

# Mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina en pacientes con miocardiopatía hipertrófica

Rafael Laredo, Lorenzo Monserrat, Manuel Hermida-Prieto, Xusto Fernández, Isabel Rodríguez, Laura Cazón, Inés Alvaríño, Carlos Dumont, Pablo Piñón, Jesús Peteiro, Beatriz Bouzas y Alfonso Castro-Beiras

Servicio de Cardiología. Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo e Instituto Universitario de Ciencias de la Salud de la Universidad de A Coruña. A Coruña. España.

**Introducción y objetivos.** Determinar la frecuencia de mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina (*MYH7*) en una cohorte de pacientes con miocardiopatía hipertrófica (MCH) y en sus familiares, y analizar la correlación entre genotipo y fenotipo.

**Métodos.** Detección de polimorfismo en la conformación de hebras monocatenarias y secuenciación de fragmentos con movilidad anormal del gen *MYH7* en 128 casos índice consecutivos con MCH. Comparación de fenotipo entre pacientes con y sin mutaciones y descripción del fenotipo de las familias identificadas.

**Resultados.** Identificamos 11 mutaciones en 13 familias (10%), 7/11 previamente descritas. La mutación I736T se identificó en 3 familias y la A797T en 2. Un caso presentó 2 mutaciones (I736T y R787H). Las mutaciones fueron más frecuentes en pacientes con antecedentes familiares de muerte súbita (31%) y con hipertrofia severa (39% con grosor  $\geq 30$  mm). Había mutación en 29 de 42 miembros de las 13 familias, incluidos 6 (20%) portadores sanos (edad  $\leq 36$  años). Había antecedentes de muerte súbita en 9 familiares de 4 familias (4 en 2 familias con I736T, uno con A797T, uno con R870H y 2 con A901P).

**Conclusiones.** Las mutaciones en *MYH7* aparecen en un 10% de nuestras familias y son más frecuentes cuando hay antecedentes familiares de muerte súbita o hipertrofia severa. La mayor parte había sido descrita previamente y algunas se repiten en varias familias. Ciertas mutaciones muestran una correlación genotipo-fenotipo estable, mientras que en otras, las marcadas diferencias entre casos índice y familiares hacen sospechar la presencia de factores genéticos adicionales que debemos identificar.

**Palabras clave:** Miocardiopatía. Hipertrofia. Genética. *MYH7*.

VÉASE EDITORIAL EN PÁGS. 994-6

Este estudio ha sido financiado con una beca de la Sociedad Española de Cardiología y Fundación Española de Corazón para investigación básica en cardiología y con fondos de investigación de la Red de Investigación Cardiovascular RECAVA del Instituto de Salud Carlos III. Lorenzo Monserrat recibe financiación de una ayuda a la investigación de la Fundación Sanofi-Aventis. Carlos Dumont recibe financiación de BBVA-Fundación Carolina.

Correspondencia: Dr. L. Monserrat Iglesias.  
Servicio de Cardiología. CHU Juan Canalejo.  
As Xubias, 84. 15006 A Coruña. España.  
Correo electrónico: lorenzo\_monserrat@canalejo.org

Recibido el 19 de abril de 2006.

Aceptado para su publicación el 27 de junio de 2006.

## Beta-Myosin Heavy-Chain Gene Mutations in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy

**Introduction and objectives.** To determine the frequency of mutations in the beta-myosin heavy-chain gene (*MYH7*) in a cohort of patients with hypertrophic cardiomyopathy (HCM) and their families, and to investigate correlations between genotype and phenotype.

**Methods.** Single-strand conformation polymorphism analysis and sequencing of fragments with abnormal *MYH7* gene mobility were carried out in 128 consecutive index patients with HCM. The phenotypes of patients with and without mutations were compared and the phenotypes of identified families were recorded.

**Results.** A total of 11 mutations were found in 13 families (10%); 7/11 had been previously described. The I736T mutation was found in three families and the A797T in two. One patient had two mutations (i.e., I736T and R787H). Mutations were more frequent in patients with a family history of sudden death (31%) and in those with severe hypertrophy (39% had a thickness  $\geq 30$  mm). Mutations were found in 29 of 42 members of the 13 families, including six family members (20%) who were healthy carriers and aged  $\leq 36$  years. Sudden death had occurred in eight members of four families: four in two families with the I736T mutation, one in a family with A797T, one in a family with R870H, and two in a family with A901P.

**Conclusions.** *MYH7* mutations were present in 10% of our families. Mutations were more frequent in patients with a family history of sudden death and in those with severe hypertrophy. Most mutations had been described previously. Some appeared in several families. For some mutations, the correlation between genotype and phenotype was stable, while for others, there were marked differences between the phenotypes of the index patients and their relatives, suggesting the presence of additional genetic factors that have yet to be identified.

**Key words:** *Cardiomyopathy. Hypertrophy. Genetics. MYH7.*

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

## INTRODUCCIÓN

La miocardiopatía hipertrófica (MCH) es una enfermedad primaria del miocardio producida por mutacio-

## ABREVIATURAS

MCH: miocardiopatía hipertrófica.  
PCHM: polimorfismo en la conformación de hebras monocatenarias.

nes de genes que codifican proteínas del sarcómero<sup>1-7</sup>. Se considera que las mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina (*MYH7*) causan entre un 15 y un 30% de los casos de MCH<sup>8-12</sup>, pero la frecuencia de mutaciones identificadas en *MYH7* es variable en diferentes estudios y los datos disponibles en nuestro medio son muy escasos<sup>13,14</sup>. Por otra parte, el conocimiento sobre la correlación entre genotipo y fenotipo en las diferentes mutaciones descritas es muy limitado. El objetivo de este estudio es analizar la frecuencia de mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina en una población amplia de pacientes con MCH y el análisis de la correlación genotipo-fenotipo en las mutaciones identificadas.

## MÉTODOS

### Sujetos del estudio

Se estudiaron 128 casos índice consecutivos con diagnóstico de MCH. Estos pacientes pertenecen a una cohorte de más de 400 pacientes con MCH controlada en una consulta específica de miocardiopatías de un hospital terciario que da servicio a una población de unos 500.000 habitantes. Prácticamente todos los pacientes diagnosticados de MCH en esta población son controlados en esta consulta que, además, realiza el seguimiento de pacientes remitidos de otros centros de la comunidad autónoma (2.500.000 habitantes). El diagnóstico de MCH se realizó de acuerdo con los criterios de la OMS y del grupo de trabajo de enfermedad miocárdica y pericárdica de la Sociedad Europea de Cardiología<sup>12</sup>. El estudio clínico en pacientes y familiares incluye: historia clínica y exploración física, electrocardiografía, ecocardiograma, Holter (en afectados), ergometría (en afectados), hemograma y bioquímica completa y recogida de muestras para extracción de ADN, plasma y suero. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado y el estudio fue aprobado por el comité de ética de la institución.

