



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Laura
Martínez Campelo

Tesis doctoral

Genética de la disfunción
cardíaca relacionada con la
terapia del cáncer

Santiago de Compostela, 2023

Programa de doctorado en Medicina Molecular

TESE DE DOUTORAMENTO

**GENÉTICA DE LA DISFUNCIÓN
CARDÍACA RELACIONADA CON LA
TERAPIA DEL CÁNCER**

Autor

Laura Martínez Campelo

Directores: María José Brion Martínez, Alejandro José Blanco Vereá

Titor: Ángel María Carracedo Álvarez

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN MEDICINA MOLECULAR

SANTIAGO DE COMPOSTELA

El doctorando declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la tesis doctoral y que todas las figuras son de autoría propia excepto aquellas en las que se indica lo contrario en su pie y para las que cuenta con autorización de reproducción.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mis tutores, el haberme dado la oportunidad de realizar la tesis en su grupo y haber hecho posible este proyecto.

A todo el grupo de Xenética cardiovascular, por haberme acogido como uno más desde el primer momento.

A Raquel Cruz y Silvia Diz, por su enorme paciencia, y por todo lo que he aprendido con ellas.

A todos mis compañeros del grupo de Medicina Xenómica, por haber hecho más llevadero este recorrido.

Al profesor Andrés Metspalu y a todo el grupo del Institute of Genomics de la Universidad de Tartu, por haberme acogido en su centro.

Y en especial a mi familia, por el esfuerzo que han hecho y el apoyo que me han dado durante todos estos años, lo que ha hecho posible que haya llegado hasta aquí.

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ACMG	American College of Medical Genetics
AHA	American Heart Association
ARA-II	Antagonistas de los receptores de angiotensina
AUC	Área bajo la curva
BB	Betabloqueantes
CADD score	Combined Annotation Dependent Depletion score
cTn	Troponina cardíaca
DCRTC	Disfunción cardíaca relacionada con la terapia del cáncer
TCV-RTC	Toxicidad cardiovascular relacionada con la terapia del cáncer
DL	Desequilibrio de ligamiento
DOX	Doxorubicina
DSVI	Disfunción sistólica ventrículo izquierdo
ECG	Electrocardiograma
eQTL	Expression quantitative trait loci
ESC	European society of cardiology
FDR	False discovery rate
FEVI	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo
GLS	Strain longitudinal global
IBD	Identidad por descendencia
IC	Insuficiencia cardíaca
IECA	Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina
IGV	Integrative Genomics Viewer
IMC	Índice de masa corporal
LP	Probablemente patogénica
MAF	Frecuencia de alelo menor
MCA	Miocardiopatía arritmogénica
MCD	Miocardiopatía dilatada
MCH	Miocardiopatía hipertrófica
MCN	Miocardiopatía no compactada
ARNnc	ARN no codificante
PN	Péptido natriurético
OR	Odds ratio
PC1	Componente principal 1
PCA	Análisis de componentes principales
PRS	Estima de riesgo poligénico
PRS-CS	Poligenic risk score-continuous shrinkage
QQ-plot	Gráfico cuantil-cuantil
RDB score	RegulomeDB score
ROC	Receiver operating characteristic
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SNV	Variante de un solo nucleótido
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
Top2	Topoisomerasa II

RESUMEN

Los avances en la detección temprana del cáncer y la eficacia de sus terapias han provocado un aumento de la supervivencia de estos pacientes. Sin embargo, el éxito en el tratamiento del cáncer está empañado por los eventos adversos que tienen algunos fármacos y la radioterapia sobre la función cardíaca, lo que se ha denominado disfunción cardíaca relacionada con la terapia del cáncer (DCRTC). En este contexto se vio necesaria una colaboración multidisciplinar entre hematología/oncología y cardiología, y nació así una nueva disciplina llamada cardio-oncología, cuyo objetivo principal es que los pacientes con cáncer puedan recibir su tratamiento de forma segura, minimizando el riesgo de cardiotoxicidad. El objetivo principal de este proyecto es identificar marcadores genéticos claves en el desarrollo de la DCRTC, buscando en última instancia la predicción del riesgo de eventos cardíacos severos en los pacientes con cáncer. Para ello utilizamos tres enfoques genéticos distintos: secuenciación del exoma completo (WES), estudio de asociación del genoma completo (GWAS), y estima de riesgo poligénico (PRS). La WES nos permitió detectar variantes raras patogénicas asociadas a cardiopatías familiares, especialmente a miocardiopatía dilatada, en pacientes con DCRTC severa. El GWAS, en cambio, identificó variantes comunes y nuevos genes de susceptibilidad a la DCRTC implicados en procesos como la disfunción mitocondrial, la muerte celular, la inflamación, y la fibrosis. Por último, el PRS nos permitió evaluar la capacidad de predicción de la insuficiencia cardíaca (IC) en nuestra cohorte, mostrando que los individuos con valores altos del PRS tienen un mayor riesgo de IC. Todos estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la variación genética contribuye a la susceptibilidad de la DCRTC y nos ayudan a comprender mejor los mecanismos que la originan. En el futuro, la aplicación clínica de la genética en cardio-oncología podría proporcionar un enfoque personalizado del riesgo de DCRTC, mejorando la calidad de vida de estos pacientes.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
1.1. EVOLUCIÓN DEL TRATAMIENTO DEL CÁNCER	5
1.2. LA CARDIO-ONCOLOGÍA EN LA ACTUALIDAD	7
1.2.1. Definición y objetivos	7
1.3. LA DCRTC	9
1.3.1. Definición e incidencia	9
1.3.2. Fisiopatología	10
1.3.2.1. <i>Especies reactivas de oxígeno y disfunción mitocondrial</i>	11
1.3.2.2. <i>Alteración de las vías de muerte celular</i>	11
1.3.2.3. <i>Fibrosis cardíaca</i>	12
1.3.3. Factores de riesgo y estratificación antes del tratamiento	12
1.3.4. Diagnóstico y gestión	16
1.3.5. Genética	17
1.3.5.1. <i>Variantes comunes</i>	19
1.3.5.2. <i>Variantes raras y de baja frecuencia</i>	21
1.3.5.3. <i>Recomendaciones actuales de las guías sobre el test genético</i>	21
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	23
3. MÉTODOS.....	26
3.1. LA COHORTE	27
3.2. DIAGRAMA DE FLUJO DE TRABAJO	27
3.3. SECUENCIACIÓN DEL EXOMA COMPLETO	29
3.3.1. Procedimiento de la WES	29
3.4. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO	30
3.4.1. Genotipado e imputación	30
3.4.2. Procedimiento del GWAS	31
3.5. METAANÁLISIS	31
3.5.1. Descripción de las cohortes	32
3.5.2. Procedimiento del metaanálisis	32

3.6. ANÁLISIS POST-GWAS	33
3.6.1 Caracterización de los loci de riesgo genómicos y anotación funcional	33
3.6.2. Mapeo de genes	34
3.7. CÁLCULO DE LA ESTIMA DE RIESGO POLIGÉNICO	35
3.7.1. Procedimiento del PRS	36
4. RESULTADOS	38
4.1. VARIANTES DE RIESGO PARA CARDIOPATÍAS FAMILIARES EN INDIVIDUOS CON DCRTC SEVERA	39
4.2. NUEVOS LOCI DE RIESGO PARA LA DCRTC	40
4.2.1. GWAS descubrimiento	40
4.2.2. Metaanálisis	41
4.2.3. Anotación funcional de las variantes de riesgo	41
4.2.4. Priorización de genes candidatos	43
4.3. RIESGO DE INSUFICIENCIA CARDÍACA	45
5. DISCUSIÓN	47
5.1. PREDISPOSICIÓN GENÉTICA A CARDIOPATÍAS EN PACIENTES CON CÁNCER	48
5.2. NUEVOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS EN LA DCRTC.....	49
5.2.1. Estrés oxidativo y disfunción mitocondrial	49
5.2.2. Muerte celular	51
5.2.3. Inflamación	52
5.2.4. Fibrosis	52
5.3. LOS PRSs COMO HERRAMIENTA PARA PREDECIR EVENTOS CARDÍACOS SEVEROS EN PACIENTES CON CÁNCER	53
5.4. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO	55
6. CONCLUSIONES	56
7. BIBLIOGRAFÍA	59
8. ANEXOS	78

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares y el cáncer son las dos principales causas de muerte en todo el mundo. La evidencia emergente sugiere que ambas patologías comparten diversos factores de riesgo como el tabaco y la obesidad (1), y mecanismos fisiopatológicos subyacentes como la inflamación crónica y las alteraciones en el metabolismo y en el microbioma (2,3). Esta superposición podría explicar el mayor riesgo de los pacientes oncológicos a sufrir insuficiencia cardíaca (IC) o miocardiopatía en comparación con la población general (4,5), donde un 11,3% de los pacientes con cáncer mueren por problemas cardíacos (6). Gran parte de los tratamientos contra el cáncer, como la irradiación torácica y la quimioterapia, se asocian con una mayor incidencia de eventos adversos sobre el sistema cardiovascular, lo que se ha denominado toxicidad cardiovascular relacionada con la terapia del cáncer (TCV-RTC), o más comúnmente, cardiotoxicidad (7,8). En las últimas décadas, el número de cánceres diagnosticados ha aumentado rápidamente a causa del envejecimiento y del aumento poblacional, la exposición a factores de riesgo (varios de los cuales están asociados con el desarrollo socioeconómico), y al aumento de la detección precoz. Se espera que la carga mundial de cáncer sea de 28,4 millones de casos en 2040, un aumento del 47% con respecto a 2020 (9). Este aumento de la incidencia del cáncer provocará que la tasa de muerte cardiovascular también siga aumentando, por lo que es de vital importancia implementar nuevas estrategias que permitan el correcto manejo de estos pacientes.

1.1. EVOLUCIÓN DEL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

En los inicios esta enfermedad se trataba predominantemente con cirugía radical y cauterización, destinados a erradicar completamente la enfermedad antes de que pudiera propagarse y metastatizar por todo el organismo (10). Este tratamiento quirúrgico, que muchas veces representaba la única opción terapéutica, resultaba ineficaz en pacientes con patología tumoral avanzada o cuando no lograba extirpar toda la masa tumoral.

A finales del siglo XIX se produjo el descubrimiento de los rayos X, y en los años siguientes se sugirió su uso en el tratamiento de tumores tras constatarse que eran perjudiciales a nivel celular, lo que proporcionó el primer enfoque terapéutico en oncología (11). Sin embargo, el verdadero avance se produjo después de la Segunda Guerra Mundial, con el descubrimiento accidental derivado del uso de gas mostaza con fines bélicos (12). Así se descubrió el primer agente alquilante del ADN, con efectos tóxicos sobre la médula ósea y la destrucción de los leucocitos (13). Tras la constatación de la eficacia terapéutica de las mostazas nitrogenadas, se definieron formalmente como los primeros fármacos antitumorales citotóxicos, y esto supuso el nacimiento de la quimioterapia (14). A partir de este punto ha habido un crecimiento exponencial de nuevos fármacos para el tratamiento del cáncer. Los nuevos descubrimientos en el campo de la biología molecular, la biología celular, y la inmunología, permitieron desarrollar fármacos específicos para algunas dianas moleculares implicadas en la transformación neoplásica de las células, dando lugar a la terapia dirigida (15–17). A diferencia del enfoque de quimioterapia clásico, la terapia dirigida afecta solo a las células cancerosas alteradas, con efectos secundarios menores hacia las células normales (18). En los últimos 10 años se produjo un gran avance con la introducción de la inmunoterapia para el tratamiento de tumores avanzados o metastásicos, para los que antes no se disponía de un tratamiento eficaz (19,20). Actualmente se siguen desarrollando nuevos enfoques terapéuticos, y los avances más recientes han sido la implementación de la terapia celular CAR-T (21,22), o el desarrollo de vacunas contra el cáncer, diseñadas según las características individuales del tumor, para hacer que el sistema inmunológico sea más activo contra las células cancerosas (23).

Estas estrategias han aumentado significativamente la eficacia de los tratamientos, aumentando la tasa de supervivencia de los pacientes con cáncer, lo que ha hecho que cobren mayor relevancia los efectos adversos, donde algunos de los más importantes son de naturaleza cardiovascular, como la cardiotoxicidad, la toxicidad vascular, y las arritmias (24). Como se ilustra en la Tabla 1, algunas terapias tienen un perfil de toxicidad cardiovascular muy limitado y otras, en cambio, muy amplio.

Tabla 1. Efectos tóxicos cardiovasculares asociados a las terapias del cáncer. CAR, receptor de antígeno quimérico; HDAC, histona desacetilasa; MEK, MAPK/ERK quinasa; mTOR, diana de rapamicina; VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular. Modificado de Herrmann. Nat Rev Cardiol. 2020.

	Enfermedad							Enfermedad de las válvulas cardíacas
	Arritmias	Miocardiopatía	vascular arterial	Tromboembolismo venoso	Hipertensión pulmonar	Hipertensión sistémica	Enfermedad pericárdica	
Quimioterapias convencionales								
Antraciclina		x						
Agentes alquilantes	x	x	x					
Antimetabolitos		x	x				x	
Agentes antimicrotúbulos	x		x					
Terapia basada en platino			x	x		x		
Antibióticos			x		x			
Fármacos inmunomoduladores	x			x				
Terapias dirigidas								
Inhibidores del proteasoma		x	x			x		
Inhibidores HDAC	x							
Inhibidores CDK4/CDK6	x							
Inhibidores mTOR	x	x	x	x		x		
Inhibidores HER2		x						
Inhibidores VEGF		x	x	x		x		
Inhibidores BCR-ABL1	x		x	x	x			
Inhibidores BTK	x							
Inhibidores ALK	x				x			
Inhibidores BRAF	x	x						
Inhibidores MEK	x	x			x			
Inmunoterapias								
Inhibidores de puntos de control inmunitario	x	x	x	x	x		x	
Terapia celular CART-T	x	x	x	x	x		x	
Otras terapias								
Radioterapia	x	x	x		x		x	x

1.2. LA CARDIO-ONCOLOGÍA EN LA ACTUALIDAD

1.2.1. Definición y objetivos

Los avances en la detección temprana del cáncer y la eficacia de sus terapias han provocado un aumento de la supervivencia de estos pacientes, y se estima que actualmente hay en Europa más de 12 millones de supervivientes de cáncer, según el plan de lucha contra el cáncer elaborado por la Comisión Europea. El éxito en el tratamiento del cáncer, sin embargo, está empañado por los efectos negativos que tienen algunos fármacos y la radioterapia sobre la función cardíaca y vascular. La comunidad médica empezó a tomar conciencia de la toxicidad cardíaca de los fármacos oncológicos en la década de 1970, cuando pacientes tratados con altas dosis de doxorubicina desarrollaron insuficiencia cardíaca. La conciencia aumentó a principios de la década de 2000, cuando la terapia contra el cáncer de mama anti-HER2 con trastuzumab y otros nuevos tratamientos contra el cáncer con potencial de toxicidad cardiovascular entraron en la práctica clínica (25). En este contexto se vio necesaria una colaboración multidisciplinar entre hematología/oncología y cardiología, y nació así una nueva disciplina llamada cardio-oncología, cuyo objetivo principal es que los pacientes con cáncer puedan recibir su tratamiento de forma segura, minimizando el riesgo de cardiotoxicidad y, por ende, la morbilidad y

mortalidad a largo plazo (26,27). Esto se consigue a través de la prevención, el seguimiento, y el manejo de la toxicidad cardiovascular de forma personalizada.

Para ello se establece que los oncólogos deben referir a los pacientes a los cardiólogos con el objetivo de (28):

- Identificar a los pacientes con alto riesgo en el momento del diagnóstico, incluidos aquellos con enfermedades cardiovasculares existentes, con varios factores de riesgo cardiovasculares, y aquellos cuya terapia contra el cáncer pueda presentar riesgos.
- Discutir las opciones de tratamiento del cáncer desde las perspectivas cardiovascular y oncológica, tratando de minimizar la cardiotoxicidad, y debatir la continuación o interrupción del tratamiento si los efectos secundarios se hacen evidentes.
- Recomendar estrategias preventivas como dieta, ejercicio, y agentes cardioprotectores para minimizar el riesgo en pacientes con enfermedad cardíaca.
- Monitorizar y tratar posibles complicaciones cardiovasculares antes, durante, y después del tratamiento del paciente.

Esta área de la medicina cuenta con pocos ensayos clínicos, y la evidencia en la cual basar la toma de decisiones es todavía limitada. En noviembre del 2022 se publicó la primera guía de cardio-oncología elaborada por la Sociedad Europea de Cardiología (ESC, por sus siglas en inglés) (28), con el propósito de proporcionar el consenso de la opinión de los expertos para orientar a los profesionales sanitarios en la toma de decisiones. Esta guía incluye las definiciones de la TCV-RTC y proporciona un enfoque personalizado de la atención basado en la evaluación inicial del riesgo de toxicidad cardiovascular. Además, aborda nuevos protocolos para la vigilancia cardiovascular durante el tratamiento del cáncer, así como el tratamiento de la TCV-RTC aguda. La toma de decisiones dependerá así del balance riesgo/beneficio del tratamiento oncológico y de la severidad e impacto de la TCV-RTC.

1.3. LA DCRTC

1.3.1. Definición e incidencia

La forma de manifestación de la TCV-RTC es variable: desde miocardiopatía e IC, pasando por miocarditis, toxicidad vascular, hipertensión, arritmias, prolongación del intervalo QT, y enfermedades cardíacas pericárdicas y valvulares (29). Las formas de presentación más frecuentes, y las que se tratan en este proyecto, son la miocardiopatía e IC, que se engloban dentro del término disfunción cardíaca relacionada con la terapia del cáncer (DCRTC) (28). En la Tabla 2 se muestra la definición de las distintas categorías de DCRTC.

Tabla 2. Definiciones de DCRTC.

DCRTC sintomática (IC)	Muy severa	IC que requiere soporte inotrópico, soporte circulatorio mecánico o consideración de trasplante
	Severa	IC hospitalización
	Moderada	Necesidad de intensificación ambulatoria del tratamiento con diuréticos e IC
	Leve	Síntomas leves de IC, no se requiere intensificación del tratamiento
DCRTC asintomática	Severa	Nueva reducción de la FEVI menor al 40%
	Moderada	Nueva reducción de la FEVI en ≥ 10 puntos porcentuales respecto de la FEVI del 40% al 49%
		Nueva reducción de la FEVI < 10 puntos porcentuales hasta una FEVI de 40–49 % y nueva disminución relativa en GLS mayor al 15 % desde el valor inicial
		Un nuevo aumento en los biomarcadores cardíacos (troponina T ultrasensible y péptido natriurético)
	Leve	FEVI $\geq 50\%$
y nueva disminución relativa en GLS mayor al 15% desde el valor inicial y/o nuevo aumento en los biomarcadores cardíacos		

IC, Insuficiencia cardíaca; FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; GLS, Strain global longitudinal. Modificado de Lyon et al. Eur.Heart.J.2022

La DCRTC puede ocurrir dentro del primer año o puede no hacerse evidente hasta años después de la interrupción del tratamiento. Es frecuente que se manifieste como miocardiopatía dilatada (MCD) crónica en pacientes adultos o como miocardiopatía restrictiva en pacientes más jóvenes (30,31). A nivel microscópico se observó fibrosis intersticial, pérdida miofibrilar, y formación de vacuolas en los cardiomiocitos (32). Observaciones más recientes también mostraron una reducción en la masa del ventrículo izquierdo, incluso sin alteraciones significativas en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) (33,34).

La incidencia de DCRTC depende del tipo de tratamiento administrado.

La administración de antraciclinas, fármacos alquilantes, y fluoropirimidinas, suele asociarse a una alta incidencia de IC (35). Por el contrario, los anticuerpos monoclonales dirigidos o los

inhibidores de la tirosina quinasa generalmente se asocian con una menor incidencia de IC. Además, el riesgo de IC asociado a las antraciclinas, el grupo de fármacos más utilizado en el tratamiento del cáncer, depende de la dosis (36). En ausencia de factores de riesgo y con una dosis acumulada inferior a 300 mg/m², la tasa de IC es inferior al 10%. Por el contrario, con una dosis acumulada superior a 550 mg/m², la incidencia aumenta hasta un 48% (37). En presencia de factores de riesgo como antecedentes cardiovasculares, edad avanzada, combinación con otros agentes anticancerígenos, y predisposición genética, se puede desarrollar miocardiopatía con dosis bajas de antraciclinas (37,38).

1.3.2. Fisiopatología

Aunque el tratamiento contra el cáncer se lleva utilizando intensamente durante las últimas décadas, el mecanismo por el que se produce DCRTC aún no se conoce completamente, pero la mayoría de los expertos coinciden en que es un proceso multifactorial. Debido a que cada agente anticancerígeno tiene efectos cardíacos únicos, el daño miocárdico puede inducirse mediante diversos mecanismos, como la toxicidad directa de los miocitos que provoca insuficiencia cardíaca, o la inhibición de los canales iónicos o las vías de señalización de la tirosina quinasa que provocan arritmias con o sin prolongación del intervalo QT (35). Comprender los mecanismos biológicos que subyacen a la DCRTC es fundamental para desarrollar estrategias de prevención, detección temprana, y tratamiento exitosas. A continuación se describirán los principales mecanismos que originan la DCRTC producida por las antraciclinas, y más concretamente por la doxorubicina (DOX), una de las antraciclinas más prescritas (Figura 1).

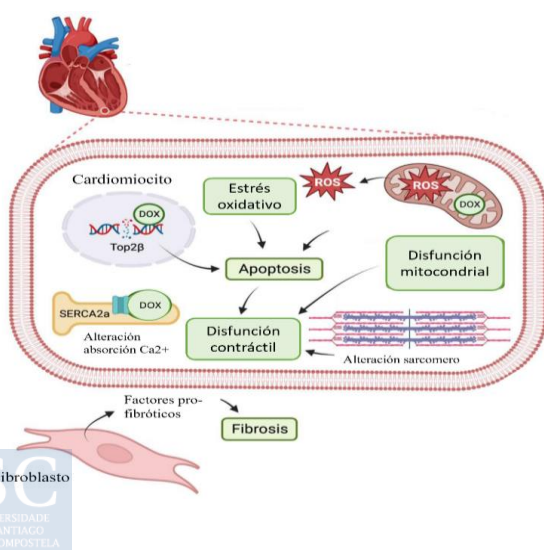


Figura 1. Mecanismos moleculares responsables de los efectos cardiotoxicos de las antraciclinas. La DOX induce DCRTC a través de múltiples mecanismos, incluida la inhibición de la topoisomerasa II (Top2), que provoca daño en el ADN y apoptosis; generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que causan estrés oxidativo y disfunción mitocondrial; deterioro contráctil que surge de la inhibición de la bomba de calcio del retículo sarcómero (SERCA2a) y de cambios en la composición y organización de los miofilamentos; y fibrosis cardíaca. Modificado de Dozic et al. Cells. 2023.

1.3.2.1. Especies reactivas de oxígeno y disfunción mitocondrial

La interferencia con diferentes procesos mitocondriales es el principal determinante molecular de la cardiotoxicidad producida por la DOX. La DOX inhibe la progresión tumoral al interferir con la replicación y transcripción del ADN a través de mecanismos como la intercalación, la separación de las cadenas, y la inhibición de la topoisomerasa II (Top2) (39–41). Se cree que la inhibición de la Top2 en los cardiomiocitos es la principal responsable de iniciar la cascada cardiotóxica, que produce daño nuclear, activación de p53, disfunción mitocondrial, y activación de las vías de muerte celular (42,43).

Las mitocondrias son muy abundantes en el músculo cardíaco, ocupan sobre el 30% del volumen de los cardiomiocitos y producen alrededor del 90% de la energía celular a través de la cadena de transporte electrónico, lo que es necesario para la correcta función contráctil (44). Entre los mecanismos moleculares subyacentes a la disfunción mitocondrial inducida por las antraciclinas cabe mencionar la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), la disrupción de la homeostasis del hierro, y la autofagia. La DOX promueve la producción de ROS a través de varios mecanismos como la interferencia directa con la NADPH oxidasa, las óxido nítrico sintasas, la cadena de transporte de electrones mitocondrial (45), y la alteración del metabolismo del hierro. El hierro se acumula en las mitocondrias provocando una sobrecarga férrica que resulta altamente tóxica para la célula y que termina desencadenando la ferroptosis, muerte celular dependiente del hierro (46–48). Las mitocondrias, que son la principal fuente de producción de ROS, son a su vez susceptibles al daño inducido por las ROS, lo que contribuye a la alteración de su función. Cuando los orgánulos celulares están dañados, se activa la autofagia, que se encarga del reciclado y eliminación de los componentes celulares potencialmente tóxicos (49). La DOX puede inhibir el inicio de la autofagia y el bloqueo de la fusión entre el autofagosoma y el lisosoma, exacerbando el daño en los cardiomiocitos y conduciendo a su muerte (50).

