

Artículo original

Las mutaciones *missense* en el dominio ROD2 de la filamina C muestran un fenotipo con miocardiopatía restrictiva/hipertrófica y miocardio en dientes de sierra

Francisco José Bermúdez-Jiménez^{a,b}, Víctor Carriel^c, Juan José Santos-Mateo^{d,e,f}, Adrián Fernández^g, Soledad García-Hernández^h, Karina Analía Ramosⁱ, Jesús Piqueras-Flores^j, Eva Cabrera-Romero^{k,e}, Roberto Barriales-Villa^l, Luis de la Higuera Romero^h, Juan Emilio Alcalá López^a, Juan Ramón Gimeno Blanes^{d,e,f}, David Sánchez-Porras^c, Fernando Campos^c, Miguel Alaminos^c, José Manuel Oyonarte-Ramírez^a, Miguel Álvarez^a, Luis Tercedor^a, Andreas Brodehl^m y Juan Jiménez-Jáimez^{a,*}

^aServicio de Cardiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitaria ibsGRANADA, Granada, España

^bCentro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España

^cDepartamento de Histología, Grupo de Ingeniería Tisular, Universidad de Granada, Instituto de Investigación Biosanitaria ibsGRANADA, Granada, España

^dServicio de Cardiología, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria Virgen de la Arrixaca Murcia (IMIB), Murcia, España

^eCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), España

^fEuropean Reference Network for Rare and Low Prevalence Complex Diseases of the Heart (ERN-Guard Heart), Amsterdam, Países Bajos

^gServicio de Cardiología, Hospital Universitario Fundación Favaloro, Buenos Aires, Argentina

^hHealth in Code SL, Cardiología y Departamento Científico, Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC), A Coruña, España

ⁱServicio de Cardiología, Hospital Centenario, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Rosario, Argentina

^jServicio de Cardiología, Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real, España

^kServicio de Cardiología, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Madrid, España

^lComplejo Hospitalario Universitario A Coruña, Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC), A Coruña, España

^mErich and Hanna Klessmann Institute for Cardiovascular Research & Development (EHKI), Heart and Diabetes Center NRW, University Hospital of the Ruhr-University Bochum, Bad Oeynhausen, Alemania

Historia del artículo:

Recibido el 31 de enero de 2022

Aceptado el 28 de julio de 2022

On-line el 12 de octubre de 2022

Palabras clave:

Filaminas

Miocardiopatía

Cardiomiopatía restrictiva

Cardiomiopatía Hipertrófica

Filamina C

Miocardio en dientes de sierra

RESUMEN

Introducción y objetivos: Recientemente se han descrito mutaciones *missense* en la filamina C (FLNC) como causa de miocardiopatía. Los conocimientos sobre la patogenidad y la correlación genotipo-fenotipo son escasos. Nuestro objetivo es describir un fenotipo cardíaco distintivo relacionado con mutaciones *missense* en el dominio ROD2 de FLNC (FLNC-mRod2).

Métodos: Incluimos 21 familias independientes con fenotipo de miocardiopatía hipertrófica (MCH)/miocardiopatía restrictiva (MCR) portadoras de variantes *missense* en FLNC-mRod2. Se estudió clínicamente a los portadores, además de hacer un cribado en cascada. Se analizó histológicamente el tejido miocárdico de tres corazones explantados y se comparó con un corazón portador de un truncamiento de FLNC y con un control sano. Se transfectaron plásmidos con mutaciones *missense* de FLNC y se analizaron mediante microscopía confocal.

Resultados: En 11 familias (52%) con 20 individuos evaluados (37 [23,7-52,7] años), 15 casos presentaron un fenotipo cardíaco consistente en una superposición de MCH-MCR e hipertrabeculación ventricular izquierda (aparición de dientes de sierra). Durante una mediana de seguimiento de 6,49 años presentaron principalmente insuficiencia cardíaca avanzada (16 (80%) disfunción diastólica, 3 trasplantes cardíacos, 3 muertes por insuficiencia cardíaca) en ausencia de alteraciones de la conducción cardíaca o miopatía esquelética. Un total de 6 familias presentaban segregación genotipo-fenotipo leve, y las restantes eran mutaciones *de novo*. Se observó una remodelación de la matriz extracelular y distribución de la FLNC diferencial en los cardiomiocitos. Las células HT1080 y H9c2 no revelaron agregados citoplasmáticos de FLNC.

Conclusiones: Las variantes en FLNC-mRod2 exhiben una alta prevalencia de fenotipo solapado de MCR, MCH e hipertrabeculación en dientes de sierra, con una remodelación histopatológica cardíaca distintiva.

© 2022 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jimenez.jaimez@gmail.com (J. Jiménez-Jáimez).

@ArritmiasCr

ROD2 domain filamin C missense mutations exhibit a distinctive cardiac phenotype with restrictive/hypertrophic cardiomyopathy and saw-tooth myocardium

ABSTRACT

Keywords:

Filamins
Cardiomyopathies
Cardiomyopathy
Restrictive
Cardiomyopathies
Hypertrophic
Filamin C
Saw-tooth myocardium

Introduction and objectives: Missense mutations in the filamin C (*FLNC*) gene have been reported as cause of inherited cardiomyopathy. Knowledge of the pathogenicity and genotype-phenotype correlation remains scarce. Our aim was to describe a distinctive cardiac phenotype related to rare missense *FLNC* variants in the ROD2 domain.

Methods: We recruited 21 unrelated families genetically evaluated because of hypertrophic cardiomyopathy (HCM)/restrictive cardiomyopathy (RCM) phenotype carrying rare missense variants in the ROD2 domain of *FLNC* (*FLNC*-mRod2). Carriers underwent advanced cardiac imaging and genetic cascade screening. Myocardial tissue from 3 explanted hearts of a missense *FLNC* carrier was histologically analyzed and compared with an *FLNC*-truncating variant heart sample and a healthy control. Plasmids independently containing 3 *FLNC* missense variants were transfected and analyzed using confocal microscopy.

Results: Eleven families (52%) with 20 assessed individuals (37 [23.7-52.7]) years showed 15 cases with a cardiac phenotype consisting of an overlap of HCM-RCM and left ventricular hypertrabeculation (saw-tooth appearance). During a median follow-up of 6.49 years, they presented with advanced heart failure: 16 (80%) diastolic dysfunction, 3 heart transplants, 3 heart failure deaths) and absence of cardiac conduction disturbances or skeletal myopathy. A total of 6 families had moderate genotype-phenotype segregation, and the remaining were *de novo* variants. Differential extracellular matrix remodeling and *FLNC* distribution among cardiomyocytes were confirmed on histology. HT1080 and H9c2 cells did not reveal cytoplasmic aggregation of mutant *FLNC*.

Conclusions: *FLNC*-mRod2 variants show a high prevalence of an overlapped phenotype comprising RCM, HCM and deep hypertrabeculation with saw-tooth appearance and distinctive cardiac histopathological remodeling.

© 2022 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Abreviaturas

FLNC: filamina C
HTVI: hipertrabeculación del ventrículo izquierdo
IC: insuficiencia cardiaca
MCH: miocardiopatía hipertrófica
MCNC: miocardiopatía no compactada
MCR: miocardiopatía restrictiva

INTRODUCCIÓN

La creciente disponibilidad de la tecnología de secuenciación de nueva generación ha conducido al importante conocimiento de que las miocardiopatías son trastornos heterogéneos con expresividad y penetrancia variables. En la mayor parte de las miocardiopatías, los mecanismos de la relación entre genotipo y fenotipo dentro del mismo gen mutado continúan siendo en gran parte desconocidos.

El gen *FLNC* codifica la importante proteína cardiaca filamina C, que se expresa en las células del músculo esquelético e interactúa con varias proteínas en el disco Z de los sarcómeros y con las funciones estructurales y de señalización en el miocardiocito. El gen contiene una región de unión a la actina, 2 regiones bisagra y un dominio con 24 repeticiones de tipo Ig. La *FLNC* participa en la miogénesis preservando las miofibrillas y la ultraestructura sarcomérica. Además, la *FLNC* actúa como proteína de membrana de anclaje para las proteínas citoesqueléticas estructurales^{1,2}.

