine globotriaosylceramide. *J Inherit Metab Dis* 2005;28(1):21–33.
105. Bekri S, Lidove O, Jaussaud R, Knebelmann B, Barbey F. The role of ceramide trihexoside (globotriaosylceramide) in the diagnosis and follow-up of the efficacy of treatment of Fabry disease: a review of the literature. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2006;4(4):289–97.
106. Vedder AC, Strijland A, vd Bergh Weerman MA, Florquin S, Aerts JMFG, Hollak CEM. Manifestations of Fabry disease in placental tissue. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(1):106–11.
107. Popli S, Leehey DJ, Molnar ZV, Nawab ZM, Ing TS. Demonstration of Fabry's disease deposits in placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1990 ;162(2):464–5.
108. Togawa T, Kawashima I, Kodama T, Tsukimura T, Suzuki T, Fukushige T, et al. Tissue and plasma globotriaosylsphingosine could be a biomarker for assessing enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;399(4):716–20.

109. Togawa T, Kodama T, Suzuki T, Sugawara K, Tsukimura T, Ohashi T, et al. Plasma globotriaosylsphingosine as a biomarker of Fabry disease. *Mol Genet Metab* 2010;100(3):257–61.
110. Rombach SM, Dekker N, Bouwman MG, Linthorst GE, Zwinderman AH, Wijburg FA, et al. Plasma globotriaosylsphingosine: diagnostic value and relation to clinical manifestations of Fabry disease. *Biochim Biophys Acta* 2010;1802(9):741–8.
111. Rombach SM, Twickler TB, Aerts JMFG, Linthorst GE, Wijburg FA, Hollak CEM. Vasculopathy in patients with Fabry disease: current controversies and research directions. *Mol Genet Metab* 2010;99(2):99–108.
112. Aerts JM, Groener JE, Kuiper S, Donker-Koopman WE, Strijland A, Ottenhoff R, et al. Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(8):2812–7.
113. Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Carrasco S, Saleem MA, Mathieson PW, Valdivielso JM, et al. Globotriaosylsphingosine actions on human glomerular podocytes: implications for Fabry nephropathy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc* 2011;26(6):1797–802.
114. Niemann M, Rolfs A, Störk S, Bijmens B, Breunig F, Beer M, et al. Gene mutations versus clinically relevant phenotypes: lyso-Gb3 defines Fabry disease. *Circ Cardiovasc Genet* 2014;7(1):8–16.
115. Smid BE, van der Tol L, Biegstraaten M, Linthorst GE, Hollak CEM, Poorthuis BJHM. Plasma globotriaosylsphingosine in relation to phenotypes of Fabry disease. *J Med Genet* 2015;52(4):262–8.
116. Nowak A, Mechtler TP, Desnick RJ, Kasper DC. Plasma LysoGb3: A useful biomarker for the diagnosis and treatment of Fabry disease heterozygotes. *Mol Genet Metab* 2017;120(1-2):57-61.

117. Van Breemen MJ, Rombach SM, Dekker N, Poorthuis BJ, Linthorst GE, Zwinderman AH, et al. Reduction of elevated plasma globotriaosylsphingosine in patients with classic Fabry disease following enzyme replacement therapy. *Biochim Biophys Acta* 2011 Jan;1812(1):70–6.
118. Pascual-Figal DA, Casas T, Ordonez-Llanos J, Manzano-Fernández S, Bonaque JC, Boronat M, et al. Highly sensitive troponin T for risk stratification of acutely destabilized heart failure. *Am Heart J* 2012;163(6):1002–10.
119. De Antonio M, Lupon J, Galan A, Vila J, Urrutia A, Bayes-Genis A. Combined use of high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B type natriuretic peptide improves measurements of performance over established mortality risk factors in chronic heart failure *Am Heart J*. 2012;163(5):821–8.
120. Hernández-Romero D, Vilchez JA, Lahoz Á, Romero-Aniorte AI, Orenes-Piñero E, Caballero L, et al. High-sensitivity troponin T as a biomarker for the development of atrial fibrillation after cardiac surgery. *Eur J Cardio-Thorac Surg Off J Eur Assoc Cardio-Thorac Surg* 2014;45(4):733–8.
121. Moreno V, Hernández-Romero D, Vilchez JA, García-Honrubia A, Cambroner F, Casas T, et al. Serum levels of high-sensitivity troponin T: a novel marker for cardiac remodeling in hypertrophic cardiomyopathy. *J Card Fail* 2010;16(12):950–6.
122. Hasler S, Manka R, Greutmann M, Gämperli O, Schmied C, Tanner FC, et al. Elevated high-sensitivity troponin T levels are associated with adverse cardiac remodelling and myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Swiss Med Wkly* 2016;146:w14285.
123. Sato Y, Taniguchi R, Nagai K, Makiyama T, Okada H, Yamada T, et al. Measurements of cardiac troponin T in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart Br Card Soc* 2003;89(6):659–60.

