

Artículo original

# Expresividad variable de una mutación fundadora en el gen *EIF2AK4* en pacientes con enfermedad venooclusiva pulmonar hereditaria. Impacto en la supervivencia



Paula Navas Tejedor<sup>a</sup>, Julián Palomino Doza<sup>b,c</sup>, Jair Antonio Tenorio Castaño<sup>d,e</sup>, Ana Belén Enguita Valls<sup>f</sup>, José Julián Rodríguez Reguero<sup>g</sup>, Amaya Martínez Meñaca<sup>h</sup>, Ignacio Hernández González<sup>c,i</sup>, Héctor Bueno Zamora<sup>c,j,k</sup>, Pablo Daniel Lapunzina Badía<sup>d,e,◇</sup> y Pilar Escribano Subías<sup>c,i,j,◇,\*</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Cardiología, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

<sup>b</sup> Unidad de Cardiopatías Familiares, Servicio de Cardiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

<sup>c</sup> Servicio de Cardiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

<sup>d</sup> Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM), Instituto de Investigación La Paz (IdiPAZ), Hospital Universitario La Paz, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

<sup>e</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

<sup>f</sup> Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

<sup>g</sup> Servicio de Cardiología, Hospital Central de Asturias, Oviedo, Asturias, España

<sup>h</sup> Servicio de Neumología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, Cantabria, España

<sup>i</sup> Unidad Multidisciplinar de Hipertensión Pulmonar, Servicio de Cardiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

<sup>j</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

<sup>k</sup> Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, España

## Historia del artículo:

Recibido el 18 de enero de 2017

Aceptado el 27 de marzo de 2017

On-line el 16 de mayo de 2017

## Palabras clave:

Enfermedad venooclusiva pulmonar familiar

Hipertensión arterial pulmonar

*EIF2AK4*

Vasodilatadores pulmonares

Etnia gitana

## RESUMEN

**Introducción y objetivos:** La enfermedad venooclusiva pulmonar (EVOP) hereditaria se relaciona con mutaciones bialélicas en *EIF2AK4* y se ha descrito una mutación fundadora en pacientes ibéricos de etnia gitana con EVOP familiar. Los objetivos son la caracterización fenotípica y el análisis de supervivencia de pacientes ibéricos de etnia gitana con EVOP familiar portadores de la mutación fundadora p.Pro1115Leu en *EIF2AK4*, según su tolerancia clínica a vasodilatadores pulmonares (VDP). Estudio genético familiar y análisis de factores socioculturales de la etnia con potencial impacto en la propagación de la enfermedad.

**Métodos:** Estudio observacional de pacientes de etnia gitana con EVOP familiar incluidos en el Registro Español de Hipertensión Arterial Pulmonar. Se realizó estudio genético de *EIF2AK4* a casos afectados y familiares (noviembre 2011-julio 2016) y estudio histopatológico pulmonar en caso de trasplante pulmonar o fallecimiento. Los pacientes se clasificaron en tolerantes y no tolerantes a VDP, comparando sus características basales y la supervivencia libre de fallecimiento o el trasplante.

**Resultados:** Se estudió a 18 pacientes (9 casos índice y 9 familiares afectados). Se halló la mutación fundadora en homocigosis en *EIF2AK4* en todos ellos y en 2 familiares sanos, y en heterocigosis en el 34,2% de familiares sanos. Se observó elevada consanguineidad, edad joven de reproducción con multiparidad y pronóstico sombrío de nuestra cohorte existiendo diferencias significativas entre pacientes tolerantes y no tolerantes.

**Conclusiones:** Se describen 2 fenotipos de EVOP hereditaria en etnia gitana según tolerancia a VDP e histología pulmonar, con impacto pronóstico y distribución familiar. Destacamos el papel de la consanguineidad en la propagación de la enfermedad y una alta rentabilidad del cribado genético familiar. © 2017 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Variable Expressivity of a Founder Mutation in the *EIF2AK4* Gene in Hereditary Pulmonary Venous-occlusive Disease and Its Impact on Survival

## ABSTRACT

**Introduction and objectives:** Hereditary pulmonary venous-occlusive disease (PVOD) has been associated with biallelic mutations in *EIF2AK4* with the recent discovery of a founder mutation in Iberian Romani patients with familial PVOD. The aims of this study were phenotypical characterization and survival analysis of Iberian Romani patients with familial PVOD carrying the founder p.Pro1115Leu mutation in *EIF2AK4*, according to their tolerance to pulmonary vasodilators (PVD). Familial genetic screening was conducted, as well as assessment of sociocultural determinants with a potential influence on disease course.

## Keywords:

Hereditary pulmonary venous-occlusive disease

Pulmonary arterial hypertension

*EIF2AK4*

Pulmonary vasodilators

Romani ethnicity

\* Autor para correspondencia: Unidad Multidisciplinar de Hipertensión Pulmonar, Servicio de Cardiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Avda. de Córdoba s/n, 28041 Madrid, España.

Correo electrónico: [mariapilar.escribano@salud.madrid.org](mailto:mariapilar.escribano@salud.madrid.org) (P. Escribano Subías).

◇ Ambos autores han colaborado por igual en la elaboración del manuscrito.

**Methods:** Observational study of Romani patients with familial PVOD included in the Spanish Registry of Pulmonary Arterial Hypertension. Genetic screening of *EIF2AK4* was performed in index cases and relatives between November 2011 and July 2016 and histological pulmonary examination was carried out in patients who received a lung transplant or died. The patients were divided into 2 groups depending on their tolerance to PVD, with comparison of baseline characteristics and survival free of death or lung transplant.

**Results:** Eighteen Romani patients were included: 9 index cases and 9 relatives. The biallelic founder mutation in *EIF2AK4* was found in all affected cases and 2 unaffected relatives. Family screening showed 34.2% of healthy heterozygotes, high consanguinity, young age at childbirth, and frequent multiparity. Prognosis was bleak, with significant differences depending on tolerance to PVD.

**Conclusions:** We describe 2 phenotypes of hereditary PVOD depending on tolerance to PVD, with prognostic impact and familial distribution. Consanguinity may have a negative impact on the transmission of PVOD, with familial genetic screening showing high effectiveness.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org/en](http://www.revespcardiol.org/en)

© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

### Abreviaturas

DLCO: capacidad de difusión del monóxido de carbono  
 EVOP: enfermedad venooclusiva pulmonar  
 VDP: vasodilatadores pulmonares

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad venooclusiva pulmonar (EVOP) es una forma rara agresiva de hipertensión arterial pulmonar caracterizada por la afección venosa pulmonar con aumento progresivo de la resistencia vascular pulmonar, insuficiencia respiratoria hipoxémica, fallo ventricular derecho y eventual fallecimiento<sup>1–4</sup>.