Clásicamente, las mutaciones del gen *FLNC* se han asociado a un amplio espectro de enfermedades musculares hereditarias a las que se denomina miopatías miofibrilares³. En la última década, unos pocos estudios con un pequeño número de pacientes han descrito variantes *missense* del gen *FLNC* que causan miocardiopatía restrictiva (MCR) hereditaria⁴⁻⁶, miocardiopatía hipertrófica (MCH)⁷ o miocardiopatía no compactada (MCNC)⁸ con una ausencia casi completa de afección del músculo esquelético. Más recientemente, varios estudios han descrito variantes truncadas en el gen *FLNC* (*FLNC*-tv) relacionadas con una miocardiopatía arritmógena^{9,10}. A pesar de su creciente identificación como causa genética de miocardiopatías hereditarias, la relación causal entre las variantes *missense* de *FLNC* y los fenotipos cardiacos solapados no se ha establecido claramente.

Nuestro objetivo es describir las características fenotípicas de la miocardiopatía relacionada con variantes *missense* del gen *FLNC* en el dominio ROD2 (*FLNC*-mRod2).

Nuestro objetivo es describir las características fenotípicas de la miocardiopatía relacionada con variantes *missense* del gen *FLNC* en el dominio ROD2 (*FLNC*-mRod2).

MÉTODOS

Población del estudio y evaluación clínica

Se incluyó a todos los probandos que habían sido remitidos para una evaluación genética cardiovascular en el mismo laboratorio de referencia a causa de una MCH o una MCR, presentaban una variante de *FLNC*-mRod2 y estaban disponibles para el estudio. Se excluyó a todos los individuos con otra variante causal que explicara el fenotipo. Después de la primera evaluación, se seleccionó a las familias con miocardio en dientes de sierra en la exploración de imagen cardiovascular en un estudio clínico detallado.

Se llevó a cabo una evaluación clínica exhaustiva, que incluyó una evaluación detallada de la historia clínica del paciente, el árbol genealógico, la creatinina, un electrocardiograma de 12 derivaciones, una monitorización Holter y una evaluación ecocardiográfica por un experto. La disfunción de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) se evaluó con el método de Simpson biplano¹¹. La función diastólica se evaluó según las recomendaciones actuales¹². Se analizó el aspecto del miocardio del ventrículo

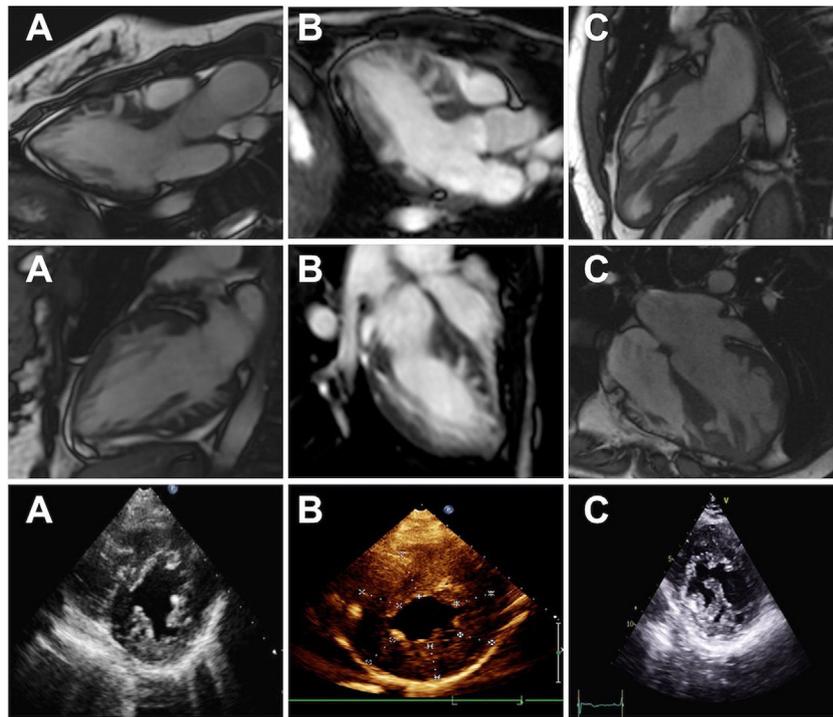


Figura 1. Imágenes de resonancia magnética cardíaca (recuadros superior y central) y de ecocardiografía (recuadro inferior) que muestran el aspecto de la hipertrabeculación del ventrículo izquierdo en dientes de sierra con proyecciones musculares y criptas profundas que distorsionan la arquitectura normal del ventrículo izquierdo. A: paciente III.1 de la familia C. B: paciente II.2 de la familia A. C: paciente de la familia E.

izquierdo (VI) prestando especial atención a la hipertrabeculación, según los criterios diagnósticos actuales para la MCNC con 2 capas bien definidas (capa delgada compactada y capa gruesa no compactada)¹³. El miocardio en dientes de sierra se identificó por la presencia de múltiples proyecciones e invaginaciones profundas en un miocardio denso y compactado.

El estudio fue aprobado por el comité de ética de investigación local. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito para la inclusión en el estudio de todos los participantes o, en el caso de pacientes menores de edad o personas fallecidas, de los familiares de primer grado.

Secuenciación genética

En el mismo centro se obtuvieron muestras de sangre de los probandos para la secuenciación genética mediante un panel de secuenciación de nueva generación orientado por el fenotipo. En el caso de los probandos con solapamiento o un fenotipo no definido, se empleó un panel de secuenciación de nueva generación que incluía genes relacionados con la cardiopatía o genes candidatos. Se capturaron los exones codificadores y los límites intrónicos de 247 genes relacionados con enfermedades cardiovasculares hereditarias (tabla 1 del material adicional) utilizando una biblioteca de sondas específica.

Para la evaluación de la patogenicidad de las variantes genéticas, se consideraron datos como la frecuencia en las bases de datos públicas (por ejemplo, *Human Gene Mutation Database*, *Single Nucleotide Polymorphism Database*, *NHLBI GO Exome Sequencing Project* y *ClinVar* o *Genome Aggregation Database*^{14–16}), su descripción previa en la literatura y la conservación entre las especies. Después de la identificación de las variantes raras del gen *FLNC* en los pacientes índice, se llevó a cabo sistemáticamente un examen de detección genética en cascada en todos los familiares disponibles mediante secuenciación de ADN Sanger. Para las variantes *de novo*, se confirmó la paternidad cuando fue posible. Por último, se

determinó el logaritmo de la puntuación de probabilidad¹⁷ y se determinó la clasificación del *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG)¹⁸. Puede consultarse información detallada sobre el método para el análisis genético en el material adicional.

Evaluación histológica

Se llevó a cabo una caracterización histológica, histoquímica e inmunohistoquímica completa del tejido cardíaco procedente de 3 corazones explantados (paciente de la familia F y familia C, pacientes 2 y 3). Las muestras de tejido se fijaron durante al menos 48 h en formaldehído tamponado neutro al 10%, se lavaron, se deshidrataron con concentraciones crecientes de etanol, se aclararon en xilol y finalmente se incluyeron en parafina según un protocolo convencional¹⁹.

Se obtuvieron cortes histológicos de un grosor de 5 μm , que se desparafinaron, se hidrataron y se examinaron en los siguientes pasos: a) se realizó un examen histológico general con hematoxilina-eosina; b) se tiñeron histoquímicamente las miofibrillas de los miocardiocitos con hematoxilina de Heidenhain; c) se evaluó la organización y distribución de los componentes principales de la matriz extracelular (MEC) con la tinción de picrosirio del colágeno, la técnica de reducción de metal de Gomori para las fibras reticulares, la tinción histoquímica de orceína para las fibras elásticas y la tinción de azul alcian para los proteoglicanos. Además, se identificaron los colágenos de tipo I y IV (COL-I y COL-IV respectivamente) mediante inmunohistoquímica, y d) se determinó el patrón de distribución del *FLNC* y la conexina-43 (Cx-43) mediante inmunohistoquímica. La información técnica sobre los anticuerpos utilizados se resume en la tabla 2 del material adicional.

Además de la caracterización histológica, se llevó a cabo un análisis semicuantitativo del cociente célula/colágeno del área de MEC en 3 cortes diferentes procedentes de 3 preparaciones tisulares distintas, con el método de picrosirio del programa informático Image J (*National Institute of Health*, Estados Unidos) y

siguiendo un procedimiento descrito anteriormente²⁰. Además, se seleccionaron 20 puntos en 3 cortes de cada condición teñidos con el método de hematoxilina de Heidenhain y se determinó la intensidad de la reacción histoquímica para las miofibrillas. Por último, se calculó la anchura celular en 20 células por imagen, seleccionadas en 3 imágenes de cada trastorno.

Para detectar las alteraciones histológicas específicas atribuibles a las variantes de *FLNC*-mRod2, se compararon las observaciones histológicas con una muestra de tejido cardiaco no patológico (control) y con una muestra de un portador de una *FLNC*-tv procedente de nuestra cohorte histórica. El caso de *FLNC*-tv mostró el fenotipo solapado reconocido de miocardiopatía dilatada y miocardiopatía arritmógena^{9,10}.