124. Feustel A, Hahn A, Schneider C, Sieweke N, Franzen W, Gündüz D, et al. Continuous cardiac troponin I release in Fabry disease. *PloS One* 2014;9(3):e91757.
125. Tanislav C, Feustel A, Franzen W, Wüsten O, Schneider C, Reichenberger F, et al. Persistent increase in cardiac troponin I in Fabry disease: a case report. *BMC Cardiovasc Disord* 2011;11:6.
126. Tanislav C, Guenduez D, Liebetrau C, Giese AK, Eichler S, Sieweke N, et al. Cardiac Troponin I: A Valuable Biomarker Indicating the Cardiac Involvement in Fabry Disease. *PloS One* 2016;11(6):e0157640.
127. Rubattu S, Sciarretta S, Valenti V, Stanzione R, Volpe M. Natriuretic peptides: an update on bioactivity, potential therapeutic use, and implication in cardiovascular diseases. *Am J Hypertens* 2008;21(7):733-41.
128. Kim SW, Park SW, Lim S-H, Kwon SU, Choi YJ, Park MK, et al. Amount of left ventricular hypertrophy determines the plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide level in patients with hypertrophic cardiomyopathy and normal left ventricular ejection fraction. *Clin Cardiol* 2006;29(4):155–60.
129. Coats CJ, Parisi V, Ramos M, Janagarajan K, O'Mahony C, Dawnay A, et al. Role of serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide measurement in diagnosis of cardiac involvement in patients with anderson-fabry disease. *Am J Cardiol.* 1 de enero de 2013;111(1):111-7.
130. Liu Y-H, D'Ambrosio M, Liao T, Peng H, Rhaleb N-E, Sharma U, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents cardiac remodeling and dysfunction induced by galectin-3, a mammalian adhesion/growth-regulatory lectin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296(2):H404-412.
131. Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ, van Berlo JH, Cleutjens JPM, Schroen B, et al. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation* 2004;110(19):3121–8.

132. Hernández-Romero D, Vílchez JA, Lahoz Á, Romero-Aniorte AI, Jover E, García-Alberola A, et al. Galectin-3 as a marker of interstitial atrial remodelling involved in atrial fibrillation. *Sci Rep* 2017;7:40378.
133. Ho JE, Liu C, Lyass A, Courchesne P, Pencina MJ, Vasan RS, et al. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community. *J Am Coll Cardiol* 2012;60(14):1249–56.
134. Lok DJA, Van Der Meer P, de la Porte PWB-A, Lipsic E, Van Wijngaarden J, Hillege HL, et al. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: data from the DEAL-HF study. *Clin Res Cardiol Off J Ger Card Soc* 2010;99(5):323–8.
135. Zamora E, Lupón J, de Antonio M, Galán A, Domingo M, Urrutia A, et al. Renal function largely influences Galectin-3 prognostic value in heart failure. *Int J Cardiol* 2014;177(1):171–7.
136. De Boer RA, Lok DJA, Jaarsma T, van der Meer P, Voors AA, Hillege HL, et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Ann Med* 2011;43(1):60–8.
137. McCullough PA, Olobatoke A, Vanhecke TE. Galectin-3: a novel blood test for the evaluation and management of patients with heart failure. *Rev Cardiovasc Med* 2011;12(4):200–10.
138. Madrigal-Matute J, Lindholt JS, Fernandez-Garcia CE, Benito-Martin A, Burillo E, Zalba G, et al. Galectin-3, a biomarker linking oxidative stress and inflammation with the clinical outcomes of patients with atherothrombosis. *J Am Heart Assoc* 2014;3(4).
139. Yilmaz H, Gurel OM, Celik HT, Bozkurt A, Yildirim ME, Bilgic I, et al. Relationship of galectin-3 to left ventricular geometry and hypertrophy in chronic hemodialysis patients. *Herz* 2015;40(4):702–8.
140. Yakar Tülüce S, Tülüce K, Çil Z, Emren SV, Akyıldız Zİ, Ergene O. Galectin-3 levels in patients with hypertrophic cardiomyopathy and its relationship

- with left ventricular mass index and function. *Anatol J Cardiol* 2016;16(5):344–8.
141. Pelin Ergun et al. Can cathepsin-D and galectin-3 be new inflammation biomarkers in detection of lysosomal diseases? *Mol Genet Metab* 114 2015 S11–S130.
142. Nian M, Lee P, Khaper N, Liu P. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circ Re* 2004;94(12):1543–53.
143. Högye M, Mándi Y, Csanády M, Sepp R, Buzás K. Comparison of circulating levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in hypertrophic cardiomyopathy and in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2004;94(2):249–51.
144. Zen K, Irie H, Doue T, Takamiya M, Yamano T, Sawada T, et al. Analysis of circulating apoptosis mediators and proinflammatory cytokines in patients with idiopathic hypertrophic cardiomyopathy: comparison between nonobstructive and dilated-phase hypertrophic cardiomyopathy. *Int Heart J* 2005;46(2):231–44.
145. Kuusisto J, Kärjä V, Sipola P, Kholová I, Peuhkurinen K, Jääskeläinen P, et al. Low-grade inflammation and the phenotypic expression of myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart Br Card Soc* 2012;98(13):1007–13.
146. López-Cuenca Á, Manzano-Fernández S, Lip GYH, Casas T, Sánchez-Martínez M, Mateo-Martínez A, et al. Interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein for the prediction of outcomes in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Rev Espanola Cardiol Engl Ed* 2013 Mar;66(3):185–92.
147. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, Caligiuri G, Rebuffi AG, Ginnetti F, et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999;99(16):2079–84.