### Análisis mutacional

A partir de muestras de sangre periférica se aisló el ADN mediante el kit de extracción de GFX Genomic Blood DNA Purification kit (Amersham Biosciences, Suecia)<sup>15</sup>. Se amplificó la secuencia codificante del gen de la cadena pesada de la betamiosina (*MYH7*), comprendida entre los exones 3 a 40<sup>16-18</sup>. Los *primers* se di-

señaron desde las regiones intrónicas flanqueantes utilizando como secuencia de referencia la publicada en el GenBank con el número de acceso AJ238393. Los exones se analizaron mediante PCHM (polimorfismo en la conformación de hebras monocatenarias) en geles de poliacrilamida del kit GeneGel SSCP Starter Kit (Amersham Pharmacia Biotech, Suecia). Las muestras con patrón de movilidad anormal fueron reamplificadas, purificadas y secuenciadas. Un cambio en la secuencia de aminoácidos respecto a las secuencias de referencia<sup>16-19</sup> se consideró como mutación patógena cuando cumplía los siguientes 3 criterios<sup>8,20</sup>: segregaba con los miembros afectados de la familia, no estaba presente en 200 cromosomas de individuos sanos no relacionados, y era un residuo conservado entre especies e isoformas de la miosina. Se consideraron como variantes alélicas raras los cambios que no segregaban con la enfermedad y que no estaban presentes en la población control. Se consideraron como polimorfismos no asociados con la MCH los cambios en la secuencia presentes en la población de control (100 individuos sanos, no emparentados entre sí). Las mutaciones fueron confirmadas independientemente mediante RFLP (*restriction length fragment polymorphisms* o polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción) o ARMS (*amplified refractory mutation system* o sistema de detección de mutaciones refractarias a la amplificación).

### Estudio de la correlación genotipo-fenotipo

Se compararon las características demográficas, clínicas y ecocardiográficas en los casos índice con y sin mutación en el gen *MYH7*.

En los pacientes en los que se identificaron mutaciones se invitó a los familiares a realizar un estudio clínico, electrocardiograma (ECG), ecocardiograma y estudio genético, y se describen las características fenotípicas de los pacientes portadores de mutación en cada familia.

### Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico SPSS para PC versión 12.0. Se analizaron las diferencias entre pacientes con y sin mutación mediante pruebas exactas de la  $\chi^2$  para variables categóricas y mediante pruebas no paramétricas (U de Mann-Whitney) para variables continuas. En todos los análisis se consideraron estadísticamente significativas las diferencias en las que la  $p < 0,05$  (contraste bilateral).

## RESULTADOS

### Mutaciones identificadas

Se hallaron 11 mutaciones (tabla 1), 7 de las cuales ya habían sido descritas previamente<sup>8,9,11,21-32</sup>. Estas mutaciones afectan a 13 de las 128 familias estudiadas

**TABLA 1. Mutaciones identificadas**

Mutación	Posición	Exón	Localización sobre <i>MyHC</i>	Confirmación	Estatus	Número familias
M388T	t8772c	13	Cabeza	NlaIII	Nueva	1
R442C	c9057t	14	Cabeza	Hhal	Nueva	1
R663H	g11252a	18	Cabeza	Hhal	Descrita	1
I736T	t12315c	20	Cabeza	Hpy8I	Descrita	3
G768R	g12684a	21	Cabeza	MspI	Descrita	1
R787H	g12742a	21	Cabeza	MluI	Descrita	1
A797P	g127716	21	Cabeza	ARMS I	Nueva	1
A797T	g12771a	21	Cabeza	HphI	Descrita	2
R870H	g13248a	22	Cuello	Acil	Descrita	1
A901P	g13961c	23	Cuello	Bpu10I	Nueva	1
K1459N	g20750t	32	Cola	Tsp509I	Descrita	1

A: alanina; C: cisteína; G: glicina; H: histidina; I: isoleucina; K: lisina; M: metionina; N: asparagina; P: prolina; R: arginina; T: treonina.

**TABLA 2. Polimorfismos encontrados en MYH7**

Exón	Secuencia	Aminoácido
Exón 3	gtc-gtg	Val52Val
	acc-act	Thr63Thr
Exón 5	ctc-ctg	Leu120Leu
Exón 7	gca-gcg	Ala199Ala
Exón 8	ttt-ttc	Phe244Phe
Exón 9	acc-aca	Thr265Thr
Exón 11	gac-gat	Asp325Asp
Exón 12	ggc-ggt	Gly354Gly
	gcc-gct	Ala355Ala
	aag-aaa	Lys365Lys
	gag-gaa	Glu374Glu
	cca-ccg	Pro375Pro
	gac-gat	Asp376Asp
	gca-gct	Ala426Ala
Exón 14	gca-gct	Ala426Ala
Exón 15	atc-att	Ile524Ile
Exón 16	gaa-gag	Glu535Glu
Exón 19	ggc-ggg	Gly682Gly
Exón 23	gtg-gtc	Val1025Val
	att-atc	Ile989Ile
Exón 24	gtg-gtc	Val1025Val
	caa-cag	Gln1030Gln
	ctg-ctc	Leu1038Leu
Exón 25	ctg-ctc	Leu1038Leu
Exón 26	gca-gct	Ala1092Ala
	cag-caa	Gln1112Gln
Exón 27	ctg-cta	Leu1135Leu
Exón 30	tgc-tgt	Cys1340Cys
Exón 32	tcc-tgc	Ser1491Cys
Exón 33	acc-act	Thr1522Thr
Exón 35	gcg-gcc	Ala1702Ala
Exón 37	gaa-gag	Glu1787Glu

(10,2%). La mutación I736T se identificó en 3 familias y la mutación A797T, en 2. En un paciente se identificaron 2 mutaciones: I736T y R787H.

Además, se identificó una variante alélica rara (R1781H, exón 37) que afecta a una residuo de la cola de la proteína, y 32 polimorfismos no asociados con MCH (presentes en la población de control), de los que sólo uno supone un cambio de aminoácido respecto a la secuencia de referencia (tabla 2).