Generación de plásmidos, cultivo celular y microscopia confocal

Se utilizó el plásmido de tipo natural o salvaje (*wild-type*) pCMV6-*FLNC* (212462; OriGene Technologies, Estados Unidos) como plantilla para insertar las variantes p.P2301L, p.E3224K y p.R2340W, utilizando el *kit* Quik Change Lightning (Agilent Technologies, Estados Unidos) en combinación con los oligonu-

cleótidos apropiados (tabla 3 del material adicional). Se verificó el *FLNC* que codificaba el ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) de todos los plásmidos con el método de secuenciación Sanger (Macrogen, Países Bajos). Se cultivaron células HT1080 (DSMZ, German Collection of Microorganisms and Cell Culture, ACC315, Alemania) y H9C2 (ATCC, CRL-1446, Estados Unidos) en cámaras μ Slide (ibidi GmbH, Alemania) utilizando el medio de cultivo *Modified Eagle Medium* de Dulbecco suplementado con suero de ternera fetal al 10% y penicilina/estreptomicina. Se utilizó Lipofectamin 3000 (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos) para la transfección celular según las instrucciones del fabricante. A las 24 h de la transfección, se lavaron las células con solución salina tamponada con fosfato y se fijaron durante 10 min a temperatura ambiente utilizando Histofix al 4% (Carl-Roth, Alemania). El análisis inmunocitoquímico se llevó a cabo, según lo recientemente descrito, mediante el microscopio confocal TCS SP8 (Leica Microsystems, Alemania)⁴.

Análisis estadístico

Para los análisis estadísticos se empleó el programa SPSS Statistics, versión 21.0 (IBM Corp, Estados Unidos). Las variables

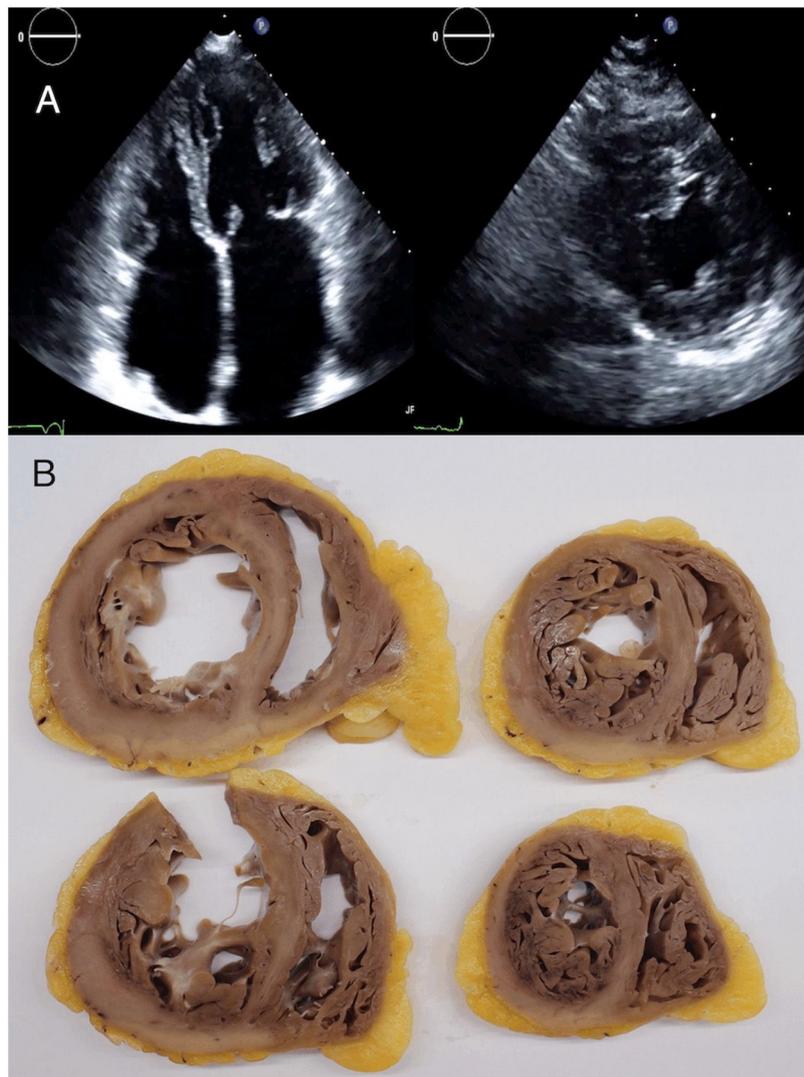


Figura 2. Imágenes de ecocardiografía (A) e imágenes macroscópicas del corazón explantado (B) del paciente índice de la familia C, de 24 y 36 años respectivamente. Las imágenes de ecocardiografía mostraron protrusiones musculares en el ventrículo izquierdo. Las imágenes anatomopatológicas mostraron la hipertrabeculación atípica intensa, con recesos profundos.

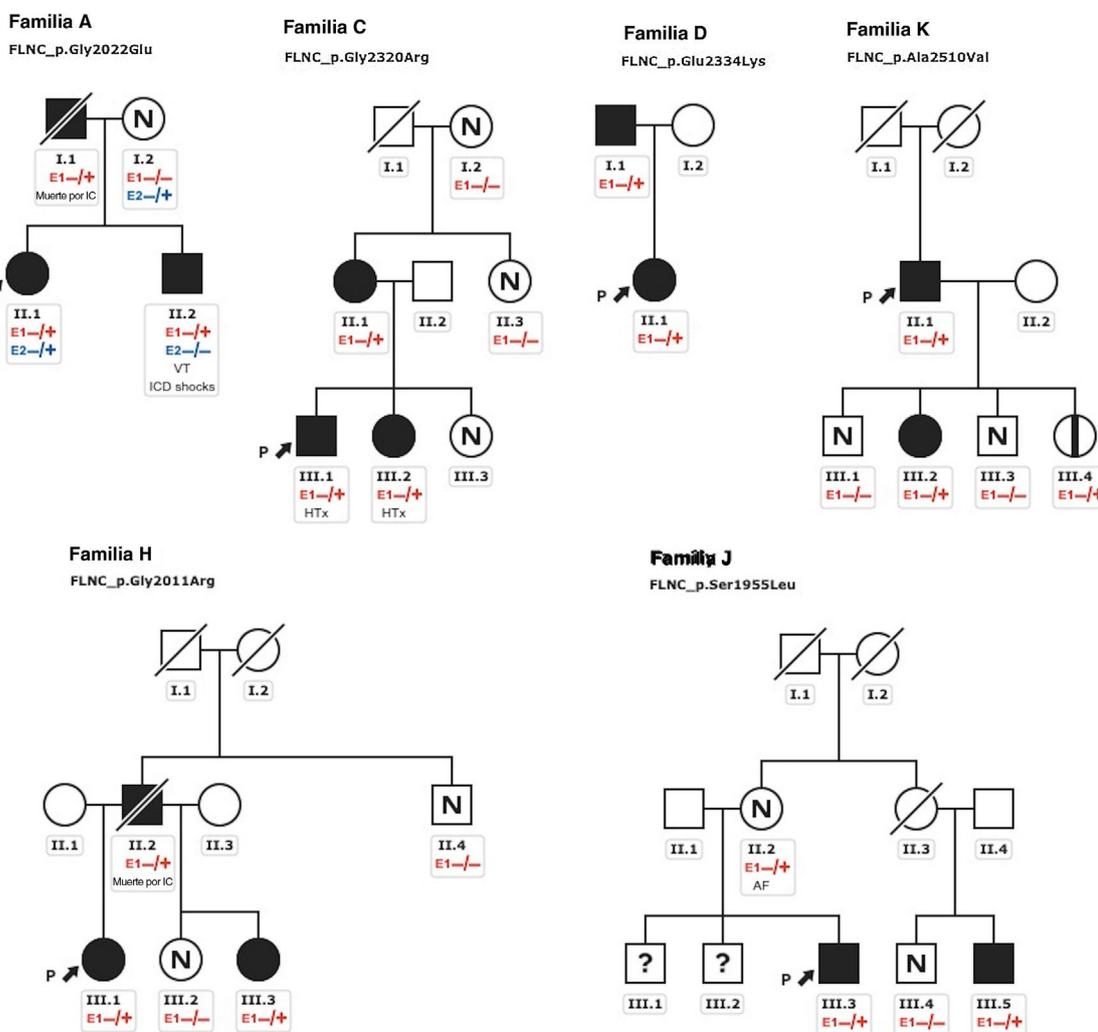


Figura 3. Árboles genealógicos con una cosegregación leve. Los cuadrados indican sexo masculino y los círculos, sexo femenino; las barras inclinadas indican individuos fallecidos, el sombreado negro indica un fenotipo de miocardiopatía, la banda negra indica un portador asintomático, N indica ausencia del fenotipo y (?) indica no disponible para la evaluación. Las flechas + P indican el probando. Portadores heterocigotos (E1 -/+) y no portadores (E1 -/-). DAI: desfibrilador automático implantable; IC: insuficiencia cardiaca; Tx: trasplante cardiaco; TVS: taquicardia ventricular sostenida.

continuas se presentan en forma de media \pm desviación estándar para cada parámetro. Para la cuantificación de las variables histológicas, se aplicó la prueba de la U de Mann-Whitney (no paramétrica). Todas las variables cualitativas se expresan mediante frecuencia y porcentaje.