148. Chen K-H, Chien Y, Wang K-L, Leu H-B, Hsiao C-Y, Lai Y-H, et al. Evaluation of Proinflammatory Prognostic Biomarkers for Fabry Cardiomyopathy With Enzyme Replacement Therapy. *Can J Cardiol* 2016;32(10):1221.e1-1221.e9.
149. Chien Y, Chien C-S, Chiang H-C, Huang W-L, Chou S-J, Chang W-C, et al. Interleukin-18 deteriorates Fabry cardiomyopathy and contributes to the development of left ventricular hypertrophy in Fabry patients with GLA IVS4+919 G>A mutation. *Oncotarget* 2016;7(52):87161–79.
150. Hoffmann A, Conradt HS, Gross G, Nimtz M, Lottspeich F, Wurster U. Purification and chemical characterization of beta-trace protein from human cerebrospinal fluid: its identification as prostaglandin D synthase. *J Neurochem* 1993;61(2):451–6.
151. Urade Y, Fujimoto N, Hayaishi O. Purification and characterization of rat brain prostaglandin D synthetase. *J Biol Chem* 1985;260(23):12410–5.
152. Priem F, Althaus H, Birnbaum M, Sinha P, Conradt HS, Jung K. Beta-trace protein in serum: a new marker of glomerular filtration rate in the creatinine-blind range. *Clin Chem* 1999;45(4):567–8.
153. Verhave JC, Gansevoort RT, Hillege HL, De Zeeuw D, Curhan GC, De Jong PE. Drawbacks of the use of indirect estimates of renal function to evaluate the effect of risk factors on renal function. *J Am Soc Nephrol JASN* 2004;15(5):1316–22.
154. Spanaus K-S, Kollerits B, Ritz E, Hersberger M, Kronenberg F, von Eckardstein A, et al. Serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein in diagnostic staging and predicting progression of primary nondiabetic chronic kidney disease. *Clin Chem* 2010;56(5):740–9.
155. Eguchi Y, Eguchi N, Oda H, Seiki K, Kijima Y, Matsu-ura Y, et al. Expression of lipocalin-type prostaglandin D synthase (beta-trace) in human heart and its accumulation in the coronary circulation of angina patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(26):14689–94.

156. Schuligoi R, Grill M, Heinemann A, Peskar BA, Amann R. Sequential induction of prostaglandin E and D synthases in inflammation. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;335(3):684–9.
157. Taba Y, Sasaguri T, Miyagi M, Abumiya T, Miwa Y, Ikeda T, et al. Fluid shear stress induces lipocalin-type prostaglandin D(2) synthase expression in vascular endothelial cells. *Circ Res* 2000;86(9):967–73.
158. Inoue T, Eguchi Y, Matsumoto T, Kijima Y, Kato Y, Ozaki Y, et al. Lipocalin-type prostaglandin D synthase is a powerful biomarker for severity of stable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2008;201(2):385–91.
159. Miwa Y, Oda H, Shiina Y, Shikata K, Tsushima M, Nakano S, et al. Association of serum lipocalin-type prostaglandin D synthase levels with subclinical atherosclerosis in untreated asymptomatic subjects. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens* 2008;31(10):1931–9.
160. Manzano-Fernández S, Januzzi JL, Boronat-Garcia M, Bonaque-González JC, Truong QA, Pastor-Pérez FJ, et al.  $\beta$ -trace protein and cystatin C as predictors of long-term outcomes in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2011;57(7):849–58.
161. Manzano-Fernández S, López-Cuenca A, Januzzi JL, Parra-Pallares S, Mateo-Martínez A, Sánchez-Martínez M, et al. Usefulness of  $\beta$ -trace protein and cystatin C for the prediction of mortality in non ST segment elevation acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2012;110(9):1240–8.
162. Vílchez JA, Roldán V, Manzano-Fernández S, Fernández H, Avilés-Plaza F, Martínez-Hernández P, et al.  $\beta$ -Trace protein and prognosis in patients with atrial fibrillation receiving anticoagulation treatment. *Chest* 2013;144(5):1564–70.
163. Hagège AA, Caudron E, Damy T, Roudaut R, Millaire A, Etchecopar-Chevreuil C, et al. Screening patients with hypertrophic cardiomyopathy for Fabry disease using a filter-paper test: the FOCUS study. *Heart Br Card Soc* 2011;97(2):131–6.