1.3.2.2. Alteración de las vías de muerte celular

Tal como se describió anteriormente, el tratamiento con DOX causa estrés oxidativo excesivo y daño mitocondrial que a su vez desencadenan las vías de muerte celular (42). Inicialmente se describió la apoptosis como la responsable de la muerte de los cardiomiocitos desencadenada por la DOX, sin embargo, la evidencia posterior sugirió que además de esta vía se pueden desencadenar otros tipos de muerte celular programada como la

necroptosis, la piroptosis, y las ya mencionadas ferroptosis y autofagia (51). La apoptosis es la forma más común de muerte celular programada, caracterizada por la contracción celular, el aumento de la densidad citoplasmática y la pérdida del potencial de membrana mitocondrial. Como resultado de los cambios en la permeabilidad, se generan cuerpos apoptóticos intactos, que las células vecinas captan y degradan eficientemente (52). La necroptosis, en cambio, es una forma de necrosis que implica la liberación de citoquinas, como el factor de necrosis tumoral (TNF- α , por sus siglas en inglés), que señalan la muerte celular (53–56). Recientemente se ha descrito otra forma de muerte celular programa caracterizada por un aumento de la inflamación y la activación de las caspasas y el inflamasoma NLRP3, la piroptosis (57–59).

La atrofia o apoptosis de los cardiomiocitos puede provocar pérdida de masa ventricular (60–62). Esto se constató en estudios recientes donde observaron una reducción de la masa del ventrículo izquierdo tras la terapia con antraciclinas que se correlacionó con empeoramiento de la sintomatología de IC (33,34).

1.3.2.3. Fibrosis cardíaca

La matriz extracelular del miocardio consiste en una intrincada red fibrilar de colágeno que proporciona soporte a la función de los cardiomiocitos, incluyendo la contractilidad (función sistólica) y la relajación (función diastólica) (63). La disfunción mitocondrial y la muerte de los cardiomiocitos inducidas por las antraciclinas desencadenan la infiltración de células inflamatorias en la matriz extracelular del miocardio, que inducen la expresión de citocinas inflamatorias (64–66). La inflamación crónica resultante promueve la conversión de fibroblastos en miofibroblastos con la consiguiente síntesis y depósito de colágeno (67). Los cardiomiocitos muertos son reemplazados por colágeno, lo que conduce a la fibrosis intersticial miocárdica, que contribuye al deterioro de la función del ventrículo izquierdo y predice eventos cardiovasculares adversos (66,68,69).

1.3.3. Factores de riesgo y estratificación antes del tratamiento

El riesgo de DCRTC es una variable dinámica, depende del riesgo basal y cambia a lo largo del tiempo con la exposición a las terapias cardiotóxicas (28). Puede verse influido por varias variables, incluyendo la implantación de tratamientos de prevención primaria, la optimización de la enfermedad cardiovascular preexistente, la dosis, frecuencia y duración del tratamiento oncológico, el tratamiento acumulado recibido, y el tiempo transcurrido desde el

inicio del tratamiento. El riesgo puede entenderse como probabilidad de que aparezca, o como gravedad de la complicación. Por ejemplo, un paciente podría tener una alta probabilidad de desarrollar DCRTC pero esta ser leve, y por lo tanto podría continuar el tratamiento. Por el contrario, un paciente con baja probabilidad podría llegar a desarrollar un evento grave y tener que interrumpir el tratamiento (28).

Se ha descrito que los factores de riesgo cardiovascular preexistentes (Tabla 3) están asociados con una mayor incidencia de DCRTC. Concretamente, se informó que la incidencia de DCRTC en pacientes con hipertensión, diabetes mellitus, obesidad, y tabaquismo, es notablemente mayor que la de los pacientes que carecen de estas condiciones (38,70).

El momento óptimo para considerar las estrategias de prevención de las enfermedades cardiovasculares en los pacientes con cáncer es en el momento del diagnóstico del cáncer y antes del inicio del tratamiento oncológico, aunque se recomienda una nueva evaluación del riesgo después del tratamiento oncológico para establecer diferentes trayectorias de prevención de la salud cardiovascular a largo plazo (26–28). Estas estrategias son necesarias para mitigar el riesgo de la enfermedad cardiovascular y mejorar la adherencia de los tratamientos contra el cáncer y la supervivencia general. La evaluación inicial del riesgo requiere un enfoque personalizado y debe considerarse para todos los pacientes diagnosticados de cáncer que están programados para recibir tratamiento (28). Idealmente debería realizarse utilizando un método de estratificación de riesgo reconocido, en el que se incorporen múltiples factores de riesgo para determinar el riesgo específico del paciente (71). Únicamente se han publicado un número limitado de puntuaciones de estratificación del riesgo en pacientes con cáncer, con el objetivo de clasificar a los pacientes en riesgo bajo, moderado, alto, y muy alto de complicaciones cardiovasculares antes de iniciar el tratamiento. Hasta hace poco tiempo se utilizaba la evaluación sistemática de riesgo coronario (SCORE, por sus siglas en inglés) de la ESC para identificar a los pacientes con alto riesgo cardiovascular. SCORE estima el riesgo de sufrir eventos cardiovasculares mortales en 10 años, en función del sexo, la edad, el tabaquismo, la presión arterial sistólica, y el nivel de colesterol total (https://www.heartscore.org/en_GB) (72).

Tabla 3. Factores de riesgo de la DCRTC y recomendaciones de la guía de cardio-oncología.

Factor de riesgo	Implicación en la enfermedad cardiovascular y recomendaciones
Sexo	El estado menopáusico y la edad de las pacientes femeninas parecen ser determinantes clave de las diferencias específicas de sexo en la cardiotoxicidad inducida por antraciclinas, con un riesgo mayor para las mujeres prepuberales, un riesgo mayor para los hombres adultos, y un riesgo similar para los hombres ancianos y las mujeres posmenopáusicas.
Edad	El riesgo es mayor en pacientes con edad avanzada (> 65 años) en el momento del diagnóstico de cáncer.
Antecedentes de ECV	Los pacientes con antecedentes de enfermedad cardiovascular (ECV) tienen un alto riesgo de sufrir eventos cardiovasculares futuros. Se deben considerar los antecedentes familiares de ECV, como la miocardiopatía dilatada, porque las variaciones genéticas asociadas con la ECV pueden predisponer a los pacientes con cáncer a un mayor riesgo de DCRTC.
Hipertensión	Se informó que la incidencia de la DCRTC en pacientes con hipertensión preexistente es notablemente mayor que en pacientes normales.
Diabetes mellitus	La diabetes mellitus está asociada a un mayor riesgo de DCRTC e IC.
Enfermedad renal crónica	Los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) muestran un elevado riesgo cardiovascular. La ERC provoca un estado proinflamatorio crónico sistémico que contribuye a los procesos de remodelación vascular y miocárdica.
Antecedentes de tabaquismo	Se sabe que fumar induce trombosis y toxicidad cardiovascular a través de la inflamación y el estrés oxidativo. Se recomienda dejar de fumar para reducir el riesgo cardiovascular.
Obesidad (IMC >30 kg/m ²)	Se asocia a factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial, colesterol, diabetes mellitus, dislipemia y arteriosclerosis, y marcadores inflamatorios. También aumenta el riesgo de recurrencia del cáncer y reduce la probabilidad de supervivencia general de estos pacientes.
Dieta no saludable	Dietas caracterizadas por una ingesta elevada de verduras/frutas y cereales integrales se asocian con una reducción de la mortalidad y la recurrencia del cáncer en comparación con una ingesta elevada de cereales refinados, carnes rojas y procesadas, y productos lácteos ricos en grasas. Se aconseja una dieta saludable para reducir el peso y los niveles de colesterol.
Estilo de vida sedentario	Varios estudios han demostrado los beneficios terapéuticos del ejercicio durante el tratamiento contra el cáncer. Se recomienda el ejercicio durante y después del tratamiento contra el cáncer.
Ingesta de alcohol	Un consumo excesivo de alcohol (>8 bebidas alcohólicas/semana) se asocia con un mayor riesgo de DCRTC.
Tratamiento previo del cáncer	La exposición previa a las antraciclinas, trastuzumab, y la radioterapia de mama izquierda o mediastínica son factores de riesgo para la DCRTC. Una dosis acumulada de antraciclinas ≥ 250 mg/m ² debe considerarse de mayor riesgo.
Electrocardiograma	El electrocardiograma (ECG) puede proporcionar pistas importantes sobre la ECV subyacente. Se recomienda un ECG inicial en todos los pacientes de cáncer antes de iniciar el tratamiento.
Imagen cardíaca	La reducción inicial de la FEVI y/o GLS predice la DCRTC en pacientes que reciben tratamiento con antraciclinas. Se recomienda hacer una ecocardiografía y medir la GLS para la evaluación de la función cardíaca en todos los pacientes con cáncer.
Biomarcadores cardíacos	Los pacientes con un aumento de cTn y/o PN antes del tratamiento tienen más probabilidades de desarrollar DCRTC. Se recomienda la medición inicial de PN y/o cTn en todos los pacientes con cáncer si estos biomarcadores se van a medir durante el tratamiento para detectar DCRTC.

ECV, enfermedad cardiovascular; DCRTC, disfunción cardíaca relacionada con la terapia del cáncer; ERC, enfermedad renal crónica; ECG, electrocardiograma; FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; GLS, strain global longitudinal; cTn, troponina cardíaca; PN, péptido natriurético. Elaboración propia.

Recientemente, el grupo de estudio de cardio-oncología de la Asociación de Insuficiencia Cardíaca (HFA, por sus siglas en inglés) de la ESC, en colaboración con la Sociedad Internacional de Cardio-oncología (ICOS, por sus siglas en inglés), propuso un formulario de estratificación del riesgo cardiovascular de referencia (evaluación de riesgo HFA-ICOS) que se puede utilizar específicamente para estratificar el riesgo cardiovascular en pacientes con cáncer antes de iniciar terapias potencialmente cardioprotóxicas (https://www.cancercalc.com/HFA-ICOS_cardio_oncology_risk_assessment.php) (73). Esta nueva estima de riesgo, además de puntuar para los factores de riesgo cardiovasculares, tiene en consideración el tratamiento del cáncer (Tabla 4). Varios estudios demostraron que el modelo de estratificación de riesgo HFA-ICOS permite una estratificación del riesgo cardiovascular más personalizada en los pacientes con cáncer, y es más sensible que la evaluación SCORE utilizada anteriormente (74,75). Según la guía de cardio-oncología, y aunque se necesita una mayor validación, se debe considerar el uso de la puntuación de riesgo HFA-ICOS para determinar el riesgo de TCV-RTC previo al tratamiento (28,73,76).

Tabla 4. Puntuación de riesgo cardiovascular HFA-ICOS. Formulario de estratificación del riesgo cardiovascular basal para la quimioterapia con antraciclinas. IMC, índice de masa corporal; PN, péptido natriurético; FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; NT-proBNP, pro-péptido natriurético N-terminal. Bajo riesgo = ningún factor de riesgo o un factor de riesgo medio; Riesgo medio = factores de riesgo medio con un total de 2–4 puntos; Alto riesgo = factores de riesgo medio con un total ≥ 5 puntos o cualquier factor de riesgo alto; Muy alto riesgo = cualquier factor de riesgo muy alto. Modificado de Lyon et al. Eur J Heart Fail. 2020.

Factor de riesgo	Puntuación
Enfermedad cardiovascular previa	
Insuficiencia cardíaca o cardiopatía	Muy alto
Enfermedad severa de las válvulas cardíacas	Alto
Infarto de miocardio o revascularización coronaria previa	Alto
Angina estable	Alto
FEVI basal <50%	Alto
FEVI límite 50%-54%	Medio
Biomarcadores cardíacos	
Troponina basal elevada	Medio
PN o NT-proBNP basal elevado	Medio
Factores cardiovasculares y demográficos	
Edad >80 años	Alto
Edad 65-79 años	Medio
Hipertensión	Medio
Diabetes mellitus	Medio
Enfermedad renal crónica	Medio
Tratamiento del cáncer previo	
Exposición a antraciclinas	Alto
Radioterapia de mama izquierda o mediastínica previa	Alto
Quimioterapia previa no-antraciclinas	Medio
Factores de riesgo derivados del estilo de vida	
Fumador actual o antecedentes significativos	Medio
Obesidad (IMC>30kg/m ²)	Medio

Otras puntuaciones de riesgo cardiovascular menos específicas (SMART (por sus siglas del inglés *Second manifestations of ARterial disease*), ADVANCE (por sus siglas del inglés *Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron Modified Release Controlled Evaluation*), ASCVD (por sus siglas del inglés *Atherosclerotic Cardiovascular Disease*) and U-Prevent) pueden considerarse al inicio de la evaluación para determinar el riesgo cardiovascular, considerando que el cáncer en sí puede aumentar la probabilidad de enfermedad cardiovascular (28).

1.3.4. Diagnóstico y gestión

La DCRTC puede presentarse clínicamente o detectarse en pacientes asintomáticos durante la vigilancia. Se recomienda seguir un enfoque multidisciplinar y derivar al servicio de cardio-oncología a los pacientes que desarrollen complicaciones cardiovasculares para considerar la relación riesgo/beneficio de continuar la quimioterapia (26,73). El diagnóstico de DCRTC incluye la aparición de síntomas cardiovasculares, anomalías en la función cardíaca detectadas en las imágenes, y/o un aumento en los biomarcadores cardíacos (troponina T de alta sensibilidad y propéptido natriurético N-terminal). Una vez diagnosticada, la gestión de la DCRTC presenta pequeñas variaciones dependiendo de la clase de fármacos que se estén administrando. A continuación se detalla el procedimiento a seguir en el caso de las antraciclinas (Figura 2).

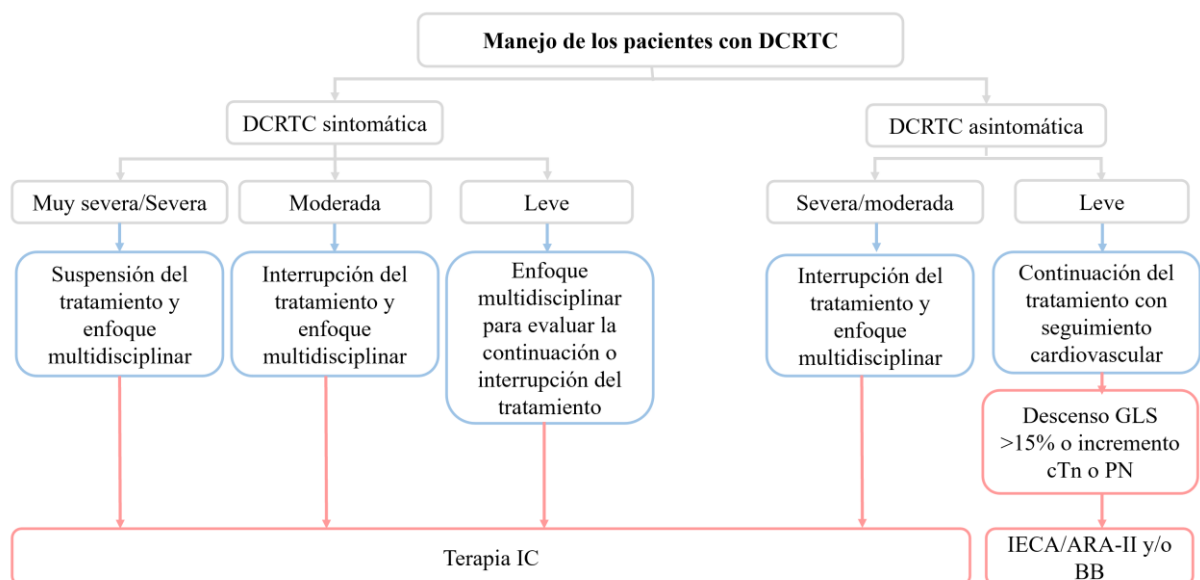


Figura 2. Gestión de la DCRTC. IECA, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; ARA-II, antagonistas de los receptores de la angiotensina; BB, betabloqueantes; cTn, troponina cardíaca; DCRTC, disfunción cardíaca relacionada con la terapia del cáncer; GLS, strain longitudinal global; IC, insuficiencia cardíaca; PN, péptido natriurético. Se muestra en azul la estrategia oncológica y en rosa la estrategia cardiovascular. Modificado de Lyon et al. Eur Heart J. 2022.

Una vez se ha detectado la DCRTC, si esta es grave y sintomática, se recomienda suspender el tratamiento oncológico y empezar el tratamiento de la IC. En el caso de ser grave asintomática o moderada, la suspensión será temporal, y será necesario el tratamiento de la IC y un enfoque multidisciplinar para poder reanudarlo después de la recuperación de la función del ventrículo izquierdo. Si se decide continuar el tratamiento, será utilizando una serie de estrategias de prevención, como minimizar la dosis administrada y ajustar el tiempo de infusión, utilizar formulaciones especiales como las antraciclinas liposomales, y tratar con dexrazoxano (un quelante de hierro con efectos cardioprotectores) antes de administrar antraciclinas, todo ello bajo la estrecha supervisión en cada 1 o 2 ciclos de quimioterapia. El dexrazoxano actualmente está aprobado solo para pacientes adultos con cáncer de mama metastásico avanzado que han recibido una dosis acumulada de antraciclinas $>300 \text{ mg/m}^2$, debido a su potencial efecto sobre la reducción de la efectividad del tratamiento del cáncer y al aumento del riesgo de neoplasias secundarias. En la práctica clínica se debería considerar para todos los pacientes de cáncer programados para recibir dosis acumuladas altas de antraciclinas y para pacientes con alto riesgo de desarrollar DCRTC. En el caso de la DCRTC leve y sintomática, se recomienda valorar la suspensión temporal o continuación del tratamiento bajo un enfoque multidisciplinar. Si es leve asintomática, se continuará el tratamiento y se considerará la administración concomitante de agentes cardioprotectores, como inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina II/antagonistas del receptor de angiotensina (IECA/ARA-II) o betabloqueantes (BB). Los efectos beneficiosos del ejercicio aeróbico antes y durante la quimioterapia con antraciclinas han sido demostrados y se recomiendan para todos los pacientes que desarrollan DCRTC.

1.3.5. Genética

La evidencia existente respalda la hipótesis de que la variación genética contribuye a la susceptibilidad de la DCRTC. La mayoría de los estudios realizados tienen un enfoque de gen candidato (en el que solamente se estudian variantes genéticas en una serie de genes seleccionados en base a evidencias previas) o muestran la expresión genética diferencial en modelos preclínicos de ratón. Solo unos pocos son estudios de asociación de todo el genoma (GWAS, por sus siglas en inglés) (77,78). Muchos de los estudios de genes candidatos no corrigieron por comparaciones múltiples, a diferencia de los estudios que examinaron una mayor cantidad de polimorfismos (SNP, por sus siglas en inglés), lo que puede resultar en una mayor cantidad de hallazgos falsos positivos en los estudios de genes candidatos (79). Teniendo

en cuenta el rendimiento limitado de este tipo de estudios, un enfoque como el GWAS puede ser más adecuado para descubrir nuevos determinantes genéticos de la cardiotoxicidad asociada a las antraciclinas. Hasta la fecha ambos enfoques han identificado más de 60 SNPs en aproximadamente 40 genes de potencial interés, pero ninguno de los SNPs detectados mediante GWAS superó el umbral de significancia en todo el genoma de $P < 5 \times 10^{-8}$ (77,78). Estos SNPs han sido revisados exhaustivamente previamente (77–80). Únicamente unos pocos SNPs se han replicado en muestras independientes y tienen validación funcional (Figura 3). Este éxito limitado probablemente se deba a la falta de una definición estandarizada de la DCRTC hasta la publicación de la guía de cardio-oncología ESC 2022, así como a las diferentes características de los pacientes y al limitado poder estadístico de los estudios a causa del reducido tamaño muestral. En el futuro, un enfoque genético personalizado podría ayudar a definir mejor la susceptibilidad individual a las enfermedades cardiovasculares en los pacientes con cáncer.



Figura 3. Clasificación de los principales genes asociados a la DCRTC según el nivel de evidencia hasta la fecha. De arriba abajo, de mayor (rosa) a menor (azul) evidencia. No se incluyen todos los genes de menor evidencia. A pesar de la gran diferencia entre los genes asociados a la DCRTC, todos comparten los mismos mecanismos fisiopatológicos, que incluyen daño al ADN, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, transporte de fármacos y metabolismo, disfunción del sarcómero, y alteración del metabolismo del hierro. Elaboración propia.

1.3.5.1. Variantes comunes

A continuación se resume la evidencia más significativa en la genética de la DCRTC:

- SLC28A2: En el año 2012, Visscher y col. llevaron a cabo un estudio de 2.977 SNPs en 220 genes clave en la biotransformación de fármacos en una cohorte de 156 pacientes pediátricos tratados con antraciclinas (38 casos y 118 controles) (81). En este estudio se asoció la cardiotoxicidad con la variante sinónima rs7853758 ($P=1,8 \times 10^{-5}$), ubicada en el gen *SLC28A2*, que codifica un transportador de captación específico del corazón. La variante rs7853758 ha sido replicada posteriormente en otras cohortes independientes (82). En 2022 se realizó un estudio con cardiomiocitos derivados de células madre pluripotentes (iPSC-CMs) obtenidas de pacientes tratados con doxorubicina, y se comprobó el efecto cardioprotector de este locus (83). Los autores también señalan que la variante sinónima rs7853758 está en desequilibrio de ligamiento con otras 22 variantes no codificantes formando un haplotipo cardioprotector, y destacan el rs11140490 (otro SNP dentro del locus) como SNP causal más probable. Es interesante señalar que la edición del rs11140490 aumentó la sensibilidad de los iPSC-CMs en aproximadamente un 28%, lo que denota que podría haber más SNPs dentro del haplotipo que interactúan de manera aditiva con rs11140490 para predisponer a la protección contra la cardiotoxicidad.

- UGT1A6: En el mismo estudio de Visscher y col. también se identificó la asociación el gen *UGT1A6* con la cardiotoxicidad en población pediátrica (81). Un año más tarde la asociación del rs17863783 se validó en una cohorte independiente ($P=1,6 \times 10^{-5}$) (82). En 2016 se volvió a replicar esta variante, esta vez en una cohorte de supervivientes con trasplante de médula ósea que desarrollaron miocardiopatía de inicio temprano (84). El gen *UGT1A6* está implicado en la detoxificación de fármacos, por lo que se puede plantear la hipótesis de que su alteración podría conducir a la acumulación de metabolitos tóxicos de las antraciclinas, lo que resultaría en un mayor riesgo de cardiotoxicidad (77).

- RARG: El primer GWAS sobre la cardiotoxicidad inducida por antraciclinas se publicó en 2015 por Aminkeng y col. La cohorte descubrimiento estuvo compuesta por 280 pacientes (32 casos y 248 controles) de ascendencia europea tratados por cáncer infantil (85). El estudio identificó la variante no sinónima rs2229774 en el gen *RARG* asociada con la cardiotoxicidad inducida por antraciclinas ($P=5 \times 10^{-6}$). Este gen codifica el receptor de ácido retinoico gamma,

que es importante en la regulación transcripcional de la topoisomerasa-2 β . Esta variante se testó en otras cohortes independientes (85–88). En los últimos años se realizaron varios estudios con iPSC-CMs derivadas de pacientes tratados con doxorubicina donde se mostró que esta variante atenúa la reparación del ADN en respuesta al fármaco (83,89,90). Estos hallazgos sugieren que *RARG* podría ser un biomarcador clínicamente significativo de la cardiotoxicidad inducida por antraciclinas.

- *CELF4*: En 2016 se publicó otro GWAS sobre cardiotoxicidad en 430 supervivientes de cáncer infantil (162 casos y 268 controles) que identificó la variante intrónica rs1786814 en el gen *CELF4* ($P=1,14\times 10^{-5}$) (91). Esta variante fue replicada en otras cohortes independientes (86). La proteína codificada por este gen participa en la regulación del splicing de *TNNT2*, que a su vez codifica la troponina T cardíaca, un biomarcador de lesión miocárdica. En el ensayo funcional del polimorfismo *CELF4* se observó que los portadores de un alelo de riesgo tenían más probabilidades de coexpresar distintas isoformas de *TNNT2* en el corazón, de manera similar a como ocurre en la MCD, lo que en última instancia provocaría una disminución de la contractilidad (91).