Su diagnóstico se basa en hallazgos clínicos y radiológicos compatibles, junto con disminución marcada de la capacidad de difusión del monóxido de carbono (DLCO) y un lavado broncoalveolar sugestivo. Para el diagnóstico de certeza se precisa confirmación histológica previa<sup>5</sup>. Su presentación clínica es diversa y se han descrito mutaciones en el gen *EIF2AK4* en formas familiares y esporádicas de EVOP/hemangiomas capilar pulmonar<sup>2,6,7</sup>. Actualmente no se conocen otros genes relacionados con su desarrollo y el hallazgo de una mutación homocigota en el gen *EIF2AK4* se considera diagnóstico de EVOP/hemangiomas capilar pulmonar<sup>8</sup>. Así, se describe una mutación fundadora homocigota –c.3344C>T(p.Pro1115Leu)– en dicho gen en 18 pacientes de etnia gitana con una forma agresiva de EVOP familiar caracterizada por temprana edad al diagnóstico, grave disminución de la DLCO y corta supervivencia<sup>8–10</sup>.

La evidencia disponible acerca de la tolerancia a vasodilatadores pulmonares (VDP) en EVOP muestra resultados contradictorios, sin que existan factores predictores<sup>1,2</sup>, y se desaconseja su uso; por lo que el trasplante pulmonar es el único tratamiento eficaz disponible<sup>11,12</sup>.

Los objetivos principales de este trabajo son la caracterización fenotípica y el análisis de la supervivencia libre de fallecimiento o trasplante pulmonar de una cohorte de pacientes ibéricos de etnia gitana con EVOP familiar –portadores de la mutación fundadora (p.Pro1115Leu) en el gen *EIF2AK4*– atendiendo a su tolerancia clínica al tratamiento sostenido con VCP. Los objetivos secundarios son: a) estimar la prevalencia de portadores heterocigotos y homocigotos mediante el cribado genético familiar, y b) analizar factores socioculturales de la etnia gitana con potencial impacto en la propagación de la enfermedad.

## MÉTODOS

El presente estudio se enmarca dentro del proyecto español multicéntrico de genética en hipertensión pulmonar. Se trata de un estudio observacional de pacientes de etnia gitana con EVOP familiar incluidos en el Registro Español de Hipertensión Arterial Pulmonar (REHAP). El estudio genético se llevó a cabo desde noviembre de 2011 hasta julio de 2016. El diagnóstico de sospecha de EVOP se basó en criterios clínicos (hipertensión arterial pulmonar precapilar con DLCO reducida) junto con un patrón tomográfico compatible (adenopatías mediastínicas, engrosamiento septal y nódulos centrolobulillares). Se consideró EVOP familiar a aquellos casos con 1 o más familiares con diagnóstico de certeza o familiares vivos o fallecidos con historia sugestiva de EVOP. En el análisis se incluyeron los datos clínicos incluidos en el registro REHAP<sup>13</sup> ([anexo 1 del material suplementario](#)).

Se clasificó a los pacientes en 2 subgrupos según su respuesta crónica a VDP: a) no tolerantes, en caso de desarrollo de edema pulmonar clínico o subclínico o progresión de la insuficiencia respiratoria tras su inicio (mayor desaturación basal o al esfuerzo), y b) tolerantes, en caso de mejoría clínica (mejoría de la capacidad funcional) y hemodinámica (reducción de la resistencia vascular pulmonar y/o presión de la aurícula derecha y/o aumento del índice cardiaco) en las visitas consecutivas tras su inicio.

### Estudio genético

Previo consentimiento informado, se realizó extracción de sangre periférica a probandos y familiares. El estudio genético se llevó a cabo en el Instituto de Genética Médica y Molecular del Hospital Universitario La Paz, Madrid ([anexo 2 del material suplementario](#)).

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS 22 (SPSS; Chicago, Illinois, Estados Unidos). Los datos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar con un nivel de significación de  $p \leq 0,05$ .

El análisis de la supervivencia se llevó a cabo mediante el método de Kaplan-Meier con el valor basal, la fecha al diagnóstico y la fecha de fin de seguimiento (15 de octubre de 2016) y se definió el valor del evento como fallecimiento o trasplante pulmonar.

Se utilizó el test de *log rank* para la comparación de la supervivencia entre los pacientes con EVOP portadores de una mutación en *EIF2AK4* tolerantes a VDP pulmonares y los no tolerantes.

### Estudio familiar y perfil sociocultural

Se ofreció el estudio genético a todos los familiares de primer y segundo grado, cónyuges de portadores en heterocigosis u homocigosis y a su descendencia.

En la primera consulta de consejo genético se elaboró el árbol genealógico y se extrajo la muestra de los casos índice. Los resultados del estudio genético se comunicaron en la segunda visita.

Se recogieron datos de consanguinidad, número de gestaciones por paciente y edad en la primera gestación.

### Estudio anatomopatológico

El estudio histológico pulmonar se llevó a cabo en los pacientes fallecidos en los que se consintió la necropsia y en los pacientes sometidos a trasplante pulmonar, según el protocolo descrito en el [anexo 3 del material suplementario](#).

El estudio se ajusta a los principios de la Declaración de Helsinki y a la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal, previa aprobación del comité ético de los centros participantes. Todos los pacientes otorgaron su consentimiento informado por escrito.

### RESULTADOS

Desde el 1 de noviembre de 2011 hasta el 1 de julio de 2016, se estudió genéticamente a 18 pacientes de etnia gitana con EVOP familiar incluidos en el registro REHAP: 9 casos índice y 9 familiares