**TABLA 3. Características de los casos índice con y sin mutación en MYH7**

	Con mutación (n = 13)	Sin mutación (n = 115)	p
Edad diagnóstico (años)	44 (19)	51 (16)	0,17
Edad inicio seguimiento (años)	50 (18)	53 (16)	0,4
Sexo masculino	38%	65%	0,07
Antecedentes familiares de MCH	62%	25%	0,01
Antecedentes familiares de MS	31%	7%	0,02
HTA	23%	39%	0,4
NYHA inicial			
I-II	92%	89%	0,4
III-IV	8%	115%	
NYHA III-IV en alguna ocasión	46%	30%	0,3
Angina	62%	41%	0,4
Síncope	15%	17%	1
TV no sostenida	46%	30%	0,3
Respuesta anormal PA	67%	35%	0,08
Grosor máximo (mm)	27 (8)	22 (6)	0,08
Grosor máximo/SC (mm/m <sup>2</sup> )	15 (5)	12 (3)	0,009
Grosor máximo ≥ 30 mm	39%	9%	0,009
DDVI/SC (mm/m <sup>2</sup> )	23 (3)	25 (5)	0,2
DSVI/SC (mm/m <sup>2</sup> )	12 (3)	15 (4)	0,006
Fracción de eyección (%)	80 (8)	70 (12)	0,0004
Aurícula izquierda (mm)	50 (14)	47 (8)	0,7
Gradiente ≥ 30 mmHg	31%	28%	1

DDVI: diámetro telediastólico ventrículo izquierdo; DSVI: diámetro telesistólico ventrículo izquierdo; HTA: hipertensión arterial; MCH: miocardiopatía hipertrófica; MS: muerte súbita; NYHA: clase funcional de la New York Heart Association; SC: superficie corporal; PA: presión arterial; TV: taquicardia ventricular.

### Factores asociados con la presencia de mutaciones en el gen MYH7

En la tabla 3 se resumen las características de los pacientes con y sin mutación. Se identificó mutación en un 22% de los pacientes con antecedentes familiares de MCH y en un 33% de los que tenían antecedentes familiares de muerte súbita. Uno de cada 3 pacientes con grosor ≥ 30 mm presentó mutación. Los pacientes con mutación tenían hipertrofia más severa,

**TABLA 4. Correlación fenotipo-genotipo: I736T y R787H**

Familia	Caso	Fenotipo	Genotipo	Edad diagnóstico (años)	Sexo	Máximo grosor (mm)	Morfología	Obstrucción	Tratamiento	Comentario (edad)
A	II:1	+	(?)	(?)	M	(?)	(?)	(?)	MP	MS (57)
A	II:3	+	I736T <sup>a</sup>	-	V	-	-	(?)	MP	MS (52)
A	II:5	+	I736T	52	V	32	HSA	+	Médico	NYHA III (60)
A	II:7	+	(?)	-	V	-	-	(?)	-	ACV
A	III:1	+	I736T	32	V	18 <sup>b</sup>	HSA	+	Miectomía	MCD. NYHA III (45)
A	III:4	+	(?)	< 30	M	28	HSA	+	Médico	NYHA II (32)
A	III:6	-	-	-	V	12	-	-	No	-
A	III:7	-	-	-	V	11	-	-	No	-
A	III:9	-	(?)	-	V	9	-	-	No	Normal (21)
A	IV:1	-	I736T	16	M	10	-	-	No	Portadora sana (16)
A	IV:2	-	-	-	V	-	-	-	No	-
B	II:1	(?)	(?)	-	V	-	-	(?)	No	MS (57)
B	II:2	(?)	(?)	-	V	-	-	(?)	No	MS (52)
B	II:4	+	I736T	76	M	35	HSA	+	Médico	NYHA III (80)
B	III:7	-	-	-	M	-	-	(?)	No	-
C	I:2	+	(?)	43	M	17 <sup>a</sup>	HSA	+	Miectomía y MP	Muerte ICC (69)
C	II:3	+	I736T+R787H	43	M	30	HSA	-	Médico	NYHA II (47)
C	III:1	+/-	I736T	21	V	11	-	-	-	Asintomático (22)
C	III:2	+	I736T	16	V	13	HSA	-	-	Asintomático (17)

ACV: accidente cerebrovascular; HSA: hipertrofia septal asimétrica; ICC: insuficiencia cardiaca; I736T: isoleucina736treonina; Morf: morfología; MP: marcapasos; MS: muerte súbita.

<sup>a</sup>Portador obligado. <sup>b</sup>Posmiectomía.

menor diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo y mayor fracción de eyección. No hubo diferencia significativa en la edad entre pacientes con y sin mutación, ni en el porcentaje de pacientes con hipertensión. Aunque la diferencia no alcanzó significación estadística, las mujeres presentaron un mayor porcentaje de mutaciones (tabla 3). No hubo diferencias significativas en

cuanto a síntomas, tratamiento médico o intervenciones realizadas.

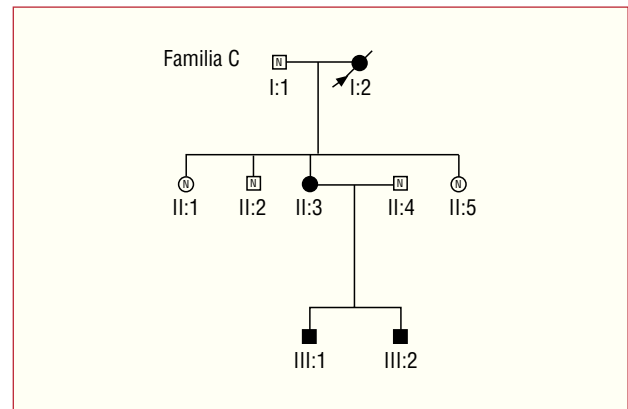
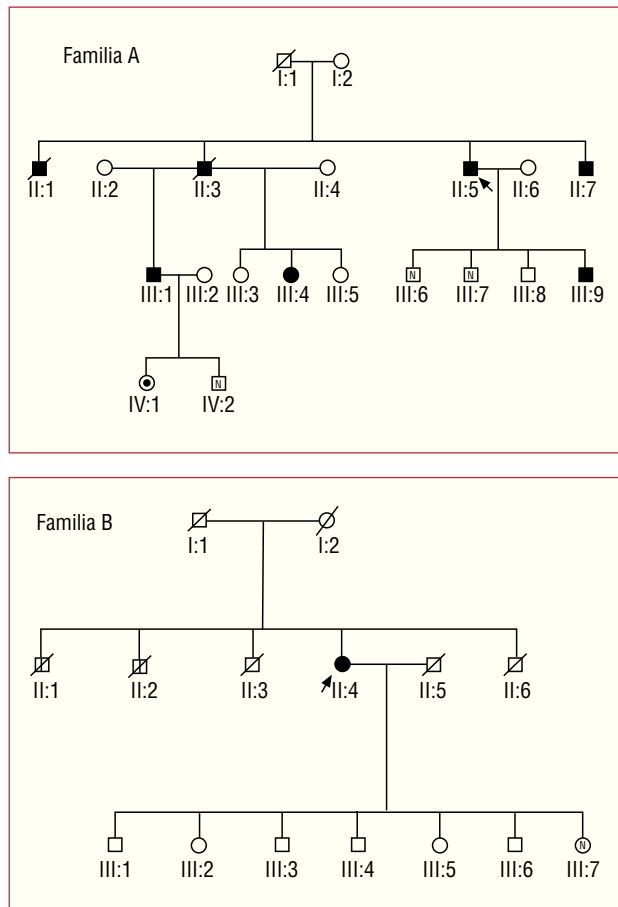
### Correlación genotipo-fenotipo