RESULTADOS

Características de los pacientes

Se incluyó a 21 familias no relacionadas, procedentes de 7 centros de referencia, a las que se examinó genéticamente respecto a la MCH/MCR y en las que se encontró que eran portadoras de variantes raras de *FLNC*-mRod2 (figura 1 del material adicional). Un total de 11 familias (52%) con 20 individuos (37 [23,7-52,7] años) mostraron 15 casos con un fenotipo cardiaco consistente en una MCH o una MCR, con una hipertrabeculación del ventrículo izquierdo (HTVI) marcada y atípica que distorsionaba el VI, con presencia de numerosos puentes cruzados de proyecciones musculares. Estas protrusiones de puentes musculares en el VI delineaban criptas profundas en un único miocardio denso y compactado (figura 1), que se ha identificado como aspecto

en «dientes de sierra», diferente de las 2 capas características de la MCNC (capa fina compactada y capa gruesa no compactada). Además, esta HTVI singular se confirmó en 3 corazones explantados (figura 2).

En la cohorte total de 20 individuos, la mediana de edad en el momento del diagnóstico era 37 [23,7-52,7] años y 12 (60%) eran varones. La MCH fue más frecuente (13; 65%) que la MCR (4; 20%), y 15 individuos (75%) mostraron un aspecto en dientes de sierra. Un total de 16 individuos (80%) presentan una disfunción diastólica marcada (grado II o III) y en 10 (50%) había una fibrilación auricular, a veces en la adolescencia o al inicio de la edad adulta.

Los pacientes con MCH presentaban un aumento del tabique interventricular ($14,3 \pm 7$ mm), una aurícula izquierda dilatada ($45,6 \pm 10,4$ mm) y una FEVI inicialmente conservada ($58,5 \pm 10,3$ %). Se halló una válvula aórtica bicúspide en 2 individuos de la familia A y 2 de la familia C. Además, se realizó una resonancia magnética cardiaca con evaluación del realce tardío de gadolinio a 9 pacientes, pero ninguno mostró una cicatriz con realce tardío de gadolinio. Todos ellos mostraron un electrocardiograma anormal: en 5 había una inversión de la onda T en derivaciones precordiales y en 8, en derivaciones inferiores y precordiales; 5 tenían un bloqueo de rama derecha del haz de His y en 2 se observó un retraso de la conducción intraventricular inespecífico. Ninguno de los pacientes

Tabla 1
Características clínicas de los portadores evaluados

Paciente	Sexo	Edad al Dg (años)	Variante de FLNC	Fenotipo	CK (U/l)	FA	Grosor del VI (mm)	FEVI (%)	Disfunción diastólica	Resultado
<i>Familia A</i>										
I.1	M	30	Gly2002Glu	MCH	158	(-)	26	48	Grado III	Muerte por IC
II.1*	F	16	Gly2002Glu	MCH + HTBV	164	(-)	15	63	Grado II	(-)
II.2	M	13	Gly2002Glu	MCH + HTBV	185	(-)	32 (Z-s 12.22)	60	Grado II	TVS descarga de DAI
<i>Familia B</i>										
III.3*	F	15	Gly2011Ar	MCR + HTBV	142	+	7	61	Grado II	IC NYHA II
<i>Familia C</i>										
II.1	F	39	Gly2320Ar g	MCH	ND	+	16	61	Grado II	IC NYHA II
III.1*	M	4	Gly2320Ar g	MCR + HTBV	134	+	7 (Z-s 12.22)	58	Grado III	TxC
III.2	F	5	Gly2320Ar g	MCR + HTBV	72	+	7 (Z-s 12.12)	48	Grado III	TxC
<i>Familia D</i>										
II.1*	F	41	Glu2334Lys	MCH + HTBV	84	+	15	66	(-)	IC NYHA II
I.1	M	66	Glu2334Lys	MCH	ND	+	14	50	Grado III	IC NYHA III
<i>Familia E</i>										
II.1*	M	1	Arg2340Trp	MCH + HTBV	320	(-)	13 (Z-s 15.81)	62	Grado II	IC NYHA II TVNS
<i>Familia F</i>										
II.1*	M	25	Glu2334Lys	MCR + HTBV	160	+	12	64	Grado III	TxC
<i>Familia G</i>										
II.2*	M	1	Pro2301Leu	MCR + HTBV	ND	(-)	8 (Z-s 13.54)	74	Grado II	(-)
<i>Familia H</i>										
III.1*	F	1	Gly2011Ar	MCH + HTBV	70	(-)	14 (Z-s 16.15)	55	Grado II	IC NYHA II
II.2	M	36	Gly2011Ar g	MCH + HTBV	111	(-)	20	64	Grado III	Muerte por IC TVS Descarga de DAI apropiada
III.3	F	6	Gly2011Ar g	MCH + HTBV	50	(-)	7 (Z-s 11.93)	70	(-)	(-)
<i>Familia I</i>										
I.1*	M	60	Thr1823Ala	MCH + HTBV	102	+	21	42	Grado III	IC NYHA II Ictus
<i>Familia J</i>										
III.5	M	48	Ser1955Leu	MCH	202	+	14	65	Indeterminado	(-)
III.3*	M	29	Ser1955Leu	MCR + HTBV	234	(-)	9	53	Grado II	(-)
<i>Familia K</i>										
II.1*	M	72	Ala2510Val	MCH	86	+	22	70	Grado II	Muerte por IC
III.2	F	52	Ala2510Val	HTBV	ND	(-)	7	80	(-)	(-)

(-): no presente; (+): presente; CK: creatinasa (valores de referencia, 11-145 U/l); DAI: desfibrilador automático implantable; Dg: diagnóstico; F: sexo femenino; FA: fibrilación auricular; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; HTVI: hipertrabeculación del ventrículo izquierdo; IC: insuficiencia cardíaca; M: sexo masculino; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MCR: miocardiopatía restrictiva; ND: no disponible; NYHA: clase funcional de la *New York Heart Association*; TIV: tabique interventricular; TVNS: taquicardia ventricular no sostenida; TVS: taquicardia ventricular sostenida; TxC: trasplante cardíaco; VI: ventrículo izquierdo.

* Pacientes índice.

tenía voltajes bajos ni bloqueo auriculoventricular. La monitorización Holter no identificó un aumento de las extrasístoles ventriculares, pero en 1 individuo identificó una taquicardia ventricular no sostenida. Ninguno de los individuos tenía síntomas, signos o antecedentes de miopatía del músculo esquelético (concentración media de creatinasa, 137 ± 58 U/l). El cribado genético en cascada para la detección sistemática mostró una cosegregación leve de 6 variantes con el fenotipo (familias A, C, D, H, J, K) (figura 3), mientras que los 5 casos restantes fueron *de novo* (tabla 1; figura 2 del material adicional y tabla 4 del material adicional). Los no portadores no mostraban manifestaciones de miocardiopatía.

En las 10 familias restantes en las que se identificaron variantes de FLNC-mRod2 sin aspecto en dientes de sierra, había 4 pacientes con MCH obstructiva (1 con HTVI pero sin el rasgo en dientes de sierra), 1 con MCH en el análisis *post mortem*, 1 con MCH apical, 1 con MCR y 3 individuos sin miocardiopatía.