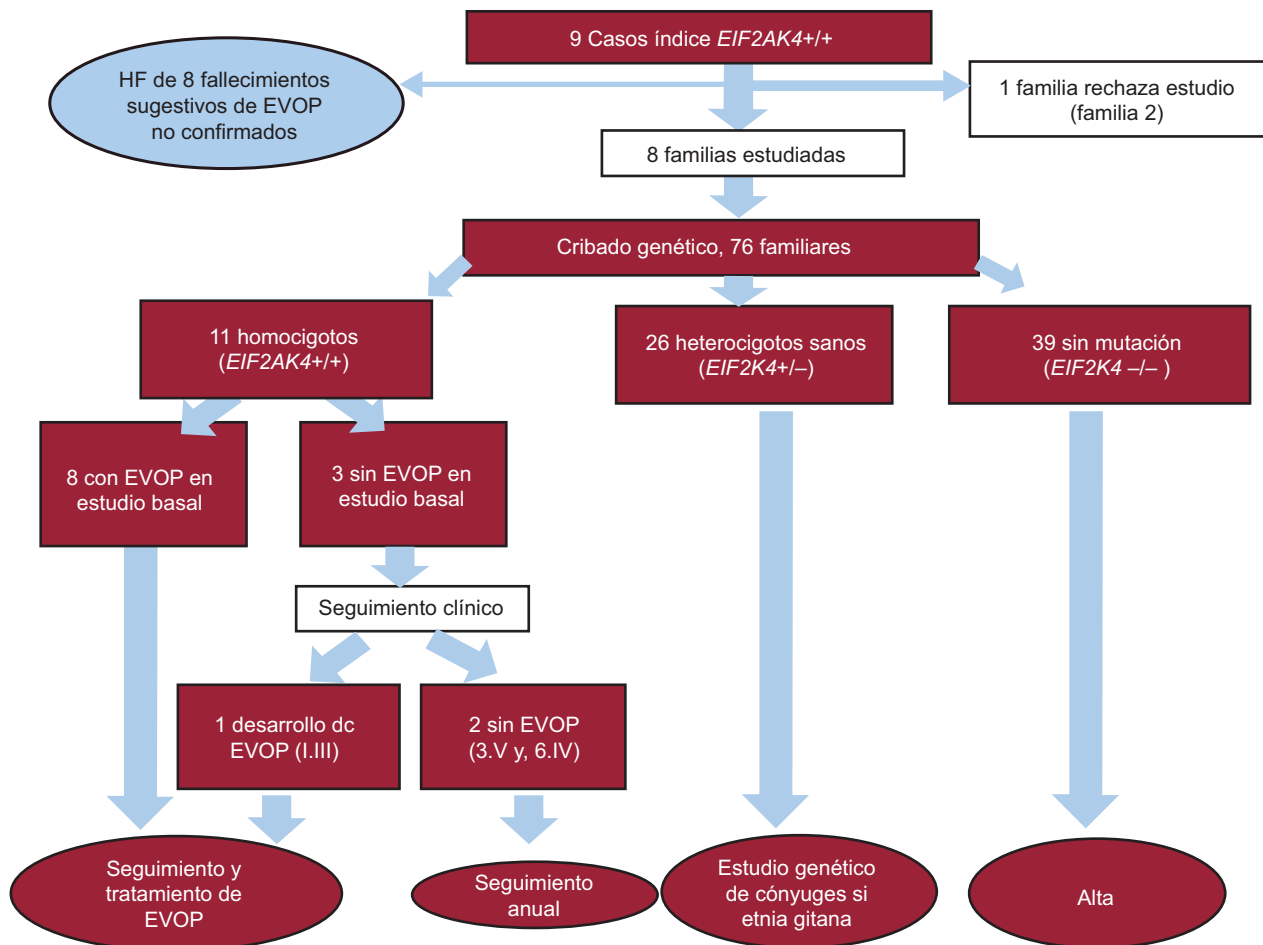
afectados. El 1 de julio de 2016 había un total de 78 pacientes con diagnóstico de EVOP registrados en el REHAP: 19 (24,3%) con EVOP familiar y 59 con otras formas de EVOP. De los 19 pacientes con EVOP familiar, 18 eran de etnia gitana y se incluyeron en el presente estudio.

Se identificó entre ellos 9 casos índice, todos ellos portadores de la mutación fundadora c.3344C>T(p.Pro1115Leu) en el gen *EIF2AK4* provenientes de 9 familias de etnia gitana distintas: 8 del norte de España y 1 de Portugal. Los 9 casos restantes eran familiares de primer grado de los 9 casos índice, afectados también por la enfermedad y diagnosticados a raíz del estudio genético familiar; por lo que se recogen en el estudio familiar.

### Estudio familiar

Se propuso el cribado mutacional a las 9 familias incluidas. Una de ellas lo rechazó y otra lo aceptó de manera diferida porque en el momento de elaborar este documento estaba pendiente de recibir los resultados. En consecuencia, se ha estudiado a 7 de las 9 familias afectadas y a un total de 76 familiares. Se han encontrado 37 portadores de la mutación (11 en homocigosis y 26 en heterocigosis) y 39 familiares sin mutación ([figura 1](#)). De los 11 homocigotos, 8 presentaban criterios diagnósticos de EVOP en la valoración inicial ( $30 \pm 8,4$  años; 50% varones) y uno la desarrolló con posterioridad (a los 17 años).

Se identificaron, por tanto, 18 casos de EVOP familiar (9 casos índice y 9 familiares) diagnosticados a raíz del estudio familiar.



**Figura 1.** Diagrama resumen del estudio familiar. *EIF2AK4*+/+: homocigoto; *EIF2AK4* +/-: heterocigoto; *EIF2AK4* -/-: no portador; EVOP: enfermedad venooclusiva pulmonar; HF: historia familiar positiva para EVOP.

Además, los antecedentes familiares revelaron 8 familiares fallecidos a edades tempranas con historia sugestiva de EVOP, aunque sin estudio genético ni confirmación diagnóstica (figura 1). Los árboles genealógicos se recogen en las figuras 1–9 del material suplementario.

### Cribado mutacional

El estudio genético reveló una variante tipo *missense* en el exón 23 del gen *EIF2AK4* –c.3344C>T(p.Pro1115Leu)– en homocigosis en los 9 probandos iniciales. Dicha mutación se consideró patogénica debido a la alta conservación de Pro1115 en la evolución, a los predictores bioinformáticos, a su baja frecuencia en la población general y a la cosegregación con la enfermedad (anexo 4 del material suplementario y tabla del material suplementario)

La penetrancia estimada fue del 90% (18 de 20) y en el momento del estudio había 2 portadores homocigóticos sanos. No se encontró fenotipo en los portadores heterocigotos.

### Descripción de los casos afectados

Se estudiaron las características clínicas y la evolución de los 18 homocigotos afectados (tabla 1). Atendiendo al perfil de respuesta a VDP, se clasificó a los pacientes en no tolerantes (6 pacientes de 3 familias) y tolerantes (12 pacientes de 6 familias) (figura 2 y figura 3). No se observaron diferencias en las respuestas dentro de una misma familia; es decir, los miembros de cada una de las familias eran tolerantes o no tolerantes.

### Análisis del pronóstico y curso clínico

En la tabla 2 y en la figura 3 se resume el curso clínico y la supervivencia de la serie global de homocigotos afectados, así como de ambos subgrupos: tolerantes y no tolerantes. No se incluyó a los homocigotos asintomáticos ni a los heterocigotos.

### Descripción anatomopatológica

Se realizó estudio anatomopatológico en 8 pacientes (2 necropsias y 6 neumonectomías tras el trasplante). No se realizó estudio histológico a los 4 pacientes fallecidos ni a los 6 pacientes vivos. El estudio histológico permite diferenciar 2 perfiles de afección mantenidos en todos los miembros estudiados de cada familia. En las familias 1, 2 y 9 se observó afección histológica típica de EVOP, mientras que los hallazgos histológicos de los pacientes pertenecientes a la familia 3 fueron menos marcados y compatibles con el diagnóstico de EVOP en fase menos evolucionada (anexo 5 del material suplementario). En la figura 4 se muestran imágenes representativas de ambos subgrupos.