En las tablas 4-7 se resumen los datos clínicos fundamentales en los casos índice y familiares de las 13

**TABLA 5. Correlación fenotipo-genotipo: A797P y A797T**

Familia	Caso	Fenotipo	Genotipo	Edad diagnóstico (años)	Sexo	Máximo grosor (mm)	Morfología	Obstrucción	Tratamiento	Comentario (edad)
D	I:1	(?)	(?)	-	V	(?)	-	-	(?)	Cardiopatía (55)
D	I:2	(?)	(?)	-	M	(?)	-	-	(?)	Arritmias (65)
D	II:1	-	-	-	M	(?)	-	-	-	-
D	II:3	+	A797P	55	V	18	HSA	-	Médico	IM NYHA I (59)
D	II:5	+	A797P	34	M	19	HSA	-	Médico	NYHA I (36)
D	III:6	+	A797P	22	V	20	HSA	-	No	NYHA I (25)
D	III:7	+	A797P	15	M	8	-	-	No	NYHA I (22)
E	II:1	(?)	(?)	-	V	(?)	-	-	-	MS (22)
E	II:2	+	A797T	28	V	40	HSA	-	Médico	NYHA II (40)
F	I:1	(?)	(?)	-	V	-	-	-	-	Embolia (52)
F	I:2	-	(?)	-	M	-	-	-	-	-
F	II:1	+	A797T	45	M	14	HSA	-	No	NYHA I (46)
F	II:2	+	A797T	30	V	36	HSA	-	Médico	NYHA II (44)
F	II:4	-	-	-	M	-	-	-	-	-
F	II:5	-	A797T	36	V	10	-	-	No	Portador sano (37)
F	II:6	-	-	-	M	-	-	-	-	-
F	II:7	-	-	-	M	-	-	-	-	-
F	III:1	+	A797T	21	V	15	HSA	-	No	NYHA I (22)

A797P: alanina797prolina; A797T: alanina797triptófano; HSA: hipertrofia septal asimétrica; IM: insuficiencia mitral; MS: muerte súbita.



**Fig. 1.** Árboles de las familias A, B y C, correspondientes a la tabla 4. Los cuadrados son varones y los círculos, mujeres. En negro, los pacientes con diagnóstico clínico de MCH. Los símbolos con N son sujetos sin MCH ni mutación. Los símbolos con punto negro central son portadores de mutación sin fenotipo de MCH. Los símbolos con una barra negra vertical indican sujetos con posible MCH por historia clínica (no comprobado). Los símbolos blancos son sujetos sin MCH conocida y no estudiados genéticamente. La línea diagonal indica sujetos fallecidos. Las flechas señalan los casos índice. MCH: miocardiopatía hipertrófica.

(36 años) y 3 con K1459N (30, 33 y 34 años). Había antecedentes de muerte súbita en 9 familiares de 4 familias (4 muertes súbitas en 2 familias con I736T, uno con A797T, uno con R870H y 2 con A901P), y en ninguno de ellos se había realizado estudio genético.

familias en las que se identificó alguna mutación. Disponemos de estudio genético en 42 miembros de las 13 familias, con resultado positivo en 29 (portadores de mutación) y negativo en 13. De los 29 pacientes con mutación, 6 (20%) correspondían a portadores sin criterios diagnósticos de MCH («portadores sanos»): 2 con la mutación I736T (16 y 21 años), uno con A797T

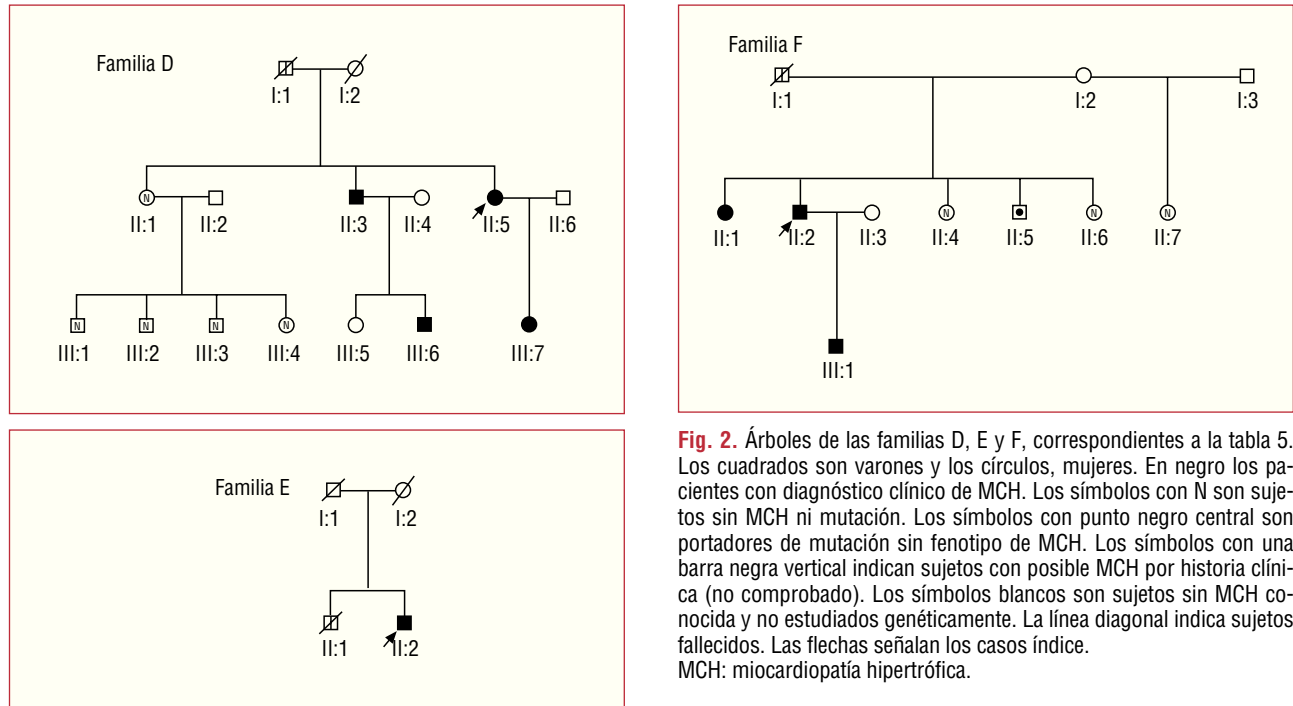
**Mutación I736T** (tabla 4; fig. 1)

