

Miocardiopatía hipertrófica. Estudio del gen de la troponina T en 127 familias españolas

Juan R. Gimeno^a, Lorenzo Monserrat^b, Inmaculada Pérez-Sánchez^a, Francisco Marín^c, Luis Caballero^c, Manuel Hermida-Prieto^b, Alfonso Castro^b y Mariano Valdés^a

^aServicio de Cardiología. Hospital Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia. España.

^bServicio de Cardiología. Hospital Universitario de A Coruña e Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC). A Coruña. España.

^cServicio de Cardiología. Hospital General de Alicante. Alicante. España.

La información sobre las relaciones genotipo-fenotipo y el pronóstico de las diferentes mutaciones en el gen de la troponina T es escasa y en ocasiones contradictoria.

Se realizó estudio del gen *TNNT2* en 127 pacientes con miocardiopatía hipertrófica (MCH), identificándose 3 mutaciones en 4 familias (3,1%): Phe87Leu, no descrita, Arg 278Cys (2 familias) y Asp271Ile. Se identificaron 7 portadores de Phe87Leu (29 a 52 años) con hipertrofia leve (grosor < 16 mm). Hubo 11 muertes relacionadas con la enfermedad (7 de ellas súbitas), con 4 de los fallecidos entre 14 y 16 años de edad. No hubo muertes súbitas en las otras 3 familias. En conclusión, las mutaciones en el gen de la troponina T son responsables de un 3% de casos de MCH en nuestra población. La mutación Phe87-Leu se asocia a hipertrofia de grado leve y alto riesgo de muerte súbita.

Palabras clave: Miocardiopatía hipertrófica. Genética. Troponina T. Muerte súbita.

Hypertrophic Cardiomyopathy. A Study of the Troponin-T Gene in 127 Spanish Families

The information available on the correlation between genotype and phenotype and the prognostic implications of different troponin-T gene mutations is sparse and, at times, contradictory. We studied the *TNNT2* gene in 127 patients with hypertrophic cardiomyopathy and identified three mutations in patients from four families (3.1%): the Phe87Leu mutation, which has not been previously reported, the Arg278Cys mutation (two families) and the Asp271Ile mutation. Seven carriers of the Phe87Leu mutation (aged 29 to 52 years) were found to have mild hypertrophy (i.e., a wall thickness <16 mm). There were 11 deaths associated with the condition (seven sudden deaths), and four of those who died were aged between 14 and 16 years. No sudden deaths occurred in the other three families. In conclusion, troponin-T mutations were responsible for 3% of the hypertrophic cardiomyopathy cases in our study population. The Phe87Leu mutation was associated with only mild hypertrophy but with a high risk of sudden death.

Key words: Hypertrophic cardiomyopathy. Genetics. Troponin T. Sudden death.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

INTRODUCCIÓN

La miocardiopatía hipertrófica (MCH) es una enfermedad hereditaria con patrón autosómico dominante causada por más de 500 mutaciones en 11 genes distintos¹⁻⁴. La información sobre las rela-

ciones genotipo-fenotipo y el pronóstico de las diferentes mutaciones en el gen de la troponina T (*TNNT2*) es escasa y en ocasiones contradictoria^{4,5-13}. La finalidad de este proyecto es la identificación de mutaciones en el gen *TNNT2* y el estudio de la correlación genotipo-fenotipo.

MÉTODOS

Se analizaron muestras procedentes de 127 pacientes consecutivos con MCH (media de edad, 50 ± 16 años; el 66% varones; grosor máximo, 18 ± 5 mm; el 28% con obstrucción). Los pacientes procedían de tres centros: Hospital Universitario de A Coruña (60 pacientes), Hospital Virgen de la Arrixaca (37 pacientes) y Hospital General de Alicante