### Descripción sociocultural

En la tabla 1 se muestran las variables socioculturales estudiadas, entre las que cabe destacar un 100% de consanguineidad, frecuente multiparidad (con  $2,0 \pm 1,1$  hijos por paciente) y a edades tempranas (edad media en la primera gestación  $17,2 \pm 7$  años).

### DISCUSIÓN

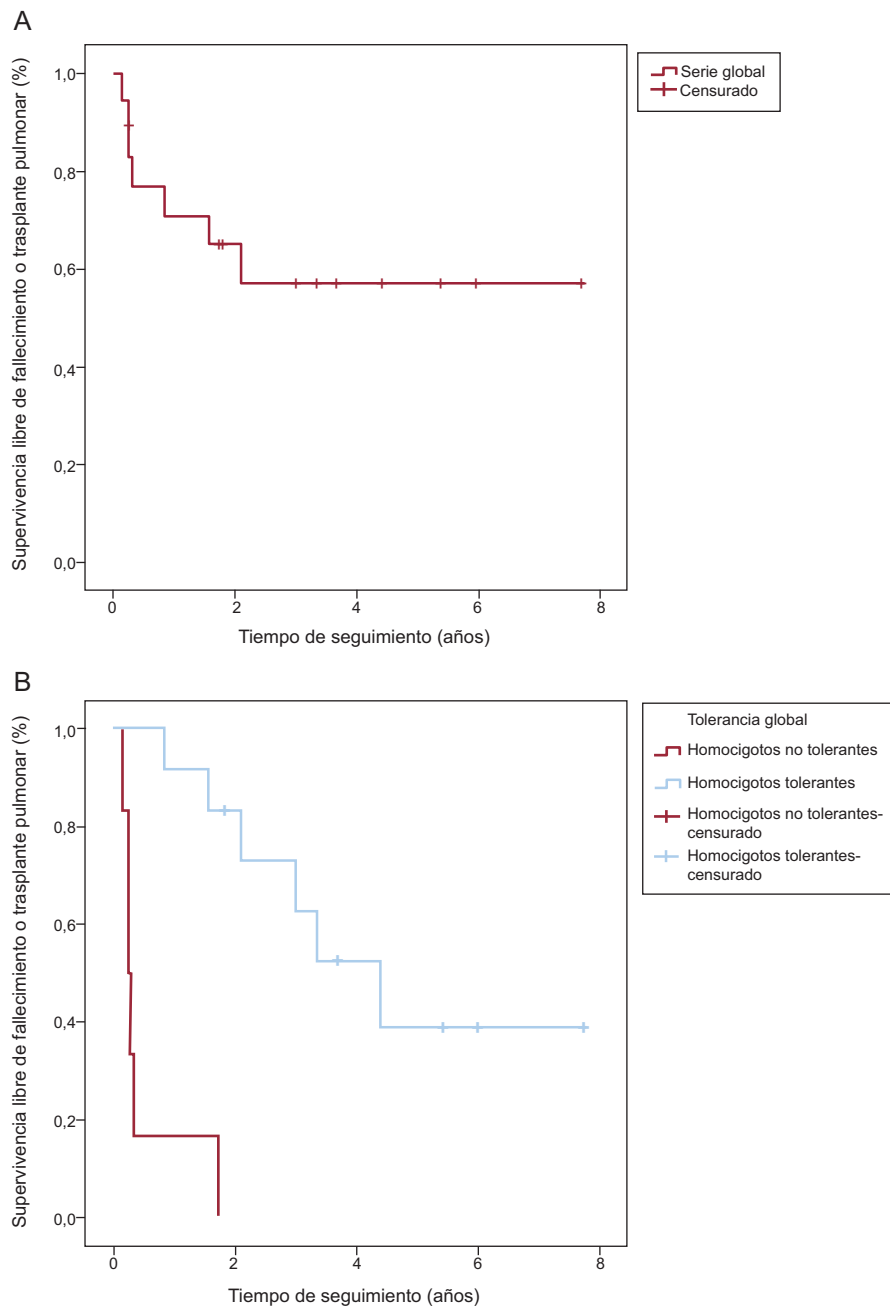
Nuestro grupo describió en el pasado una mutación fundadora en homocigosis en el gen *EIF2AK4* en 18 pacientes con formas agresivas de EVOP familiar pertenecientes a 9 familias ibéricas de etnia gitana, de herencia autosómica recesiva y penetrancia cercana al 100%<sup>9,10</sup>. Si bien todos los pacientes estudiados presentan formas graves de EVOP, se identificaron 2 fenotipos clínicos –no descritos previamente y con implicaciones pronósticas– sobre la base de la tolerancia a VDP y los hallazgos histopatológicos pulmonares. Es interesante resaltar que estos fenotipos se presentan con carácter familiar.

Actualmente hay 78 casos de EVOP (hereditaria e idiopática) registrados en el REHAP. El presente estudio es el primero en

**Tabla 1**  
Características basales de los homocigotos afectados

	Total (n = 18)	No tolerantes (n=6)	Tolerantes (n=12)	p
Edad (años)	22 ± 8,5	21,3 ± 5,4	29,4 ± 8,6	0,067
Sexo masculino	9 (50)	3 (50)	6 (50)	NS
Clase funcional III-IV de la NYHA	11 (61,8)	4 (66,7)	7 (58,3)	NS
Distancia prueba de la marcha de 6 min (m)	386,47 ± 116,70	359,00 ± 191,48	391,91 ± 77,40	NS
Presión media en arteria pulmonar (mmHg)	48,16 ± 16,62	42,16 ± 15,94	51,16 ± 16,79	NS
Presión aurícula derecha (mmHg)	6,33 ± 4,11	5,66 ± 3,07	6,77 ± 4,81	NS
Gasto cardíaco (l/min)	4,79 ± 1,75	4,12 ± 0,92	5,09 ± 1,99	NS
Índice cardíaco (l/min/m <sup>2</sup> )	2,74 ± 0,81	2,66 ± 0,86	2,78 ± 0,85	NS
DLCO (%)	30,77 ± 8,04	29,00 ± 12,44	31,66 ± 5,19	NS
Resistencia vascular pulmonar arteriolar (UW)	9,67 ± 5,60	9,00 ± 6,63	9,77 ± 5,30	NS
Consanguineidad	18 (100)			
Edad primera gestación (años)				
Media	17,22 ± 7			
≤ 20 años	10			
> 20 y ≤ 25 años	2			
> 25 y ≤ 30 años	1			
Sin gestaciones	3			
Desconocido	2			
N.º de gestaciones/hijos	2 ± 1,09			

DLCO: capacidad de difusión del monóxido de carbono; NS: no significativa; NYHA: New York Heart Association. Salvo otra indicación, los datos expresan n (%) o media ± desviación estándar.



**Figura 2.** Curvas de supervivencia libre de fallecimiento o trasplante pulmonar de Kaplan-Meier. Comparación de supervivencias. A: serie global de pacientes homocigotos afectados. B: homocigotos afectados tolerantes a vasodilatadores pulmonares específicos frente a no tolerantes.