Se identificó en 3 familias con 8 portadores. La mayor parte de los portadores > 30 años presentaron hipertrofia severa, y en 2 casos se había realizado miectomía previa: uno requirió trasplante cardiaco por disfunción sistólica 13 años después y el otro falleció por insuficiencia cardiaca con 69 años. En las familias

**TABLA 6. Correlación fenotipo-genotipo: M388T, R442C, R663H, G768R**

Familia	Caso	Fenotipo	Genotipo	Edad diagnóstico (años)	Sexo	Máximo grosor (mm)	Morfología	Obstrucción	Tratamiento	Comentario (edad)
G	II:2	-	-	-	M	-	-	-	-	-
G	III:1	+	M388T	38	V	13	HSA	-	No	NYHA I (42)
G	IV:1	-	-	-	V	-	-	-	-	-
H	II:1	+	G768R	28	V	26	HSA	-	Médico	Muerte ICC restrictiva (50)
H	II:4	(?)	(?)	(?)	V	(?)	(?)	(?)	Cirugía	Cirugía cardiaca (< 40)
H	III:3	-	-	-	V	-	-	-	-	-
I	II:3	+	R442C	50	M	22	Atípica	-	Médico	Angina-FA (53)
I	III:1	+	(?)	29	V	13	Conc.	-	-	Asintomático (29)
J	IV:1	+	R663H	23	M	42	HSA	+	Médico	Asintomático (25)
J	III:1	+	(?)	55	M	15	HSA	-	Médico	NYHA II (57)

DCI: desfibrilador implantable; FA: fibrilación auricular; G768R: glutamina768arginina; HSA: hipertrofia septal asimétrica; ICC: insuficiencia cardiaca; M388T: metionina388treonina; R442C: arginina442cisteína; R663H: arginina663histidina; TVMS: taquicardia ventricular monomórfica sostenida.



A y B hubo 4 muertes súbitas en varones entre 50 y 60 años sin diagnóstico previo.

#### Mutación R787H (tabla 4; fig. 1)

Se identificó en una mujer que además tiene la mutación I736T, con hipertrofia severa. Su madre había recibido una miectomía.

#### Mutaciones A797P y A797T (tabla 5; fig. 2)

La mutación A797T, previamente asociada con MCH, fue identificada en 2 familias. En los portadores el grado de expresión de la enfermedad es muy variable, con 2 portadores de 28 y 30 años con grosor parietal de 36 y 40 mm (los casos índice de las familias E y F), 2 portadores de 21 y 45 años con grosor de 14 y 15 mm y un portador de 36 años sin datos de MCH. En la familia E destaca el antecedente de una muerte súbita sin diagnóstico previo a los 22 años y en la F, una muerte por embolia a los 52.

La mutación A797P fue identificada en 4 pacientes de la familia D. En una portadora de 15 años, el ecocardiograma era normal pero el ECG era diagnóstico (ondas Q patológicas en cara anterolateral y voltaje alto del complejo QRS). En los demás portadores, la hipertrofia, de grado moderado, afectaba al septo y la pared anterior basal y media. El paciente de mayor edad presentaba dilatación de aurícula izquierda y anillo mitral, y requirió intervención quirúrgica por insuficiencia mitral severa sintomática con disfunción sistólica.

#### Mutación M388T (tabla 6; fig. 3)

El caso índice es una mujer con hipertrofia severa diagnosticada a los 54 años, a la que se implantó un desfibrilador por taquicardia ventricular monomorfa sostenida sincopal a los 62 años. Su hijo, deportista, presenta con 40 años una hipertrofia ligera con un ECG patológico (hipertrofia ventricular izquierda y ondas T negativas en la cara anterolateral).