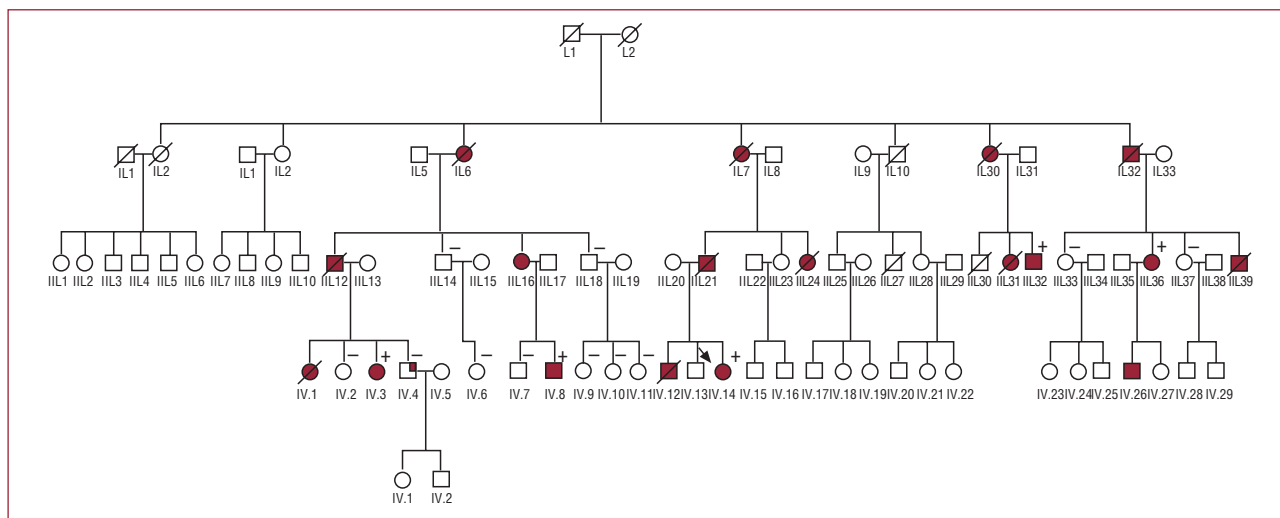
Este trabajo ha sido realizado gracias a una beca de la Sociedad Española de Cardiología para investigación clínica y básica en cardiología 2004. El estudio ha sido parcialmente financiado por la Red de Investigación Cardiovascular RECAVA del Instituto de Salud Carlos III (C03/01, RD06/0014/0017, RD06/0014/0018).

Correspondencia: Dr. J.R. Gimeno.
Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca.
Ctra. Murcia-Cartagena s/n. 30120 El Palmar. Murcia. España.
Correo electrónico: jgimeno@secardiologia.es

Recibido el 21 de octubre de 2008.
Aceptado para su publicación el 18 de febrero de 2009.

TABLA 1. Resultados del estudio genético del gen *TNNT2*

Exón/intrón	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Portadores, n	Comentario
Intrón 3	Del5pb	Variante intrónica	35	No afecta a proteína
Exón 8	TCT>TCC	Ser69Ser	15	No afecta a proteína
Exón 9	AAG>AAA	Lys97Lys	1	No afecta a proteína
Exón 9	ATC>ATT	Ile106Ile	46	No afecta a proteína
Exón 14	AAG>AGG	Lys253Arg	6	Polimorfismo descrito
Exón 8	TTT>CTT	Phe87Leu	1	Mutación nueva
Exón 15	AAC>ATC	Asp271Ile	1	Mutación descrita
Exón 16	CGC>TGC	Arg278Cys	2	Mutación descrita

Fig. 1. Árbol de la familia A8 con mutación Phe87Leu en *TNNT2*.

(30 pacientes). El estudio cardiológico incluyó ECG, ecocardiograma, Holter y prueba de esfuerzo. Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito.

Se extrajeron 4 ml de sangre de cada paciente índice en tubo EDTA; se procedió a la extracción y amplificación del ADN, y se analizaron los exones de *TNNT2* por medio de un método de cribado, la cromatografía líquida de alta resolución desnaturalizante (DHPLC). En caso de que presentara un perfil anómalo, se procedió a la secuenciación del exón (secuenciador ABI310/ABI3130). Se diseñaron cebadores específicos para la amplificación de los fragmentos de interés.