Eventos clínicos

Después de una mediana de seguimiento de 6,49 [3,8-21,33] años tras el diagnóstico del fenotipo, 11 pacientes (55%) habían

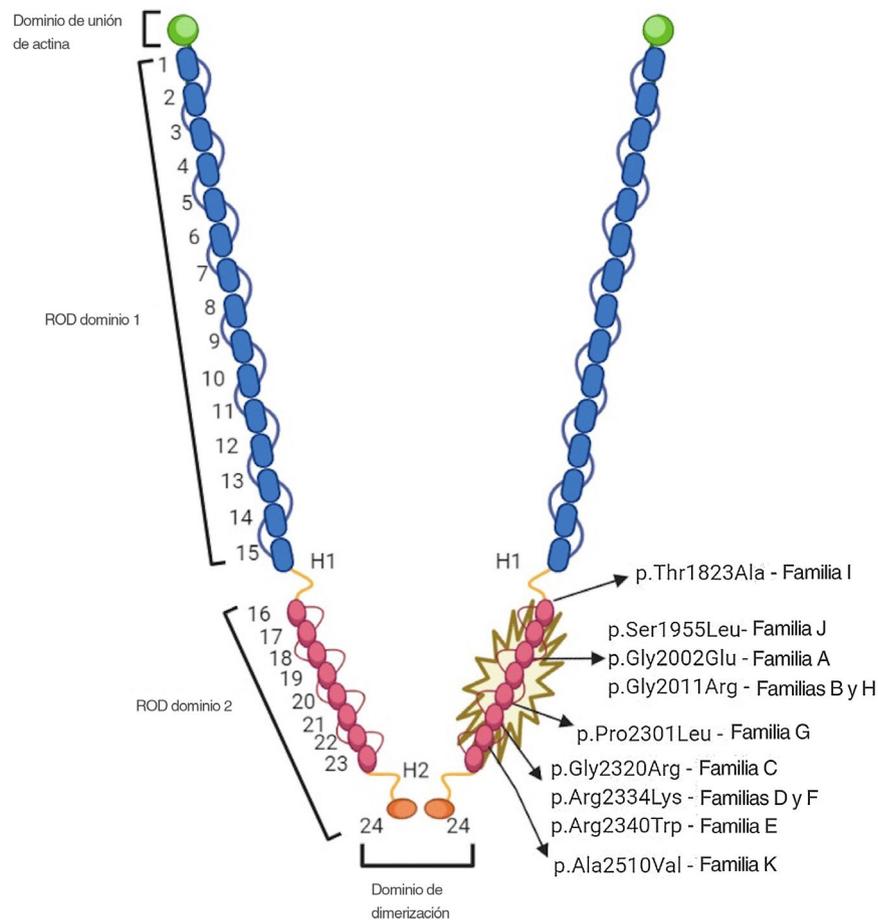


Figura 4. Representación de la proteína FLNC con la localización de las variantes de FLNC incluidas.

sufrido insuficiencia cardiaca (IC) sintomática de clase \geq II de la *New York Heart Association* (NYHA), y 3 de ellos necesitaron un trasplante cardiaco debido a la IC avanzada a una edad de entre 30 y 40 años. Tres pacientes (15%) fallecieron por IC. Además, 4 (26,6%) sufrieron un síncope durante el seguimiento y 2, una taquicardia ventricular sostenida (TVS) que motivó el implante de un desfibrilador automático implantable (DAI).

Variantes genéticas

En la [figura 4](#) se muestra la ubicación de las 9 variantes raras identificadas en el dominio de ROD2 de FLNC. Todas las variantes *missense* observadas en esta cohorte se encontraban en el dominio ROD2, y específicamente en los dominios de tipo Ig 18 a 21. Ninguna de las variantes identificadas estaba presente en las bases de datos de poblaciones de control y los predictores bioinformáticos indicaron que eran probablemente nocivas. La clasificación del ACMG identificó 4 variantes como probablemente patógenas y 5 variantes como de significado desconocido ([tablas 5 y 6 del material adicional](#)). No se identificó una segunda variante genética causal relevante en ninguno de los probandos, y se confirmó la paternidad en 4 de los casos *de novo*. No se detectó ninguna variación en el número de copias (CNV) en la cohorte seleccionada. En todos estos casos, la calidad de la muestra fue suficiente para llevar a cabo este análisis.

Histología, histoquímica e inmunohistoquímica

La tinción de hematoxilina-eosina reveló la presencia de células cardiacas moderadamente más grandes en las muestras de

corazones con FLNC-tv en comparación con las de corazones con FLNC-mRod2 y las de los controles ([figura 5A](#)). También puso de manifiesto una menor densidad de miofibrillas y una ligera reducción del espacio intercelular en los tejidos afectados por FLNC-mRod2, lo cual daba lugar a un patrón de organización del tejido más compacto en estas muestras específicas ([figura 5B](#)). Estos resultados se confirmaron mediante análisis histológicos cuantitativos ([figura 3 del material adicional](#)). El análisis inmunohistoquímico de la FLNC confirmó la ubicación intracelular de esta proteína en todas las muestras, pero en las muestras afectadas por FLNC-tv, esta proteína mostraba una distribución irregular y una ausencia completa en el disco intercalar (DI) ([figura 5C](#)). En cambio, en los tejidos afectados por FLNC-mRod2, estaba presente en el aparato contráctil, como en el grupo de control, pero especialmente positiva a nivel de los DI.

Por otro lado, el análisis de remodelado reveló la presencia de alteraciones fibrosas en las muestras con alteración genética en comparación con las de control ([figura 5D](#)), y mostró un claro aumento de las fibras de colágeno fibrilares. En las muestras afectadas por FLNC-mRod2, este aumento de las fibras de colágeno se observó alrededor de los miocardiocitos, que mostraban un patrón compactado y bien definido diferente del observado con la FLNC-tv (abundante y con una organización irregular) ([figura 5E,F](#)). Por último, el proceso fibrótico se confirmó de forma semicuantitativa, y se puso de manifiesto que el contenido de colágeno aumentado alcanzaba un $49,2 \pm 7,9\%$ en las muestras afectadas genéticamente por FLNC-tv seguido de un $29 \pm 2,5\%$ en las afectadas por FLNC-mRod2, en ambos casos considerablemente superiores al $26,5 \pm 2,2\%$ de contenido de colágeno observado en el control ([figura 3 del material adicional](#)). Además, el remodelado de la red