#### Mutación G768R (tabla 6; fig. 3)

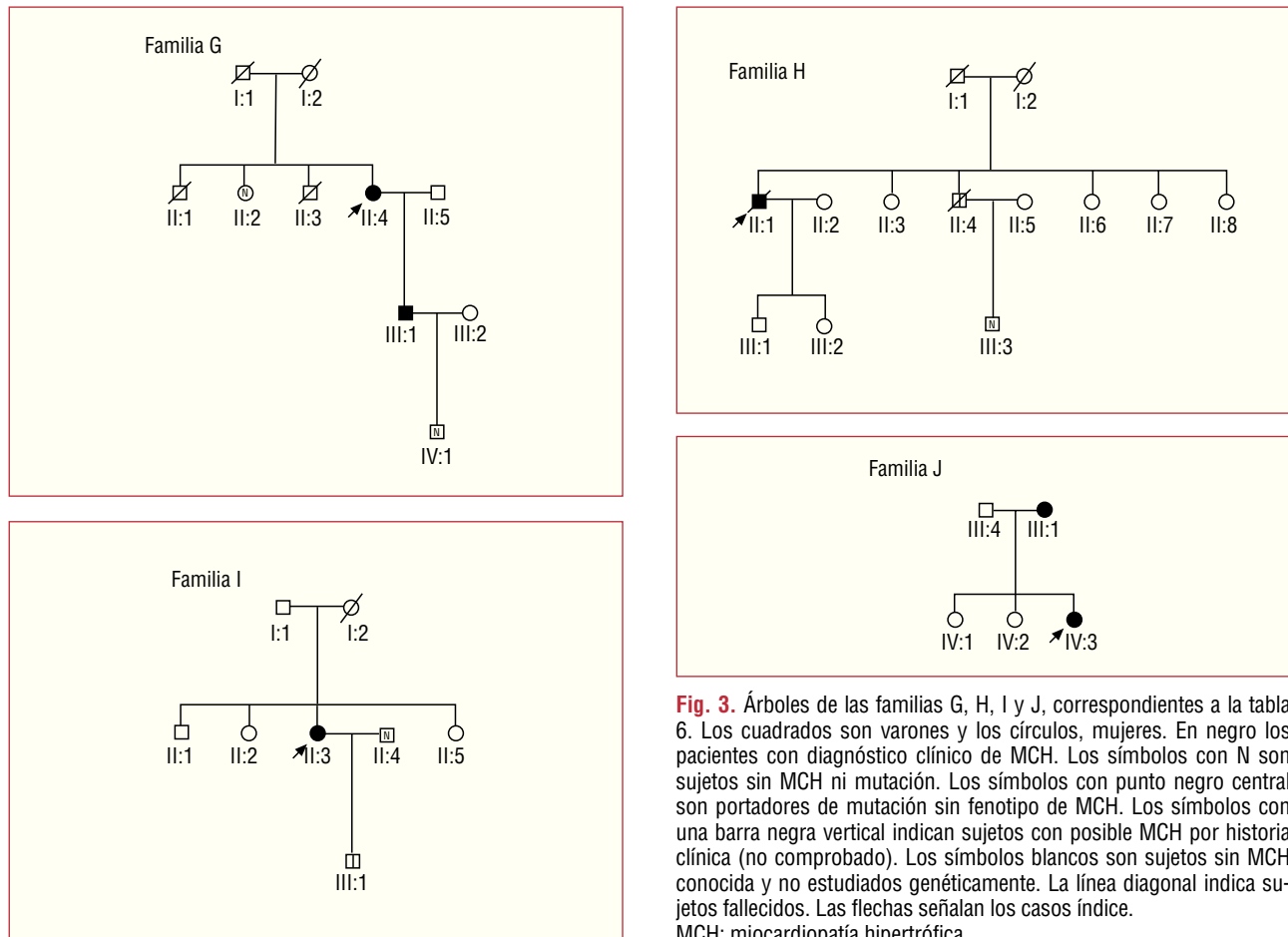
Identificada en un paciente con MCH no obstructiva con comportamiento restrictivo que había fallecido en coma hepático en lista de espera para trasplante cardiorrenal.

#### Mutación R442C (tabla 6; fig. 3)

Se identificó en una mujer con hipertrofia localizada en la cara inferior (distribución atípica) y clínica de dolor torácico en relación con episodios de fibrilación auricular. Un hijo deportista presenta hipertrofia ligera concéntrica y ECG con ondas T negativas.

#### Mutación R663H (tabla 6; fig. 3)

Identificada en una mujer de 23 años con hipertrofia severa (42 mm) y obstrucción subaórtica severa. En el estudio familiar se diagnosticó MCH con hipertrofia septal ligera (15 mm) en su madre.



**Fig. 3.** Árboles de las familias G, H, I y J, correspondientes a la tabla 6. Los cuadrados son varones y los círculos, mujeres. En negro los pacientes con diagnóstico clínico de MCH. Los símbolos con N son sujetos sin MCH ni mutación. Los símbolos con punto negro central son portadores de mutación sin fenotipo de MCH. Los símbolos con una barra negra vertical indican sujetos con posible MCH por historia clínica (no comprobado). Los símbolos blancos son sujetos sin MCH conocida y no estudiados genéticamente. La línea diagonal indica sujetos fallecidos. Las flechas señalan los casos índice. MCH: miocardiopatía hipertrófica.

**Mutaciones en el cuello y la cola de la proteína** (tabla 7; fig. 4)

La mutación R870H se identificó en una mujer de 59 años con hipertrofia moderada no obstructiva y función sistólica conservada. Uno de sus hermanos tenía MCH no obstructiva con hipertrofia moderada que evolucionó durante un seguimiento de 12 años a disfunción sistólica severa, con adelgazamiento parietal y muerte súbita. La mutación A901P apareció en una mujer con hipertrofia severa (27 mm) con 2 muertes súbitas en la familia, con 15 y 45 años, y una muerte de causa no aclarada a los 35 años en una prima con MCH; además, tenía rachas de taquicardia ventricular no sostenida en el Holter y una respuesta anormal de presión arterial en la prueba de esfuerzo, por lo que se ha recomendado implante de desfibrilador. La mutación K1459N se identificó en 5 miembros de una familia, de los que 3 presentaron fenotipo normal (30, 31 y 33 años). El caso índice era una mujer diagnosticada con 76 años con grosor parietal de 27 mm. Una de sus hijas tenía MCH con hipertrofia ligera (15 mm) y estaba asintomática. Otra hija había fallecido con 53 años con clínica de insuficiencia cardíaca previa y diagnóstico de MCH.

**DISCUSIÓN**

Estudios previos sugieren que las mutaciones en *MYH7* causan entre un 15 y un 30% de los casos de miocardiopatía hipertrófica<sup>2,8,9</sup>. En nuestros pacientes, las mutaciones en este gen son menos frecuentes y aparecen en un 10% de las familias estudiadas. Esta diferencia puede tener diversas explicaciones. En primer lugar, la frecuencia de mutaciones depende del grado de selección de la población estudiada. Nuestro trabajo muestra que cuando se estudia a pacientes con hipertrofia severa, con antecedentes familiares de miocardiopatía hipertrófica (lo que implica una mayor penetrancia de las mutaciones o una manifestación clínica más precoz) o a pacientes con antecedentes familiares de muerte súbita, la frecuencia de mutaciones en este gen es superior y puede llegar hasta más del 30% de los casos. Por ello, es lógico que los estudios realizados en centros de referencia donde se remiten los pacientes con enfermedad más grave muestren mayor frecuencia de mutaciones. En este sentido, nuestra cohorte de pacientes representa a una población regional poco seleccionada, en la que la mayor parte de los pacientes proceden del ámbito del área sanitaria dependiente de nuestro hospital. En segundo lu-