164. Yasuda M, Shabbeer J, Benson SD, Maire I, Burnett RM, Desnick RJ. Fabry disease: characterization of alpha-galactosidase A double mutations and the D313Y plasma enzyme pseudodeficiency allele. *Hum Mutat* 2003;22(6):486–92.
165. Laney DA, Bennett RL, Clarke V, Fox A, Hopkin RJ, Johnson J, et al. Fabry disease practice guidelines: recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns* 2013;22(5):555–64.
166. Biegstraaten M et al. Recommendations for initiation and cessation of enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: the European Fabry Working Group consensus document. *Orphanet J Rare Dis* 2015;
167. Caballero L, Climent V, Hernández-Romero D, Quintanilla MA, de la Morena G, Marín F. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: influence on cardiac manifestations. *Curr Med Chem* 2010;17(16):1679–89.
168. Lee K, Jin X, Zhang K, Copertino L, Andrews L, Baker-Malcolm J, et al. A biochemical and pharmacological comparison of enzyme replacement therapies for the glycolipid storage disorder Fabry disease. *Glycobiology* 2003;13(4):305–13.
169. Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA, Sabnis S, Moore DF, Weibel T, et al. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285(21):2743–9.
170. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, Germain DP, Lee P, Waldek S, et al. Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A--replacement therapy in Fabry's disease. *N Engl J Med* 2001;345(1):9–16.
171. Schiffmann R, Floeter MK, Dambrosia JM, Gupta S, Moore DF, Sharabi Y, et al. Enzyme replacement therapy improves peripheral nerve and sweat function in Fabry disease. *Muscle Nerve* 2003;28(6):703–10.
172. Hajioff D, Enever Y, Quiney R, Zuckerman J, Mackermot K, Mehta A. Hearing loss in Fabry disease: the effect of agalsidase alfa replacement

- therapy. *J Inherit Metab Dis* 2003;26(8):787–94.
173. Banikazemi M, Ullman T, Desnick RJ. Gastrointestinal manifestations of Fabry disease: clinical response to enzyme replacement therapy. *Mol Genet Metab* 2005;85(4):255–9.
174. Moore DF, Altarescu G, Ling GSF, Jeffries N, Frei KP, Weibel T, et al. Elevated cerebral blood flow velocities in Fabry disease with reversal after enzyme replacement. *Stroke* 2002;33(2):525–31.
175. West M, Nicholls K, Mehta A, Clarke JTR, Steiner R, Beck M, et al. Agalsidase alfa and kidney dysfunction in Fabry disease. *J Am Soc Nephrol JASN* 2009;20(5):1132–9.
176. Hughes DA, Elliott PM, Shah J, Zuckerman J, Coghlan G, Brookes J, et al. Effects of enzyme replacement therapy on the cardiomyopathy of Anderson-Fabry disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial of agalsidase alfa. *Heart Br Card Soc* 2008;94(2):153–8.
177. Thurberg BL, Fallon JT, Mitchell R, Aretz T, Gordon RE, O’Callaghan MW. Cardiac microvascular pathology in Fabry disease: evaluation of endomyocardial biopsies before and after enzyme replacement therapy. *Circulation* 2009;119(19):2561–7.
178. Baehner F, Kampmann C, Whybra C, Miebach E, Wiethoff CM, Beck M. Enzyme replacement therapy in heterozygous females with Fabry disease: results of a phase IIIB study. *J Inherit Metab Dis* 2003;26(7):617–27.
179. Beck M, Ricci R, Widmer U, Dehout F, de Lorenzo AG, Kampmann C, et al. Fabry disease: overall effects of agalsidase alfa treatment. *Eur J Clin Invest* 2004;34(12):838–44.
180. Spinelli L, Pisani A, Sabbatini M, Petretta M, Andreucci MV, Procaccini D, et al. Enzyme replacement therapy with agalsidase beta improves cardiac involvement in Fabry’s disease. *Clin Genet* 2004;66(2):158–65.
181. Imbriaco M, Pisani A, Spinelli L, Cuocolo A, Messalli G, Capuano E, et al.