RESULTADOS

Se identificaron ocho alteraciones diferentes en 107 exones. Se consideró mutaciones causales a tres variantes: Phe87Leu (no descrita), Asp271Ile y Arg278Cys (tabla 1). Se identificó Asp271Ile en una familia gallega y Arg278Cys en una familia de Murcia y otra de Alicante. Ambas mutaciones ya habían sido asociadas con MCH previamente. Phe87Leu se consideró causal por segregarse con la enfermedad, afectar a un residuo altamente conser-

vado y no identificarse en 140 controles sanos. En la tabla 2 se resumen las características clínicas de los portadores.

Características clínicas y correlación genotipo-fenotipo

Phe87Leu

Esta mutación se identificó en una familia con importantes antecedentes de muerte súbita (MS) (fig. 1). En total, hubo 18 afectados, con 11 muertes relacionadas: 7 MS, 3 por insuficiencia cardíaca y 1 por accidente cerebrovascular. Cuatro de los fallecidos tenían entre 14 y 16 años de edad y se encontraban asintomáticos ([IV.1], [IV.12], [III.31] y [III.39]). De los 10 pacientes de que se dispone de ecocardiograma, en 7 la hipertrofia era leve (< 16 mm); en 2 de ellos la ecocardiografía no mostraba hipertrofia y el diagnóstico se realizó en el estudio necrópsico. Dos de los pacientes con hipertrofia leve presentaban un patrón restrictivo. Tres pacientes presentaban grosores > 20 mm (máximo, 27 mm [IV.8]). Sólo el caso índice [IV.14] presentaba gradiente. La función sistólica estaba conservada, excepto en uno de los casos (fracción de eyección

TABLA 2. Características clínicas de los pacientes portadores de mutaciones en el gen *TNNI2*

Fam/ID	Edad/sexo	Edad al diagnóstico	Síntomas	NYHA	ECG	HVI (mm)	OTS	Fallo sistémico	HFMS	TWNS	RPA	Reaice con gadolinio	Tratamiento	Mutación
M92/I.1 ^{a,b}	55/M	50	Disnea	II	Diagnóstico	22	No	Normal	No	Sí	NP	Sí	Verapamilo, amiodarona, anticoagulantes	Arg278Cys
M92/I.2 ^b	59/V	18	Palpitaciones, disnea	II	Diagnóstico	22	No	FE, 45%	No	Sí	No	Sí	Sota, diuréticos	Arg278Cys
M92/II.2 ^b	27/V	27	No	I	Sin diagnóstico	12	No	Normal	No	No	No	No	No	Arg278Cys
M92/II.3	30/V	30	No	I	Normal	10	No	Normal	No	—	—	—	No	Arg278Cys
M92/II.4	29/V	29	No	I	Normal	10	No	Normal	No	—	—	—	No	Arg278Cys
M92/II.5 ^b	21/V	18	Presíncope	II	Diagnóstico	40	No	Normal	No	Sí	Hipotensión	NP	DAI, sin tratamiento médico	Arg278Cys
A16/II.1 ^a	64/V	59	Palpitaciones, FAP	I	Diagnóstico	26	50 mmHg	Normal	No	Sí ^c	Plana	Sí	Amiodarona, bisoprolol, anticoagulantes	Arg278Cys
A16/III.1	33/V	33	No	I	Brugada	11	No	Normal	No	No	Normal	—	No	Arg278Cys
A8/III.16	52/M	24	Disnea	III	Diagnóstico	14	No	Normal	Sí	No	Normal	Sí	Amiodarona, diuréticos, bisoprolol	Phe87Leu
A8/III.32	39/V	39	Disnea	II	Diagnóstico	13	No	FE, 40%	Sí	—	—	—	IECA	Phe87Leu
A8/III.36	40/M	8	Disnea, astenia	II	Diagnóstico	14	No	Normal	Sí	No	Plana	Sí	DAI, IECA	Phe87Leu
A8/IV.3	30/M	30	Síncope, disnea	II	Diagnóstico	18	No	Normal	Sí	No	Normal	—	DAI, IECA, diuréticos	Phe87Leu
A8/IV.8	30/V	8	Presíncope	I	Diagnóstico	27	No	Normal	Sí	No	No	No	No	Phe87Leu
A8/IV.14 ^a	29/M	14	Palpitaciones, FAP	II	Diagnóstico	25	30 mmHg	Normal	Sí	No	Hipotensión	Sí	Amiodarona, bisoprolol	Phe87Leu
A8/IV.26	9/V	9	No	I	Diagnóstico	12	No	Normal	Sí	—	—	—	No	Phe87Leu
C5/II.2 ^a	62/V	44	Palpitaciones, dolor torácico, FAP	I	Diagnóstico	22	No	Normal	No	No	Hipotensión	No	Amiodarona, bloqueadores beta	Asp271Ile
C5/III.1	36/V	33	Dolor torácico	I	Diagnóstico	14	No	Normal	No	No	Normal	No	No	Asp271Ile
C5/III.2 ^d	31/M	26	No	I	Sin diagnóstico	9	No	Normal	No	No	Normal	No	No	Asp271Ile