- *rs28714259*: En 2017 se realizó el GWAS de cardiotoxicidad con mayor tamaño muestral publicado hasta el momento, 1.055 pacientes adultos (68 casos y 987 controles) que recibieron doxorubicina (92). En este estudio se identificó la variante intergénica rs28714259 ($P=9,25\times 10^{-6}$), que posteriormente fue replicada en otras cohortes independientes (92,93). En 2022 se testó esta variante en iPSC-CMs y se mostró su impacto en la supervivencia y contractilidad de los cardiomiocitos (94).

- *GDF5*: En 2021 se realizó el primer análisis de asociación de todo el transcriptoma (TWAS, por sus siglas en inglés), derivado del estudio de Aminkeng y col. En él se identificó una disminución de la expresión del gen *GDF5* asociada con la cardiotoxicidad ($P=1,70\times 10^{-5}$) (95). Esta asociación fue replicada en una cohorte independiente y el estudio funcional señaló que la viabilidad de los cardiomiocitos con el gen *GDF5* silenciado disminuye significativamente en respuesta al tratamiento con antraciclinas.

1.3.5.2. Variantes raras y de baja frecuencia

Además de las variantes comunes previamente descritas, también se han identificado variantes raras y de baja frecuencia asociadas a la DCRTC:

- TTNtv_s: Las variantes truncantes en el gen de la titina (TTNtv_s) son las que tienen una mayor evidencia en la DCRTC. Hay numerosos estudios que describen que los pacientes oncológicos con TTNtv_s son más propensos a desarrollar IC severa y/o fibrilación auricular tras el tratamiento (96–98). Recientemente se ha señalado que la inhibición de ARN circular derivado de la *TTN* incrementa la susceptibilidad de los cardiomiocitos a la doxorubicina (99). Las TTNtv_s ubicadas en la banda A del sarcómero son la causa más común de MCD hereditaria (100), y conducen a defectos en el sarcómero, actividad defectuosa de los canales de Na⁺, y disfunción contráctil (101).

Además de las TTNtv_s, también se han descrito otras variantes en genes asociados a MCD en pacientes con DCRTC (*LMNA*, p.Arg190Trp (102); *FLNC*, p.Arg2326* (103); *MYH7*, p.Asp545Asn, p.Asp955Asn, p.Tyr1375X, p.Glu1426Lys (104–106).

1.3.5.3. Recomendaciones actuales de las guías sobre el test genético

PharmaGKB (<https://www.pharmgkb.org/>) es una base de conocimiento sobre farmacogenómica que reúne información sobre el impacto de la variación genética humana en la respuesta a los medicamentos. Abarca asociaciones gen-fármaco y relaciones genotipo-fenotipo clínicamente accionables, además de incluir las recomendaciones de las principales sociedades y agencias reguladoras: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC), Royal Dutch Association for the Advancement of Pharmacy - Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG), Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety (CPNDS) y French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). Con relación a los fármacos de la terapia contra el cáncer y la DCRTC, únicamente la CPNDS en la publicación del 2016 recomienda que se realice un test farmacogenético para las variantes *RARG* rs2229774, *SLC28A3* rs7853758, y *UGT1A6* rs17863783 a todos los pacientes pediátricos con cáncer tratados con doxorubicina o daunorrubicina (Nivel de evidencia B, recomendación moderada) (107). Como la mayoría de los estudios hasta el momento se han realizado en pacientes pediátricos que recibieron doxorubicina o daunorrubicina, se desconoce la generalización de estos hallazgos a adultos y otros fármacos.

Es por ello que actualmente no se recomiendan las pruebas farmacogenéticas en pacientes adultos ni en niños que recibieron otro tipo de fármacos (Nivel de evidencia C, recomendación opcional).

Por otro lado, la guía de cardio-oncología ESC 2022 señala que los SNPs con una evidencia más sólida con la DCRTC hasta el momento son: *CELF4* rs1786814, *RARG* rs2229774, *SLC28A3* rs7853758, *UGT1A6* rs17863783, la variante intergénica rs28714259, y las TTNts. A pesar de ello, no recomienda el uso rutinario de pruebas genéticas para la evaluación del riesgo de la DCRTC antes del inicio de la terapia contra el cáncer (28).

En definitiva, se necesitan estudios más amplios, en adultos, y con otros agentes quimioterapéuticos para confirmar las asociaciones existentes e identificar otras nuevas.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Hasta el año 2020 el sistema para gestionar y evaluar la información de sospecha de reacciones adversas a medicamentos autorizados o en estudio en ensayos clínicos en la Unión Europea, EudraVigilance, registró más de 18 millones de informes de sospecha de reacción adversa a medicamentos (RAM), de los cuales 143.958 pertenecen a ese último año (108). Las RAM severas tienen costes clínicos que pueden llevar a la muerte del paciente, y costes económicos derivados de la hospitalización en el Sistema Nacional de Salud. Estas pueden resultar del mal uso, como tomar demasiado medicamento o tomarlo durante demasiado tiempo, o de los efectos idiosincráticos de los fármacos, que son resultado de la variación genética que determina la variabilidad individual en la eficacia y toxicidad de los fármacos (109). Generalmente los medicamentos se testan en un gran grupo de personas y se informa la respuesta promedio. En base a esto, las recomendaciones sobre prevención de enfermedades y tratamiento se hacen en base a la respuesta esperada de un paciente promedio (110,111). Este enfoque de “talla única” funciona bien para algunos pacientes, pero no para otros. La atención sanitaria tal como la conocemos está cambiando para dar paso a intervenciones de salud más personalizadas. La medicina personalizada es un enfoque basado en el perfil específico de un individuo, es decir, teniendo en cuenta la heterogeneidad genética entre los individuos, el medio ambiente, y su estilo de vida (112). Esto permite determinar la predisposición a una enfermedad y/o permitir su prevención, así como elegir la estrategia terapéutica más adecuada para cada persona, aumentando la eficacia del tratamiento y disminuyendo las reacciones adversas, lo que reduciría la morbilidad general en la población y los costes económicos (113). Pese a todo ello, la medicina personalizada todavía tendrá que superar muchos desafíos y barreras antes de poder implementarse con éxito en los sistemas de salud.

El área de oncología es un claro ejemplo de esta evolución, donde hasta ahora se prescribían los fármacos y dosis estándares según el tipo de cáncer, pero obviando las diferencias individuales de los pacientes con la misma enfermedad, lo que resulta en que algunos pacientes desarrollen efectos adversos como la DCRTC. Hasta la fecha se han desarrollado menos de 10 GWAS con el objetivo de buscar la causa genética que predispone al desarrollo de la cardiotoxicidad tras el tratamiento del cáncer, todos ellos con cohortes pequeñas ($N < 1.000$ pacientes). En 2012 se inició en España el primer registro de estas características, el registro CARDIOTOX (114), que es la base de este proyecto. El objetivo principal es identificar marcadores genéticos claves en el desarrollo de la DCRTC, buscando en última instancia la predicción del riesgo de eventos cardíacos severos en los pacientes con cáncer. Esto permitiría adoptar las medidas preventivas y terapéuticas pertinentes, con la consiguiente reducción de la incidencia de la DCRTC. Para lograr este gran objetivo, hemos considerado los siguientes objetivos secundarios:

- Secuenciar el exoma completo de los pacientes que desarrollaron DCRTC severa tras la terapia contra el cáncer, para evaluar la presencia de variantes genéticas raras en genes asociados a cardiopatías familiares que puedan explicar la severidad de estos pacientes.
- Realizar un estudio de asociación de genoma completo y metaanálisis con una cohorte oncológica adecuadamente fenotipada y con un número significativo de muestras, para buscar variantes genéticas comunes asociadas a la susceptibilidad de desarrollar DCRTC.
- Desarrollar una estima de riesgo poligénico (PRS, por sus siglas en inglés) que permita predecir el riesgo de desarrollar insuficiencia cardíaca secundaria al tratamiento antitumoral.

MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1. LA COHORTE

La cohorte descubrimiento incluyó 620 pacientes oncológicos del registro CARDIOTOX a los que se les hizo un seguimiento durante un periodo de 24 meses (114). Los pacientes se clasificaron en cuatro categorías en función de la severidad de la lesión miocárdica observada durante este periodo: 1) Controles (N=325), si la función del ventrículo izquierdo y los biomarcadores (troponina T de alta sensibilidad y propéptido natriurético N-terminal) eran normales; 2) Casos leves (N=224), si presentaron una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) >50% con biomarcadores elevados o al menos un parámetro ecográfico anormal adicional; 3) Casos moderados (N=22), pacientes asintomáticos con FEVI \geq 40% y <50%; 4) Casos severos (N=49), pacientes con FEVI asintomática <40% o IC clínica. La información de las variables clínicas se obtuvo de la base de datos prospectiva CARDIOTOX, y se muestra en la Tabla 5 (pag.32). El estudio pasó el comité ético (PI-2389) y todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito.

3.2. DIAGRAMA DE FLUJO DE TRABAJO

A continuación se muestran los procesos metodológicos seguidos en este proyecto y que se explicarán con más detalle en los próximos apartados (Figura 4).

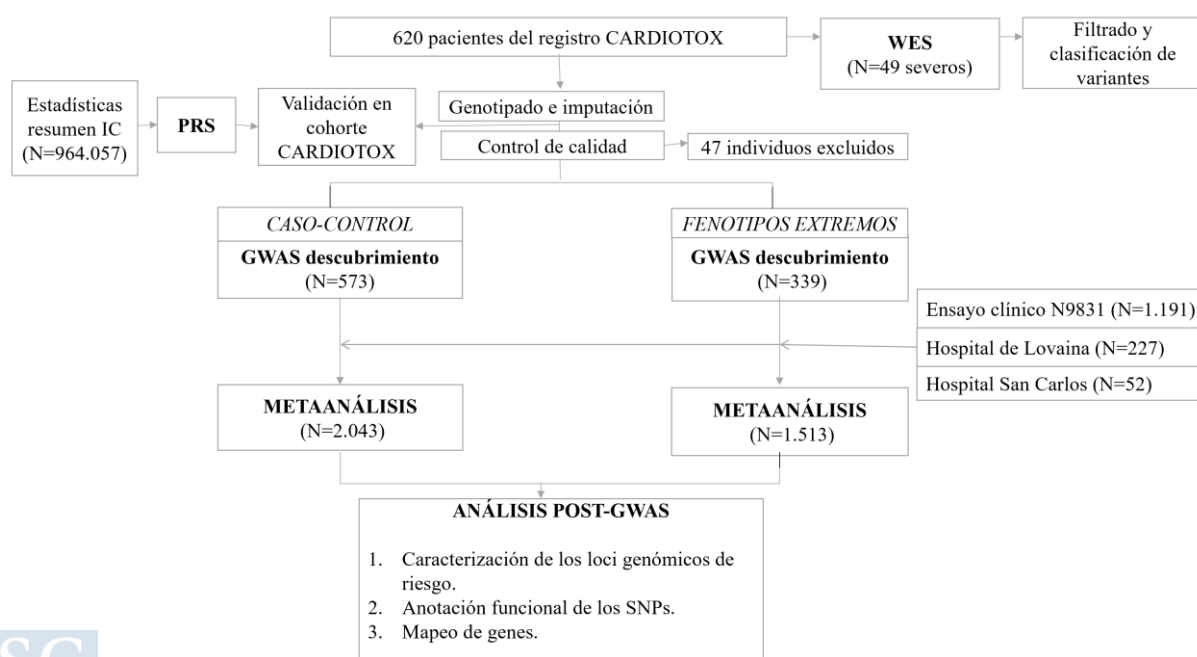


Figura 4. Esquema del flujo de trabajo seguido en el proyecto.

Tabla 5. Características clínicas de los pacientes de la cohorte CARDIOTOX.

Parámetro	Control (N=325)	Leve (N=224)	Moderado (N=22)	Severo (N=49)
Edad al inicio de la quimioterapia, media	56,12±12,02	52,34±10,00	58,40±11,77	62,89±10,56
Sexo femenino	268 (82,46)	203 (90,62)	15 (68,18)	32 (65,30)
Antecedentes cardiovasculares	24 (7,38)	8 (3,57)	2 (9,09)	3 (6,12)
<i>Comorbilidades</i>				
Tabaquismo	79 (24,30)	60 (26,78)	6 (27,27)	14 (28,57)
Hipertensión	85 (26,15)	26 (11,60)	7 (31,81)	14 (28,57)
Hipercolesterolemia	77 (23,69)	51 (22,76)	2 (9,09)	10 (20,40)
Diabetes	32 (9,84)	9 (4,01)	0	7 (14,28)
Índice de masa corporal, media	26,31±3,90	24,95±3,19	27,75±4,87	26,18±3,43
Sedentarismo	42 (12,92)	32 (14,28)	2 (9,09)	2 (4,08)
Dieta no saludable	40 (12,30)	23 (10,26)	0	2 (4,08)
<i>Tipo de cáncer</i>				
Cáncer de mama	192 (59,07)	181 (80,80)	14 (63,63)	17 (34,69)
Linfoma No-Hodgkin	55 (16,92)	22 (9,82)	3 (13,63)	15 (30,61)
Otros	78 (24)	21 (9,37)	5 (22,72)	17 (34,69)
<i>Tratamiento</i>				
Antraciclinas	285 (87,69)	209 (93,30)	19 (86,36)	38 (77,55)
Anticuerpos monoclonales	134 (41,23)	88 (39,28)	11 (50)	20 (40,81)
Anti-HER2	73 (22,46)	62 (27,67)	9 (40,90)	6 (12,24)
Inhibidores de la tirosina quinasa	2 (0,61)	4 (1,78)	1 (4,54)	3 (6,12)
Antimetabolitos	170 (52,30)	102 (45,53)	9 (40,90)	18 (36,73)
Agentes alquilantes	286 (88)	210 (93,75)	17 (77,27)	32 (65,30)
Antimicrotúbulos	268 (82,46)	211 (94,19)	17 (77,27)	30 (61,22)
Radiación	154 (47,38)	154 (68,75)	10 (45,45)	12 (24,48)

Los datos se expresan como media±desviación típica o número total y porcentaje entre paréntesis (%), respecto al total de cada categoría de la DCRTC.

3.3. SECUENCIACIÓN DEL EXOMA COMPLETO

La secuenciación del exoma completo (WES, por sus siglas en inglés) es un método que captura toda la secuencia de las regiones codificantes de proteína del genoma, denominadas exoma. Este método permite identificar variantes genéticas raras con una frecuencia del alelo menor (MAF, por sus siglas en inglés) inferior al 1%, que pueden tener un efecto grande sobre el fenotipo. La aplicación directa de la WES en la clínica no es sencilla por la dificultad para determinar si las variantes de significado incierto son relevantes para el fenotipo del paciente, y por los rasgos complejos, donde interaccionan múltiples factores genéticos y ambientales. Sin embargo, nos permite identificar nuevos genes subyacentes al fenotipo de interés ayudándonos a entender mejor los mecanismos que originan la enfermedad.

En este proyecto se secuenció el exoma completo de 49 pacientes con DCRTC severa con el objetivo de buscar variantes patogénicas que indiquen una predisposición genética a desarrollar cardiopatías familiares, y que puedan explicar la severidad de estos pacientes.

3.3.1. Procedimiento de la WES

La WES se realizó mediante la tecnología de secuenciación masiva en paralelo. El diseño del exoma que se utilizó fue KAPA_HyperExome de Roche, y se secuenció en la plataforma NovaSeq6000 de Illumina. Los datos de secuenciación se alinearon con el genoma humano de referencia GRCh37 (hg19). Para el *Variant calling* se emplearon distintas herramientas de acuerdo con el tipo de variante encontrada: GATK, para variantes de un solo nucleótido (SNV, por sus siglas en inglés); Pindel, para pequeñas inserciones o deleciones (INDEL), y ExomeDepth, para variaciones en el número de copias (CNV, por sus siglas en inglés). Las variantes se anotaron utilizando ANNOVAR (115) con bases de datos complementarias que incluyeron The Genome Aggregation Database (gnomAD), 1.000 Genome, The Exome Aggregation Consortium (ExAC), y dbSNP, entre otras. Además, se utilizaron herramientas como ClinVar, SIFT, MutationTaster, y Polyphen2 como predictores de patogenicidad.

El filtrado de las variantes se realizó con el paquete *dplyr* de R de acuerdo a las siguientes características:

- Ausentes o reportadas menos de 10 veces en la base de datos interna VardBrowser.
- Ubicadas en regiones codificantes o de splicing en un listado de 162 genes de cardiopatías familiares (Tabla anexa 1).
- $MAF < 0,4\%$ en la población general, de acuerdo con la prevalencia de las cardiopatías familiares.

Para revisar las variantes obtenidas tras el filtrado se empleó el visor genómico IGV (por sus siglas en inglés) (116), que se utilizó para la exploración visual de los datos genómicos. Una vez confirmadas, se procedió a su clasificación de acuerdo a las directrices de la guía de clasificación de variantes del Colegio Americano de Genética Médica y Genómica (ACMG, por sus siglas en inglés) (117,118), la guía de cardiopatías familiares (119), y las guías específicas para genes concretos (120,121).

3.4. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO

El estudio de la base genética de las enfermedades se ha centrado en gran medida en las regiones codificantes de proteínas del genoma (~2% del genoma). Sin embargo, se ha visto que una gran proporción del genoma no codificante de proteínas (98% restante del genoma) es funcional y alberga regiones reguladoras con variantes genéticas que contribuyen a la etiología de las enfermedades complejas. A diferencia de la WES, el GWAS generalmente implica el genotipado de variantes no codificantes ubicadas por todo el genoma preseleccionadas mediante arrays. Con esta técnica pretendemos obtener información sobre cómo la variabilidad genética común, generalmente con bajo efecto, genera una susceptibilidad genética a desarrollar DCRTC.

3.4.1. Genotipado e imputación

Las muestras se genotiparon en el Centro Nacional de Genotipado utilizando el array Axiom™ Spain Biobank, que contiene 757.836 marcadores (incluidas variantes de baja frecuencia observadas en la población española), siguiendo las instrucciones del fabricante (Axiom™ 2.0 Assay 96-Array Format Manual Workflow; ThermoFisher Scientific).

El control de calidad se realizó con PLINK, y en él se eliminaron las variantes con una tasa de genotipado menor al 98% y con una MAF inferior al 1%. Los individuos con más del 2% de genotipos ausentes también fueron excluidos. Posteriormente se realizó el cálculo de la identidad por descendencia (IBD, por sus siglas en inglés) y el análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés), para identificar posibles muestras emparentadas y evaluar la estratificación poblacional, respectivamente.

Los genotipos se imputaron utilizando minimac4 en el servidor de imputación Michigan (<https://imputationserver.sph.umich.edu>). Se utilizó 1.000 Genomes Phase 3 v5 como panel de referencia (GRCh37/hg19). El control de calidad posterior a la imputación implicó la exclusión de las variantes multialélicas e indels, así como aquellas con una baja puntuación de imputación.

3.4.2. Procedimiento del GWAS

El estudio se diseñó siguiendo dos enfoques: un análisis caso-control (280 casos con DCRTC leve, moderada, y severa, y 293 controles sin DCRTC); y un análisis de fenotipos extremos (46 casos con DCRTC severa y 293 controles sin DCRTC). El estudio de asociación se realizó mediante una regresión logística en PLINK 2.0 bajo un modelo aditivo con las covariables edad, sexo, y el componente principal 1 (PC1). Las variantes con un valor de probabilidad (valor P) $<5 \times 10^{-8}$ y $<1 \times 10^{-5}$ se consideraron significativas y sugestivas, respectivamente. El gráfico del Manhattan se realizó con el paquete qqman de R.

3.5. METAANÁLISIS

Una parte de las asociaciones iniciales de los GWAS no se replican en estudios posteriores. Las dificultades para obtener resultados sólidos y replicables en los estudios de asociación genética se deben a causas relacionadas con el diseño del estudio, el tamaño de muestra y potencia estadística, y a la variabilidad entre poblaciones. Para superar las limitaciones de los estudios individuales se requieren tamaños de muestra más grandes o metaanálisis. El metaanálisis es una herramienta estadística para combinar resultados de diferentes estudios sobre el mismo rasgo o enfermedad, aumentando así la solidez estadística y la precisión en la estimación del efecto. Esta técnica permite detectar efectos genéticos pequeños de los polimorfismos y proporcionar asociaciones genuinas.

En nuestro estudio, para aumentar el tamaño muestral e incrementar así el poder de detección de la asociación, metaanalizamos nuestra cohorte descubrimiento con 3 cohortes adicionales independientes.

3.5.1. Descripción de las cohortes

La primera cohorte añadida está formada por 1.191 pacientes con cáncer de mama HER2+ recogidos en los Estados Unidos e incluidos en el ensayo clínico N9831 del North Central Cancer Treatment Group (NCCTG). Estos pacientes fueron tratados con doxorrubicina, ciclofosfamida, paclitaxel, y trastuzumab. La cohorte N9831 siguió la definición de cardiotoxicidad según el artículo de Gómez-Peña sobre cardiotoxicidad de trastuzumab (122): “Disminución de al menos el 10% desde el inicio del tratamiento con una FEVI resultante de menos del 50% en el seguimiento; disminución del 15% con respecto a la FEVI inicial o cualquier disminución que resulte en una FEVI inferior al 45%; o manifestación clínica de insuficiencia cardíaca congestiva”. Para el fenotipo extremo, la definición que se siguió fue la siguiente: “Pacientes con eventos cardíacos, definidos como IC sintomática, muerte cardíaca definitiva (como resultado de infarto de miocardio, IC o arritmia)” (123). Brevemente, se excluyeron los individuos de origen hispano o africano y las muestras y SNPs que no pasaron el control de calidad. La regresión logística se ajustó por las covariables edad, FEVI inicial, medicamentos antihipertensivos, y los dos primeros componentes principales.

Las otras dos cohortes adicionales incluyeron 227 pacientes con cáncer de mama tratados con epirrubicina en el Hospital Universitario de Lovaina (Lovaina, Bélgica) y 52 pacientes con cáncer de mama tratados con doxorrubicina en el Hospital Clínico San Carlos (Madrid, España). Los pacientes de ambas cohortes fueron reclasificados según los criterios de cardiotoxicidad de la cohorte descubrimiento. En cuanto a la regresión logística, se ajustó para la dosis acumulada de antraciclinas. La información detallada sobre las cohortes está disponible en los artículos publicados previamente (124,125).

3.5.2. Procedimiento del metaanálisis

En total se incluyeron en el metaanálisis 2.043 individuos (625 casos y 1.418 controles) para el análisis caso-control, y 1.513 individuos (95 casos y 1.418 controles) para el análisis de fenotipos extremos. El metaanálisis se realizó con el programa METAL utilizando las estadísticas resumen completas de los 4 GWAS previamente descritos (126). Únicamente se tuvieron en cuenta para el análisis las variantes compartidas entre las cohortes.

El valor de la probabilidad y la dirección del efecto se ponderaron según el tamaño de cada cohorte. La heterogeneidad entre los estudios se evaluó con la prueba Q de Cochran y se excluyeron las variantes que mostraron heterogeneidad de efecto entre los conjuntos de datos. Se generó un gráfico cuantil-cuantil (QQ-plot) utilizando los valores de P observados y esperados. El factor de inflación genómica (λ) fue de 0,95 para el análisis caso-control y de 1,01 para el análisis de fenotipos extremos, lo que indicó que no había una estratificación poblacional significativa.

3.6. ANÁLISIS POST-GWAS

La mayoría de las asociaciones resultantes de los GWAS se encuentran en regiones no codificantes o intergénicas, por lo que resulta difícil identificar las posibles variantes causales. Normalmente las asociaciones abarcan un locus de riesgo genómico, con un SNP principal asociado con un mayor riesgo de enfermedad, y varias docenas de otros SNPs en desequilibrio de ligamiento (DL) con este, que también muestran un valor P bajo y que cubren múltiples genes ubicados próximos. Algunos de estos genes pueden ser relevantes para la enfermedad, mientras que otros no. Sin embargo, si se sabe que uno o varios de los SNPs tienen una consecuencia funcional (es decir, que alteran la expresión del gen, afectan a un sitio de unión, o dañan la estructura de la proteína) en uno de los genes en el área, pero no de los otros, entonces ese único gen tiene una mayor probabilidad de estar funcionalmente relacionado con la enfermedad. Identificar qué genes y cómo se ven afectados por los SNPs asociados con un rasgo es crucial para aumentar la comprensión de los mecanismos biológicos subyacentes a ese rasgo. El análisis posterior al GWAS facilitó la selección de las variantes causales más probables y permitió identificar genes funcionalmente relacionados con la DCRTC.