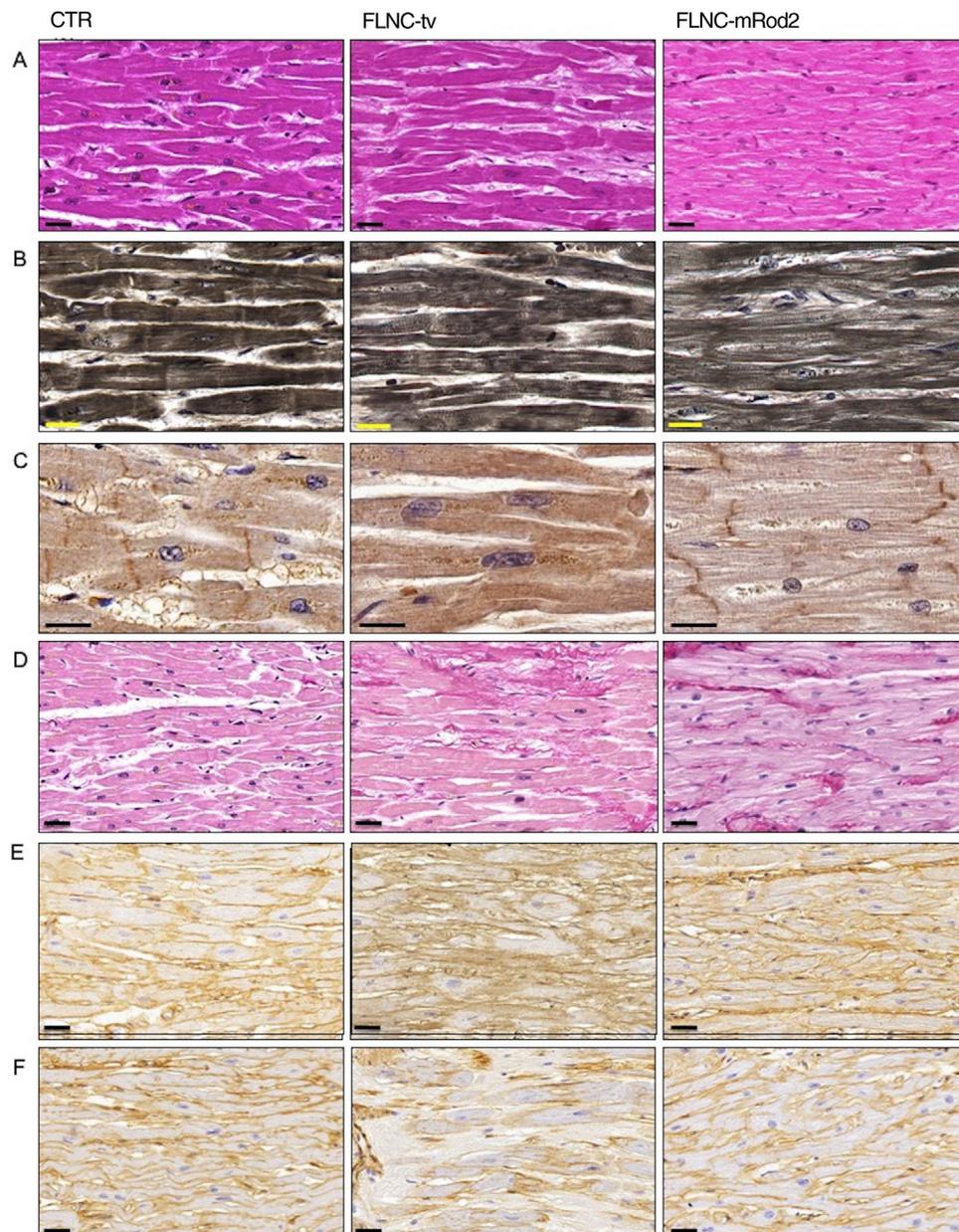


Figura 5. Patrón histológico, histoquímica miofibrilar, inmunohistoquímica de *FLNC* y análisis de remodelado de MEC en tejidos cardiacos con afección genética por *FLNC*. A: tinción de hematoxilina-eosina de muestras de control y de tejido cardíaco con afección genética (*FLNC-tv* y *FLNC-mRod2*), que muestra el aumento del espacio intercelular en *FLNC-tv* y la compactación en *FLNC-mRod2*. B: hematoxilina de Heideinhain para las miofibrillas, que muestra la menor densidad en el caso de *FLNC-mRod2*. C: distribución intracelular de *FLNC* según lo determinado mediante inmunohistoquímica. Obsérvese la ausencia de *FLNC* en el disco intercalar de la muestra con *FLNC-tv*. D: identificación histoquímica de los colágenos fibrilares mediante tinción de picrosirio (en rojo) con un aumento de estas fibras en las muestras con afección genética. E y F: identificación inmunohistoquímica del colágeno tipo I (E) y tipo IV (F). Barra de escala: 20 μ m. CTR: control; *FLNC-mRod2*: variante *missense* en el dominio *FLNC-Rod2*; *FLNC-tv*: variante truncada del gen de la filamina C.

de colágeno (respuesta fibrosa) se acompañaba de una alteración de las fibras reticulares y del contenido de proteoglicanos ácidos, así como de su intensidad y su patrón (figura 4 del material adicional). Todas estas observaciones histológicas en las muestras afectadas por *FLNC-mRod2* fueron uniformes en las 3 muestras.

Análisis funcionales

Se realizó una transfección de células HT1080 y H9C2 con plásmidos de expresión para el *FLNC* de tipo salvaje y mutante (p.P2301L, p.E2334K y p.R2340W). Los análisis confocales revelaron una localización celular comparable para el *FLNC* de tipo salvaje y mutante en las células con transfección (figura 6;

figura 5 del material adicional), lo cual indicaba que la agregación proteica patogénica era improbable con las variantes *missense* descritas.

DISCUSIÓN

Recientemente se han descrito esporádicas variantes *missense* de *FLNC* asociadas con la aparición de una MCR⁴⁻⁶. También se ha propuesto una asociación con la MCH⁷. No obstante, la evidencia procede de un pequeño número de publicaciones. Describimos aquí, por primera vez, un fenotipo cardíaco distintivo en una cohorte multicéntrica de pacientes con variantes *missense* raras en el dominio ROD2 del gen *FLNC*, que consisten en un fenotipo de MCH/

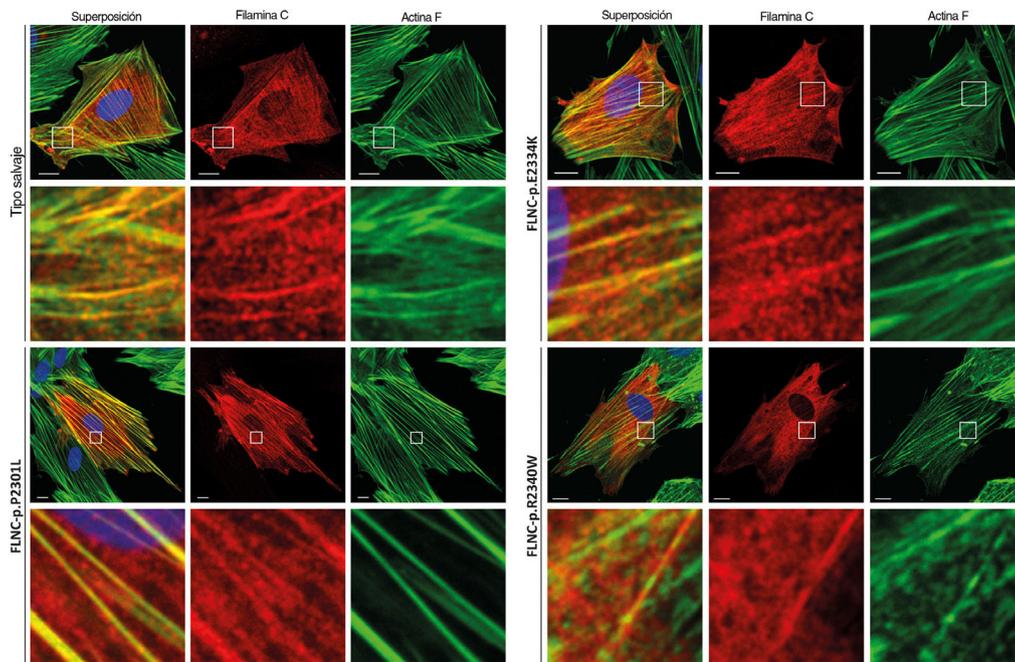


Figura 6. Se realizó una transfección de células H9C2 con plásmidos de expresión para la filamina C de tipo salvaje y mutante (p.P2301L, p.E2334K y p.R2340W). La filamina C marcada con c-Myc se muestra en rojo. La actina F (verde) se contuvo mediante faloidina conjugada con Alexa-488. Se muestran imágenes de células representativas. Barra de escala, 10 μm .

MCR grave con una inusual HTVI en dientes de sierra. El solapamiento de MCH y MCR se ha descrito anteriormente en el contexto de mutaciones de los genes de proteínas sarcoméricas cardíacas²¹. Sin embargo, hasta la fecha se han publicado pocos casos de miocardio en dientes de sierra, y ninguno de ellos se ha asociado con un gen específico²². Tiene interés señalar que la mayoría de los pacientes presentaban el aspecto en dientes de sierra en las exploraciones de imagen cardiovasculares y que algunos lo mostraban a una edad temprana. Aunque el miocardio en dientes de sierra y la MCNC pueden considerarse epifenómenos en el contexto de otro trastorno, 3 publicaciones separadas con pacientes individuales han señalado un vínculo entre la MCNC y las mutaciones *missense* en *FLNC*^{1,23,24}. Aunque los pacientes con el patrón en dientes de sierra mostraban recesos miocárdicos profundos, en todos los pacientes había una capa miocárdica única y compactada, en vez de 2 capas diferenciadas. En consecuencia, los criterios diagnósticos actuales de la MCNC no eran aplicables. Tiene interés señalar que Roldán-Sevilla et al.⁶ describieron a un individuo con la variante p.Pro2301Leu, como el paciente de la familia G, con una MCR en ausencia de HTVI. Aunque la descripción fenotípica es sucinta, esa diferencia con nuestro paciente puede explicarse por la ya conocida expresión pleotrópica de *FLNC*¹.

Por lo que respecta a la repercusión clínica de las variantes *FLNC*-mRod2, la mayoría de los individuos tenían síntomas de IC y una notable disfunción diastólica. Es de destacar que, en esta pequeña cohorte de pacientes, en su mayoría jóvenes, hubo una gran incidencia de eventos clínicos mayores. Esto es coherente con una forma de miocardiopatía más grave que la MCH clásica y similar a la MCH debida a mutaciones en los genes de las proteínas filamentosas finas como la troponina T²⁵. Esta observación podría revelar una fisiología restrictiva y una IC avanzada en las variantes *FLNC*-mRod2, que puede ser común en las fases iniciales de la enfermedad, de manera similar a las descripciones previas de pacientes con una IC avanzada a una edad temprana^{4,6}. Es interesante que se observara una alta incidencia de variantes *de novo*, lo cual respalda la probabilidad de patogenicidad de estas variantes raras. Dado que se confirmó la paternidad en 4 variantes, estas se clasifican como probablemente patogénicas según los criterios del ACMG¹⁸.