—: no disponible o no realizado; DAI: desfibrilador automático implantable; FAP: fibrilación auricular paroxística; FAP: fibrilación auricular persistente; HFMS: historia familiar de muerte súbita; HVI: hipertrofia ventricular izquierda, grosor máximo; M: mujer; NP: no posible; OTS: obstrucción en el tracto de salida; RPA: respuesta presora anormal; TWNS: taquicardia ventricular no sostenida; V: varón.

^aProbando.

^bPortadores de doble mutación en *MYH7* y *D928M*.

^cTWNS en pico del esfuerzo en ergometría.

^dPresenta una comunicación interauricular tipo *ostium secundum*.

ción, 40% [III.21]). Uno de los afectados presentó síncope recurrentes [IV.3]. En general, los afectados más jóvenes estaban asintomáticos y más de la mitad de los afectados con edades entre 40 y 50 años presentaban disnea (NYHA II-III). El estudio familiar y genético llevó a indicar la implantación de desfibriladores automáticos para la prevención primaria en 2 afectados [III:36 y IV:3]. La mutación no se identificó en 6 familiares con fenotipo normal.

Arg278Cys

Esta mutación se identificó en dos familias (M92 y A16) (fig. 2 y tabla 2). De los 8 portadores, 4 cumplían criterios diagnósticos de MCH (A16: II:1; M92: I:1, I:2, II:5), 1 presentaba fenotipo dudoso (M92: II:2) y 3 presentaban ecocardiograma y ECG normales (M92: II:3 y II:4, A16: III:1) (tabla 2). No había antecedentes de eventos adversos relacionados con la enfermedad en estas familias.

Uno de los portadores de la familia M92 presentaba una hipertrofia muy llamativa (40 mm) (II:5) que contrastaba con el fenotipo normal de sus hermanos portadores. Su padre (I:2) presentaba hipertrofia moderada y su madre (I:3), hipertrofia ligera. Para tratar de aclarar las relación genotipo-fenotipo en la familia M92, se realizó secuenciación de otros ocho genes sarcoméricos (*MYH7*, *MYBPC3*, de la alfa-tropomiosina, de la actina, *TNNI2*, *TNNC1* y de las cadenas ligeras de la miosina). El paciente con hipertrofia severa (II:5) era portador de una mutación Asp 928Asn en la cadena pesada beta de la miosina (*MYH7*), que también presentaban su padre (I:2), su tía (I:1) y sus primos (II:1) y (II:2). Tres de los 4 portadores de las dos mutaciones tenían un fenotipo moderado o severo (2 adultos y 1 joven). La madre del