3.6.1. Caracterización de los loci de riesgo genómicos y anotación funcional

La anotación funcional se realizó con FUMA (127), una plataforma en línea para el mapeo funcional de variantes genéticas. En primer lugar, los SNPs con un valor de P sugestivo e independientes entre sí en $r^2 < 0,6$ y $r^2 < 0,1$ se identificaron como SNPs significativos independientes y SNPs principales, respectivamente. Todos los SNPs que tuvieron $r^2 \geq 0,6$ con uno de los SNPs significativos independientes se incluyeron para su posterior anotación (SNPs candidatos). Posteriormente, los loci de riesgo genómicos se definieron englobando SNPs significativos independientes que están ubicados < 250 kb entre sí.

Por lo tanto, cada locus de riesgo genómico puede contener múltiples SNPs significativos independientes y SNPs principales. La razón detrás de este enfoque es que el SNP más significativo en el locus no es necesariamente el SNP causal, sino que podría estar en DL con el SNP causal. Se utilizó la muestra europea de 1.000 Genomas como panel de referencia.

Las consecuencias funcionales sobre la función génica se anotaron con ANNOVAR (115) para cada SNP:

- Estima sobre el efecto deletéreo (CADD score, permite calificar el carácter nocivo de las SNVs y los INDELS en el genoma humano a partir de diversas características genómicas derivadas del contexto de la secuencia circundante, restricciones evolutivas, mediciones epigenéticas, y predicciones funcionales; valores $>12,37$ se consideran probablemente perjudiciales) (128).
- Información reguladora potencial, como regiones promotoras o *enhancers* (RegulomeDB score, identifica elementos reguladores en regiones no codificantes del genoma humano a partir de datos experimentales de ENCODE y predicciones computacionales; valores <3 indican mayor probabilidad de tener una función reguladora) (129).
- Efecto sobre la expresión génica utilizando eQTLs (variantes genéticas que contribuyen a la variación en los niveles de expresión génica) del proyecto de expresión genotipo-tejido (GTEx, <https://www.gtexportal.org/home/>) (130).
- Papel que juega en los sitios de interacción de la cromatina por medio de los datos Hi-C (método para capturar la conformación cromosómica; cuantifica el número de interacciones entre loci genómicos que están ubicados estrechamente en el espacio tridimensional).

3.6.2. Mapeo de genes

Los SNPs con anotación funcional se asignaron a los genes mediante tres estrategias:

- Mapeo por posición: utiliza las distancias físicas (dentro de un rango de 20 Kb) de los genes codificantes de proteínas conocidos en el ensamblaje de referencia humano (GRCh37). Se utilizaron los SNPs con un CADD score $>12,37$ y un RDB score <3 para priorizar los SNPs que probablemente tengan un efecto deletéreo o que afecten a los elementos reguladores, respectivamente.

- Mapeo por eQTL: utiliza información del tejido cardíaco del proyecto GTEx v7 para mapear SNPs a genes hasta 1Mb de distancia (cis-eQTL) en función de la asociación significativa de un eQTL ($FDR < 1 \times 10^{-5}$), lo que indicaría que la expresión de ese gen se ve afectada por la variación alélica en el SNP.
- Mapeo por interacción de la cromatina: asigna los SNPs a los genes basándose en una interacción significativa de la cromatina entre una región genómica en un locus de riesgo y regiones promotoras o enhancer de los genes, utilizando datos Hi-C de tejido cardíaco. Este tipo de mapeo no tiene un límite de distancia y, por lo tanto, puede implicar interacciones de largo alcance. De manera similar al mapeo por eQTL, utilizamos un umbral de $FDR < 1 \times 10^{-5}$ para definir interacciones significativas.

Las tres estrategias de mapeo dieron como resultado un conjunto de genes priorizados. Tanto el mapeo por eQTL como por interacción de la cromatina pueden conducir a genes priorizados que no necesariamente están ubicados dentro de un locus de riesgo genómico, aunque están vinculados a SNPs dentro de él. La combinación de los tres métodos puede revelar múltiples líneas de evidencia que apuntan hacia los mismos genes, permitiendo priorizar los genes que probablemente estén involucrados en la DCRTC.

3.7. CÁLCULO DE LA ESTIMA DE RIESGO POLIGÉNICO

En cardio-oncología aún no se ha determinado una estima de riesgo fiable y eficaz capaz de predecir la DCRTC, y las directrices se basan principalmente en la experiencia clínica. Se ha demostrado que los algoritmos de predicción de enfermedades que tienen en cuenta conjuntamente los efectos de los factores de riesgo clínicos y genéticos logran un poder predictivo sustancialmente mayor que aquellos que consideran únicamente los factores de riesgo clínicos. Los GWAS realizados hasta el momento han identificado numerosas variantes genéticas asociadas a la DCRTC, pero la mayoría tienen un efecto pequeño, lo que significa que tienen un poder predictivo limitado. Esto se puede resolver evaluando el efecto de todas las variantes en el genoma simultáneamente, con técnicas estadísticas como los PRS, que permiten predecir la enfermedad basándose en el perfil genético individual. En el enfoque estándar, los PRS se calculan con la suma de los alelos de riesgo correspondientes a un fenotipo de interés en cada individuo ponderados por la estimación del tamaño del efecto del GWAS.

El principal reto de la cardio-oncología es predecir y/o prevenir las consecuencias cardíacas más graves de la terapia contra el cáncer, que suelen presentarse como IC y que pueden provocar la suspensión del tratamiento oncológico y/o la muerte del paciente. En un estudio reciente realizado a escala nacional, Banke y col. demostraron la importancia de la predisposición genética/familiar a la IC en relación con el riesgo de cardiotoxicidad relacionada con las antraciclinas (131). En base a ello realizamos un PRS para predecir el riesgo de IC en la cohorte CARDIOTOX.

3.7.1. Procedimiento del PRS

El PRS se calculó con PRS-CS, que es un método de predicción poligénica bayesiana (132). Infiere el tamaño del efecto utilizando las estadísticas resumen del GWAS junto con un panel externo de DL. En este proyecto utilizamos la muestra europea del Proyecto 1.000 Genomas como panel de referencia de DL, y la estadística resumen del GWAS-metaanálisis de IC realizado por Shah S. y col. (133), que fue obtenida del GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>). Este GWAS comprende 47.309 casos de IC y 930.014 controles, y un total de 6.274.408 SNPs que se utilizaron para construir un PRS que luego validamos en la cohorte CARDIOTOX. El perfil poligénico de cada individuo se calculó sumando el número de alelos de riesgo multiplicado por el tamaño del efecto inferido de cada SNP. El PRS se estandarizó a una distribución normal, lo que permitió aplicarlo en modelos de regresión como una variable continua y crear categorías para comparar el riesgo. Para evaluar el riesgo entre los individuos se compararon los individuos en el decil superior (90-100% del PRS) con la categoría intermedia 10-90% del PRS (grupo de referencia). Se consideró una categoría intermedia como grupo de referencia porque comparar el grupo superior con el inferior puede generar resultados sobreestimados y, además, la mayor parte de la población aparece representada en la categoría intermedia, por lo que se puede evaluar mejor si el modelo discrimina el riesgo de IC. Después de construir el PRS evaluamos el rendimiento de la predicción en la cohorte CARDIOTOX a través de una regresión logística. Se comparó el modelo únicamente con las covariables epidemiológicas y clínicas (sexo, edad, PC1, antecedentes cardiovasculares, hipertensión, tabaquismo, e índice de masa corporal (IMC)) y con las covariables epidemiológicas y clínicas más el PRS. Para evaluar la bondad de ajuste del modelo se calculó el R^2 de Nagelkerke.

El rendimiento predictivo del PRS se evaluó utilizando métricas como el área bajo la curva ROC, generalmente abreviada como AUC (por sus siglas en inglés), que se realizó con el paquete pROC de R. Además, también se evaluaron los odds ratio (OR) entre los cuantiles del PRS. Tras examinar las distintas métricas se pudo ver si el PRS discriminó bien entre los grupos y seleccionar así el modelo óptimo en función de la mayor precisión de predicción en la cohorte CARDIOTOX.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. VARIANTES DE RIESGO PARA CARDIOPATÍAS FAMILIARES EN INDIVIDUOS CON DCRTC SEVERA

En referencia a la calidad de la secuenciación, la región codificante del conjunto de los genes del exoma presentó una profundidad de lectura media de 218X y una cobertura de análisis media del 99,02% sobre los 18.940 genes analizados. La región codificante de los genes incluidos en el panel virtual presentó una profundidad de lectura media de 221X y una cobertura de análisis del 100%, excepto TNXB, cuya cobertura se situó cerca del 90%.

La priorización de variantes de la WES identificó una variante patogénica (P) o probablemente patogénica (LP) en genes asociados a cardiopatías en 7 de los pacientes (14,28%) (Tabla 6). De las variantes encontradas, 4 de ellas (57,14%) aparecen en genes asociados a MCD: 3 en la TTN (42,85%) y 1 en DMD. Las variantes restantes aparecen en genes asociados a otras cardiopatías, aunque también pueden ocasionar MCD (Figura 5). Parece relevante señalar que el 85,7% de las variantes encontradas aparecieron en hombres, pese a haber menor proporción en la cohorte.

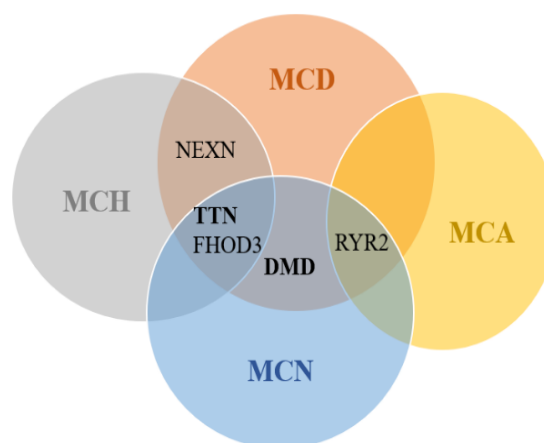


Figura 5. Tipo de miocardiopatía asociada a los genes identificados. Se marcan en **negrita** los genes prioritarios de MCD. MCD, miocardiopatía dilatada; MCH, miocardiopatía hipertrófica; MCA, miocardiopatía arritmogénica, MCN, miocardiopatía no compactada.

Tabla 6. Variantes P/LP encontradas en los pacientes con DCRTC severa. Se muestran las características clínicas de los pacientes portadores de una variante P/LP.

Paciente	Sexo	Antecedentes CV	Tipo de cáncer	DCRTC	Tratamiento	Variante	Clasificación ACMG
1	F	-	sarcoma	DSVI	AC, AA, AM	RYR2: c.9924_9927delTAAA	LP (PVS1,PM2)
2	M	Arritmias	LNH	IC	AC	TTN: c.95582_95583delAT	LP (PVS1,PM2)
3	M	-	LNH	IC	AC, AA, AM	NEXN: c.524delC	LP (PVS1,PM2)
4	M	-	LH	IC	AC, AA, AM	FHOD3: c.4738C>T	LP (PVS1,PM2)
5	M	-	LH	IC	AC, AA, AM	TTN: c.63611dupC	LP (PVS1,PM2)
6	M	-	LAM	IC	AC, AM	TTN: c.59495dupG	LP (PVS1,PM2)
7	M	Enfermedad isquémica	sarcoma	IC	AC, AA, AM	DMD: c.1812+1G>A	P (PVS1,PM2,PS4)

CV, cardiovascular; F, femenino; M, masculino; LNH, linfoma no-hodgkin; LH, linfoma de hodgkin; LAM, leucemia aguda mieloblástica; DSVI, disfunción sistólica del ventrículo izquierdo; IC, insuficiencia cardíaca; AC, antraciclina, AA, agentes alquilantes; AM, antimicrotúbulos.

4.2. NUEVOS LOCI DE RIESGO PARA LA DCRTC

4.2.1. GWAS descubrimiento

Después del control de calidad quedaron para el análisis 573 individuos (280 casos y 293 controles) y 8.587.996 SNPs en los cromosomas 1-22. Los resultados no mostraron ningún loci que superara la significación convencional para todo el genoma ($P \leq 5 \times 10^{-8}$) en ninguno de los análisis, pero 8 loci para el análisis caso-control y 22 loci para análisis de fenotipos extremos superaron la significación sugestiva ($P \leq 1 \times 10^{-5}$). En el análisis caso-control, las dos asociaciones más fuertes con la DCRTC se produjeron cerca del gen EML2 en el locus 19q13.32 (rs12463090, $P=5,26 \times 10^{-7}$), y cerca del gen MTUS2 en el locus 13q12.3 (rs35858036, $P=5,85 \times 10^{-7}$). En el análisis de fenotipos extremos, a pesar de tener 22 loci sugestivos, las señales fueron menos robustas, probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra. La señal más alta en este análisis se encontró en LOC339166 en el locus 17p13.2 (rs7208927, $P=2,06 \times 10^{-6}$).

La guía de cardio-oncología de la ESC describe 5 variantes genéticas que potencian la DCRTC (CELF4 rs1786814; RARG rs2229774; SLC28A3 rs7853758; UGT1A6 rs17863783; y una variante intergénica, rs28714259). Comprobamos estas variantes en nuestra cohorte y únicamente la variante intergénica rs28714259 mostró indicios de asociación sugestiva ($P=1,17 \times 10^{-3}$, en el análisis caso-control). Esto puede deberse a que el resto de las variantes fueron descritas en población pediátrica.

4.2.2. Metaanálisis

Para mejorar el poder del descubrimiento genético metaanalizamos las estadísticas resumen de nuestro GWAS descubrimiento con las estadísticas resumen de tres cohortes adicionales. En el metaanálisis caso-control, el locus 3q28 mostró la relación más fuerte con DCRTC (rs6765460, $P=1,89 \times 10^{-7}$). En el análisis de fenotipos extremos, al igual que sucedió en el GWAS descubrimiento, las señales fueron más débiles, probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra (Figura 6A).

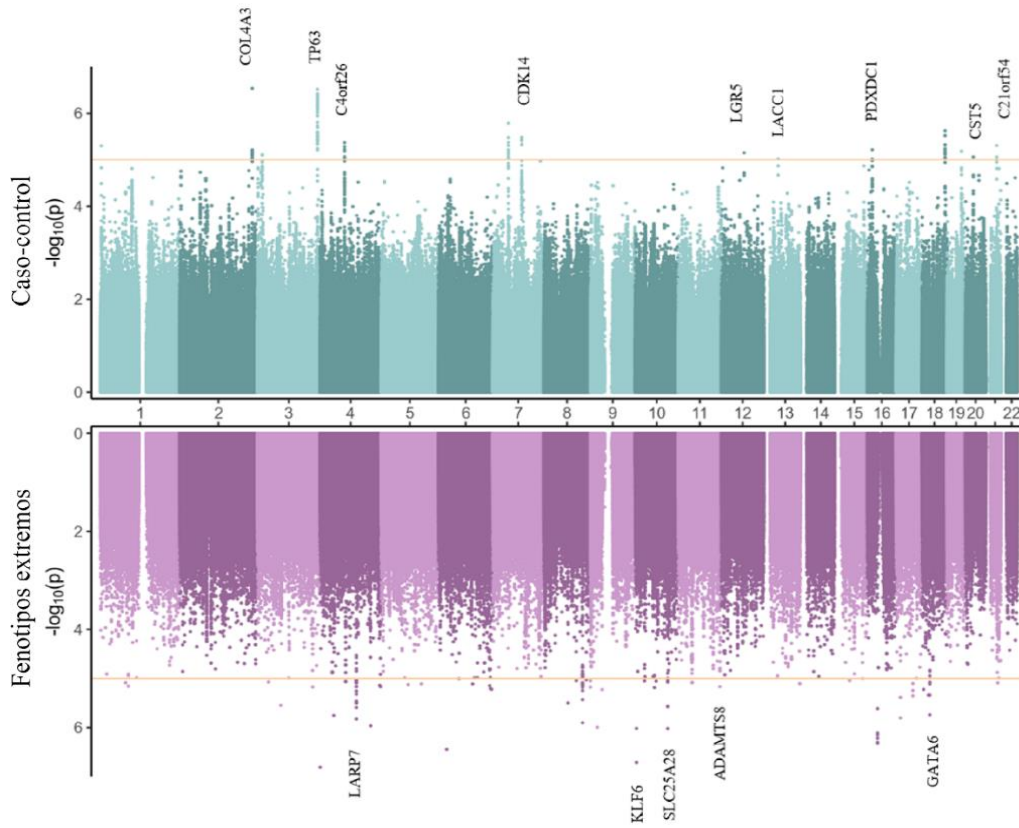
La principal asociación del GWAS descubrimiento fue validada en el metaanálisis. El polimorfismo rs12463090 alcanzó una $P=1,90 \times 10^{-5}$ y otras variantes en el mismo locus, como el rs4803842, alcanzaron la $P=3,93 \times 10^{-6}$, lo que parece confirmar la posible implicación de este locus en el desarrollo de la DCRTC. La segunda señal más significativa (rs35858036) sin embargo, disminuyó considerablemente la probabilidad ($P=5,53 \times 10^{-4}$), aunque todavía se mantiene en umbrales cercanos a la significación sugestiva.

En el metaanálisis también comprobamos las variantes descritas en la guía de cardio-oncología y, en consonancia con el GWAS descubrimiento, la variante intergénica rs28714259 fue la que obtuvo una probabilidad más alta ($P=3,2 \times 10^{-2}$), en el análisis caso-control. En el análisis de fenotipos extremos, RARG rs2229774 logró una $P=5,24 \times 10^{-2}$. Esta señal no se mostró en el GWAS descubrimiento probablemente debido a una potencia estadística insuficiente debido al bajo tamaño de la muestra.

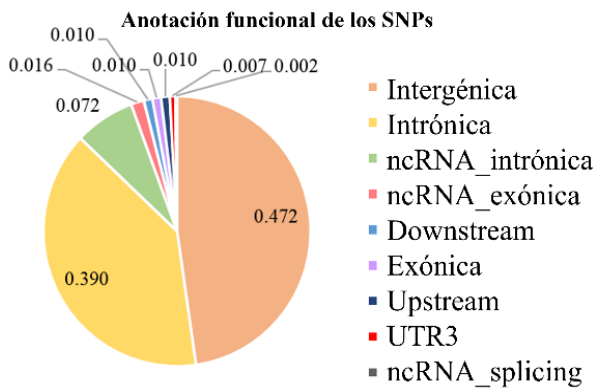
4.2.3. Anotación funcional de las variantes de riesgo

Identificamos 14 SNPs principales y 580 SNPs candidatos en 14 loci de riesgo genómicos en el análisis caso-control. De todos los SNPs principales, 6 estaban en regiones intergénicas, 6 en regiones intrónicas, y 2 eran ARN no codificante (ARNnc). De los 580 SNPs en DL con uno de los SNPs significativos independientes, la mayoría fueron intergénicos (274; 47,2%) o intrónicos (226; 39%), y 6 (1%) fueron exónicos (Figura 6B). De esos 6 SNPs exónicos, 3 fueron no sinónimos, y dos de ellos (rs1135999 y rs14347) estaban ubicados en PDXDC1: NTAN1 (Tabla 7). El rs1135999, en alto DL con el SNP líder en esa región ($r^2=0,96$), tuvo el CADD score más alto (CADD score=22,7) en el metaanálisis, lo que respalda su efecto deletéreo. Además, se predijeron funciones reguladoras (RDB score <3) en otros 5 SNPs (Figura 6C). Dos de ellos ubicados también en PDXDC1 y con un RDB score de 1, lo que indica que probablemente están vinculados a la expresión del gen.

A



B



C

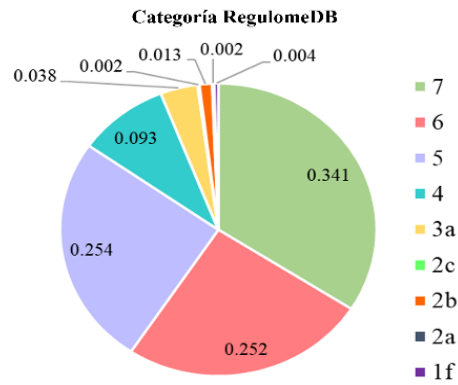


Figura 6. Exploración visual de los resultados del metaanálisis. A) Miami-plot que muestra los valores P para el metaanálisis caso-control (arriba) y de fenotipos extremos (abajo). Se nombra el gen mapeado en cada locus. La línea horizontal rosa indica el umbral de significación sugestiva $-\log_{10}(1 \times 10^{-5})$. B) Gráficos circulares que muestran la distribución de las consecuencias funcionales de los SNPs que superaron la significación sugestiva en el metaanálisis caso-control. C) Distribución del RDB score (una puntuación baja indica una mayor probabilidad de que un SNP tenga funciones reguladoras).

Tabla 7. Variantes potencialmente deletéreas o con función reguladora en los loci de riesgo genómicos asociados a la DCRTC, en DL ($r^2 > 0,6$) con uno de los SNPs independientes significativos del metaanálisis.

rsID	A1	P	BETA	r^2	IndSigSNP	Locus	Gen	Región	CADD	RDB	
rs1551202	T	$3,04 \times 10^{-6}$	0,458	0,95	rs6765460	4	TP63	intergénica	13,15	3a	Caso-control
rs6770785	A	$1,90 \times 10^{-6}$	-0,469	0,96	rs6765460	4	TP63	intergénica	2,612	2b	
rs561543702	A	$6,74 \times 10^{-3}$	0,350	0,87	rs11931530	5	C4orf26	intrónica	15,09		
rs34967126	A	$2,21 \times 10^{-3}$	0,314	0,76	rs6943725	6	ABCA13	intrónica	1,645	2b	
rs17623223	T	$8,13 \times 10^{-5}$	-0,522	0,92	rs6955446	7	CDK14	intrónica	18,32	6	
rs55770014	T	$2,03 \times 10^{-5}$	0,732	0,99	rs73138527	8	LGR5	intrónica	13,76	6	
rs9533817	A	$9,19 \times 10^{-6}$	-0,368	1	rs9533816	9	SERP2	intergénica	7,497	2a	
rs1135999	A	$3,32 \times 10^{-2}$	-0,399	0,96	rs72789541	10	PDXDC1:NTAN1	exónica	22,7	5	
rs14347	T	$2,76 \times 10^{-5}$	-0,347	0,96	rs72789541	10	PDXDC1:NTAN1	exónica	16,16	7	
rs3803573	T	$4,96 \times 10^{-5}$	0,336	0,94	rs72789541	10	PDXDC1:NTAN1	intrónica	0,479	1f	
rs4500751	T	$1,06 \times 10^{-4}$	0,317	0,89	rs72789541	10	PDXDC1:NTAN1	intrónica	0,28	1f	
rs12649746	T	$1,07 \times 10^{-5}$	1,072	0,95	rs146981049	9	NEUROG2	intergénica	13,16	5	Fenotipos extremos
rs79448409	T	$3,89 \times 10^{-5}$	1,519	0,71	rs118117193	20	PDE10A	intrónica	3,543	2c	
rs149470265	A	$2,85 \times 10^{-4}$	1,412	0,87	rs118117193	20	PDE10A	intergénica	1,436	2c	
rs3802528	T	$8,02 \times 10^{-5}$	-1,651	0,73	rs4919427	32	ERLIN1	UTR3	12,96	4	
rs12269345	T	$9,39 \times 10^{-6}$	2,028	0,78	rs4919427	32	CWF19L1	exónica	20,4	6	
rs1324694	T	$1,90 \times 10^{-4}$	1,553	0,78	rs4919427	32	ERLIN1	UTR5	12,83	4	
rs12260153	T	$1,90 \times 10^{-4}$	-1,553	0,78	rs4919427	32	CHUK	intrónica	12,69	7	
rs149421702	G	$6,26 \times 10^{-4}$	1,676	0,81	rs4919427	32	ERLIN1	intrónica	14,53		

Los valores de P y BETA de los SNPs fueron obtenidos por METAL. rsID, rs número del SNP; A1, alelo de efecto; MAF, frecuencia del alelo menor; r^2 , r^2 máximo del SNP con un SNP independiente significativo; IndSigSNP, SNP independiente significativo; Locus, índice del loci de riesgo genómico; CADD, CADD score, RDB, RegulomeDB score. Se predice que las variantes con CADD scores de 20 o mayor están entre el 1% de las sustituciones posiblemente más deletéreas del genoma. RDB con categoría 1 indica que es probable que afecte al sitio de unión y está ligado a la expresión del gen diana, y categoría 2 indica que probablemente afecta al sitio de unión.