- Effects of enzyme-replacement therapy in patients with Anderson-Fabry disease: a prospective long-term cardiac magnetic resonance imaging study. *Heart Br Card Soc* 2009;95(13):1103–7.
182. Germain DP, Charrow J, Desnick RJ, Guffon N, Kempf J, Lachmann RH, et al. Ten-year outcome of enzyme replacement therapy with agalsidase beta in patients with Fabry disease. *J Med Genet* 2015;52(5):353–8.
183. Kampmann C, Perrin A, Beck M. Effectiveness of agalsidase alfa enzyme replacement in Fabry disease: cardiac outcomes after 10 years' treatment. *Orphanet J Rare Dis* 2015;10:125.
184. Beck M, Hughes D, Kampmann C, Larroque S, Mehta A, Pintos-Morell G, et al. Long-term effectiveness of agalsidase alfa enzyme replacement in Fabry disease: A Fabry Outcome Survey analysis. *Mol Genet Metab Rep* 2015;3:21–7.
185. Rombach SM, Smid BE, Bouwman MG, Linthorst GE, Dijkgraaf MGW, Hollak CEM. Long term enzyme replacement therapy for Fabry disease: effectiveness on kidney, heart and brain. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:47.
186. Weidemann F, Niemann M, Störk S, Breunig F, Beer M, Sommer C, et al. Long-term outcome of enzyme-replacement therapy in advanced Fabry disease: evidence for disease progression towards serious complications. *J Intern Med* 2013;274(4):331–41.
187. Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med* 1987;317(17):1098.
188. Montañés Bermúdez R, Gràcia García S, Pérez Surribas D, Martínez Castela A, Bover Sanjuán J, Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, et al. Consensus document. Recommendations on assessing proteinuria during the diagnosis and follow-up of chronic kidney disease. *Nefrol Publicacion Of Soc Espanola Nefrol* 2011;31(3):331–45.
189. Martínez-Castelao A, Górriz JL, Bover J, Segura-de la Morena J, Cebollada

- J, Escalada J, et al. [Consensus document for the detection and management of chronic kidney disease]. *Aten Primaria* 2014;46(9):501–19.
190. Romhilt DW, Estes EH. A point-score system for the ECG diagnosis of left ventricular hypertrophy. *Am Heart J* 1968;75(6):752–8.
191. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015;16(3):233–70.
192. Devereux RB, Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. *Circulation* 1977;55(4):613–8.
193. Losi M-A, Nistri S, Galderisi M, Betocchi S, Cecchi F, Olivotto I, et al. Echocardiography in patients with hypertrophic cardiomyopathy: usefulness of old and new techniques in the diagnosis and pathophysiological assessment. *Cardiovasc Ultrasound* 2010;8:7.
194. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr J Work Group Echocardiogr Eur Soc Cardiol* 2009;10(2):165–93.
195. Lancellotti P, Tribouilloy C, Hagendorff A, Popescu BA, Edvardsen T, Pierard LA, et al. Recommendations for the echocardiographic assessment of native valvular regurgitation: an executive summary from the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2013;14(7):611–44.
196. Brennan JM, Blair JE, Goonewardena S, Ronan A, Shah D, Vasaiwala S, et al. Reappraisal of the use of inferior vena cava for estimating right atrial pressure. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr* 2007;20(7):857–61.

197. Declaración de Helsinki de la AMM-Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 64<sup>a</sup> Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013.
198. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, sobre Protección de datos de Carácter Personal y Real Decreto 1720/2007 de 21 de diciembre por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de dicha Ley. «BOE» Núm 17 19 Enero 2008 Páginas 4103 4136. BOE-A-2008-979.
199. Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, Hagege AA, Lafont A, Limongelli G, Mahrholdt H, McKenna WJ, Mogensen J, Nihoyannopoulos P, Nistri S, Pieper PG, Pieske B, Rapezzi C, Rutten FH, Tillmanns C, Watkins H. 2014 ESC guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the task force for the diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2014;35(39):2733-79.
200. Mueller M, Celik S, Biener M, Vafaie M, Schwoebel K, Wollert KD, Januzzi JL, Katus HA, Giannitsis E. Diagnostic and prognostic performance of a novel high-sensitivity cardiac troponin T assay compared to a contemporary sensitive cardiac troponin I assay in patients with acute coronary syndrome. *Clin Res Cardiol* 2012;101(10):837-45.
201. Torralba-Cabeza M-Á, Olivera S, Hughes DA, Pastores GM, Mateo RN, Pérez-Calvo J-I. Cystatin C and NT-proBNP as prognostic biomarkers in Fabry disease. *Mol Genet Metab* 2011;104(3):301-7.
202. Vedder AC, Biró E, Aerts JMFG, Nieuwland R, Sturk G, Hollak CEM. Plasma markers of coagulation and endothelial activation in Fabry disease: impact of renal impairment. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc* 2009;24(10):3074-81.
203. Besler, C Lang D, Urban D, Rommel KP, von Roeder M, Blazek S, Kandolf R, Klingel K, Thiele H, Linke A, Schuler G, Adams V, Lurz P. Plasma and cardiac Galectin-3 in patients with heart failure reflects both inflammation

and fibrosis: Implications for its use as a biomarker. *Circ Heart Fail* 2017;10(3).

204. Orenes-Piñero E, Manzano-Fernández S, López-Cuenca A, Marín F, Valdés M, Januzzi JL. Beta-trace protein: from GFR marker to cardiovascular risk predictor. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8(5):873-81.
205. Fahim MA, Hayen A, Horvath AR, Dimeski G, Coburn A, Johnson DW, Hawley CM, Campbell SB, Craig JC. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide variability in stable dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015;7;10(4):620-9.