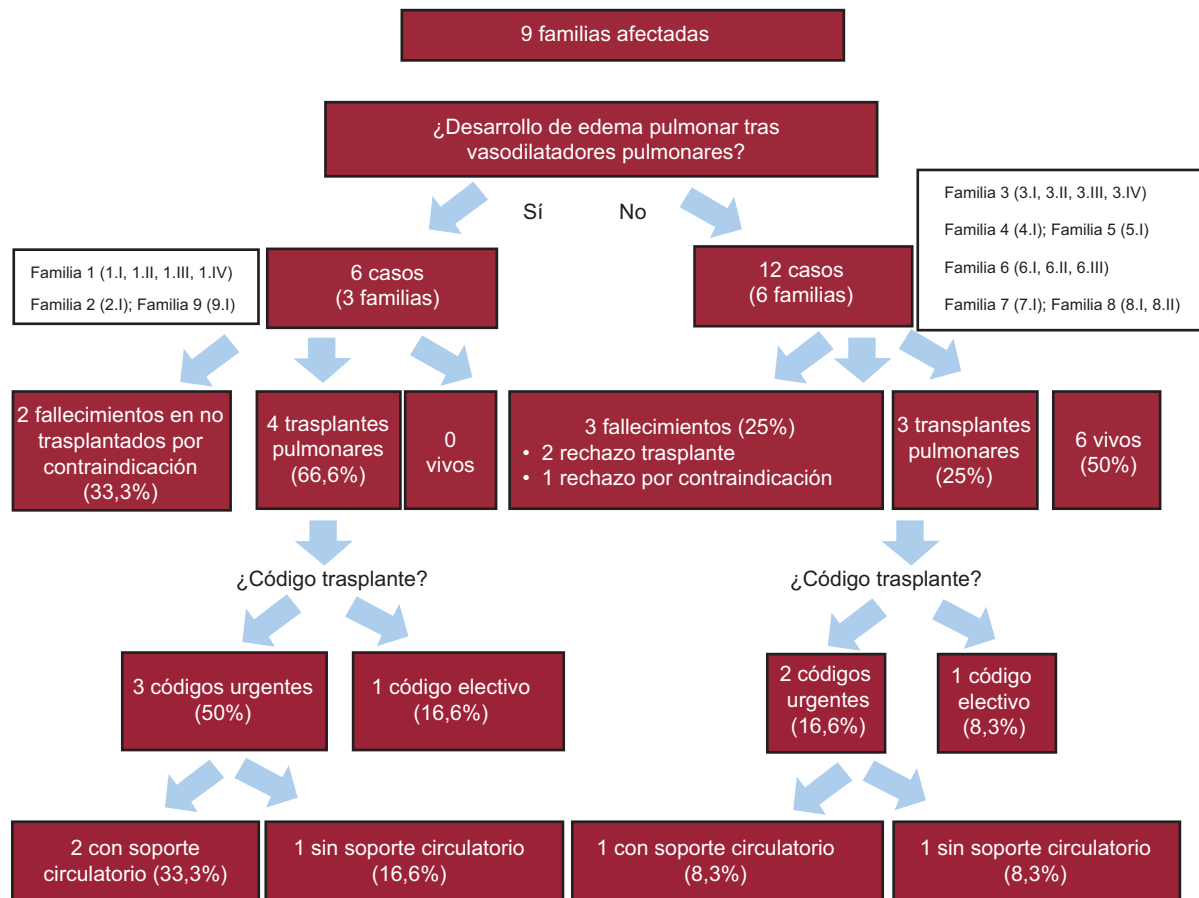
describir la historia natural de los pacientes de etnia gitana con EVOP familiar y una mutación fundadora en el gen *EIF2AK4*, y analizar el impacto del perfil sociocultural de dicha etnia en el curso y propagación de la enfermedad. Este estudio recoge el 23% de los casos de EVOP indicados en España y todos los casos hereditarios, con excepción de 1 paciente de raza caucásica no incluido en la cohorte. De manera análoga a lo publicado previamente, se han hallado mutaciones bialélicas en el gen *EIF2AK4* en el 100% de los pacientes estudiados<sup>2</sup>.

Actualmente se desconocen los mecanismos por los que la pérdida de función de *EIF2AK4* —que codifica para una serina/treonina quinasa con funciones reguladoras sobre la síntesis de proteínas en respuesta a estrés celular y privación aminoácídica— conduce al desarrollo de EVOP. Si bien son necesarios futuros estudios, parece probable que la mutación fundadora hallada en

esta población conduzca a una pérdida de función de la proteína y, a la vista de su posición dentro del transcrito, esto podría estar relacionado con su capacidad para reaccionar a los estímulos de privación proteica.

### Fenotipo clínico y pronóstico

Los 18 casos previamente publicados<sup>9,10</sup> se añaden a los 26 casos comunicados por Montani et al.<sup>2</sup>, que describieron 18 mutaciones en el gen *EIF2AK4* en 13 familias con EVOP familiar —la mayoría *codón de stop* prematuro, pequeñas deleciones o inserciones<sup>2,7,14</sup>— con una marcada heterogeneidad fenotípica explicable por la heterogeneidad genética subyacente. El presente trabajo describe el fenotipo clínico de pacientes con EVOP hereditaria portadores de una mutación fundadora en el gen



**Figura 3.** Diagrama de eventos clínicos de los pacientes distribuidos por familias.

*EIF2AK4*. Aunque hay trabajos previos que indican mutaciones fundadoras en la población gitana en diferentes patologías<sup>15</sup>, nuestro grupo fue el primero en describir una mutación fundadora en relación con el desarrollo de hipertensión pulmonar<sup>9,10</sup>.

Se ha observado gran heterogeneidad fenotípica entre las familias estudiadas, en este caso no explicable por la existencia de

un sustrato genético diferente. Además, se identificó por primera vez 2 fenotipos clínicos de EVOP claramente diferenciados según el perfil de tolerancia a VDP pulmonares, la agresividad y la histología pulmonar subyacente; lo cual puede ser útil en el futuro para la estratificación pronóstica y el tratamiento de los pacientes. Hubo 2 casos extremos: las familias 1 y 3, ambas con 4 miembros