4.2.4. La priorización de genes señaló nuevos genes probablemente involucrados en la DCRTC

Primero se realizó un mapeo posicional y un mapeo por eQTLs que identificó 12 genes (7 genes por posición y 5 genes por eQTL). Dos genes (*PDXDC1* y *RRN3*, 16p13.11) fueron detectados por ambos métodos. Posteriormente se realizó un mapeo por interacción de la cromatina que priorizó 48 genes, de los cuales 6 (*COL4A3*, 2q36.3; *CDK14*, 7q21.13; *TSPAN8* y *LGR5*, 12q21.1; *PDXDC1* y *NTAN1*, 16p13.11) se superpusieron con los genes priorizados por mapeo de posición y/o eQTL. Esto dio como resultado un total de 51 nuevos genes candidatos priorizados al combinar las tres estrategias de mapeo, la mayoría ubicados físicamente fuera de los loci de riesgo genómicos. De los 51 genes priorizados únicamente el gen *PDXDC1*, ubicado en el locus 16p13.11, fue mapeado por los 3 métodos (Figura 7), lo que respalda fuertemente la hipótesis de que este gen está involucrado en la DCRTC.

Por otro lado, la señal de asociación del metaanálisis más fuerte para la DCRTC fue en el locus 3q28, donde se priorizaron siete genes, únicamente mediante mapeo por la interacción de la cromatina: *KNG1*, *MASP1*, *RTP2*, *TP63*, *LEPREL1*, *CLDN1* y *TMEM207*. En resumen, de los 14 loci de riesgo genómicos, FUMA priorizó al menos un gen causal potencial en 11 de ellos (Tabla anexa 2).

En el análisis de fenotipos extremos se identificaron 19 genes: 3 por mapeo posicional (*ERLIN1*, *CHUK*, *CWF19L1*), 5 por mapeo de eQTL (*C4orf21*, *LARP7*, *CHST9*, *HIST1H4E*, *BTN3A2*), y 11 por mapeo de interacción de la cromatina (*PRDM8*, *C4orf22*, *BMP3*, *ZFYVE27*, *SLC25A28*, *ADAMTS8*, *ADAMTS15*, *PITRM1*, *KLF6*, *FAM208B* y *GATA6*). No se detectó ningún gen mediante más de un método (Tabla anexa 3). La variante con mayor puntuación CADD en este análisis fue el rs12269345 (CADD score=20,4), detectada en el gen *CWF19L1* (Tabla 6).

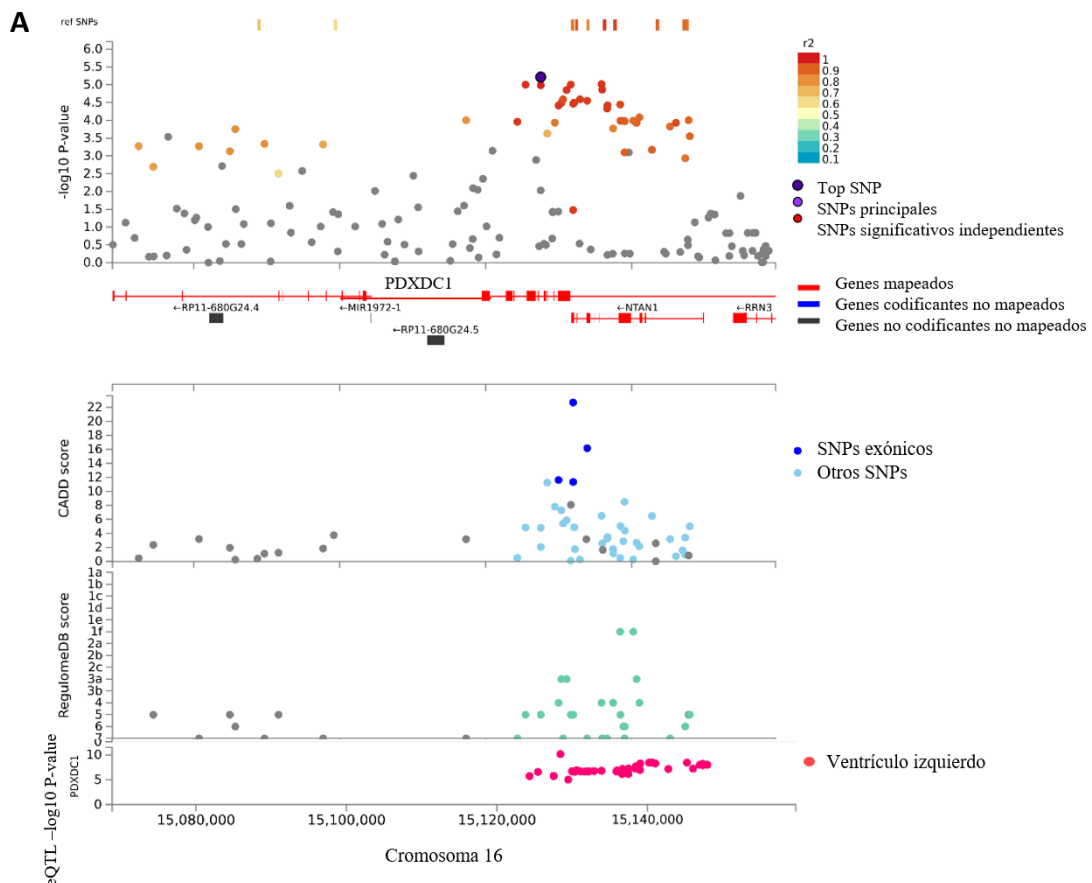


Figura 7. Gráfico regional e interacciones de la cromatina del locus 16p13.11 del metaanálisis. A) Ampliación del gráfico regional del locus de PDXDC1, que incluye los también genes priorizados RRN3, NPIPA1 y NPIPA5. Los genes priorizados por FUMA están resaltados en rojo. En los gráficos del CADD score, RegulomeDB score, y el de eQTL, los SNPs que no están asignados a ningún gen están coloreados en gris.

B

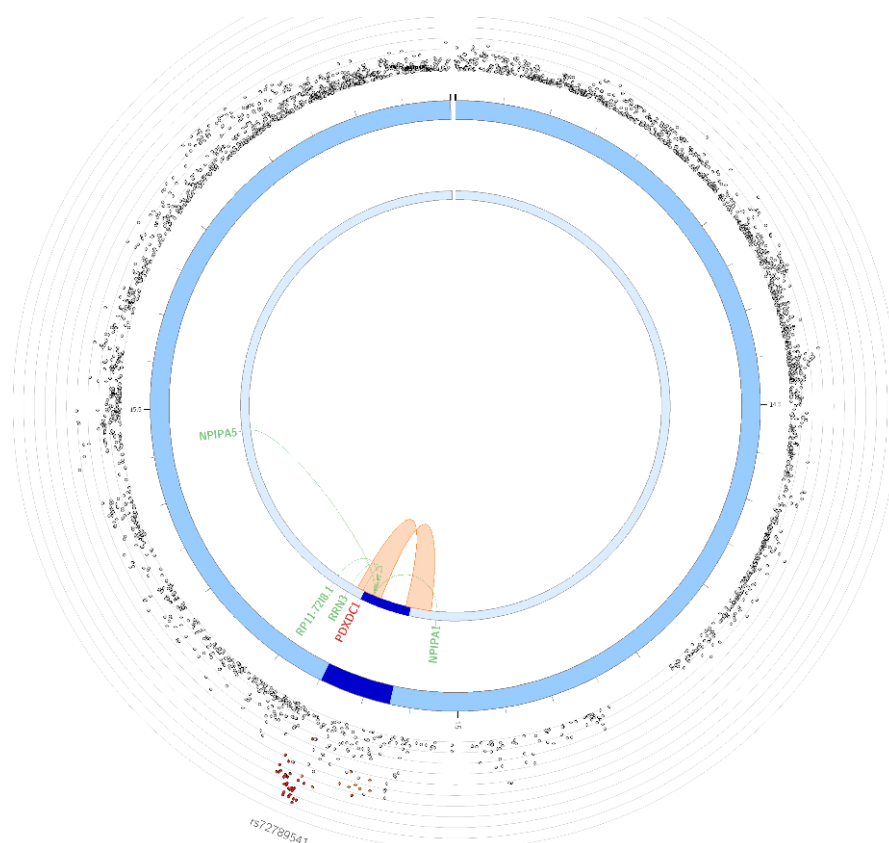


Figura 7. Gráfico regional e interacciones de la cromatina del locus 16p13.11 del metaanálisis (Continuación).
 B) Gráfico circular que muestra los genes en el cromosoma 16 que fueron identificados en el locus de riesgo genómico (área azul oscuro) mediante mapeo posicional, mapeo por interacción de la cromatina (área naranja), mapeo por eQTL (color verde) o mediante interacción de cromatina y mapeo eQTL (color rojo). La capa exterior muestra un Manhattan-plot que contiene la P transformada $-\log_{10}$ de cada SNP en el metaanálisis. Las regiones vacías en la capa del Manhattan-plot indican regiones donde no se ubicaron SNPs con $P < 0,05$.

4.3. RIESGO DE INSUFICIENCIA CARDÍACA

Para predecir el riesgo de IC en la cohorte CARDIOTOX calculamos un PRS de IC (IC-PRS) utilizando PRS-CS. Los individuos en el decil superior (90-100% del PRS) mostraron un riesgo medio 2,24 veces mayor de desarrollar IC comparado con el grupo de referencia [OR: 2,24 (1,08-4,62); $P=0,029$], y algunos individuos llegaron a alcanzar un riesgo 4,62 veces mayor, lo que apunta a un riesgo creciente de IC con valores crecientes del PRS. Sin embargo, el análisis de regresión logística realizado para evaluar la asociación del IC-PRS en nuestra cohorte no mostró asociación significativa (Figura 8A).

El modelo de regresión logística con las covariables clínicas (edad, sexo, PC1, tabaco, IMC, hipertensión, y antecedentes cardiovasculares) mostró una pseudo-R² de Nagelkerke=11,18%. La adición del PRS a este modelo mejoró modestamente el poder predictivo (incremento de pseudo-R² de Nagelkerke=0,73%, (P=0,17). Las curvas ROC mostraron resultados similares. La discriminación del modelo aumentó de forma no significativa hasta un AUC=0,766 con la adición del PRS (Figura 8B).

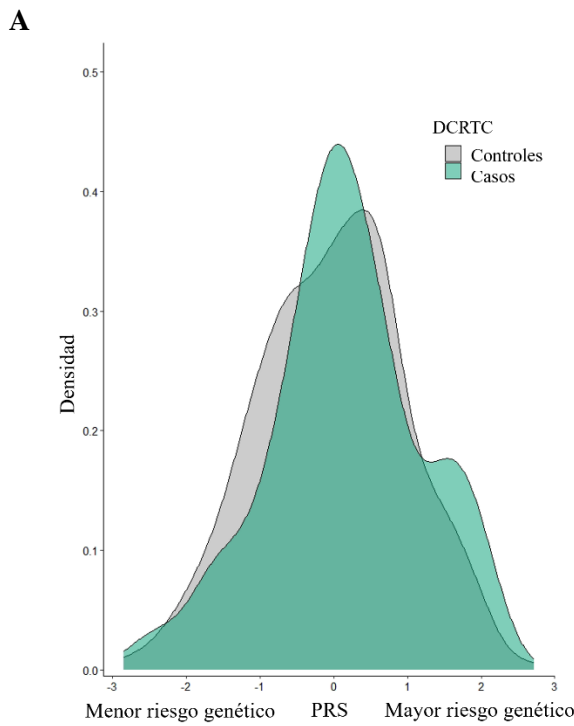
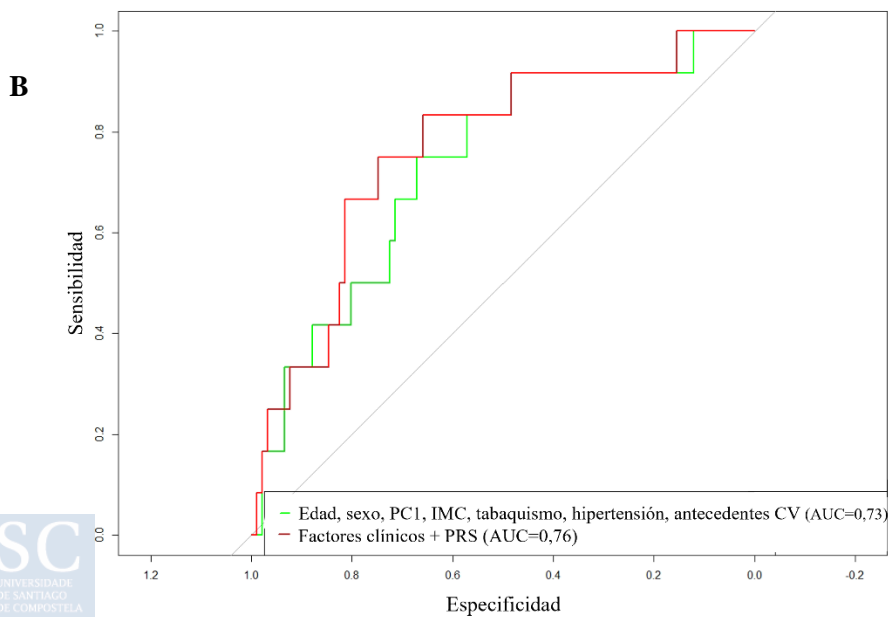


Figura 8. Evaluación del poder de discriminación del IC-PRS. A) Distribución del PRS en casos y controles de DCRTC. B) Comparación de las curvas ROC para la predicción de IC, únicamente con los factores clínicos y epidemiológicos, y con la adición del PRS.



DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. PREDISPOSICIÓN GENÉTICA A CARDIOPATÍAS EN PACIENTES CON CÁNCER

Nuestro estudio mostró que el 14,28% de los pacientes que desarrollaron disfunción ventricular severa o IC tras la quimioterapia presentaban una predisposición genética a cardiopatías familiares, sin diagnosticar previamente. Esto parece sugerir que las variantes genéticas asociadas a las cardiopatías aumentan el riesgo de eventos cardíacos severos en los pacientes con cáncer. Concretamente, se demostró una mayor prevalencia de variantes genéticas raras asociadas a MCD, principalmente en el gen de la *TTN*, lo que concuerda con el artículo de García-Pavia y col. (96). Además de la *TTN* encontramos variantes patogénicas en otros cuatro genes que pueden causar MCD. Los genes *NEXN* y *FHOD3* codifican proteínas sarcoméricas cuya modificación altera la organización de los sarcómeros y la contractilidad de los cardiomiocitos, y recientemente también se han asociado a MCH (134,135). Por otro lado, el gen *DMD* codifica la proteína citoesquelética distrofina, cuya alteración causa una forma grave de MCD asociada con altas tasas de insuficiencia cardíaca, trasplante de corazón, y arritmias ventriculares (136). Por último, el gen *RYR2* es un regulador esencial del acoplamiento de excitación-contracción cardíaca y de la homeostasis del calcio intracelular. Variantes en este gen se asocian principalmente con muerte súbita y enfermedades arritmogénicas, aunque también se han observado casos de MCD (137,138). Todas estas cardiopatías presentan un modelo de herencia autosómica dominante.

Muchas variantes genéticas en la MCD exhiben penetrancia incompleta, es decir, no todos los individuos que portan la variante genética desarrollan la enfermedad (139). Esto sugiere que otros factores, incluyendo los ambientales, también estarían jugando un papel importante en el desarrollo de la MCD. Nuestro estudio parece evidenciar esta interacción gen-ambiente, donde un factor ambiental, la terapia contra el cáncer, podría modular el desarrollo

de una MCD de inicio temprano y/o grave en el contexto de una predisposición genética para la enfermedad. Nuestro estudio refuerza la evidencia existente de que la predisposición genética/familiar a la MCD parece ser un factor de riesgo para la DCRTC. En términos prácticos, se recomienda hacer una evaluación cuidadosa de los antecedentes familiares de miocardiopatías antes de tratar a un paciente de cáncer con agentes cardiotóxicos. Con nuestros hallazgos demostramos que la genética es un componente importante en la susceptibilidad de la DCRTC y en los efectos adversos graves en diferentes tipos de cáncer y regímenes de tratamiento.

Los estudios epidemiológicos muestran una mayor prevalencia de MCD en hombres. En nuestro estudio se observó un incremento del porcentaje de hombres acorde al incremento de la severidad de la DCRTC, especialmente si tenemos en cuenta los portadores de una variante asociada a cardiopatía. Esto concuerda con estudios previos, donde señalan que el estado menopáusico y la edad de los pacientes parecen ser determinantes clave de las diferencias específicas del sexo en la cardiotoxicidad inducida por antraciclinas, observándose un mayor riesgo para las mujeres prepuberales, un mayor riesgo para los hombres adultos, y un riesgo similar para los hombres mayores y las mujeres posmenopáusicas (140). Diversos estudios explican estas diferencias basándose en los efectos cardioprotectores de los estrógenos (141,142).

5.2. NUEVOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS EN LA DCRTC

Las extensas anotaciones funcionales y el mapeo de genes revelaron hasta 70 nuevos genes candidatos involucrados en múltiples pasos de la fisiopatología de la DCRTC, y evidenciaron la relación entre la enfermedad cardiovascular y el cáncer.

5.2.1. Estrés oxidativo y disfunción mitocondrial

Tal como se describió previamente, la terapia contra el cáncer provoca estrés oxidativo mediante la generación de roturas de la doble cadena del ADN y la formación de ROS, lo que conduce a la disfunción de las mitocondrias y la muerte celular. Las mitocondrias son orgánulos claves para el mantenimiento de la homeostasis del tejido cardíaco, y varios estudios las respaldan como determinantes importantes de los efectos cardiotóxicos desencadenados por los agentes quimioterapéuticos. Nuestro estudio reveló hasta siete genes asociados a la DCRTC implicados en diferentes procesos mitocondriales como la fisión (*MFF*) (143), la maquinaria

de transcripción (*MTERF*) (144,145), el metabolismo del hierro (*SLC25A28* y *STEAP4*) (146,147), la biogénesis (*LARP7*, *GTPB10*) (148,149), y el sistema de control de calidad (*PITRM1*) (150) de las mitocondrias. Las proteínas codificadas por estos genes son cruciales para mantener una función adecuada de las mitocondrias. Concretamente se ha demostrado que la regulación negativa de los genes *MFF*, *STEAP4* y *LARP7* contribuye a la patogénesis de la MCD (143,151–153) e IC (148). Además, también identificamos el gen *KNG1*, recientemente asociado con cardiotoxicidad por Cheng y col. (154), quienes demostraron que la sobreexpresión de *KNG1* agrava la disfunción mitocondrial en la lesión cardíaca por doxorubicina.

Recientemente, Toyama y col. demostraron que *GATA6* está regulado por *BMP10* y actúa como un factor de transcripción para regular las enzimas antioxidantes. Su deficiencia induce estrés oxidativo y disfunción mitocondrial en la hipertensión arterial pulmonar (155). En nuestro estudio encontramos una asociación sugestiva del gen *GATA6* y *BMP3* (de la misma familia que *BMP10*) con la DCRTC severa, por lo que se podría plantear la hipótesis de un mecanismo similar en individuos con IC. *GATA6* también se ha relacionado con la regulación de la hipertrofia cardíaca y con la diferenciación de células marcapasos y la conducción cardíaca (156–158).

Por otro lado, la superfamilia de transportadores de solutos está formada por transportadores que pueden contribuir a la absorción y eliminación de una amplia gama de fármacos. Entre estos transportadores, el grupo SLC25 facilita el transporte de solutos a través de la membrana mitocondrial interna (159). En nuestro estudio encontramos una nueva asociación potencial del gen *SLC25A28* (también conocido como mitoferrina-2) con la DCRTC severa. Este transportador es responsable de la importación de hierro a la matriz mitocondrial (159). La interrupción de este proceso puede provocar una sobrecarga de hierro mitocondrial, lo que promueve la producción de ROS. Estos hallazgos son consistentes con artículos anteriores donde describen la sobrecarga de hierro mitocondrial y la ferroptosis en la cardiotoxicidad por antraciclinas (46,160–163). Otros miembros de esta superfamilia, como *SLC28A3* (82,83), *SLC22A3* (164), y *SLC22A17* (82), se han descrito previamente modulando la susceptibilidad a la cardiotoxicidad inducida por antraciclinas.

La señal más fuerte en el metaanálisis se encontró en una región intergénica cerca del gen *TP63*, un miembro de la familia de factores de transcripción p53. Varios estudios han señalado que p53 previene la cardiotoxicidad de la doxorubicina debido a su efecto protector sobre el genoma mitocondrial, independientemente de su actividad supresora de tumores prototípica (165–167). Además, *TP63* también se asoció con la diferenciación de los fibroblastos cardíacos en cardiomiocitos (168,169).

5.2.2. Muerte celular

La terapia contra el cáncer también induce las vías de muerte celular en los cardiomiocitos (51,170). La vía de señalización Wnt/ β -catenina es crucial para muchos procesos de desarrollo, incluido el desarrollo del corazón, la apoptosis, la proliferación, la migración, y la diferenciación celular (171–173). Hallazgos recientes mostraron que esta vía se inhibe durante la cardiotoxicidad por doxorubicina (174–176). En relación con esto, encontramos tres genes asociados a la DCRTC que interactúan con la vía Wnt/ β -catenina: *FZD1*, *LGR5*, y *CDK14*. Los genes *LGR5* y *CDK14* regulan la proliferación, migración e invasión celular, y *FZD1* media la quimiorresistencia en el cáncer, ambos a través de la vía Wnt/ β -catenina (177–179).

La apoptosis y la atrofia de los miocitos pueden provocar una reducción de la masa ventricular. Estudios previos en supervivientes de cáncer han demostrado que la masa miocárdica del ventrículo izquierdo se reduce después del tratamiento (34,180–182). Esta reducción se asocia con aumentos en la sintomatología de la IC (183,184). En nuestro estudio destacamos la asociación del gen *PDXDC1* con la DCRTC. Este gen fue el único identificado por los tres métodos de mapeo y donde se encontraron más variantes reguladoras y potencialmente deletéreas. Kursid y col. (185) lo asociaron recientemente con la masa del ventrículo izquierdo. En base a la información publicada previamente y a los hallazgos de nuestro estudio, parece probable que la alteración de este gen sea la responsable de la reducción de la masa ventricular izquierda observada en los supervivientes de cáncer. Las duplicaciones del cromosoma 16p13.1 (región que contiene los genes *PDXDC1* y *MYH11*) también se han descrito como un factor de riesgo de cardiopatía congénita y disecciones aórticas (186–188).

5.2.3. Inflamación

La formación de ROS, la disfunción de las mitocondrias, y la muerte celular, contribuyen a activar el sistema inmunológico innato, que responde al daño tisular induciendo una respuesta inflamatoria (59–61). Se ha observado que los pacientes con IC y FEVI reducida tienen niveles circulantes elevados de citoquinas proinflamatorias en comparación con individuos sanos, lo que destaca la contribución de la inflamación en la patogénesis de la IC (189–191). En este sentido, en nuestro estudio se identificaron seis genes implicados en la inflamación: *BEST3* (192), *LACCI* (193), *SERP2* (194), *CST5* (195), *CST7* (196), y *CHUK*. Varios estudios señalaron que *LACCI* regula cambios en la microbiota intestinal y contribuye a la inflamación intestinal crónica (197,198). Este papel de *LACCI* es interesante ya que recientemente se ha señalado una composición y función anormal de la microbiota intestinal en pacientes con cardiotoxicidad inducida por doxorrubicina y con IC (199–202). También identificamos varios biomarcadores inflamatorios como *CST7* y *CST5*, previamente asociados con inflamación aguda y mortalidad a corto plazo en pacientes con infarto agudo de miocardio, respectivamente (195,196). Es relevante mencionar que varios de los genes asociados con la DCRTC en nuestro metaanálisis están involucrados en la vía NF-κB (*CHUK*, *BEST3* (192), *LACCI* (193), *LARP7* (203), *TP63* (204,205), *LGR5* (206)). En el corazón, la activación prolongada de la vía NF-κB promueve la IC al provocar señales que desencadenan inflamación crónica a través de la producción de citocinas, lo que conduce a respuestas de estrés del retículo endoplásmico y muerte celular (207,208). Esta vía se ha propuesto como una posible diana terapéutica para enfermedades cardiovasculares y cáncer (209,210).