## **ANEXO**

---



## 9. ANEXO

### 9.1 Anexo I. Hoja de recogida de datos

Paciente: \_ \_ \_

Sexo: V / M

Peso: \_ \_ \_ (Kg)

Talla: \_ \_ \_ (cm)

Tipo de paciente: 1. Afectado 2. No Afectado 3. Control

Fecha nacimiento: \_ \_ / \_ \_ / \_ \_ \_ \_ (dd/mm/aaaa)

Fecha diagnóstico : \_ \_ \_ \_ (dd/mm/aaaa)

Hospital:

1. H. Virgen de la Arrixaca Murcia
2. H. General Alicante
3. H. General de Elda

Actividad enzimática: \_ \_ %

Mutación: \_\_\_\_\_

Historia familiar Fabry: *Si / No*

Tratamiento sustitutivo: *Si / No*

Tipo de tratamiento : *alfa /beta*

Fecha inicio de tratamiento: \_ \_ / \_ \_ / \_ \_

Fecha muestra sangre: \_ \_ / \_ \_ / \_ \_ \_ \_

Fecha muestra orina: \_ \_ / \_ \_ / \_ \_ \_ \_

Embarazo : *Si / No*

Antecedente de cáncer en los últimos 5 años : *Si / No*

Enfermedad inflamatoria crónica o infección activa : *Si / No*

Síndrome coronario, ACV/AIT, cirugía cardíaca o carótida, ICP o angioplastia de carótida 3 meses antes de la muestra : *Si / No*

## AFECTACIÓN CARDIACA

NYHA: *I II III IV* HTA: *Si / No*

### Datos ECG

Ritmo ECG actual: *RS FA MP* Intervalo PR: \_\_\_ ms

Antecedentes de FA/Flutter: *Si / No* Intervalo QRS: \_\_\_ ms

Antecedente de TV: *Si / No* Onda T negativa: *Si/No*

Criterios ECG de HVI (Estes-Rohmhilt) Mayor o igual a 5 puntos: *Si / No*

Intervalo QTc: \_\_\_ms

Alteraciones de la conducción intraventricular:

*BCRI BCRD HBA HBP BCRD+HBA BCRD+HBP No*

Alteraciones de la conducción AV: *BAV 1º BAV 2º I BAV 2º II BAV 3º No*

### Datos RM Cardíaca

Grosor parietal máximo: \_\_\_ mm

Realce tardío con gadolinio: *Si / No*

### Dispositivos

Marcapasos: *Si / No* y Fecha de implante:

DAI: *Si / No* y Fecha de implante:

**MSSI Cardiovascular**

- Cambios en el grosor el músculo cardiaco:
  - No 0 puntos
  - Engrosamiento de pared o SIV 1 puntos
  - HVI en ECG 6 puntos
  - Miocardiopatía <15 mm 8 puntos
  - Miocardiopatía severa >15 mm 12 puntos
- Insuficiencia valvular:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Anormalidades en ECG:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Marcapasos:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Hipertensión arterial:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos

**TOTAL: \_\_\_\_ / 20 puntos****Datos ecocardiográficos**Hipertrofia VI en ecocardio ( $\geq 13$  mm): *Si / No* Diámetro AP de AI: \_\_\_\_ mm

Tipo de hipertrofia:

Volumen de AI: \_\_\_\_ ml

1. *Concéntrica*2. *Asimétrica*3. *Apical*

DTDVI: \_\_\_\_ mm

DTSVI: \_\_\_\_ mm

SIV: \_\_\_\_ mm

PP: \_\_\_\_ mm

Grosor máximo: \_\_\_\_ mm

Masa de VI: \_\_\_\_ gr

VTD: \_\_\_\_ ml

VTS: \_\_\_\_ ml

FE biplano: \_\_\_\_%

Diámetro VD: \_\_\_\_mm V máxima de IT: \_\_\_\_ m/s

Onda E: \_\_\_\_ m/s Onda A: \_\_\_\_ m/s TRIV: \_\_\_\_ m/s TDE: \_\_\_\_ m/s

Insuficiencia mitral mod-sev: *Si / No*

Insuficiencia aórtica mod-sev: *Si / No*

### **AFECTACIÓN RENAL**

Enfermedad renal o proteinuria: *Si / No* MSSI Renal: \_\_\_\_ puntos

Microalbuminuria: *Si / No*

Microalbuminuria: \_\_\_\_ mg/24h

Cociente albúmina/creatinina

Creatinina (sangre): \_\_\_\_ mg/dl

TFG (MDRD): \_\_\_\_ ml/min/1.73 m<sup>2</sup>

Trasplante renal: *Si / No* y fecha del mismo:

Diálisis: *Si / No* y fecha de inicio y fin de la misma:

#### **MSSI Renal**

- Evidencia de disfunción renal:
  - No 0 puntos
  - Proteinuria 1 puntos
  - Disfunción tubular o TFG o AclCre disminuido 8 puntos
  - Insuficiencia renal terminal (Cr>3.5 mg/dl) 12 puntos
  - Diálisis 18 puntos