Además, se obtuvo evidencia que indica una cosegregación fenotipo-genotipo leve en 4 familias no relacionadas, lo cual es un hecho crucial que respalda la patogenicidad. La *FLNC* es una proteína homodimérica codificada por el gen *FLNC* (7q32), que está formado por 47 exones codificadores. La proteína está formada por un dominio de unión de la actina aminoterminal y una ROD de 24 dominios de tipo Ig que están conectados por regiones bisagra flexibles entre los dominios 15 y 16 (bisagra 1) y los dominios 23 y 24 (bisagra 2)²⁶. Sin embargo, se han descrito variantes de *FLNC* dispersas por todo el gen, y la información sobre genotipo-fenotipo y la afección cardíaca es incompleta; en estudios previos se ha cuestionado la gravedad clínica e incluso la patogenicidad de las variantes de *FLNC* frecuentes en las formas clásicas de MCH, que son casos claramente diferentes de los presentados en nuestra cohorte²⁷: todos nuestros probandos eran portadores de una mutación *missense* situada en el mismo subdominio de ROD2, que afectaba concretamente a los dominios de tipo Ig del 18 al 21 (d18-21), y la mayor parte de ellas tenían en común este fenotipo singular de «miocardio en dientes de sierra». Los 2 pares de dominios (18-19 y 20-21) muestran conservación de todas las filaminas de los vertebrados²⁸. Esta zona ROD2 contiene el dominio encargado de la unión de las glucoproteínas de membrana y forma una ROD semiflexible con 2 regiones bisagra y 24 repeticiones en tándem de alta homología, formadas por los residuos aminoácidos 93 a 103 organizados como dominios de tipo Ig. Los datos recientes sobre las correlaciones genotipo-fenotipo entre los portadores de variantes patogénicas de *FLNC* apuntan a un *cluster* de variantes *missense* en esta región y la aparición del fenotipo de MCH¹. Este *cluster* d18-21 interactúa con las proteínas del disco Z, el desarrollo muscular y las proteínas relacionadas con la contracción. Además, tiene un especial interés, ya que es un punto crucial para la fosforilación proteica²⁹. Se ha indicado que este subdominio ROD2 es esencial para la dimerización de la *FLNC* y la adquisición de la estructura proteica secundaria²³. Así pues, las variantes *missense* en el subdominio ROD2 pueden producir una proteína con mal plegamiento y un deterioro de los enlaces cruzados y dar lugar a desorden sarcomérico y deterioro de la mecanotransducción^{23,30}. Esta hipótesis deberá confirmarse en futuros estudios.

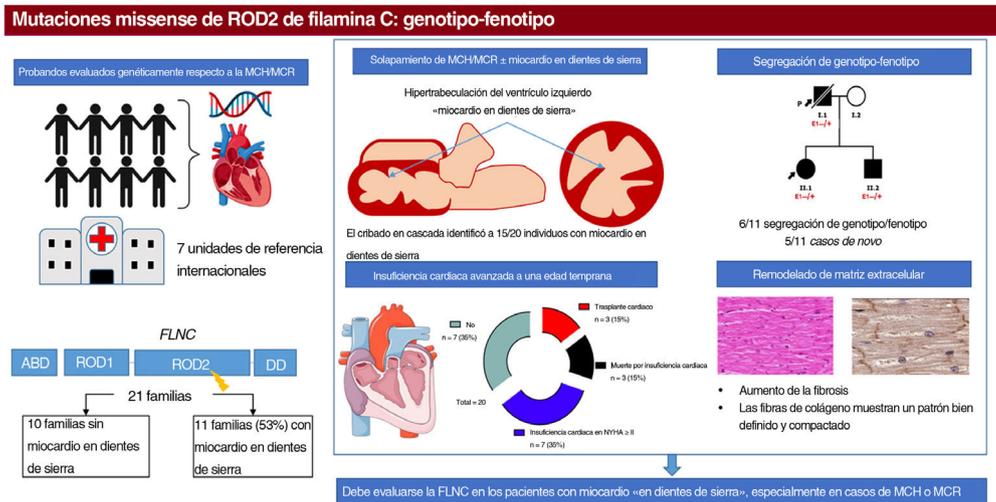


Figura 7. Ilustración central. Identificación y manifestaciones clínicas de los pacientes con variantes *missense* en el dominio ROD2 del *FLNC* y miocardio en dientes de sierra. Se incluyó a pacientes evaluados genéticamente a causa de una miocardiopatía hipertrófica/miocardiopatía restrictiva que presentaban una variante *missense* en el dominio ROD2 del gen *FLNC*: 11 probandos mostraron un miocardio en dientes de sierra: el cribado en cascada identificó hasta 15 individuos con ese rasgo; en 6 familias se observó una cosegregación leve. Los pacientes contrajeron una insuficiencia cardíaca a una edad temprana. El examen anatomopatológico mostró un remodelado cardíaco bien definido. FLNC: filamina C; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MCR, miocardiopatía restrictiva; NYHA: calse funcional de la New York Heart Association.

Se caracterizó por histología el tejido de *FLNC*-mRod2 y *FLNC*-tv en muestras cardíacas procedentes de 3 corazones explantados y de 1 caso de muerte súbita cardíaca respectivamente. Aunque debe interpretarse con precaución debido a la pequeñez de la muestra, los análisis histológicos e histoquímicos del paciente con *FLNC*-mRod2 mostraron células finas con una baja densidad de miofibrillas, lo cual puede explicarse por un deterioro de los enlaces cruzados de las proteínas estructurales, contráctiles o incluso citoesqueléticas de membrana de anclaje. Además, no se observaron agregaciones de *FLNC* en la histología ni en los experimentos funcionales. En este estudio, tal como se ha descrito anteriormente^{4,7}, se utilizaron 2 sistemas heterólogos, y la línea celular H9C2 era más representativa de la fisiología miocítica. Aunque se ha observado una proteína anormal formando agregados en el tejido de pacientes con MCH y MCR asociadas a *FLNC*³¹, Valdes-Mas⁷ y Brodehl⁴ han demostrado que no todas las variantes *missense* de *FLNC* asociadas con miocardiopatía inducen una agregación proteica, por ejemplo en el caso de las variantes de *FLNC*-mRod2 p.I2160F o p.V2297M^{4,5}. Es interesante que la ausencia de agregados se ha descrito en el tejido cardíaco de pacientes con *FLNC*-tv en el dominio ROD2, lo cual indica la ausencia de una proteína *FLNC* anormal²³.

También se confirmó la localización intracelular de la *FLNC* en todas las muestras cardíacas, pero hubo diferencias entre ellas. Mientras que en el caso de *FLNC*-mRod2 había abundancia de *FLNC* en los DI, las muestras afectadas por *FLNC*-tv expresaban una proteína de distribución irregular con una ausencia completa en los DI. Esta ausencia de *FLNC* en el DI en la *FLNC*-tv se había descrito anteriormente en modelos de pez cebra³¹. Además, se confirmó un remodelado de la MEC diferente, dependiente del genotipo, que conducía a alteraciones fibróticas diversas en los pacientes con una afección genética. Los tejidos afectados por *FLNC*-tv estaban ocupados por una red de colágeno fibrilar abundante y de distribución irregular, lo cual confirma una respuesta fibrosa evidente⁹. Sin embargo, las muestras afectadas por *FLNC*-mRod2 presentaban un patrón de tejido bien definido y compactado, con un proceso fibroso de leve a moderado. Esto contrasta con los resultados del realce tardío de gadolinio, pero puede explicarse por la fibrosis miocárdica difusa que no puede evaluarse mediante las imágenes de realce tardío de gadolinio. Los futuros estudios con mapeo T₁ permitirán mejorar la evaluación de la fibrosis miocárdica intersticial.

Limitaciones

Las principales limitaciones de este estudio son el pequeño número de pacientes evaluados y su diseño retrospectivo. De las 9 variantes raras, 5 se consideran variantes de significado desconocido, lo cual limita las conclusiones que pueden extraerse. Por lo que respecta a la histología, dada la naturaleza de las muestras, se incluyeron solo unas pocas muestras cardíacas independientes afectadas por este trastorno genético concreto, y ello limita la posibilidad de realizar análisis cuantitativos y estadísticos. La caracterización del tejido en la resonancia magnética cardíaca tiene la limitación del carácter retrospectivo del estudio. Además, es posible que las células HT1080 no reproduzcan la fisiología de los miocardiocitos humanos.