5.2.4. Fibrosis

Si la inflamación se mantiene en el tiempo se produce la activación de los fibroblastos, lo que induce la producción de matriz extracelular y citocinas inflamatorias (211). Las citocinas promueven una respuesta patológica como la fibrosis y la remodelación cardíaca adversa, lo que en última instancia resulta en disfunción ventricular y, en los casos más graves, IC congestiva. En nuestro estudio encontramos 10 genes relacionados con la adhesión celular y la fibrosis. Cuatro de estos genes estaban relacionados con el colágeno (*COL4A3*, *COL4A4*, *P3H2* (también llamado *LEPRELI*) (212), y *COLQ*), y más concretamente, tres de ellos con el colágeno tipo IV, el principal componente de la membrana basal (213). Además de los genes de colágeno, encontramos otros 6 genes con efecto profibrótico: *TSPAN 8* (214), *CLDN1* [218], (215,216), *CLDN12*, *MASPI* (217), *ADAMTS8* (218,219), y *KLF6* (220,221).

En particular, los dos últimos genes (*ADAMTS8* y *KLF6*) han sido descritos previamente en la fibrosis cardíaca (218,220), y en nuestro estudio se encontraron en el análisis de fenotipos extremos, es decir, en pacientes con DCRTC severa, lo que concuerda con el hecho de que la fibrosis es la ruta final común observada en la IC (222).

5.3. LOS PRS COMO HERRAMIENTA PARA PREDECIR EVENTOS CARDÍACOS SEVEROS EN PACIENTES CON CÁNCER

Con el objetivo de reducir la prevalencia de las enfermedades cardiovasculares y sus complicaciones, muchos esfuerzos se están centrando en la prevención. La piedra angular de la prevención es la predicción temprana de los riesgos junto con su mitigación. La incorporación de la genética en el marco de la predicción de riesgo ofrece la oportunidad de crear estrategias más tempranas y personalizadas.

En nuestro estudio, el IC-PRS mostró que los individuos de la cohorte CARDIOTOX en el decil superior (90-100%) del PRS tenían un riesgo significativamente mayor de desarrollar IC en relación con el resto de los individuos, lo que parece sugerir que la selección de estos pacientes para un seguimiento más estrecho por el equipo de cardio-oncología podría prevenir el desarrollo de la DCRTC severa o IC. Sin embargo, con valores del PRS bajos el modelo no discriminó bien entre los casos y los controles. Cabe destacar que el poder de discriminación del modelo de regresión logística con factores clínicos aumentó al añadir el PRS, ya que los PRS a menudo capturan el riesgo que es independiente y, por lo tanto, complementario a los factores de riesgo tradicionales. A pesar de que la mayoría de la evidencia sugiere que la utilidad clínica puede ser máxima cuando los PRS se combinan con factores de riesgo clínicos, también hay evidencia de que los PRS por sí solos pueden tener utilidad para aquellas personas con puntuaciones poligénicas extremadamente altas (223).

El valor del PRS radica en que se construye en función de la variación genética heredada, por lo que puede predecir desde el nacimiento rasgos complejos de forma individual, antes que muchos factores de riesgo no genéticos relacionados con el estilo de vida y la edad (224,225). En concreto para las enfermedades cardiovasculares, los PRS facilitan la predicción del riesgo más allá de los modelos actuales que predicen el riesgo en 5 o 10 años, y que generalmente están optimizados para personas de mediana edad (226).

Cabe señalar que proporcionar PRS basados en variantes comunes, pero no considerar ni realizar pruebas para variantes raras de alto impacto podría dar una estimación de riesgo sustancialmente incompleta, especialmente para aquellas personas con antecedentes familiares (227). Así, una puntuación de riesgo poligénico elevada puede aumentar el riesgo conferido por una variante de alto impacto, o una puntuación de riesgo poligénico protectora puede compensar la variante patogénica y acercar el riesgo del individuo al promedio de la población. Es probable que esto se logre a medida que la tecnología avance hacia la secuenciación del genoma completo, lo que permitiría una puntuación poligénica de espectro alélico completo.

A pesar de las innegables ventajas de los PRS, todavía deben superar varios desafíos antes de poder implementarse en la práctica clínica cardiovascular. La Asociación Americana del Corazón (AHA, por sus siglas en inglés) establece tres criterios que los sistemas de atención de salud deberían considerar antes de su implementación: eficacia, daño, y logística (228). En primer lugar, sugieren que la eficacia clínica de los PRS probablemente será apropiada cuando la integración del PRS en herramientas de riesgo clínico mejore sustancialmente su precisión, o cuando el PRS pueda identificar a los individuos con un riesgo al menos equivalente al de los individuos con enfermedades monogénicas (228). En segundo lugar, es importante que cualquier orientación sobre el uso clínico responsable aborde los posibles daños. Hay cierta preocupación sobre si el uso de los PRS existentes podría exacerbar las disparidades raciales en la atención médica debido a las diferencias en el poder predictivo entre diferentes grupos poblacionales (223,229). Los GWAS iniciales y con mayor tamaño muestral comprenden en gran medida individuos de ascendencia europea, y debido a las diferencias de frecuencia alélica existentes entre los distintos grupos étnicos, esto plantea desafíos de recalibración. Esta desigualdad en la predicción entre los grupos poblacionales se pudo percibir en el estudio realizado por Sapkota y col., donde aplicaron un PRS de la enfermedad arterial coronaria en una población de supervivientes de cáncer infantil (230). Entre los supervivientes de ascendencia europea, el PRS se asoció significativamente con el riesgo de enfermedad coronaria mientras que, en los supervivientes de ascendencia africana, el PRS no se asoció. Actualmente los esfuerzos se centran en perfilar genéticamente a los individuos no europeos y poder obtener una precisión predictiva comparable entre múltiples etnias. En tercer lugar, existen varias consideraciones logísticas y educativas. Hasta la fecha, los datos genómicos para el cálculo de los PRS son en gran medida externos al sistema de salud pública (es decir, estudios de investigación o productos directos al consumidor).

Además, el conocimiento genético de la población general, tanto del personal sanitario como del paciente, sigue siendo limitado, lo que podría obstaculizar los supuestos beneficios y potencialmente exacerbar los daños (228). Se necesitaría apoyo auxiliar, como el de médicos especializados, incluidos asesores genéticos.

Por último, otro factor para tener en cuenta es el coste económico. Un estudio publicado recientemente evaluó la rentabilidad de los PRS para guiar el tratamiento con estatinas para la prevención de enfermedades cardiovasculares (231). La estrategia económica óptima fue cuando los individuos de riesgo intermedio con un PRS en el 70% superior eran elegidos para el tratamiento, mientras que el 1% más bajo se excluía. Aun así, los autores concluyen que el uso de los PRS probablemente no sea rentable para el sistema de salud público actual. Sin embargo, tienen una perspectiva económica futura positiva, ya que están mejorando rápidamente su capacidad predictiva a la vez que se reducen los costes de genotipado, lo que demostraría la posible rentabilidad para su inclusión en la atención clínica de las enfermedades cardiovasculares.

El objetivo general de un PRS en cardio-oncología sería la prevención de la DCRTC mediante la identificación y selección de los pacientes con alto riesgo para seguir una mejor vigilancia y un plan de tratamiento más personalizado. Aunque existen perspectivas futuras prometedoras, se deben reconocer las limitaciones actuales, principalmente derivadas del tamaño muestral de las cohortes y de la baja proporción de la varianza explicada por los PRS.

5.4. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

La principal limitación de este estudio fue el tamaño de la muestra, lo que dificultó alcanzar un poder estadístico significativo. Además, pueden existir pequeñas variaciones en los criterios de la DCRTC entre las cohortes añadidas en el metaanálisis. A pesar de esto, nuestro estudio es el de mayor tamaño muestral realizado hasta la fecha, y el enfoque que seguimos utilizó todas las variantes comprendidas en las estadísticas resumen de 3 estudios procedentes de distintos países, lo que fortaleció los resultados y nos permitió detectar loci de susceptibilidad potenciales que no mostraron evidencia en esos estudios de forma independiente.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. La combinación de las técnicas de secuenciación del exoma completo y de asociación del genoma completo permitió observar el componente genético íntegro de nuestra cohorte, identificando tanto variantes raras como comunes asociadas a la DCRTC.
2. En nuestro estudio encontramos una alta frecuencia de variantes truncantes en la TTN en los pacientes con DCRTC severa, lo que parece indicar que la severidad de la DCRTC puede estar influida por una predisposición genética a miocardiopatías, especialmente a la MCD. Esto recalca la importancia de considerar los antecedentes familiares como un factor de riesgo en la DCRTC.
3. El reducido tamaño de la cohorte dificultó hallar una asociación genética significativa. Pese a ello se identificaron nuevos genes potenciales implicados en la DCRTC, como TP63 o PDXDC1, lo que proporciona una guía para la validación experimental.
4. Los nuevos genes identificados mediante el estudio de asociación comparten mecanismos fisiopatológicos como la disfunción mitocondrial, la muerte celular, y la fibrosis. Estos hallazgos nos ayudan a comprender mejor los mecanismos fisiopatológicos que causan la DCRTC.
5. La combinación de 4 cohortes en el metaanálisis permitió aumentar el poder estadístico y detectar señales que pasaron desapercibidas en los estudios realizados de forma independiente.

6. La predicción de la insuficiencia cardíaca en la cohorte CARDIOTOX mejoró al combinar el PRS con los factores de riesgo clínicos, en comparación al uso exclusivo de factores clínicos, lo que parece indicar que la adición de la genética a los estándares actuales podría mejorar la prevención de la DCRTC severa. Sin embargo, el PRS de IC en su estado actual tiene un tamaño de efecto pequeño como para ayudar de una forma significativa a predecir la DCRTC. Es necesario mejorar su capacidad predictiva aumentando el tamaño muestral o utilizando GWAS de fenotipos más específicos.

7. En el futuro, con cohortes con un tamaño muestral más grande, la aplicación de los PRS en cardio-oncología podría proporcionar un enfoque genético personalizado de la susceptibilidad individual a la DCRTC, mejorando la supervivencia y la calidad de vida de estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Koene RJ, Prizment AE, Blaes A, Konety SH. Shared Risk Factors in Cardiovascular Disease and Cancer. *Circulation*. 2016 Mar 15;133(11):1104–14.
2. de Wit S, Glen C, de Boer RA, Lang NN. Mechanisms shared between cancer, heart failure, and targeted anti-cancer therapies. *Cardiovasc Res*. 2023 Feb 3;118(18):3451–66.
3. Leiva O, AbdelHameid D, Connors JM, Cannon CP, Bhatt DL. Common Pathophysiology in Cancer, Atrial Fibrillation, Atherosclerosis, and Thrombosis: JACC: CardioOncology State-of-the-Art Review. *JACC CardioOncol*. 2021 Dec;3(5):619–34.
4. Paterson DI, Wiebe N, Cheung WY, Mackey JR, Pituskin E, Reiman A, et al. Incident Cardiovascular Disease Among Adults With Cancer: A Population-Based Cohort Study. *JACC CardioOncol*. 2022 Mar;4(1):85–94.
5. Strongman H, Gadd S, Matthews A, Mansfield KE, Stanway S, Lyon AR, et al. Medium and long-term risks of specific cardiovascular diseases in survivors of 20 adult cancers: a population-based cohort study using multiple linked UK electronic health records databases. *Lancet*. 2019 Sep 21;394(10203):1041–54.
6. Sturgeon KM, Deng L, Bluethmann SM, Zhou S, Trifiletti DM, Jiang C, et al. A population-based study of cardiovascular disease mortality risk in US cancer patients. *Eur Heart J*. 2019 Dec 21;40(48):3889–97.
7. Maayah ZH, Takahara S, Alam AS, Ferdaoussi M, Sutendra G, El-Kadi AOS, et al. Breast cancer diagnosis is associated with relative left ventricular hypertrophy and elevated endothelin-1 signaling. *BMC Cancer*. 2020 Aug 12;20(1):751.
8. Tadic M, Genger M, Baudisch A, Kelle S, Cuspidi C, Belyavskiy E, et al. Left Ventricular Strain in Chemotherapy-Naive and Radiotherapy-Naive Patients With Cancer. *Can J Cardiol*. 2018 Mar;34(3):281–7.
9. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209–49.
10. Hajdu SI. A note from history: landmarks in history of cancer, part 1. *Cancer*. 2011 Mar 1;117(5):1097–102.

11. Buscombe J, Navalkissoor S. Molecular radiotherapy. *Clinical Medicine*. 2012 Aug 1;12(4):381–6.
12. Goodman LS, Wintrobe MM. Nitrogen mustard therapy; use of methyl-bis (beta-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (beta-chloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *J Am Med Assoc*. 1946 Sep 21;132:126–32.
13. Brookes P, Lawley PD. The reaction of mono- and di-functional alkylating agents with nucleic acids. *Biochem J*. 1961 Sep;80(3):496–503.
14. Falzone L, Salomone S, Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. *Front Pharmacol*. 2018;9:1300.
15. Tsimberidou AM. Targeted therapy in cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015 Dec 1;76(6):1113–32.
16. Bernstein ID, Tam MR, Nowinski RC. Mouse Leukemia: Therapy with Monoclonal Antibodies Against a Thymus Differentiation Antigen. *Science*. 1980 Jan 4;207(4426):68–71.
17. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975 Aug;256(5517):495–7.
18. Hartmann JT, Haap M, Kopp HG, Lipp HP. Tyrosine kinase inhibitors - a review on pharmacology, metabolism and side effects. *Curr Drug Metab*. 2009 Jun;10(5):470–81.
19. Haanen JBAG, Robert C. Immune Checkpoint Inhibitors. *Prog Tumor Res*. 2015;42:55–66.
20. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. *Frontiers in Oncology*. 2018 Mar 28;8:86.
21. Grupp S. Beginning the CAR T cell therapy revolution in the US and EU. *Current Research in Translational Medicine*. 2018 May 1;66(2):62–4.
22. Xu D, Jin G, Chai D, Zhou X, Gu W, Chong Y, et al. The development of CAR design for tumor CAR-T cell therapy. *Oncotarget*. 2018 Jan 12;9(17):13991–4004.
23. di Pietro A, Tosti G, Ferrucci PF, Testori A. Oncophage: step to the future for vaccine therapy in melanoma. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2008 Dec 1;8(12):1973–84.
24. Herrmann J. Adverse cardiac effects of cancer therapies: cardiotoxicity and arrhythmia. *Nat Rev Cardiol*. 2020 Aug;17(8):474–502.
25. Cardio-oncology — A marriage of cardiology & oncology - Mayo Clinic [Internet]. [cited 2023 Sep 22]. Available from: <https://www.mayoclinic.org/medical-professionals/cancer/news/cardio-oncology-a-marriage-of-cardiology-oncology/mac-20491245>

26. Lancellotti P, Suter TM, López-Fernández T, Galderisi M, Lyon AR, Van der Meer P, et al. Cardio-Oncology Services: rationale, organization, and implementation. *Eur Heart J*. 2019 Jun 7;40(22):1756–63.
27. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodríguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016 Sep 21;37(36):2768–801.
28. Lyon AR, López-Fernández T, Couch LS, Asteggiano R, Aznar MC, Bergler-Klein J, et al. 2022 ESC Guidelines on cardio-oncology developed in collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS): Developed by the task force on cardio-oncology of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2022 Nov 1;43(41):4229–361.
29. Suter TM, Ewer MS. Cancer drugs and the heart: importance and management. *Eur Heart J*. 2013 Apr;34(15):1102–11.
30. Buzdar AU, Marcus C, Smith TL, Blumenschein GR. Early and delayed clinical cardiotoxicity of doxorubicin. *Cancer*. 1985 Jun 15;55(12):2761–5.
31. Steinherz LJ, Steinherz PG, Tan CT, Heller G, Murphy ML. Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. *JAMA*. 1991 Sep 25;266(12):1672–7.
32. Kajihara H, Yokozaki H, Yamahara M, Kadomoto Y, Tahara E. Anthracycline induced myocardial damage. An analysis of 16 autopsy cases. *Pathol Res Pract*. 1986 Aug;181(4):434–41.
33. Jordan JH, Castellino SM, Meléndez GC, Klepin HD, Ellis LR, Lamar Z, et al. Left Ventricular Mass Change After Anthracycline Chemotherapy. *Circulation: Heart Failure*. 2018 Jul;11(7):e004560.
34. Neilan TG, Coelho-Filho OR, Pena-Herrera D, Shah RV, Jerosch-Herold M, Francis SA, et al. Left Ventricular Mass in Patients With a Cardiomyopathy After Treatment With Anthracyclines. *American Journal of Cardiology*. 2012 Dec 1;110(11):1679–86.
35. Morelli MB, Bongiovanni C, Da Pra S, Miano C, Sacchi F, Lauriola M, et al. Cardiotoxicity of Anticancer Drugs: Molecular Mechanisms and Strategies for Cardioprotection. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Apr 15;9:847012.
36. Sawyer DB. Anthracyclines and Heart Failure. *New England Journal of Medicine*. 2013 Mar 21;368(12):1154–6.
37. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer*. 2003 Jun 1;97(11):2869–79.
38. Qiu S, Zhou T, Qiu B, Zhang Y, Zhou Y, Yu H, et al. Risk Factors for Anthracycline-Induced Cardiotoxicity. *Front Cardiovasc Med*. 2021 Sep 29;8:736854.

39. Hortobágyi GN. Anthracyclines in the Treatment of Cancer. *Drugs*. 1997 Oct 1;54(4):1–7.
40. de Jong S, Zijlstra JG, de Vries EG, Mulder NH. Reduced DNA topoisomerase II activity and drug-induced DNA cleavage activity in an adriamycin-resistant human small cell lung carcinoma cell line. *Cancer Res*. 1990 Jan 15;50(2):304–9.
41. Tarr M, van Helden PD. Inhibition of transcription by adriamycin is a consequence of the loss of negative superhelicity in DNA mediated by topoisomerase II. *Mol Cell Biochem*. 1990 Mar 1;93(2):141–6.
42. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, Lu LS, Lyu YL, Liu LF, et al. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med*. 2012 Nov;18(11):1639–42.
43. Wallace KB, Sardão VA, Oliveira PJ. Mitochondrial Determinants of Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy. *Circulation Research*. 2020 Mar 27;126(7):926–41.
44. Piquereau J, Caffin F, Novotova M, Lemaire C, Veksler V, Garnier A, et al. Mitochondrial dynamics in the adult cardiomyocytes: which roles for a highly specialized cell? *Front Physiol*. 2013;4:102.
45. Huang J, Wu R, Chen L, Yang Z, Yan D, Li M. Understanding Anthracycline Cardiotoxicity From Mitochondrial Aspect. *Front Pharmacol*. 2022 Feb 8;13:811406.
46. Ichikawa Y, Ghanefar M, Bayeva M, Wu R, Khechaduri A, Prasad SVN, et al. Cardiotoxicity of doxorubicin is mediated through mitochondrial iron accumulation. *J Clin Invest*. 2014 Feb 3;124(2):617–30.
47. Panjrath GS, Patel V, Valdiviezo CI, Narula N, Narula J, Jain D. Potentiation of Doxorubicin Cardiotoxicity by Iron Loading in a Rodent Model. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007 Jun 26;49(25):2457–64.
48. Fang X, Wang H, Han D, Xie E, Yang X, Wei J, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Feb 12;116(7):2672–80.
49. Chun Y, Kim J. Autophagy: An Essential Degradation Program for Cellular Homeostasis and Life. *Cells*. 2018 Dec 19;7(12):278.
50. Kawaguchi T, Takemura G, Kanamori H, Takeyama T, Watanabe T, Morishita K, et al. Prior starvation mitigates acute doxorubicin cardiotoxicity through restoration of autophagy in affected cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*. 2012 Dec 1;96(3):456–65.
51. Christidi E, Brunham LR. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cell Death Dis*. 2021 Apr 1;12(4):1–15.
52. Ma W, Wei S, Zhang B, Li W. Molecular Mechanisms of Cardiomyocyte Death in Drug-Induced Cardiotoxicity. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Jun 3;8:434.
53. Linkermann A, Green DR. Necroptosis. *N Engl J Med*. 2014 Jan 30;370(5):455–65.

54. Zhang T, Zhang Y, Cui M, Jin L, Wang Y, Lv F, et al. CaMKII is a RIP3 substrate mediating ischemia- and oxidative stress-induced myocardial necroptosis. *Nat Med.* 2016 Feb;22(2):175–82.
55. Choi ME, Price DR, Ryter SW, Choi AMK. Necroptosis: a crucial pathogenic mediator of human disease. *JCI Insight.* 4(15):e128834.
56. Yu X, Ruan Y, Huang X, Dou L, Lan M, Cui J, et al. Dexrazoxane ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting both apoptosis and necroptosis in cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Feb 26;523(1):140–6.
57. Jia C, Chen H, Zhang J, Zhou K, Zhuge Y, Niu C, et al. Role of pyroptosis in cardiovascular diseases. *Int Immunopharmacol.* 2019 Feb;67:311–8.
58. Meng L, Lin H, Zhang J, Lin N, Sun Z, Gao F, et al. Doxorubicin induces cardiomyocyte pyroptosis via the TINCR-mediated posttranscriptional stabilization of NLR family pyrin domain containing 3. *J Mol Cell Cardiol.* 2019 Nov;136:15–26.
59. Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol.* 2001 Mar;9(3):113–4.
60. Ferreira de Souza T, Quinaglia A.C. Silva T, Osorio Costa F, Shah R, Neilan TG, Velloso L, et al. Anthracycline Therapy Is Associated With Cardiomyocyte Atrophy and Preclinical Manifestations of Heart Disease. *JACC: Cardiovascular Imaging.* 2018 Aug 1;11(8):1045–55.
61. Willis MS, Parry TL, Brown DI, Mota RI, Huang W, Beak JY, et al. Doxorubicin Exposure Causes Subacute Cardiac Atrophy Dependent on the Striated Muscle–Specific Ubiquitin Ligase MuRF1. *Circulation: Heart Failure.* 2019 Mar;12(3):e005234.
62. Coelho-Filho OR, Shah RV, Mitchell R, Neilan TG, Moreno H, Simonson B, et al. Quantification of Cardiomyocyte Hypertrophy by Cardiac Magnetic Resonance. *Circulation.* 2013 Sep 10;128(11):1225–33.
63. Kong P, Christia P, Frangogiannis NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci.* 2014 Feb;71(4):549–74.
64. Meléndez GC, Hundley WG. Is Myocardial Fibrosis a New Frontier for Discovery in Cardiotoxicity Related to the Administration of Anthracyclines? *Circ: Cardiovascular Imaging.* 2016 Dec;9(12):e005797.
65. Frangogiannis NG. The immune system and cardiac repair. *Pharmacol Res.* 2008 Aug;58(2):88–111.
66. Packard RRS. Cardiac fibrosis in oncologic therapies. *Curr Opin Physiol.* 2022 Oct;29:100575.
67. Siwik DA, Pagano PJ, Colucci WS. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001 Jan;280(1):C53–60.

68. Valiente-Alandi I, Schafer AE, Blaxall BC. Extracellular matrix-mediated cellular communication in the heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2016 Feb;91:228–37.
69. Spinale FG, Janicki JS, Zile MR. Membrane Associated Matrix Proteolysis and Heart Failure. *Circ Res.* 2013 Jan 4;112(1):195–208.
70. Cai F, Luis MAF, Lin X, Wang M, Cai L, Cen C, et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity in the chemotherapy treatment of breast cancer: Preventive strategies and treatment. *Mol Clin Oncol.* 2019 Jul;11(1):15–23.
71. Rossello X, Dorresteijn JA, Janssen A, Lambrinou E, Scherrenberg M, Bonnefoy-Cudraz E, et al. Risk prediction tools in cardiovascular disease prevention: A report from the ESC Prevention of CVD Programme led by the European Association of Preventive Cardiology (EAPC) in collaboration with the Acute Cardiovascular Care Association (ACCA) and the Association of Cardiovascular Nursing and Allied Professions (ACNAP). *Eur J Prev Cardiol.* 2019 Sep;26(14):1534–44.
72. SCORE2 working group and ESC Cardiovascular risk collaboration. SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe. *Eur Heart J.* 2021 Jul 1;42(25):2439–54.
73. Lyon AR, Dent S, Stanway S, Earl H, Brezden-Masley C, Cohen-Solal A, et al. Baseline cardiovascular risk assessment in cancer patients scheduled to receive cardiotoxic cancer therapies: a position statement and new risk assessment tools from the Cardio-Oncology Study Group of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology in collaboration with the International Cardio-Oncology Society. *Eur J Heart Fail.* 2020 Nov;22(11):1945–60.
74. Di Lisi D, Madaudo C, Alagna G, Santoro M, Rossetto L, Siragusa S, et al. The new HFA/ICOS risk assessment tool to identify patients with chronic myeloid leukaemia at high risk of cardiotoxicity. *ESC Heart Fail.* 2022 Jun;9(3):1914–9.
75. Rivero Santana B, Caro Codon J, Juarez Olmos V, Martinez Monzonis A, Zatarain-Nicolas E, Moliner P, et al. HFA-ICOS cardiovascular toxicity risk score validation in CARDIOTOX registry. *European Heart Journal.* 2022 Oct 1;43(Supplement_2):ehac544.2591.
76. Battisti NML, Andres MS, Lee KA, Ramalingam S, Nash T, Mappouridou S, et al. Incidence of cardiotoxicity and validation of the Heart Failure Association-International Cardio-Oncology Society risk stratification tool in patients treated with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2021 Jul;188(1):149–63.
77. Al-Otaibi TK, Weitzman B, Tahir UA, Asnani A. Genetics of Anthracycline-Associated Cardiotoxicity. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* [Internet]. 2022 [cited 2023 Dec 17];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2022.867873>
78. Bhatia S. Genetics of Anthracycline Cardiomyopathy in Cancer Survivors: JACC: CardioOncology State-of-the-Art Review. *JACC CardioOncol.* 2020 Nov;2(4):539–52.