**TOTAL: \_\_\_\_ /18 puntos**

**OTRAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

AIT o ACV previo: *Si / No*

Angioqueratomas: *Si / No*

Acroparestesias: *Si / No*

Hipohidrosis: *Si / No*

Intolerancia al calor: *Si / No*

Linfedema: *Si / No*

Cornea verticilata: *Si / No*

Alts gastrointestinales crónicas

(diarrea episódica o dolor abdominal postprandial): *Si / No*

Hipoacusia y/o tinnitus: *Si / No*

Hipotensión postural: *Si / No*

**MSSI Neurológico**

- Tinnitus:
  - No 0 puntos
  - Medio 1 puntos
  - Severo 2 puntos
- Vértigo:
  - No 0 puntos
  - Medio 1 puntos
  - Severo 2 puntos
- Acroparestesia:
  - No 0 puntos
  - Ocasional 1 puntos
  - Crónico 2 puntos
- Fiebre por crisis de dolor:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Cerebrovascular:
  - No 0 puntos
  - Lesiones isquémicas en RM/TC 1 puntos
  - AIT o migraña 3 puntos
  - ACV 5 puntos
- Depresión:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Fatiga:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Reducción de actividad
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos

**TOTAL: \_\_\_\_ /20 puntos**

**MSSI Global**

- Facies típica:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Angioqueratoma:
  - No 0 puntos
  - Algunos 1 puntos
  - Generalizados 2 puntos
- Edema:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Músculo esquelético:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Cornea verticilata
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Diaforesis:
  - No 0 puntos
  - Hipo/Hiperhidrosis 1 puntos
  - Anhidrosis 2 puntos
- Dolor abdominal:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Diarrea/Estreñimiento
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Hemorroides:
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Pulmonar
  - No 0 puntos
  - Si 1 puntos
- Clasificación NYHA:
  - No 0 puntos
  - Clase I 1 puntos
  - Clase II 2 puntos
  - Clase III 3 puntos
  - Clase IV 4 puntos

**TOTAL: \_\_\_\_ /18 puntos**

## 9.2 Anexo II. Certificado de autorización del proyecto del Comité Ético de Investigación Clínica de los diferentes hospitales



**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN**

Mediante el presente certificado, se autoriza a D. **Vicente Eduardo Climent Payá**, con DNI 21489137, miembro del Servicio de **Cardiología** del Hospital General Universitario de Alicante, a que colabore en el proyecto con título **"Afectación miocárdica en pacientes con enfermedad de Fabry sin expresión fenotípica. Valor diagnóstico de los biomarcadores" – 2017-125**, cuyo investigador principal es D. **Francisco Marín Ortuño**, del Departamento/Servicio de **Cardiología** del **Hospital de la Arrixaca**

La actividad se desarrollaría fuera de la jornada de trabajo que actualmente presta en el Hospital General Universitario de Alicante como investigador.

Esta colaboración se produce de acuerdo con lo establecido en la Ley 14/2011, de 1 de junio, de la Ciencia, la Tecnología y la Innovación.

Y para que así conste, a los efectos oportunos, lo firman en Alicante, a 7 de abril de 2017.



---

Fdo. D. Miguel Ángel García Alonso  
Gerente  
Hospital General Universitario de Alicante





---

Fdo. D. José Sánchez Payá  
Director Científico  
Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL) – FISABIO



*Arrixaca*

Hospital Universitario  
"Virgen de la Arrixaca"

Ctra. Madrid - Cartagena • Telf. 968 36 95 00  
30120 El Palmar (Murcia)

Dr. Antonio Piñero Madrona  
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

**CERTIFICA**

**1º.** Que el CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 27/09/2010, acta 08/10 ha evaluado la propuesta del investigador **Dr. Francisco Marín Ortuño** referida al estudio:

**Título:** Afectación miocárdica en pacientes con enfermedad de Fabry sin expresión fenotípica. Valor diagnóstico de los biomarcadores.

**1º.** Considera que

- El ensayo se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del Investigador **Dr. Francisco Marín Ortuño** y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

**2º.** Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE.**

Lo que firmo en Murcia, a 27 de septiembre de 2010

Fdo:

Dr. Antonio Piñero Madrona  
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

Servicio Murciano de Salud  
Hospital "Virgen de la Arrixaca"  
Comite Etico de Investigación Clínica  
MURCIA

### 9.3 Documento de información al paciente y consentimiento informado del estudio

**PACIENTE**

Apellidos:	Nombre:	
Dirección:	Ciudad:	CP:
Teléfono:	DNI:	
Nº Historia Clínica:	Fecha:	

**AFECTACIÓN MIOCÁRDICA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE FABRY SIN EXPRESIÓN FENOTÍPICA. VALOR DIAGNOSTICO DE LOS BIOMARCADORES.****Información general:**

La variante cardíaca de la enfermedad de Fabry es una cardiopatía rara que se presenta en 1/50000 individuos, diagnosticándose generalmente en estados avanzados de la enfermedad debido a que presenta características clínicas similares a la miocardiopatía hipertrófica, lo que suele dificultar su correcto diagnóstico.