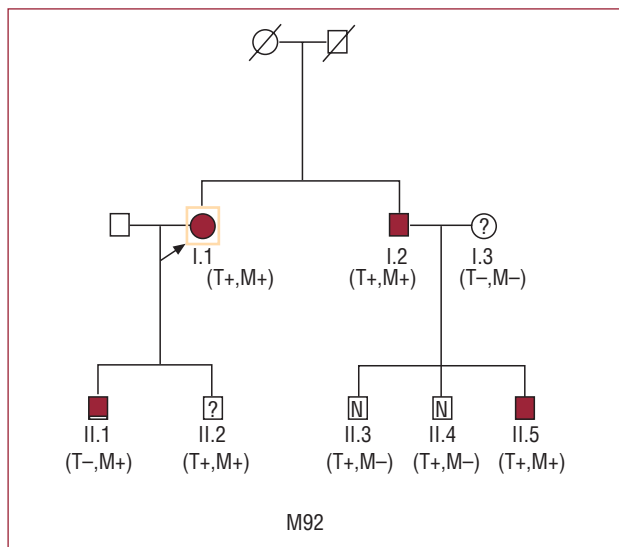


Fig. 2. Árbol de la familia M92 con mutación Arg278Cys en *TNNT2*. T: *TNNT2*; M: *MYH7*.

caso de hipertrofia severa (I:3) dio negativo a ambas mutaciones.

Asp271Ile

Se identificó en una familia sin antecedente de MS. El caso índice fue diagnosticado a los 44 años por dolor atípico y fibrilación auricular paroxística (II:2). Su hijo presentaba con 33 años hipertrofia ligera y electrocardiograma anormal (III:1). Su hija tiene una comunicación interauricular tipo *ostium secundum* sin hipertrofia ventricular (III:2).

DISCUSIÓN

La MCH es una enfermedad heterogénea en su presentación clínica y en su base molecular. El número de familias descritas con cada una de las mutaciones es escaso, por lo que es difícil extraer conclusiones sobre la relación entre genotipo y fenotipo que permitan establecer su perfil de riesgo.

Sabemos que determinadas mutaciones se asocian a un peor pronóstico⁴. El gen *TNNT2* alberga alguna de las mutaciones denominadas malignas. La prevalencia de mutaciones en el gen *TNNT2* en esta muestra de población española fue del 3%, similar a la descrita por otros autores^{3,6,7}.

En este trabajo se describe por primera vez la mutación Phe87Leu, identificada en una familia alicantina. Esta mutación afecta a la zona de unión de la troponina con la alfatropomiosina. El fenotipo se caracteriza por hipertrofia leve, en ocasiones ausente, y pronóstico muy desfavorable. Algunos casos plantearon serios problemas diagnósticos, que la información genética ha permitido resolver.

Se ha identificado a dos familias con la mutación Arg278Cys. Esta mutación ha sido descrita en 11 familias de diferentes países^{4,6,7,10}. La mutación afecta a un aminoácido localizado en una zona de unión a la tropomiosina y las troponinas I y C. Incluyendo a nuestras dos familias, suman 36 portadores. La penetrancia es incompleta, la hipertrofia, que se hace manifiesta a edades avanzadas (50 años), suele ser de grado leve (17 mm). Se han comunicado 11 MS, la mayoría en mayores de 60 años, aunque 2 casos se produjeron en jóvenes sin hipertrofia ventricular⁴. Seis de las 11 MS se dieron en una misma familia, que podría tener algún factor adicional de riesgo no identificado⁶.

Hemos identificado a una familia con la mutación Asp271Ile, descrita previamente en un único caso del que no disponemos de datos clínicos³. Tres portadores de nuestra familia presentaban un fenotipo leve, y en un uno de ellos se evidenció una comunicación auricular. Con los datos disponibles, no es posible establecer el perfil de riesgo.

Nuestro estudio confirma que los portadores de mutaciones en *TNNT2* pueden desarrollar fenotipos leves, como se ha señalado con anterioridad^{4,5}, y que existen mutaciones que se asocian a un riesgo muy elevado de MS, como es el caso de la mutación Phe87Leu. El estudio genético es una herramienta de gran utilidad clínica en estos casos.