79. Linschoten M, Teske AJ, Cramer MJ, van der Wall E, Asselbergs FW. Chemotherapy-Related Cardiac Dysfunction: A Systematic Review of Genetic Variants Modulating Individual Risk. *Circ Genom Precis Med*. 2018 Jan;11(1):e001753.
80. Yang X, Li G, Guan M, Bapat A, Dai Q, Zhong C, et al. Potential Gene Association Studies of Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Cardiovasc Med*. 2021 Jun 4;8:651269.
81. Visscher H, Ross CJD, Rassekh SR, Barhdadi A, Dubé MP, Al-Saloos H, et al. Pharmacogenomic prediction of anthracycline-induced cardiotoxicity in children. *J Clin Oncol*. 2012 May 1;30(13):1422–8.
82. Visscher H, Ross CJD, Rassekh SR, Sandor GSS, Caron HN, van Dalen EC, et al. Validation of variants in SLC28A3 and UGT1A6 as genetic markers predictive of anthracycline-induced cardiotoxicity in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Aug;60(8):1375–81.
83. Magdy T, Jouni M, Kuo HH, Weddle CJ, Lyra-Leite D, Fonoudi H, et al. Identification of Drug Transporter Genomic Variants and Inhibitors That Protect Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Circulation*. 2022 Jan 25;145(4):279–94.
84. Leger KJ, Cushing-Haugen K, Hansen JA, Fan W, Leisenring WM, Martin PJ, et al. Clinical and Genetic Determinants of Cardiomyopathy Risk among Hematopoietic Cell Transplantation Survivors. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jun;22(6):1094–101.
85. Aminkeng F, Bhavsar AP, Visscher H, Rassekh SR, Li Y, Lee JW, et al. A coding variant in RARG confers susceptibility to anthracycline-induced cardiotoxicity in childhood cancer. *Nat Genet*. 2015 Sep;47(9):1079–84.
86. Abdullah G, Duman D, Yasemin B, Bahar T, Küpeli S, Derya K. The Role of RARG rs2229774, SLC28A3 rs7853758, and UGT1A6*4 rs17863783 Single-nucleotide Polymorphisms in the Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Solid Childhood Tumors. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2023 Oct 13;
87. Vargas-Neri JL, Carleton B, Ross CJ, Medeiros M, Castañeda-Hernández G, Clark P. Pharmacogenomic study of anthracycline-induced cardiotoxicity in Mexican pediatric patients. *Pharmacogenomics*. 2022 Apr;23(5):291–301.
88. Nyangwara VA, Mazhindu T, Chikwambi Z, Masimirembwa C, Campbell TB, Borok M, et al. Cardiotoxicity and pharmacogenetics of doxorubicin in black Zimbabwean breast cancer patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2023 Jan 11;
89. Christidi E, Huang H, Shafaattalab S, Maillet A, Lin E, Huang K, et al. Variation in RARG increases susceptibility to doxorubicin-induced cardiotoxicity in patient specific induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Sci Rep*. 2020 Jun 25;10(1):10363.
90. Huang H, Christidi E, Shafaattalab S, Davis MK, Tibbits GF, Brunham LR. RARG S427L attenuates the DNA repair response to doxorubicin in induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Stem Cell Reports*. 2022 Apr 12;17(4):756–65.

91. Wang X, Sun CL, Quiñones-Lombrana A, Singh P, Landier W, Hageman L, et al. CELF4 Variant and Anthracycline-Related Cardiomyopathy: A Children's Oncology Group Genome-Wide Association Study. *J Clin Oncol*. 2016 Mar 10;34(8):863–70.
92. Schneider BP, Shen F, Gardner L, Radovich M, Li L, Miller KD, et al. Genome-Wide Association Study for Anthracycline-Induced Congestive Heart Failure. *Clin Cancer Res*. 2017 Jan 1;23(1):43–51.
93. Gvaldin D, Timoshkina N, Vladimirova L, Svetitskaya Y, Vaschenko L. Polymorphisms rs4673 and rs28714259 in predicting anthracycline-mediated cardiotoxicity in patients with breast cancer. *Klin Onkol*. 2021;34(6):463–6.
94. Wu X, Shen F, Jiang G, Xue G, Philips S, Gardner L, et al. A non-coding GWAS variant impacts anthracycline-induced cardiotoxic phenotypes in human iPSC-derived cardiomyocytes. *Nat Commun*. 2022 Nov 22;13(1):7171.
95. Scott EN, Wright GEB, Drögemöller BI, Hasbullah JS, Gunaretnam EP, Miao F, et al. Transcriptome-wide association study uncovers the role of essential genes in anthracycline-induced cardiotoxicity. *NPJ Genom Med*. 2021 May 21;6(1):35.
96. Garcia-Pavia P, Kim Y, Restrepo-Cordoba MA, Lunde IG, Wakimoto H, Smith AM, et al. Genetic Variants Associated With Cancer Therapy–Induced Cardiomyopathy. *Circulation*. 2019 Jul 2;140(1):31–41.
97. Linschoten M, Teske AJ, Baas AF, Vink A, Dooijes D, Baars HF, et al. Truncating Titin (TTN) Variants in Chemotherapy-Induced Cardiomyopathy. *J Card Fail*. 2017 Jun;23(6):476–9.
98. Li Y, Liu L, Sun H, Li N, Huang S, Olinger A, et al. Complete remission of Hodgkin's lymphoma in a pediatric patient with TTN gene mutation treated with brentuximab vedotin combined chemotherapy without anthracyclines: A case report. *Front Oncol*. 2022;12:1006166.
99. Gupta SK, Garg A, Bär C, Chatterjee S, Foinquinos A, Milting H, et al. Quaking Inhibits Doxorubicin-Mediated Cardiotoxicity Through Regulation of Cardiac Circular RNA Expression. *Circ Res*. 2018 Jan 19;122(2):246–54.
100. Akhtar MM, Lorenzini M, Cicerchia M, Ochoa JP, Hey TM, Sabater Molina M, et al. Clinical Phenotypes and Prognosis of Dilated Cardiomyopathy Caused by Truncating Variants in the TTN Gene. *Circulation: Heart Failure*. 2020 Oct;13(10):e006832.
101. Huang G, Bisaria A, Wakefield DL, Yamawaki TM, Luo X, Zhang JA, et al. Titin-truncating variants in hiPSC cardiomyocytes induce pathogenic proteinopathy and sarcomere defects with preserved core contractile machinery. *Stem Cell Reports*. 2022 Dec 15;18(1):220–36.
102. Kuruc JC, Durant-Archibold AA, Motta J, Rao KS, Trachtenberg B, Ramos C, et al. Development of anthracycline-induced dilated cardiomyopathy due to mutation on LMNA gene in a breast cancer patient: a case report. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2019 Jul 16;19(1):169.

103. Caballero Valderrama M de R, Peña Peña ML, Navarro Herrero S, Serrano Gotarredona MP, López Haldón JE. Dilated cardiomyopathy due to filamin C mutation: anthracycline treatment as a trigger. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2022 Mar;75(3):264–6.
104. van den Berg MP, van Spaendonck-Zwarts KY, van Veldhuisen DJ, Gietema JA, Postma A, van Tintelen JP. Familial dilated cardiomyopathy: another risk factor for anthracycline-induced cardiotoxicity? *Eur J Heart Fail*. 2010 Dec;12(12):1297–9.
105. Wasielewski M, van Spaendonck-Zwarts KY, Westerink ND, Jongbloed JDH, Postma A, Gietema JA, et al. Potential genetic predisposition for anthracycline-associated cardiomyopathy in families with dilated cardiomyopathy. *Open Heart*. 2014;1(1):e000116.
106. Shipman KE, Arnold I. Case of epirubicin-induced cardiomyopathy in familial cardiomyopathy. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 20;29(18):e537-538.
107. Aminkeng F, Ross CJD, Rassekh SR, Hwang S, Rieder MJ, Bhavsar AP, et al. Recommendations for genetic testing to reduce the incidence of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Br J Clin Pharmacol*. 2016 Sep;82(3):683–95.
108. 2020 Annual Report on EudraVigilance for the European Parliament, the Council and the Commission. 2020;
109. Adams, J. Pharmacogenomics and personalized medicine. *Nature Education*. 2008. 1(1):194
110. Stefanicka-Wojtas D, Kurpas D. Personalised Medicine—Implementation to the Healthcare System in Europe (Focus Group Discussions). *J Pers Med*. 2023 Feb 21;13(3):380.
111. Coggi PT. A European view on the future of personalised medicine in the EU. *The European Journal of Public Health*. 2011 Feb 1;21(1):6–7.
112. Council of the European Union. Council conclusions on personalised medicine for patients. *Official Journal of the European Union*. 2015. Dec. C421/2
113. Vicente AM, Ballensiefen W, Jönsson JI. How personalised medicine will transform healthcare by 2030: the ICPeMed vision. *Journal of Translational Medicine*. 2020 Apr 28;18(1):180.
114. López-Sendón J, Álvarez-Ortega C, Zamora Auñón P, Buño Soto A, Lyon AR, Farmakis D, et al. Classification, prevalence, and outcomes of anticancer therapy-induced cardiotoxicity: the CARDIOTOX registry. *European Heart Journal*. 2020 May 7;41(18):1720–9.
115. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Research*. 2010 Sep 1;38(16):e164.
116. Robinson JT, Thorvaldsdóttir H, Winckler W, Guttman M, Lander ES, Getz G, et al. Integrative Genomics Viewer. *Nat Biotechnol*. 2011 Jan;29(1):24–6.

117. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405–24.
118. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020 May;581(7809):434–443.
119. Arbustini E, Behr ER, Carrier L, van Duijn C, Evans P, Favalli V, et al. Interpretation and actionability of genetic variants in cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Council on cardiovascular genomics. *Eur Heart J*. 2022 May 21;43(20):1901–16.
120. Kelly MA, Caleshu C, Morales A, Buchan J, Wolf Z, Harrison SM, et al. Adaptation and validation of the ACMG/AMP variant classification framework for MYH7-associated inherited cardiomyopathies: recommendations by ClinGen’s Inherited Cardiomyopathy Expert Panel. *Genet Med*. 2018 Mar;20(3):351–9.
121. Gelb BD, Cavé H, Dillon MW, Gripp KW, Lee JA, Mason-Suares H, et al. ClinGen’s RASopathy Expert Panel consensus methods for variant interpretation. *Genet Med*. 2018 Nov;20(11):1334–45.
122. Gómez Peña C, Dávila-Fajardo CL, Martínez-González LJ, Carmona-Sáez P, Soto Pino MJ, Sánchez Ramos J, et al. Influence of the HER2 Ile655Val polymorphism on trastuzumab-induced cardiotoxicity in HER2-positive breast cancer patients: a meta-analysis. *Pharmacogenet Genomics*. 2015 Aug;25(8):388–93.
123. Advani PP, Ballman KV, Dockter TJ, Colon-Otero G, Perez EA. Long-Term Cardiac Safety Analysis of NCCTG N9831 (Alliance) Adjuvant Trastuzumab Trial. *J Clin Oncol*. 2016 Feb 20;34(6):581–7.
124. Serie DJ, Crook JE, Necela BM, Dockter TJ, Wang X, Asmann YW, et al. Genome-wide association study of cardiotoxicity in the NCCTG N9831 (Alliance) adjuvant trastuzumab trial. *Pharmacogenet Genomics*. 2017 Oct;27(10):378–85.
125. Velasco-Ruiz A, Nuñez-Torres R, Pita G, Wildiers H, Lambrechts D, Hatse S, et al. POLRMT as a Novel Susceptibility Gene for Cardiotoxicity in Epirubicin Treatment of Breast Cancer Patients. *Pharmaceutics*. 2021 Nov 16;13(11):1942.
126. Willer CJ, Li Y, Abecasis GR. METAL: fast and efficient meta-analysis of genomewide association scans. *Bioinformatics*. 2010 Sep 1;26(17):2190–1.
127. Watanabe K, Taskesen E, van Bochoven A, Posthuma D. Functional mapping and annotation of genetic associations with FUMA. *Nat Commun*. 2017 Nov 28;8(1):1826.
128. Rentzsch P, Witten D, Cooper GM, Shendure J, Kircher M. CADD: predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 8;47(D1):D886–94.

129. Boyle AP, Hong EL, Hariharan M, Cheng Y, Schaub MA, Kasowski M, et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Res.* 2012 Sep;22(9):1790–7.
130. GTEx Consortium. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project. *Nat Genet.* 2013 Jun;45(6):580–5.
131. Banke A, D’Souza M, Andersson C, Nielsen D, Torp-Pedersen C, Gislason GH, et al. Importance of familial predisposition to heart failure to the risk of anthracycline related cardiotoxicity: a nationwide study. *European Heart Journal.* 2020 Nov 1;41.
132. Ge T, Chen CY, Ni Y, Feng YCA, Smoller JW. Polygenic prediction via Bayesian regression and continuous shrinkage priors. *Nat Commun.* 2019 Apr 16;10(1):1776.
133. Shah S, Henry A, Roselli C, Lin H, Sveinbjörnsson G, Fatemifar G, et al. Genome-wide association and Mendelian randomisation analysis provide insights into the pathogenesis of heart failure. *Nat Commun.* 2020 Jan 9;11(1):163.
134. Hermida A, Ader F, Millat G, Jedraszak G, Maury P, Cador R, et al. NEXN Gene in Cardiomyopathies and Sudden Cardiac Deaths: Prevalence, Phenotypic Expression, and Prognosis. *Circ Genom Precis Med.* 2023 Dec 7.
135. Ochoa JP, Sabater-Molina M, García-Pinilla JM, Mogensen J, Restrepo-Córdoba A, Palomino-Doza J, et al. Formin Homology 2 Domain Containing 3 (FHOD3) Is a Genetic Basis for Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2018 Nov 13;72(20):2457–67.
136. Johnson R, Otway R, Chin E, Horvat C, Ohanian M, Wilcox JAL, et al. DMD-Associated Dilated Cardiomyopathy: Genotypes, Phenotypes, and Phenocopies. *Circ Genom Precis Med.* 2023 Oct;16(5):421–30.
137. Costa S, Medeiros-Domingo A, Gasperetti A, Breitenstein A, Steffel J, Guidetti F, et al. Familial dilated cardiomyopathy associated with a novel heterozygous RYR2 early truncating variant. *Cardiol J.* 2021;28(1):173-175.
138. Steinberg C, Roston TM, van der Werf C, Sanatani S, Chen SRW, Wilde AAM, et al. RYR2-ryanodinopathies: from calcium overload to calcium deficiency. *Europace.* 2023 Jun 2;25(6):euad156
139. Burkett EL, Hershberger RE. Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Apr 5;45(7):969–81.
140. Wilcox NS, Rotz SJ, Mullen M, Song EJ, Ky Hamilton B, Moslehi J, et al. Sex-Specific Cardiovascular Risks of Cancer and Its Therapies. *Circulation Research.* 2022 Feb 18;130(4):632–51.
141. De Francesco EM, Rocca C, Scavello F, Amelio D, Pasqua T, Rigiracciolo DC, et al. Protective Role of GPER Agonist G-1 on Cardiotoxicity Induced by Doxorubicin. *J Cell Physiol.* 2017 Jul;232(7):1640–9.

142. Muñoz-Castañeda JR, Muntané J, Herencia C, Muñoz MC, Bujalance I, Montilla P, et al. Ovariectomy exacerbates oxidative stress and cardiopathy induced by adriamycin. *Gynecol Endocrinol*. 2006 Feb;22(2):74–9.
143. Zhou H, Hu S, Jin Q, Shi C, Zhang Y, Zhu P, et al. Mff-Dependent Mitochondrial Fission Contributes to the Pathogenesis of Cardiac Microvasculature Ischemia/Reperfusion Injury via Induction of mROS-Mediated Cardiolipin Oxidation and HK2/VDAC1 Disassociation-Involved mPTP Opening. *J Am Heart Assoc*. 2017 Mar 13;6(3):e005328.
144. Bonawitz ND, Clayton DA, Shadel GS. Initiation and beyond: multiple functions of the human mitochondrial transcription machinery. *Mol Cell*. 2006 Dec 28;24(6):813–25.
145. Lin KL, Chen SD, Lin KJ, Liou CW, Chuang YC, Wang PW, et al. Quality Matters? The Involvement of Mitochondrial Quality Control in Cardiovascular Disease. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:636295.
146. Wang D, Ye P, Kong C, Chao Y, Yu W, Jiang X, et al. Mitoferrin 2 deficiency prevents mitochondrial iron overload-induced endothelial injury and alleviates atherosclerosis. *Exp Cell Res*. 2021 May 1;402(1):112552.
147. Xue X, Bredell BX, Anderson ER, Martin A, Mays C, Nagao-Kitamoto H, et al. Quantitative proteomics identifies STEAP4 as a critical regulator of mitochondrial dysfunction linking inflammation and colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Nov 7;114(45):E9608–17.
148. Yu H, Zhang F, Yan P, Zhang S, Lou Y, Geng Z, et al. LARP7 Protects Against Heart Failure by Enhancing Mitochondrial Biogenesis. *Circulation*. 2021 May 18;143(20):2007–22.
149. Maiti P, Kim HJ, Tu YT, Barrientos A. Human GTPBP10 is required for mitoribosome maturation. *Nucleic Acids Res*. 2018 Nov 30;46(21):11423–37.
150. Pérez MJ, Ivanyuk D, Panagiotakopoulou V, Di Napoli G, Kalb S, Brunetti D, et al. Loss of function of the mitochondrial peptidase PITRM1 induces proteotoxic stress and Alzheimer's disease-like pathology in human cerebral organoids. *Mol Psychiatry*. 2021 Oct;26(10):5733–50.
151. Ramaccini D, Montoya-Urbe V, Aan FJ, Modesti L, Potes Y, Wieckowski MR, et al. Mitochondrial Function and Dysfunction in Dilated Cardiomyopathy. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:624216.
152. Chen H, Ren S, Clish C, Jain M, Mootha V, McCaffery JM, et al. Titration of mitochondrial fusion rescues Mff-deficient cardiomyopathy. *J Cell Biol*. 2015 Nov 23;211(4):795–805.
153. Massaiu I, Campodonico J, Mapelli M, Salvioni E, Valerio V, Moschetta D, et al. Dysregulation of Iron Metabolism-Linked Genes at Myocardial Tissue and Cell Levels in Dilated Cardiomyopathy. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 2;24(3):2887.

154. Cheng X, Liu D, Song H, Tian X, Yan C, Han Y. Overexpression of Kininogen-1 aggravates oxidative stress and mitochondrial dysfunction in DOX-induced cardiotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021 Apr 23;550:142–50.
155. Toyama T, Kudryashova TV, Ichihara A, Lenna S, Looney A, Shen Y, et al. GATA6 coordinates cross-talk between BMP10 and oxidative stress axis in pulmonary arterial hypertension. *Sci Rep*. 2023 Apr 22;13(1):6593.
156. Li A, Gu L, Mu J, Li Y, Wang X, Jiang J, et al. GATA6 triggers fibroblast activation and tracheal fibrosis through the Wnt/ β -catenin pathway. *Cell Signal*. 2023 May;105:110593.
157. van Berlo JH, Elrod JW, van den Hoogenhof MMG, York AJ, Aronow BJ, Duncan SA, et al. The transcription factor GATA-6 regulates pathological cardiac hypertrophy. *Circ Res*. 2010 Oct 15;107(8):1032–40.
158. Gharibeh L, Yamak A, Whitcomb J, Lu A, Joyal M, Komati H, et al. GATA6 is a regulator of sinus node development and heart rhythm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2021 Jan 5;118(1):e2007322118.
159. Gutiérrez-Aguilar M, Baines CP. Physiological and pathological roles of mitochondrial SLC25 carriers. *Biochem J*. 2013 Sep 15;454(3):371–86.
160. Gammella E, Maccarinelli F, Buratti P, Recalcati S, Cairo G. The role of iron in anthracycline cardiotoxicity. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2014 [cited 2023 Dec 20];5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3935484/>
161. Yan F, Li K, Xing W, Dong M, Yi M, Zhang H. Role of Iron-Related Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Cardiovascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Sep 7;2022:5124553.
162. Zhang H, Jamieson KL, Grenier J, Nikhanj A, Tang Z, Wang F, et al. Myocardial Iron Deficiency and Mitochondrial Dysfunction in Advanced Heart Failure in Humans. *J Am Heart Assoc*. 2022 Jun 7;11(11):e022853.
163. Richardson DR, Lane DJR, Becker EM, Huang MLH, Whitnall M, Suryo Rahmanto Y, et al. Mitochondrial iron trafficking and the integration of iron metabolism between the mitochondrion and cytosol. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jun 15;107(24):10775–82.
164. K. M. Huang et al., ‘Targeting OCT3 attenuates doxorubicin-induced cardiac injury’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 118, no. 5, p. e2020168118, Feb. 2021, doi: 10.1073/pnas.2020168118..
165. Li J, Wang PY, Long NA, Zhuang J, Springer DA, Zou J, et al. p53 prevents doxorubicin cardiotoxicity independently of its prototypical tumor suppressor activities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Sep 24;116(39):19626-19634.
166. Nishi M, Wang PY, Hwang PM. Protective role of p53 in doxorubicin-induced cardiomyopathy as a mitochondrial disease. *Mol Cell Oncol*. 2020 Feb 23;7(3):1724598.

167. McSweeney KM, Bozza WP, Alterovitz WL, Zhang B. Transcriptomic profiling reveals p53 as a key regulator of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cell Death Discov.* 2019 Jun 12;5(1):1–11.
168. Pinnamaneni JP, Singh VP, Kim MB, Ryan CT, Pugazenthi A, Sanagasetti D, et al. p63 silencing induces epigenetic modulation to enhance human cardiac fibroblast to cardiomyocyte-like differentiation. *Sci Rep.* 2022 Jul 6;12(1):11416.
169. Rouleau M, Medawar A, Hamon L, Shivtiel S, Wolchinsky Z, Zhou H, et al. TAp63 is important for cardiac differentiation of embryonic stem cells and heart development. *Stem Cells.* 2011 Nov;29(11):1672–83.
170. Nakamura T, Ueda Y, Juan Y, Katsuda S, Takahashi H, Koh E. Fas-mediated apoptosis in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats: In vivo study. *Circulation.* 2000 Aug 1;102(5):572–8.
171. Tian Y, Cohen ED, Morrissey EE. The importance of Wnt signaling in cardiovascular development. *Pediatr Cardiol.* 2010 Apr;31(3):342–8.
172. Kahn M. Can we safely target the WNT pathway? *Nat Rev Drug Discov.* 2014 Jul;13(7):513–32.
173. Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell.* 2017 Jun 1;169(6):985–99.
174. Hu YH, Liu J, Lu J, Wang PX, Chen JX, Guo Y, et al. sFRP1 protects H9c2 cardiac myoblasts from doxorubicin-induced apoptosis by inhibiting the Wnt/PCP-JNK pathway. *Acta Pharmacol Sin.* 2020 Sep;41(9):1150–7.
175. Liang L, Tu Y, Lu J, Wang P, Guo Z, Wang Q, et al. Dkk1 exacerbates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *J Cell Sci.* 2019 May 16;132(10):jcs228478.
176. Foulquier S, Daskalopoulos EP, Lluri G, Hermans KCM, Deb A, Blankesteyn WM. WNT Signaling in Cardiac and Vascular Disease. *Pharmacol Rev.* 2018 Jan;70(1):68–141.
177. Wang X, Wang X, Liu Y, Dong Y, Wang Y, Kassab MA, et al. LGR5 regulates gastric adenocarcinoma cell proliferation and invasion via activating Wnt signaling pathway. *Oncogenesis.* 2018 Aug 9;7(8):57.
178. Ou-Yang J, Huang LH, Sun XX. Cyclin-Dependent Kinase 14 Promotes Cell Proliferation, Migration and Invasion in Ovarian Cancer by Inhibiting Wnt Signaling Pathway. *Gynecol Obstet Invest.* 2017;82(3):230–9.
179. Flahaut M, Meier R, Coulon A, Nardou KA, Niggli FK, Martinet D, et al. The Wnt receptor FZD1 mediates chemoresistance in neuroblastoma through activation of the Wnt/ β -catenin pathway. *Oncogene.* 2009 Jun 11;28(23):2245–56.