**Tabla 2**

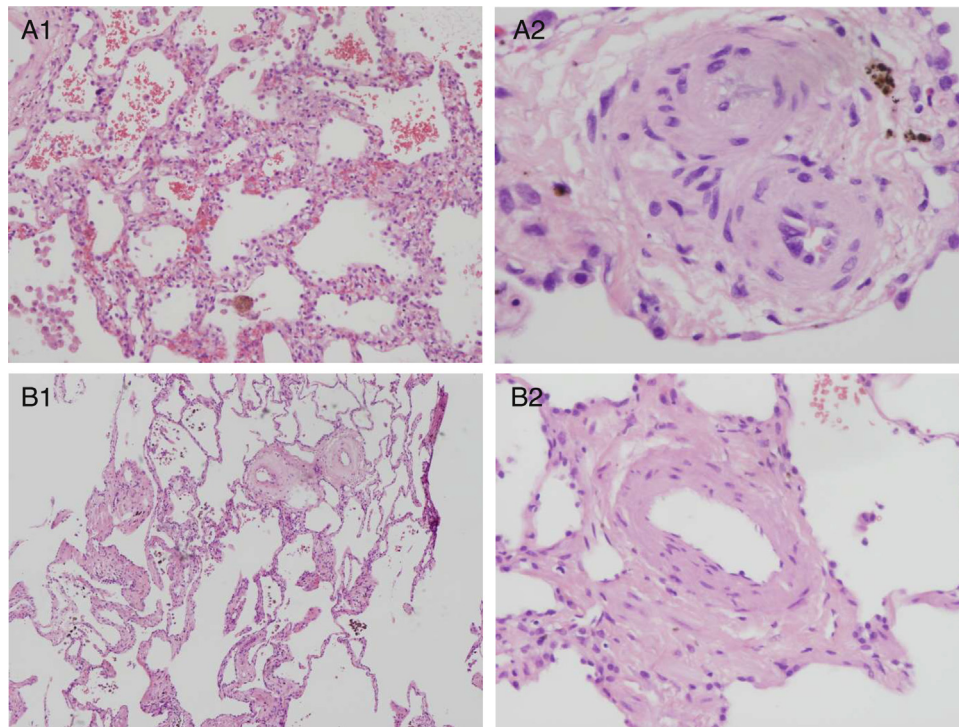
Datos evolutivos: tratamiento recibido, eventos adversos y supervivencia de los homocigotos afectados

	Total, n = 18	No tolerantes, n = 6	Tolerantes, n = 12	p
Tiempo desde inicio síntomas hasta el diagnóstico (años)	Global: 1,50 ± 1,90 Casos índice: 2,00 ± 2,35* Familiare: 0,89 ± 0,96*	1,38 ± 0,85	1,57 ± 2,29	NS
Fallecimiento o trasplante pulmonar	12 (66,6)	6 (100,0)	6 (50,0)	< 0,00001
Último tratamiento médico (%)		Ninguno (33,0) Diurético i.v. + fármacos inotrópicos (16,7) Monoterapia oral (16,7) Prostaciclina sistémica (33,0)	Ninguno (0,0) Terapia combinada oral (33,3) Monoterapia oral + prostaciclina sistémica (41,6) Terapia combinada oral + iloprost inhalado (25,0)	NC
Tiempo medio al trasplante o fallecimiento (años)	3,27 ± 0,72	0,50 ± 0,25	4,66 ± 0,83	< 0,00001
Supervivencia libre de fallecimiento o trasplante (años)	2,10 ± 1,11	0,26 ± 0,01	4,41 ± 0,99	< 0,00001
Trasplante pulmonar	7 (38,8) 3 urgentes	4 (66,7) 3 urgentes (n = 3)	3 (25,0) 2 urgentes	0,002 0,225
Fallecimiento	5 (41,6)	2 (33,3)	3 (25)	0,001
Soporte circulatorio con ECMO	25% (3)	2 (33,3)	1 (8,3)	NS

ECMO: oxigenador extracorpóreo de membrana; NS: no significativa; NC: no calculada.

Salvo otra indicación, los datos expresan n (%) o media ± desviación estándar.

\* Diferencia no significativa.



**Figura 4.** Hallazgos histopatológicos de pacientes homocigotos afectados. Tinción hematoxilina-eosina. A: estudio histológico pulmonar de paciente intolerante a vasodilatadores (paciente 1.1). A1: aumento 4×. Se muestra un parénquima pulmonar con engrosamiento septal y hemangiomatosis capilar evidente. Macrófagos intraalveolares cargados de hemosiderina. A2: aumento 40×. Engrosamiento fibrótico venular. B: estudio histológico pulmonar de paciente tolerante a vasodilatadores (paciente 3.1). B1: aumento 4×. Engrosamiento septal menos marcado y difuso, hemangiomatosis capilar y macrófagos intraalveolares cargados de hemosiderina. Engrosamiento de pared de estructuras vasculares. B2: aumento 20×. Estructura vascular de pared engrosada. El septo alveolar en la zona periférica de la imagen presenta un grosor normal.

afectados a edades tempranas y formas graves de presentación pero con gran disparidad en la evolución clínica y tolerancia a VDP. Así, en la primera familia se observó gran agresividad en la evolución: la supervivencia media fue de  $0,64 \pm 0,72$  años, con 3 casos de trasplante pulmonar (75%) y un fallecimiento (25%); junto con una marcada intolerancia a VDP, que tuvieron que suspenderse en el 75% de los casos. Esto contrasta con la familia 3, en la que los VDP se pudieron utilizar en todos los casos. En esta familia la supervivencia fue mayor ( $2,28 \pm 0,93$  años) y hubo 2 casos de trasplante pulmonar (50%) y ningún fallecimiento. Las diferencias en el pronóstico observadas entre ambas familias no fueron atribuibles a diferencias en cuanto a la gravedad o la reducción de la DLCO al diagnóstico: equiparables en ambas e inferiores al 34% descrito por el grupo francés<sup>4</sup>.

El presente estudio —contrariamente a lo descrito en la hipertensión arterial pulmonar idiopática, en la que la disminución de la DLCO representaba un factor de mal pronóstico— no confirma esta relación en la EVOP; ya que el grado de reducción de la DLCO no discrimina el pronóstico de la enfermedad, con valores de DLCO similares en ambos subgrupos, a pesar de la mayor gravedad y peor pronóstico de los pacientes no tolerantes.

Sin embargo, se encontraron diferencias muy llamativas entre ambas familias en la histopatología pulmonar; que mostró una marcada afección venular y focos compatibles con hemangiomatosis capilar pulmonar: indicadores de EVOP avanzada en la familia 1 frente a formas mucho menos floridas en la familia 3.

Así, nuestra hipótesis es que las diferencias observadas en la evolución de ambas familias —y de manera extrapolable en ambos subgrupos: tolerantes y no tolerantes— podrían deberse, en parte, al hecho de que el grupo de tolerantes recibiera tratamiento específico en una mayor proporción de casos; pero también a la gran disparidad en cuanto a la gravedad histológica pulmonar observada. No obstante, es importante destacar que —a pesar de las

diferencias observadas entre ambos subgrupos— el pronóstico global de esta serie es muy pobre, con una mediana de supervivencia cercana a los 2 años y un 66,6% global de fallecimiento o trasplante, inferior al 82,2% descrito por el grupo francés<sup>2,4</sup>. Llama la atención la menor supervivencia observada en esta serie a pesar del elevado porcentaje de pacientes diagnosticados en fases oligosintomáticas en el contexto del estudio familiar (10 de 18) y de un perfil basal superponible a la serie francesa<sup>7</sup>, con hipertensión arterial pulmonar precapilar de gravedad; una relación varón:mujer de 1<sup>3,4</sup> (ausente en la EVOP esporádica o asociada a tóxicos y en hipertensión arterial pulmonar idiopática)<sup>16,17</sup>; edades similares de presentación ( $27 \pm 8$  frente a  $27 \pm 10$  años, respectivamente), y una situación funcional al diagnóstico algo menos desfavorable en nuestro caso (61,8 frente a 80% en clase funcional III/IV respectivamente). Cabe destacar que se ha identificado al menos a 8 familiares fallecidos con historia sugestiva de EVOP.