Algunos pacientes con fenotipos severos podrían portar mutaciones dobles, o el fenotipo podría ser consecuencia de que participaran agentes moduladores desconocidos^{3,13}.

También hemos comprobado que algunas mutaciones en *TNNT2*, como Arg278Cys, pueden producir MCH de desarrollo tardío. En estos casos el riesgo de MS puede ser mayor en pacientes de cierta edad.

En conclusión, las mutaciones en el gen *TNNT2* causan un 3% de los casos de MCH en nuestra población. La mutación Phe87Leu se asocia con hipertrofia de grado leve y alto riesgo de MS. La mutación Arg278Cys se asocia con hipertrofia ligera, penetrancia incompleta y riesgo elevado en portadores de edad avanzada. La presencia de dobles mutaciones debe sospecharse en individuos con formas severas de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con la colaboración de los doctores Gonzalo de la Morena, Francisco Ruiz, Eduardo Payá, María López y Francisco Sogorb.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marian AJ, Roberts R. Recent advances in the molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1995;92:1336-47.

2. Geisterfer-Lowrance AA, Kass S, Tanigawa G, Vosberg HP, McKenna W, Seidman CE, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell*. 1990;62:999-1006.
3. Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C, et al. Hypertrophic cardiomyopathy. Distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation*. 2003;107:2227-32.
4. Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, Suk HJ, Anan R, O'Donoghue A, et al. Mutations in the genes for cardiac troponin T and alpha-tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1995;332:1058-64.
5. Torricelli F, Girolami F, Olivetto I, Passerini I, Frusconi S, Vargiu D, et al. Prevalence and clinical profile of troponin T mutations among patients with hypertrophic cardiomyopathy in Tuscany. *Am J Cardiol*. 2003;92:1358-62.
6. Theopistou A, Anastasakis A, Miliou A, Rigopoulos A, Toutouzas P, Stefanadis C. Clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by an Arg278Cys missense mutation in the cardiac troponin T gene. *Am J Cardiol*. 2004;94:246-9.
7. García-Castro M, Reguero JR, Batalla A, Díaz-Molina B, González P, Álvarez V, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: low frequency of mutations in the beta-myosin heavy chain (*MYH7*) and cardiac troponin T (*TNNT2*) genes among Spanish patients. *Clin Chem*. 2003;49:1279-85.
8. García-Castro M, Reguero J, Moris C, Alonso-Montes C, Berrazueta JR, Sainz R, et al. Prevalence and spectrum of mutations in the sarcomeric troponin T and I genes in a cohort of Spanish cardiac hypertrophy patients. *Int J Cardiol*. 2007;121:115-6.
9. García-Castro M, Coto E, Reguero JR, Berrazueta JR, Alvarez V, Alonso B, et al. Espectro mutacional de los genes sarcoméricos *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3* y *TPM1* en pacientes con miocardiopatía hipertrófica. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62:48-56.
10. McKenna WJ, Stewart JT, Nihoyannopoulos P, McGinty F, Davies MJ. Hypertrophic cardiomyopathy without hypertrophy: two families with myocardial disarray in the absence of increased myocardial mass. *Br Heart J*. 1990;63:287-90.
11. Moolman JC, Corfield VA, Posen B, Ngumbela K, Seidman C, Brink AP, et al. Sudden death due to troponin T mutations. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29:549-55.
12. Anan R, Shono H, Kisanuki A, Arima S, Nakao S, Tanaka H. Patients with familial hypertrophic cardiomyopathy caused by a Phe110Ile missense mutation in the cardiac troponin T gene have variable cardiac morphologies and a favorable prognosis. *Circulation*. 1998;98:391-7.
13. Ho CY, Lever HM, DeSanctis R, Farver CF, Seidman JC, Seidman CE. Homozygous mutation in cardiac troponin T. Implications for hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2000;102:1950-5.