En la enfermedad de Fabry tiene lugar un proceso de cambios progresivos en el miocardio, que conlleva al desarrollo de fibrosis y posterior deterioro de la función cardíaca.

**Finalidad:**

Nos proponemos evaluar la utilidad de diferentes biomarcadores en el diagnóstico de esta cardiopatía, lo que permitirá el diagnóstico precoz, clave para establecer terapias tempranas o intensificar el seguimiento de los pacientes.

Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo. Sin embargo, la identificación de estos biomarcadores relacionados con la enfermedad de Fabry, podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la padecen y podría contribuir a un mejor conocimiento y tratamiento de esta enfermedad.

**Descripción:**

Una vez que usted acepte entrar en el estudio, efectuaremos una analítica, con la única molestia que supone la extracción de sangre de una vena del brazo. En dicha muestra analizaremos marcadores de daño endotelial, celular y fibrosis. También se realizará el estudio genético para conocer los familiares portadores de la mutación conocida de la enfermedad de Fabry.

Recogeremos además los datos clínicos necesarios así como la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular (tabaco, diabetes, hipertensión).

**Se le pide su consentimiento para que:**

Acepte que la sangre extraída se utilice para:

1. Estudiar la presencia de la mutación en los portadores sin manifestaciones clínicas de la enfermedad. Estudio de biomarcadores de fibrosis, remodelado tisular y daño celular.
2. Estudiar la presencia de afectación miocárdica en pacientes con Fabry portadores de polimorfismos asociados a la enfermedad. Estudio de biomarcadores de fibrosis, remodelado tisular y daño celular.
3. Acepte que las muestras biológicas recogidas puedan ser depositadas en un banco de tejidos o seroteca.

El interés de los objetivos se basa en el desarrollo de un método rápido y no invasivo donde los biomarcadores analizados de sangre periférica ayudarán a los clínicos a establecer cuándo los pacientes pueden estar comenzando a expresar la enfermedad (incluso sin manifestación clínica evidente). Esto es de vital importancia en individuos sin criterios fenotípicos de enfermedad, porque podría ayudar a decidir cuándo debe comenzarse el tratamiento de reemplazamiento enzimático.

Se le solicita que almacenemos los datos recogidos en soporte informático y se conservará una muestra de su sangre congelada por si fuera necesario un análisis posterior. El médico responsable del estudio garantiza la absoluta confidencialidad de estos datos y de que no se utilizarán con ningún otro objetivo diferente al que le estamos explicando. Dado que manejaremos información genética se extremarán todas las medidas para mantener la confidencialidad.

Por otra parte, dada la necesidad de la extracción de sangre, en el momento de la aspiración puede notar algo de dolor pero que después no le tiene que producir ninguna molestia. En la zona donde se le ha realizado la prueba, puede quedar un hematoma o cardenal pasajero. En cualquier caso, intentaremos aprovechar el momento en que a usted le hagan otras extracciones sanguíneas dentro de la práctica clínica habitual, necesarias para el correcto tratamiento de la patología que padece.

Declaración del médico de que ha informado debidamente al paciente

Nombre: ..... Firma:

Declaración del paciente,

Yo..... declaro que he leído la información sobre el estudio y que acepto voluntariamente a participar en él. Aceptando que se determine en las muestras extraídas diferentes marcadores relacionados con la enfermedad de Fabry, manteniendo siempre la confidencialidad de mis datos personales y no pudiendo ser utilizado para otro objeto distinto del arriba expuesto.

Nombre: ..... Firma:

#### 9.4 Anexo IV. Producción científica durante la realización de la tesis

##### ***-Clues for early diagnosis of Fabry disease in the clinic.***

Available from:

[https://www.researchgate.net/publication/303837580\\_Clues\\_for\\_early\\_diagnosifs\\_of\\_Fabry\\_disease\\_in\\_the\\_clinic](https://www.researchgate.net/publication/303837580_Clues_for_early_diagnosifs_of_Fabry_disease_in_the_clinic)

##### **SUMMARY:**

Fabry disease (FD) is a progressive storage disorder causing principally ventricular hypertrophy, renal failure and stroke. Given the potential benefits of early treatment, early diagnosis to modify the natural history of the disease is desirable. Recognizing the manifestations may be challenging, but the general cardiologist should keep in mind FD when a diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy is done, whether the patient presents the classic symptoms as if only presents left ventricular hypertrophy. Diagnosis is confirmed using a combination of biochemical and molecular testing. Cardiac early diagnostic, focused on myocardial fibrosis, is frequently difficult and a comprehensive diagnostic approach is necessary.

**AUTHORS:** Jessica Sánchez-Quiñones, MD, Vicente Climent-Payá, MD, Francisco Marín, MD.

##### ***-Biomarkers of organ affectation in Fabry disease. MANUSCRITO EN FASE FINAL DE ESCRITURA.***

**AUTHORS:** Diana Hernández-Romero, Jessica Sánchez-Quiñones, Juan Antonio Vílchez, Gonzalo de la Morena, Gregory YH Lip, Vicente Climent, and Francisco Marín.