CONCLUSIONES

Las raras variantes *missense* de *FLNC* en el dominio ROD2 pueden mostrar un fenotipo solapado que comprende la MCH y la MCR, con una HTVI en dientes de sierra caracterizada por una progresión grave de la IC y un remodelado histopatológico cardíaco distintivo (figura 7).

FINANCIACIÓN

A. Brodehl agradece el apoyo económico de la Ruhr-University Bochum (FoRUM, FoRUM-F937R2-2020). F.J. Bermúdez Jiménez recibió apoyo económico de un programa de formación en investigación Río Hortega del Instituto de Salud Carlos III (CM19/00227).

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores hicieron una contribución significativa a este trabajo reclutando los casos en sus centros de referencia. F.J. Bermúdez-Jiménez y V. Carriel redactaron y coordinaron por igual el manuscrito. A.B. llevó a cabo el estudio funcional. J. Jiménez-

Jáimez supervisó el trabajo clínico y de investigación y la versión final del manuscrito. Todos los autores han aprobado la versión final del manuscrito.

CONFLICTOS DE INTERESES

Ninguno.

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos dar las gracias a los pacientes y a sus familias por su generosa e incondicional colaboración. Damos las gracias a Fabiola Bermejo Casares, Paloma de la Cueva Batanero (Departamento de Histología, Universidad de Granada, España), Caroline Stanasiuk (EHKI, Alemania), Raúl Franco Gutiérrez (Hospital Universitario Lucus Augusti, Santiago de Compostela, España), Neus Baena Díez (Hospital Universitario Parc Taulí, Sabadell, España), Carlos Gómez Navarro (Hospital Universitario Torrecárdenas, Almería, España) y Huafrin Kotwal (St. Bartholomew's Hospital, Londres, Reino Unido) por la asistencia técnica. Los análisis histológicos contaron con el apoyo del Tissue Engineering Group (CTS-115), Universidad de Granada, España.

¿QUÉ SE SABE DEL TEMA?

- La FLNC es una proteína del músculo esquelético codificada por el gen *FLNC*, que actúa como proteína de señalización y de estructura.
- Se ha observado una intensa asociación de las variantes del gen *FLNC* con la miocardiopatía dilatada arritmógena y esporádicamente con la miocardiopatía hipertrófica, la miocardiopatía restrictiva y la miocardiopatía no compactada.

¿QUÉ APORTA DE NUEVO?

- Este estudio proporciona una nueva perspectiva sobre el espectro de la miocardiopatía asociada con *FLNC* y describe, por primera vez, una asociación novedosa con un fenotipo cardíaco solapado, formado por el miocardio en dientes de sierra y la miocardiopatía hipertrófica y restrictiva.
- Este es el primer estudio en el que se asocia un fundamento genético con el patrón de miocardio en dientes de sierra.
- Deberá evaluarse el gen *FLNC* en pacientes con este fenotipo cardíaco, inespecífico pero grave, para determinar el diagnóstico apropiado e identificar a los familiares en riesgo.

ANEXO. MATERIAL ADICIONAL

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en <https://doi.org/10.1016/j.rec.2022.08.002>

BIBLIOGRAFÍA

- Ader F, De Groote P, Réant P, et al. FLNC pathogenic variants in patients with cardiomyopathies: Prevalence and genotype-phenotype correlations. *Clin Genet*. 2019;96:317–329.
- Takada F, Vander Woude DL, Tong HQ, et al. Myozenin: An α -actinin- and γ -filamin-binding protein of skeletal muscle Z lines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:1595–1600.
- Selcen D, Engel AG. Myofibrillar myopathies. In: Corrado A, ed. *Muscular Dystrophy: Causes and Management*. New York: Nova Science Publishers, Inc; 2013:247–265.
- Brodehl A, Ferrier RA, Hamilton SJ, et al. Mutations in FLNC are Associated with Familial Restrictive Cardiomyopathy. *Hum Mutat*. 2016;37:269–279.
- Tucker NR, McLellan MA, Hu D, et al. Novel Mutation in FLNC (Filamin C) Causes Familial Restrictive Cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet*. 2017;10:e001780.
- Roldán-Sevilla A, Palomino-Doza J, de Juan J, et al. Missense Mutations in the FLNC Gene Causing Familial Restrictive Cardiomyopathy. *Circ Genomic Precis Med*. 2019;12:e002388.
- Valdés-Mas R, Gutiérrez-Fernández A, Gómez J, et al. Mutations in filamin C cause a new form of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Commun*. 2014;5:5326.
- Waning JL, van Hoedemaekers YM, Rijdt WPT, et al. FLNC missense variants in familial noncompaction cardiomyopathy. *Cardiogenetics*. 2019;9:8181.
- Ortiz-Genga MF, Cuenca S, Dal Ferro M, et al. Truncating FLNC Mutations Are Associated With High-Risk Dilated and Arrhythmogenic Cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68:2440–2451.
- Gigli M, Stolfo D, Graw SL, et al. Phenotypic Expression. *Natural History and Risk Stratification of Cardiomyopathy Caused by Filamin C Truncating Variants Circulation*. 2021;144:1600–1611.
- Lang RM, Badano LP, Victor MA, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2015;28:1–39e14.
- Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2016;29:277–314.
- Finsterer J, Stöllberger C, Towbin JA. Left ventricular noncompaction. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14:224–237.
- Stenson PD, Ball EV, Mort M, et al. Human Gene Mutation Database (HGMD): 2003 update. *Hum Mutat*. 2003;21:577–581.
- Landrum MJ, Lee JM, Benson M, et al. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res*. 2016;44:D862–D868.
- Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Exome Aggregation Consortium. *Analysis of protein-coding genetic variation in 60706 humans Nature*. 2016;536:285–291.
- Nyholt DR. All LODs are not created equal. *Am J Hum Genet*. 2000;67:282–288.
- Richards S, Aziz N, Bale S, 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;17:405–424.
- Carriel V, Campos F, Aneiros-Fernández J, Kiernan JA. Tissue Fixation and Processing for the Histological Identification of Lipids. *Methods Mol Biol*. 2017;1560:197–206.
- Carriel V, Garzón I, Campos A, Cornelissen M, Alaminos M. Differential expression of GAP-43 and neurofilament during peripheral nerve regeneration through bio-artificial conduits. *J Tissue Eng Regen Med*. 2017;11:553–563.
- Olivetto I, d'Amati G, Basso C, et al. Defining phenotypes and disease progression in sarcomeric cardiomyopathies: contemporary role of clinical investigations. *Cardiovasc Res*. 2015;105:409–423.
- García-Pavia P, Domínguez F. Saw-Tooth Cardiomyopathy: Try Not to Stumble Twice Over the Same Stone. *JACC Case Reports*. 2020;2:1210.
- Verdonschot JAJ, Vanhoutte EK, Claes GRF, et al. A mutation update for the FLNC gene in myopathies and cardiomyopathies. *Hum Mutat*. 2020;41:1091–1111.
- Miszalski-Jamka K, Jefferies JL, Mazur W, et al. Novel Genetic Triggers and Genotype-Phenotype Correlations in Patients With Left Ventricular Noncompaction. *Circ Cardiovasc Genet*. 2017;10:e001763.
- Coppini R, Ho CY, Ashley E, et al. Clinical phenotype and outcome of hypertrophic cardiomyopathy associated with thin-filament gene mutations. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64:2589–2600.
- Razinia Z, Mäkelä T, Yläne J, Calderwood DA. Filamins in Mechanosensing and Signaling. *Annu Rev Biophys*. 2012;41:227–246.
- Cui H, Wang J, Zhang C, et al. Mutation profile of FLNC gene and its prognostic relevance in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mol Genet Genomic Med*. 2018;6:1104–1113.
- Heikkinen OK, Ruskamo S, Konarev PV, et al. Atomic structures of 2 novel immunoglobulin-like domain pairs in the actin crosslinking protein filamin. *J Biol Chem*. 2009;284:25450–25458.
- Reimann L, Schwäble AN, Fricke AL, et al. Phosphoproteomics identifies dual-site phosphorylation in an extended basophilic motif regulating FILIP1-mediated degradation of FLNC. *Commun Biol*. 2020;3:253.
- Mao Z, Nakamura F. Structure and function of filamin c in the muscle z-disc. *Int J Mol Sci*. 2020;21:2696.
- Begay RL, Tharp CA, Martin A, et al. FLNC Gene Splice Mutations Cause Dilated Cardiomyopathy. *JACC Basic to Transl Sci*. 2016;1:344–359.