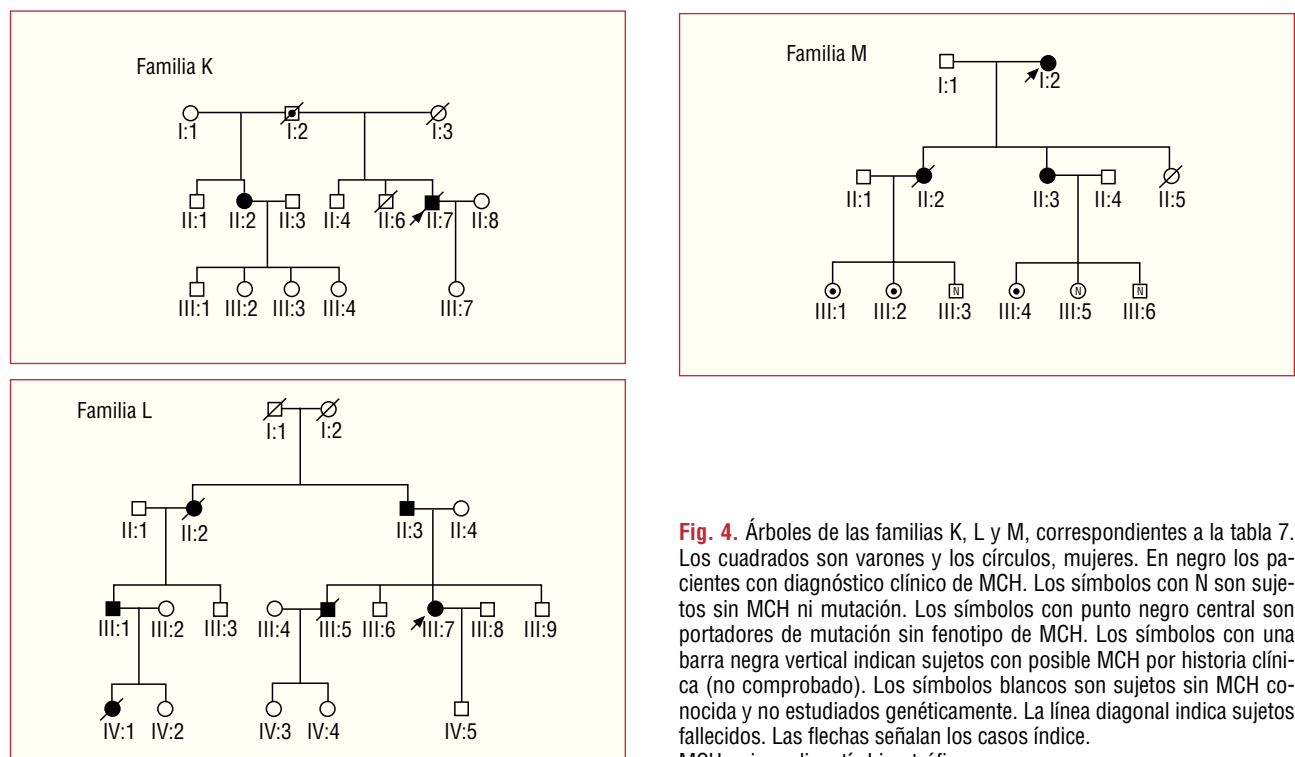
**TABLA 7. Correlación fenotipo-genotipo: R870H, A901P, K1459N**

Familia	Caso	Fenotipo	Genotipo	Edad diagnóstica (años)	Sexo	Máximo grosor (mm)	Morfología	Obstrucción	Tratamiento	Comentario (edad)
K	II:2	+	R870H	59	M	20	HSA	-	Médico	NYHA II (65)
K	II:6	+	(?)	38	V	22	HSA	-	Médico	MS. Disfunción sistólica (50)
L	II:2	+	(?)	(?)	M	(?)	(?)	(?)	(?)	Muerte cardio (35)
L	II:3	+	(?)	(?)	V	15	(?)	(?)	(?)	Vivo (> 60)
L	III:1	+	(?)	(?)	V	(?)	(?)	(?)	(?)	-
L	III:5	+	(?)	(?)	V	(?)	(?)	(?)	(?)	MS (45)
L	III:7	+	A901P	30	M	27	HSA	+	Médico	NYHA II (47)
L	IV:1	+	(?)	(?)	M	(?)	(?)	(?)	(?)	MS (15)
M	I:2	+	K1459N	76	M	27	HSA	-	Médico	NYHA II (81)
M	II:2	+	(?)	(?)	M	(?)	(?)	(?)	(?)	Muerte ICC (53)
M	II:3	+	K1459N	48	M	15	HSA	-	No	NYHA I (55)
M	III:1	-	K1459N	34	M	9	-	-	No	Portadora sana (34)
M	III:2	-	K1459N	33	M	7	-	-	No	Portadora sana (33)
M	III:3	-	-	31	V	11	-	-	-	-
M	III:4	-	K1459N	30	M	11	-	-	No	Portadora sana (30)
M	III:5	-	-	-	M	10	-	-	-	-
M	III:6	-	-	-	V	-	-	-	-	-

A901P: alanina901prolina; HSA: hipertrofia septal asimétrica; ICC: insuficiencia cardiaca; K1459N: lisina1495asparagina; MS: muerte súbita; R870H: arginina870histidina.

gar, aunque en este trabajo no hemos encontrado diferencias significativas en la edad en el momento del diagnóstico de pacientes con y sin mutación en el gen *MYH7*, la edad media de los pacientes con mutación era de 44 años, frente a 51 años en los pacientes sin

mutación. Previamente se ha mostrado que la frecuencia de mutaciones en este gen es muy baja en los pacientes diagnosticados a edades avanzadas<sup>33</sup>, y debemos tener en cuenta que la edad media de diagnóstico en nuestros pacientes es unos 10 años superior a la de



**Fig. 4.** Árboles de las familias K, L y M, correspondientes a la tabla 7. Los cuadrados son varones y los círculos, mujeres. En negro los pacientes con diagnóstico clínico de MCH. Los símbolos con N son sujetos sin MCH ni mutación. Los símbolos con punto negro central son portadores de mutación sin fenotipo de MCH. Los símbolos con una barra negra vertical indican sujetos con posible MCH por historia clínica (no comprobado). Los símbolos blancos son sujetos sin MCH conocida y no estudiados genéticamente. La línea diagonal indica sujetos fallecidos. Las flechas señalan los casos índice. MCH: miocardiopatía hipertrófica.



otras series. En tercer lugar, la frecuencia de mutaciones en diferentes genes puede variar en distintas poblaciones. En algunas zonas, la presencia de ciertas mutaciones con elevada frecuencia hace que la proporción de mutaciones identificadas en otros genes sea menor<sup>34,35</sup>.