180. Iarussi D, Galderisi M, Ratti G, Tedesco MA, Indolfi P, Casale F, et al. Left ventricular systolic and diastolic function after anthracycline chemotherapy in childhood. *Clin Cardiol.* 2001 Oct;24(10):663–9.
181. Ganame J, Claus P, Eyskens B, Uyttebroeck A, Renard M, D’hooge J, et al. Acute cardiac functional and morphological changes after Anthracycline infusions in children. *Am J Cardiol.* 2007 Apr 1;99(7):974–7.
182. Coelho-Filho OR, Shah RV, Mitchell R, Neilan TG, Moreno H, Simonson B, et al. Quantification of Cardiomyocyte Hypertrophy by Cardiac Magnetic Resonance. *Circulation* 2013 Sep 10;128(11):1225-33.
183. Jordan JH, Castellino SM, Meléndez GC, Klepin HD, Ellis LR, Lamar Z, et al. Left Ventricular Mass Change After Anthracycline Chemotherapy. *Circulation: Heart Failure* *Circ Heart Fail.* 2018 Jul;11(7):e004560.
184. Narezkina A, Nasim K. Anthracycline Cardiotoxicity. *Circulation: Heart Failure* 2019;12:e005910
185. Khurshid S, Lazarte J, Pirruccello JP, Weng LC, Choi SH, Hall AW, et al. Clinical and Genetic Associations of Deep Learning-Derived Cardiac Magnetic Resonance-Based Left Ventricular Mass. 2023. *Nat Commun* 14, 1558.
186. Carey AS, Liang L, Edwards J, Brandt T, Mei H, Sharp AJ, et al. Effect of Copy Number Variants on Outcomes for Infants With Single Ventricle Heart Defects. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013 Oct;6(5):444-51.
187. Kuang SQ, Guo DC, Prakash SK, McDonald MLN, Johnson RJ, Wang M, et al. Recurrent Chromosome 16p13.1 Duplications Are a Risk Factor for Aortic Dissections. *PLoS Genet.* 2011 Jun;7(6):e1002118.
188. Erhart P, Brandt T, Straub BK, Hausser I, Hentze S, Böckler D, et al. Familial aortic disease and a large duplication in chromosome 16p13.1. *Mol Genet Genomic Med.* 2018 May;6(3):441-445.
189. Reina-Couto M, Pereira-Terra P, Quelhas-Santos J, Silva-Pereira C, Albino-Teixeira A, Sousa T. Inflammation in Human Heart Failure: Major Mediators and Therapeutic Targets. *Front Physiol.* 2021 Oct 11;12:746494.
190. Murphy SP, Kakkar R, McCarthy CP, Januzzi JL. Inflammation in Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2020 Mar 24;75(11):1324–40.
191. Adamo L, Rocha-Resende C, Prabhu SD, Mann DL. Reappraising the role of inflammation in heart failure. *Nat Rev Cardiol.* 2020 May;17(5):269-285.
192. Song W, Yang Z, He B. Bestrophin 3 ameliorates TNF α -induced inflammation by inhibiting NF- κ B activation in endothelial cells. *PLoS One.* 2014;9(10):e111093.

193. Huang C, Hedl M, Ranjan K, Abraham C. LACC1 Required for NOD2-Induced, ER Stress-Mediated Innate Immune Outcomes in Human Macrophages and LACC1 Risk Variants Modulate These Outcomes. *Cell Rep.* 2019 Dec 24;29(13):4525-4539.e4.
194. Yaron JR, Chen H, Ambadapadi S, Zhang L, Tafoya AM, Munk BH, et al. Serp-2, a virus-derived apoptosis and inflammasome inhibitor, attenuates liver ischemia-reperfusion injury in mice. *J Inflamm (Lond).* 2019 May 29;16:12.
195. Schmitz T, Harmel E, Heier M, Peters A, Linseisen J, Meisinger C. Inflammatory plasma proteins predict short-term mortality in patients with an acute myocardial infarction. *J Transl Med.* 2022 Oct 8;20(1):457.
196. Sawyer AJ, Garand M, Chaussabel D, Feng CG. Transcriptomic Profiling Identifies Neutrophil-Specific Upregulation of Cystatin F as a Marker of Acute Inflammation in Humans. *Front Immunol.* 2021 Apr 1;12:634119.
197. Kang JW, Yan J, Ranjan K, Zhang X, Turner JR, Abraham C. Myeloid Cell Expression of LACC1 is Required for Bacterial Clearance and Control of Intestinal Inflammation. *Gastroenterology.* 2020 Sep;159(3):1051-1067.
198. Xu ZY, Wang JC. LACC1 regulates changes in the intestinal flora in a mouse model of inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol.* 2023 Oct 17;23(1):358.
199. Huang J, Wei S, Jiang C, Xiao Z, Liu J, Peng W, et al. Involvement of Abnormal Gut Microbiota Composition and Function in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022 Feb 25;12:808837.
200. Kunika, Frey N, Rangrez AY. Exploring the Involvement of Gut Microbiota in Cancer Therapy-Induced Cardiotoxicity. *Int J Mol Sci.* 2023 Apr 14;24(8):7261.
201. Beale AL, O'Donnell JA, Nakai ME, Nanayakkara S, Vizi D, Carter K, et al. The Gut Microbiome of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *J Am Heart Assoc.* 2021 Jul 6;10(13):e020654.
202. Trøseid M, Andersen GØ, Broch K, Hov JR. The gut microbiome in coronary artery disease and heart failure: Current knowledge and future directions. *EBioMedicine.* 2020 Feb;52:102649.
203. Guo J, Xue H, Zhong H, Sun W, Zhao S, Meng J, et al. Involvement of LARP7 in Activation of SIRT1 to Inhibit NF- κ B Signaling Protects Microglia from Acrylamide-Induced Neuroinflammation. *Neurotox Res.* 2022 Dec;40(6):2016–26.
204. King KE, George AL, Sakakibara N, Mahmood K, Moses MA, Weinberg WC. Intersection of the p63 and NF- κ B pathways in epithelial homeostasis and disease. *Mol Carcinog.* 2019 Sep;58(9):1571–80.
205. Yang X, Lu H, Yan B, Romano RA, Bian Y, Friedman J, et al. Δ Np63 versatilely regulates a broad NF- κ B gene program and promotes squamous epithelial proliferation, migration and inflammation. *Cancer Res.* 2011 May 15;71(10):3688-700.

206. Lai S, Cheng R, Gao D, Chen YG, Deng C. LGR5 constitutively activates NF- κ B signaling to regulate the growth of intestinal crypts. *FASEB J*. 2020 Nov;34(11):15605–20.
207. Gordon JW, Shaw JA, Kirshenbaum LA. Multiple Facets of NF- κ B in the Heart. *Circ Res*. 2011 Apr 29;108(9):1122-32.
208. Jones WK, Brown M, Wilhide M, He S, Ren X. NF-kappaB in cardiovascular disease: diverse and specific effects of a ‘general’ transcription factor? *Cardiovasc Toxicol*. 2005;5(2):183–202.
209. Yu H, Lin L, Zhang Z, Zhang H, Hu H. Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. *Signal Transduct Target Ther*. 2020 Sep 21;5(1):209.
210. Cheng W, Cui C, Liu G, Ye C, Shao F, Bagchi AK, et al. NF- κ B, A Potential Therapeutic Target in Cardiovascular Diseases. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2021 Aug;35(4):815-828.
211. Hartupee J, Mann DL. Role of Inflammatory Cells in Fibroblast Activation. *J Mol Cell Cardiol*. 2016 Apr;93:143-8.
212. Pokidysheva E, Boudko S, Vranka J, Zientek K, Maddox K, Moser M, et al. Biological role of prolyl 3-hydroxylation in type IV collagen. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jan 7;111(1):161-6.
213. Khoshnoodi J, Pedchenko V, Hudson BG. Mammalian collagen IV. *Microsc Res Tech*. 2008 May;71(5):357–70.
214. Zhuang L, Ge X, Hu X, Yang Q, Pei X, Jin G. miR-543 regulates high glucose-induced fibrosis and autophagy in diabetic nephropathy by targeting TSPAN8. *BMC Nephrol*. 2022 Mar 4;23(1):89.
215. Roehlen N, Saviano A, El Saghire H, Crouchet E, Nehme Z, Del Zompo F, et al. A monoclonal antibody targeting nonjunctional claudin-1 inhibits fibrosis in patient-derived models by modulating cell plasticity. *Sci Transl Med*. 2022 Dec 21;14(676):eabj4221.
216. Zou J, Li Y, Yu J, Dong L, Husain AN, Shen L, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis is associated with tight junction protein alterations. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2020 May 1;1862(5):183205.
217. Hess K, Ajjan R, Phoenix F, Dobó J, Gál P, Schroeder V. Effects of MASP-1 of the complement system on activation of coagulation factors and plasma clot formation. *PLoS One*. 2012;7(4):e35690.
218. Zha Y, Li Y, Ge Z, Wang J, Jiao Y, Zhang J, et al. ADAMTS8 Promotes Cardiac Fibrosis Partly Through Activating EGFR Dependent Pathway. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Feb 10;9:797137.
219. Omura J, Satoh K, Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, et al. ADAMTS8 Promotes the Development of Pulmonary Arterial Hypertension and Right Ventricular Failure. *Circ Res*. 2019 Oct 25;125(10):884-906.

220. Balligand JL. KLF6 orchestrates cardiac myocyte-to-fibroblast communication: ‘He who has ears to hear, let him hear’. *Cardiovasc Res*. 2015 Sep 1;107(4):397-9.
221. Sawaki D, Hou L, Tomida S, Sun J, Zhan H, Aizawa K, et al. Modulation of cardiac fibrosis by Krüppel-like factor 6 through transcriptional control of thrombospondin 4 in cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*. 2015 Sep 1;107(4):420-30.
222. Bing R, Dweck MR. Myocardial fibrosis: why image, how to image and clinical implications. *Heart*. 2019 Dec;105(23):1832–40.
223. Polygenic Risk Score Task Force of the International Common Disease Alliance. Responsible use of polygenic risk scores in the clinic: potential benefits, risks and gaps. *Nat Med*. 2021 Nov;27(11):1876–84.
224. Choi SW, Mak TSH, O’Reilly PF. A guide to performing Polygenic Risk Score analyses. *Nat Protoc*. 2020 Sep;15(9):2759-2772.
225. Lambert SA, Abraham G, Inouye M. Towards clinical utility of polygenic risk scores. *Hum Mol Genet*. 2019 Nov 21;28(R2):R133–42.
226. Graham IM, Di Angelantonio E, Visseren F, De Bacquer D, Ference BA, Timmis A, et al. Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE): JACC Focus Seminar 4/8. *J Am Coll Cardiol*. 2021 Jun 22;77(24):3046–57.
227. Hassanin E, Spier I, Bobbili DR, Aldisi R, Klinkhammer H, David F, et al. Clinically relevant combined effect of polygenic background, rare pathogenic germline variants, and family history on colorectal cancer incidence. *BMC Med Genomics*. 2023 Mar 5;16(1):42.
228. O’Sullivan JW, Raghavan S, Marquez-Luna C, Luzum JA, Damrauer SM, Ashley EA, et al. Polygenic Risk Scores for Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2022 Aug 23;146(8):e93–118.
229. Lewis ACF, Green RC. Polygenic risk scores in the clinic: new perspectives needed on familiar ethical issues. *Genome Med*. 2021 Jan 28;13(1):14.
230. Sapkota Y, Liu Q, Li N, Bhatt NS, Ehrhardt MJ, Wilson CL, et al. Contribution of Genome-Wide Polygenic Score to Risk of Coronary Artery Disease in Childhood Cancer Survivors. *JACC CardioOncol*. 2022 Jun 21;4(2):258-267.
231. Kiflen M, Le A, Mao S, Lali R, Narula S, Xie F, et al. Cost-Effectiveness of Polygenic Risk Scores to Guide Statin Therapy for Cardiovascular Disease Prevention. *Circ Genom Precis Med*. 2022 Oct;15(5):e003423.

ANEXOS

8. ANEXOS

Tabla anexa 1. Lista de genes asociados a miocardiopatías utilizada en el filtrado de las variantes de la WES.

A2ML1 ABCC9 ACTA2 ACTC1 ACTN2 ADAMTS2 AKAP9 ALPK3 ANK2 ANKRD1 ANO5 ASPH B4GALT7 BAG3 BGN BRAF CACNA1C CACNA1D CACNA2D1 CACNB2 CALM1 CALM2 CALM3 CALR3 CASQ2 CAV3 CBS CCM2 CHST14 COL1A1 COL1A2 COL3A1 COL5A1 COL5A2 CRYAB CSRP3 CTF1 CTNNA3 DES DMD DSC2 DSE DSG2 DSP DTNA EFEMP2 ELN EMD EYA4 FBN1 FBN2 FHL1 FHL2 FHOD3 FKBP14 FKTN FLNA FLNC GATA4 GATAD1 GJA1 GJA5 GLA GPD1L HCN4 HTRA1 ILK JPH2 JUP KCNA5 KCND3 KCNE1 KCNE5 KCNE2 KCNE3 KCNH2 KCNJ2 KCNJ5 KCNJ8 KCNQ1 KRAS KRIT1 LAMA4 LAMP2 LDB3 LMNA LMNB2 LOX MIB1 MYBPC3 MYH11 MYH6 MYH7 MYL2 MYL3 MYLK MYLK2 MYOT MYOZ1 MYOZ2 MYPN NEBL NEXN NKX2-5 NOS1AP NOTCH1 NPPA PDLIM3 PKP2 PLN PLOD1 PRDM16 PRKAG2 PRKG1 PTPN11 RAF1 RANGRF RBM20 RIT1 RYR2 SCN10A SCN1B SCN2B SCN3B SCN4B SCN5A SGCD SKI SLC2A10 SLC8A1 SLMAP SMAD3 SMAD4 SNTA1 SOS1 TAFAZZIN TBX20 TBX5 TCAP TGFB2 TGFB3 TGFBRI TGFBRI2 TMEM43 TMPO TNNC1 TNNI3 TNNT2 TNXB TP63 TPM1 TRDN TRIM63 TRPM4 TTN TTR TXNRD2 VCL MFAP5 GAA SDHA SMAD

Tabla anexa 2. Conjunto de genes priorizados por FUMA en el metaanálisis caso-control. Se muestran los genes asignados a cada locus de riesgo genómico y el método de mapeo mediante el cual se detectó. “x” indica detectado por ese método. Los genes en negrita fueron detectados por más de un método, y los resultados en amarillo por todos.

GenomicLocus	IndSigSNP	CHR	POS	P-value	Gene	Position mapping	eQTL mapping	Chromatin interaction mapping
1	rs10909835	1	2813474	9,42x10 ⁻⁶				
2	rs11898214	2	228073155	2,91x10 ⁻⁷	<i>NYAP2</i>			x
					<i>COL4A4</i>			x
					<i>COL4A3</i>	x		x
					<i>MFF</i>			
					<i>DNER</i>			x
3	rs112984061	3	16057528	4,76x10 ⁻⁶	<i>COLQ</i>			x
					<i>HACL1</i>			x
					<i>BTB</i>			x
					<i>ANKRD28</i>			x
					<i>GALNT15</i>			x
4	rs6765460	3	189195686	1,89x10 ⁻⁷	<i>KNG1</i>			x
					<i>MASP1</i>			x
					<i>RTP2</i>			x
					<i>TMEM207</i>			x
					<i>TP63</i>			x
					<i>LEPREL1</i>			x
					<i>CLDN1</i>			x
5	rs11931530	4	76492563	4,74x10 ⁻⁶	<i>C4orf26</i>		x	
6	rs6943725	7	48339730	2,08x10 ⁻⁶	<i>VWC2</i>			x
					<i>ZBPB</i>			x
					<i>DDC</i>			x
7	rs6955446	7	90352602	2,55x10 ⁻⁶	<i>STAP4</i>			x
					<i>ZNF804B</i>			x
					<i>C7orf63</i>			x
					<i>GTPBP10</i>			x
					<i>CLDN12</i>			x
					<i>CDK14</i>	x		x
					<i>FZD1</i>			x
					<i>MTERF</i>			x
					<i>LRRD1</i>			x
8	rs73138527	12	71842612	8,47x10 ⁻⁶	<i>BEST3</i>			x
					<i>MYRFL</i>			x
					<i>TSPAN8</i>	x		x
					<i>LGR5</i>	x		x
					<i>ZFC3H1</i>			x
					<i>THAP2</i>			x
					<i>TMEM19</i>			x
9	rs9533816	13	44884653	6,50x10 ⁻⁶	<i>CCDC122</i>			x
					<i>LACC1</i>			x
					<i>SMIM2</i>			x
					<i>SERP2</i>			x
10	rs72789541	16	15127534	8,53x10 ⁻⁶	<i>NPIPA1</i>		x	
					<i>PDXDC1</i>	x	x	x
					<i>NTANI</i>	x		x
					<i>RRN3</i>	x	x	
					<i>NPIPA5</i>		x	
11	rs6566062	18	72943863	2,34x10 ⁻⁶				
12	rs4803842	19	46155049	3,93x10 ⁻⁶				
13	rs6036707	20	24232440	8,71x10 ⁻⁶	<i>FOXA2</i>			x
					<i>CST2</i>			x
					<i>CST5</i>			x
					<i>CST7</i>			x
					<i>APMAP</i>			x
					<i>VSX1</i>			x
14	rs8131496	21	34343188	2,65x10 ⁻⁶	<i>C21orf54</i>			x

Tabla anexa 3. Conjunto de genes priorizados por FUMA en el metaanálisis de fenotipos extremos. Se muestran los genes asignados a cada locus de riesgo genómico y el método de mapeo mediante el cual se detectó. “x” indica detectado por ese método.

GenomicLocus	IndSigSNP	CHR	POS	P-value	Gene	Position mapping	eQTL mapping	Chromatin interaction mapping
1	rs72675867	1	79422702	7,90x10 ⁻⁶				
2	rs61773285	1	87874006	5,88x10 ⁻⁶				
3	rs186716941	3	35503728	7,57x10 ⁻⁶				
4	rs78231687	3	74165882	2,84x10 ⁻⁶				
5	rs6778906	3	174476314	2,65x10 ⁻⁶				
6	rs78624937	4	97884	1,55x10 ⁻⁷				
7	rs74872306	4	42729988	1,76x10 ⁻⁶				
8	rs11728669	4	79926533	3,67x10 ⁻⁶	<i>PRDM8</i>			x
					<i>C4orf22</i>			x
					<i>BMP3</i>			x
9	rs146981049	4	113428898	4,64x10 ⁻⁶	<i>C4orf21</i>		x	
					<i>LARP7</i>		x	
10	rs182817125	4	158406013	1,08x10 ⁻⁶				
11	rs116255473	4	187315330	7,26x10 ⁻⁶				
12	rs140186465	4	189235553	6,79x10 ⁻⁶				
13	rs74966686	5	85318356	7,54x10 ⁻⁶				
14	rs72792008	5	126857435	7,78x10 ⁻⁶				
15	rs540167506	6	25701973	3,57x10 ⁻⁷	<i>HIST1H4E</i>		x	
					<i>BTN3A2</i>		x	
16	rs1631333	6	64135977	9,90x10 ⁻⁶				
17	rs144623642	6	106877103	1,33x10 ⁻⁶				
18	rs190415987	6	160607558	4,45x10 ⁻⁶				
19	rs140753557	6	162520329	6,27x10 ⁻⁶				
20	rs118117193	6	166316497	6,04x10 ⁻⁶				
21	rs33963491	8	76559339	1,52x10 ⁻⁶				
22	rs372588763	8	102353072	8,98x10 ⁻⁶				
23	rs76987869	8	122062748	1,25x10 ⁻⁶				
24	rs77828414	8	133577525	9,33x10 ⁻⁶				
25	rs112138284	9	267224	6,68x10 ⁻⁶				
26	rs77418183	9	21929486	7,03x10 ⁻⁶				
27	rs12001974	9	37460561	5,93x10 ⁻⁶				
28	rs145947033	10	3969667	1,93x10 ⁻⁷	<i>PITRM1</i>			x
					<i>KLF6</i>			x
					<i>FAM208B</i>			x
29	rs880826	10	29370326	8,92x10 ⁻⁶				
30	rs200781939	10	60366704	6,56x10 ⁻⁶				
31	rs112148102	10	65747156	7,21x10 ⁻⁶				
32	rs4919427	10	101910498	9,49x10 ⁻⁷	<i>ZFYVE27</i>			x
					<i>SLC25A28</i>			x
					<i>ERLIN1</i>	x		
					<i>CHUK</i>	x		
					<i>CWF19L1</i>	x		
33	rs12290176	11	43248006	8,23x10 ⁻⁶				
34	rs78367094	11	130513947	4,31x10 ⁻⁶	<i>ADAMTS8</i>			x
					<i>ADAMTS15</i>			x
35	rs118091262	13	112653024	4,55x10 ⁻⁶				
36	rs146481058	15	46829422	8,98x10 ⁻⁶				
37	rs79154485	15	87176786	9,96x10 ⁻⁶				
38	rs143207045	16	31968691	5,04x10 ⁻⁷				
39	rs114769076	17	13361837	7,11x10 ⁻⁶				
40	rs79209309	17	52802769	3,69x10 ⁻⁶				
41	rs548173058	18	5160950	5,98x10 ⁻⁶				
42	rs11320574	18	20220136	3,36x10 ⁻⁶	<i>GATA6</i>			x
43	rs11661242	18	24491418	1,81x10 ⁻⁶	<i>CHST9</i>		x	
44	rs4816549	21	38154475	5,66x10 ⁻⁶				

INFORME DEL COMITE DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

D^a Almudena Castro Conde, Presidenta del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Hospital Universitario La Paz

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado, a propuesta de la Fundación Investigación Biomédica Hospital La Paz (FIBHULP), al **Protocolo Versión 07 (15/01/2020)** y **Hoja de Información /CI Versión 07 (15/01/20)** del estudio titulado **'ANÁLISIS DE MARCADORES GENÉTICOS Y TOXICIDAD CARDIOVASCULAR POR AGENTES ANTITUMORALES'**, código del protocolo cardiotoxgen-2016-01, código HULP: **PI-2389**,

y considera que teniendo en cuenta la respuesta a las aclaraciones solicitadas dichos cambios no afectan a la seguridad del estudio, ni entran en conflicto con las Normas de Buena Práctica Clínica, por lo que se decide su Aprobación.

Lo que firmo en Madrid a 20 de febrero de 2020

Firmado digitalmente por MARIA EMMA FERNANDEZ DE UZQUIANO
Emitido por FNMT
Fecha: 2020.02.27 10:56:40 CET
Huella dig.: 46e00fcdc1788a7ea8ba3bf394f7f1e2e14f8367

Firmado: D^a Almudena Castro Conde

El Dr. Buño se ausentó de la reunión durante la evaluación de la enmienda





El éxito en el tratamiento del cáncer está empañado por los eventos adversos que tienen algunos fármacos sobre la función cardíaca, lo que se ha denominado disfunción cardíaca relacionada con la terapia del cáncer (DCRTC). El objetivo principal de este proyecto es identificar marcadores genéticos claves en el desarrollo de la DCRTC, buscando en última instancia la predicción del riesgo de eventos cardíacos severos en los pacientes con cáncer. Para ello utilizamos tres enfoques genéticos distintos: secuenciación del exoma completo, estudio de asociación del genoma completo, y estima de riesgo poligénico. Nuestros hallazgos respaldan la hipótesis de que la variación genética contribuye a la susceptibilidad de la DCRTC, y nos ayudan a comprender mejor los mecanismos que la originan.