Estas observaciones apuntan a que se trata una variante de la enfermedad especialmente agresiva, si bien con un espectro fenotípico de gravedad en el que cuanto mayor intolerancia hay al tratamiento con VDP, mayor es la afección histológica y peor el pronóstico. Teniendo en cuenta que todos los pacientes son portadores de la misma mutación, es posible que haya factores genéticos, epigenéticos o ambientales moduladores de la gravedad que requieren la realización de futuros estudios.

### Estudio de familiares

Entre los pacientes con EVOP estudiados se observaron familias extensas, consanguíneas y con varios miembros afectados; lo que contrasta con los datos descritos por Montani et al.<sup>2</sup>, con un porcentaje menor de consanguinidad (30%) y menor número de familiares afectados.

El presente estudio revela la existencia de un elevado porcentaje de heterocigotos entre los familiares estudiados (34,2%) y una elevada rentabilidad del cribado familiar que ha permitido el diagnóstico precoz de 8 homocigotos afectados y el diagnóstico presintomático de 3 homocigotos inicialmente sanos, 1 de los cuales (no tolerante) desarrollaría la enfermedad 6 meses después del estudio genético, mientras que los 2 restantes (ambos tolerantes) continúan sanos a los 34 y los 38 años de edad. No obstante, al existir casos de tolerantes con desarrollo de EVOP a los 38 años, no se puede descartar una penetrancia incompleta asociada a la edad.

### Análisis de la población de estudio

Los gitanos son un grupo étnico con fuertes tradiciones que modulan su estado de salud y que podrían impactar en el curso y la propagación de la EVOP. A pesar de tratarse de una población numerosa en España (en torno a 750.000 individuos)<sup>18</sup> y en riesgo sanitario, hay pocos estudios al respecto. Aunque hay evidencia de un peor estado de salud, y a pesar de ser un grupo de población más joven<sup>19</sup>, parece probable que esté relacionado con unas condiciones sociales desfavorables<sup>18</sup>.

En este sentido, se analizó por primera vez la influencia de diversos condicionantes socioculturales propios de la etnia gitana en la propagación de la EVOP y se encontraron varios puntos clave con impacto negativo. En primer lugar, el diagnóstico se realizó en fases avanzadas de la enfermedad; lo que puede explicarse por la gran dificultad que entraña y por el desconocimiento por parte de los profesionales y de la población general que es similar al retraso observado en España para el diagnóstico de HAP, con una media de 2,2 años<sup>13</sup>. Además, parece probable que la rápida progresión de la enfermedad —con marcado deterioro en meses—contribuya al diagnóstico tardío; lo que indica la importancia de realizar futuros estudios sobre la historia natural de la EVOP.

Al diagnóstico en fases avanzadas se unen otros factores propios de la etnia gitana que podrían impactar negativamente en la evolución, como las condiciones sociales desfavorables<sup>18</sup> y, en especial, importantes peculiaridades en los hábitos reproductivos y de planificación familiar como el rechazo a la contracepción, la temprana edad de reproducción y la frecuente multiparidad<sup>18</sup>. Así, se observa una edad de primera gestación significativamente más baja que la descrita en la población española (17,2 ± 7 años frente a 31,2 años respectivamente<sup>20</sup>), con un mayor número de hijos por mujer (2,01 ± 1,09 frente a 1,27<sup>21</sup>) y, pese a tratarse de individuos gravemente enfermos desde la edad adulta-joven (22 ± 8,6 años), todas las gestaciones tienen lugar antes de los 30 años.

Por otro lado, dada la naturaleza recesiva de la mutación, la endogamia frecuente en esta etnia parece desempeñar un papel fundamental y el cruce endogámico favorece la aparición de nuevos homocigotos. Todo esto conduce a la hipótesis de que, al tratarse de una mutación solo descrita hasta la fecha en la población gitana (autosómica recesiva y letal a edades tempranas) probablemente se habría extinguido de no haberse presentado en una población con unas características socioculturales altamente propicias para su autoperpetuación y propagación.

A la vista de los resultados obtenidos, se considera primordial mantener un adecuado nivel de alerta a la hora de valorar a los pacientes de etnia gitana a causa de la disnea. La presencia de antecedentes familiares sugestivos, una DLCO disminuida y un patrón radiológico típico deberá despertar la sospecha de EVOP<sup>2,8</sup> y, en caso de confirmarse datos de hipertensión pulmonar, se realizará un estudio genético de *EIF2AK4*. Una vez establecido el diagnóstico de EVOP hereditaria conviene asegurarse de que las familias reciban un adecuado consejo genético y de que se realice el estudio de familiares y una planificación familiar que permitan prevenir la aparición de nuevos casos.

### Limitaciones

Este estudio presenta varias limitaciones. En primer lugar, no se ha completado por el momento el estudio de todas las familias y algunas de ellas escasamente se han estudiado; circunstancia que puede suponer una limitación a la hora de extraer conclusiones acerca de su fenotipo y pronóstico. Además, se trata de una población concreta de pacientes de etnia gitana con EVOP familiar y perteneciente a familias consanguíneas; por lo que las conclusiones extraídas pueden no ser extrapolables a otras poblaciones de EVOP hereditarias. Además, puede haber un sesgo de selección que magnifique la tasa observada de homocigotos y heterocigotos entre los familiares estudiados, quizás no representativa de otras poblaciones. Por último, se han distinguido 2 fenotipos clínicos e histológicos; si bien no ha sido posible completar un estudio a nivel genético o epigenético que permita explicar las diferencias observadas. Esto subraya la necesidad de llevar a cabo nuevos estudios que permitan ahondar en el conocimiento de la fisiopatología y epidemiología de esta enfermedad.

### CONCLUSIONES

En conclusión, se describe en profundidad la primera serie de pacientes con EVOP familiar portadores de una mutación fundadora en el gen *EIF2AK4*, presumiblemente propia de la etnia gitana ibérica y relacionada con el desarrollo de una forma agresiva y grave de la enfermedad.

Debido a la elevada tasa de heterocigotos observada y a su gran relevancia, el cribado genético familiar en esta población presenta una alta rentabilidad —por el potencial papel que puede desempeñar en la prevención de nuevos casos— si se tienen en cuenta los patrones socioculturales propios de esta etnia que pueden haber favorecido la propagación de la enfermedad y el impacto negativo observado en su propagación. Por último, se describen 2 patrones clínicos de la enfermedad —nunca antes descritos— con distribución familiar e impacto pronóstico.

### AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a NHLBI GO Exome Sequencing Project y a Exome Aggregation Consortium por su gran contribución a la ciencia. Por último, también queremos trasladar nuestro agradecimiento a los pacientes y sus familias por hacer posible este estudio.

### FINANCIACIÓN

El presente proyecto ha sido parcialmente financiado por la Red de Investigación Cardiovascular del Instituto de Salud Carlos III de Madrid (RD06/0003/0012) proyecto FIS 15/02012, así como por una beca no condicionada de la Asociación Nacional de Hipertensión pulmonar, Actelion y la Fundación Air Liquide.

### CONFLICTO DE INTERESES

P. Escribano Subías ha recibido becas educacionales no condicionadas de Actelion y la Fundación Air liquide para el desarrollo del presente proyecto de investigación y ha sido consultora de Actelion, Bayer, Pfizer y GSK; ha recibido becas de Actelion y GSK; remuneración por desarrollo de ponencias por parte de Actelion, Bayer, Pfizer y GSK, y remuneración por desarrollo de presentaciones educativas por parte de GSK.



H. Bueno Zamora ha recibido pagos por asesoría, conferencias o ayudas a asistencia a congresos de Abbott, Astra-Zeneca, Bayer, BMS, Ferrer, MEDSCAPE-the heart.org, Novartis y Servier, y por proyectos de investigación de Astra-Zeneca, BMS, Janssen y Novartis. P. Navas Tejedor ha recibido becas educacionales no condicionadas de Actelion y la Fundación Air liquide.

### ¿QUÉ SE SABE DEL TEMA?

- La EVOP es una forma rara de hipertensión arterial pulmonar con pobre respuesta al tratamiento y pronóstico ominoso. Hay formas hereditarias relacionadas con mutaciones recesivas en *EIF2AK4* y se ha descrito una mutación fundadora en pacientes ibéricos de etnia gitana con una forma agresiva de EVOP hereditaria.

### ¿QUÉ APORTA DE NUEVO?

- Se describe por primera vez el fenotipo y el curso clínico de los pacientes gitanos con EVOP portadores de una mutación fundadora en *EIF2AK4* y la existencia de 2 fenotipos clínicos y anatomopatológicos diferentes con impacto pronóstico. Además, se analizan los condicionantes socioculturales de la etnia gitana con impacto en la transmisión y el curso clínico de la enfermedad.

### MATERIAL SUPLEMENTARIO



Se puede consultar material suplementario a este artículo en su versión electrónica disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.recesp.2017.03.030>.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Chaisson NF, Dodson MW, Elliott CG. Pulmonary Capillary Hemangiomas and Pulmonary Venous Occlusive Disease. *Clin Chest Med*. 2016;37:523–534.
2. Montani D, Lau EM, Dorfmüller P, et al. Pulmonary veno-occlusive disease. *Eur Respir J*. 2016;47:1518–1534.
3. Holcomb Jr BW, Loyd JE, Ely EW, Johnson J, Robbins IM. Pulmonary veno-occlusive disease: a case series and new observations. *Chest*. 2000;118:1671–1679.
4. Montani D, Achouh L, Dorfmüller P, et al. Pulmonary veno-occlusive disease: clinical, functional, radiologic, and hemodynamic characteristics and outcome of 24 cases confirmed by histology. *Medicine (Baltimore)*. 2008;87:220–233.
5. Pietra GG, Capron F, Stewart S, et al. Pathologic assessment of vasculopathies in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:255–325.
6. Best DH, Sumner KL, Smith BP, et al. *EIF2AK4* Mutations in pulmonary capillary hemangiomas. *Chest*. 2014;145:231–236.
7. Eyries M, Montani D, Girerd B, et al. *EIF2AK4* mutations cause pulmonary veno-occlusive disease, a recessive form of pulmonary hypertension. *Nat Genet*. 2014;46:65–69.
8. Galie N, Humbert M, Vachiery JL, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2016;37:67–119.
9. Tenorio J, Navas P, Barrios E, et al. A founder *EIF2AK4* mutation causes an aggressive form of pulmonary arterial hypertension in Iberian Gypsies. *Clin Genet*. 2015;88:579–583.
10. Navas P, Rodríguez Reguero JJ, Escribano Subías P, Hallazgo de la mutación fundadora C. 3344C>t(p.Pro1115Leu) en el gen *EIF2AK4* en pacientes ibéricos de etnia gitana con enfermedad veno-oclusiva pulmonar: una llamada de atención a nuestra práctica diaria. *Arch Bronconeumol*. 2016;52:444–445.
11. Wille KM, Sharma NS, Kulkarni T, et al. Characteristics of patients with pulmonary venoocclusive disease awaiting transplantation. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11:1411–1418.
12. Montani D, Achouh L, Sitbon O, Simonneau G, Humbert M. Pulmonary veno-occlusive disease and failure of specific therapy. *Chest*. 2009;136:1181.
13. Escribano-Subías P, Blanco I, López-Meseguer M, et al. REHAP investigators. Survival in pulmonary hypertension in Spain: insights from the Spanish registry. *Eur Respir J*. 2012;40:596–603.
14. Girerd B, Montani D, Jaïs X, et al. Genetic counselling in a national referral centre for pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 2016;47:541–552.
15. Morar B, Gresham D, Angelicheva D, et al. Mutation History of the Roma/Gypsies. *Am J Hum Genet*. 2004;75:596–609.
16. Montani D, Lau EM, Descatha A, et al. Occupational exposure to organic solvents: a risk factor for pulmonary veno-occlusive disease. *Eur Respir J*. 2015;46:1721–1731.
17. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, et al. Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:1023–1030.
18. Badesch DB, Raskob GE, Elliott CG, et al. Pulmonary arterial hypertension: baseline characteristics from the REVEAL Registry. *Chest*. 2010;137:376–387.
19. Ibáñez V; Grupo de Salud del Consejo Estatal del Pueblo Gitano. *Resumen divulgativo de la publicación: "Hacia la Equidad en Salud: Estudio comparativo de las encuestas nacionales de salud a población gitana y población general de España, 2006"*. Madrid: Fundación Secretariado Gitano (FSG), Departamento de Acción Social, Área de Salud; 2009.
20. Equipo Giems. *Gitanos al encuentro de la ciudad: del chalaneo al peonaje*. Madrid: Cuadernos para el Dialogo; 1976.
21. Instituto Nacional de Estadística. Edad media a la maternidad por orden del nacimiento según nacionalidad (española/extranjera) de la madre [consultado 21 Mar 2017]. Disponible en: <http://www.ine.es/jaxit3/Tabla.htm?t=1579>.