Un dato interesante de nuestro estudio es la mayor frecuencia de mutaciones identificadas en las mujeres. El patrón de herencia habitual en la MCH es autosómico dominante y cabría esperar que un 50% de los pacientes fueran mujeres. Sin embargo, en nuestra población y en prácticamente todas las series descritas, la proporción de mujeres está entre un 30 y un 40%, con una mayor sintomatología de la enfermedad en las mujeres<sup>36</sup>. La identificación de mayor número de mutaciones en pacientes de sexo femenino junto con el dato de que estas mutaciones aparecen con mayor frecuencia en pacientes con hipertrofia severa confirma que la diferencia en la prevalencia de MCH entre varones y mujeres se debe a una menor expresión morfológica de la enfermedad en el sexo femenino.

Actualmente, muchos autores insisten en el concepto de que la mayor parte de las mutaciones identificadas en pacientes con MCH son «mutaciones privadas» o nuevas mutaciones. Nuestro trabajo, en el que se ha realizado un estudio sistemático del gen *MYH7*, confirma que un elevado porcentaje de las mutaciones que se identifican actualmente ha sido ya previamente descrito (7 de 11 en nuestro caso). Por otra parte, 2 de las mutaciones identificadas aparecieron en varias familias que inicialmente no se consideraban relacionadas. La identificación de mutaciones en diferentes familias permite hacer una valoración más precisa de la correlación genotipo-fenotipo y la interpretación adecuada del papel patogénico de cada mutación. Varios hallazgos de nuestro estudio inciden en la importancia de realizar un estudio familiar completo. Mientras que en algunas mutaciones, como la I736T, el fenotipo se reproduce de forma similar en la mayor parte de los portadores, en otras, como la A797T o la R663H, llama la atención la gran diferencia entre el fenotipo de los casos índice (hipertrofia severa en pacientes jóvenes) y los familiares portadores con hipertrofia ligera, a pesar de ser de edades similares o mayores. En estos casos se debe considerar la posibilidad de que haya factores genéticos o ambientales adicionales que expliquen la gran diferencia de expresión. En varios trabajos se ha demostrado que los pacientes con MCH pueden presentar más de una mutación y que la presencia de dobles mutaciones se asocia con una expresión más severa de la enfermedad<sup>8</sup>. En nuestro estudio, que se ha centrado sólo en el gen *MYH7*, hemos identificado la presencia de 2 mutaciones previamente asociadas con el desarrollo de MCH en un caso, por lo que no sería raro que otros pacientes pudieran tener mutaciones adicionales en otros genes.

Gran parte de los estudios sobre la presencia de mutaciones en el gen *MYH7* han limitado el análisis a las regiones que codifican la cabeza y el cuello de la betamiosina. En estudios más recientes se ha demostrado que también mutaciones que afectan a la cola de la proteína pueden asociarse con la enfermedad. Nosotros identificamos una mutación que afecta a la cola de la betamiosina (K1459N). Esta mutación no afecta a la probabilidad de formar hélices superenrolladas de la cola de la miosina, lo que puede explicar un fenotipo benigno con penetrancia incompleta y expresión tardía. De las mutaciones identificadas en la región del cuello de la proteína destaca la mutación A901P, no descrita previamente. Se observó que no estaba presente en 200 cromosomas de individuos control, por lo que se descartó que fuese una variante presente en la población. La estructura de hélice alfa superenrollada que caracteriza a la región del cuello de la *MYH7* se ve completamente alterada por la presencia de una prolina, ya que es un residuo incompatible con este tipo de estructuras. Esta sería alteración en la estructura de la proteína puede explicar en parte la severidad del fenotipo en la familia estudiada, con múltiples muertes súbitas.

En las 13 familias estudiadas se ha registrado un total de 8 muertes súbitas. Sólo en uno de los casos conocemos el diagnóstico genético (portador obligado). Esta falta de evidencia sobre el diagnóstico genético en sujetos que han fallecido súbitamente es habitual en los estudios publicados y representa una limitación importante a la hora de interpretar el significado pronóstico de las diferentes mutaciones identificadas en sus familias. Es importante tener en cuenta que los pacientes que mueren súbitamente podrían tener características diferenciales como, por ejemplo, mutaciones adicionales. La recogida sistemática de muestras para estudio genético en pacientes con MCH, su seguimiento clínico y el estudio familiar lo más completo posible son fundamentales para llegar en el futuro a conclusiones sólidas sobre las implicaciones pronósticas de las diferentes mutaciones.

## Limitaciones

El estudio se realizó mediante PCHM y secuenciación de los fragmentos con motilidad anormal. La sensibilidad de la PCHM es de un 84-89%<sup>37,38</sup>, por lo que podría haber alguna mutación adicional que no hubiera sido identificada.

Aunque se ha realizado un estudio lo más amplio posible en las familias de los pacientes con mutación, éste no ha sido completo. La recogida de muestras no es posible en sujetos fallecidos ni en los que han declinado participar en el estudio o no han sido avisados por el caso índice.

El estudio se ha centrado en el análisis del gen *MYH7*. La posible influencia en el fenotipo de mutaciones en otros genes relacionados con el desarrollo de MCH no ha podido ser evaluada.

En conclusión, las mutaciones en el gen *MYH7* son una causa relativamente frecuente de MCH en nuestro medio. La probabilidad de identificar mutaciones en este gen es mayor en pacientes con antecedentes familiares de muerte súbita y con hipertrofia severa. La mayor parte de las mutaciones identificadas había sido descrita previamente en otras poblaciones y algunas se repiten en varias familias. Por otro lado, nuestro trabajo ha identificado 4 nuevas mutaciones asociadas con la enfermedad. Ciertas mutaciones muestran una correlación genotipo-fenotipo relativamente estable, mientras que en otras, las marcadas diferencias entre el fenotipo de los casos índice y sus familiares hacen sospechar la presencia de factores genéticos adicionales que debemos identificar. Los estudios genéticos son fundamentales para entender la gran heterogeneidad clínica y pronóstica de la MCH. Para que la genética sea una herramienta útil en la toma de decisiones clínicas es necesario que dispongamos de información detallada sobre las características clínicas y morfológicas de los portadores de las diferentes mutaciones, como la que proporciona este estudio.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la enfermera Elena Veira su trabajo en la recogida de muestras y datos de pacientes y familiares. Nuestro agradecimiento también para los pacientes y sus familias por su participación y colaboración desinteresada.

## BIBLIOGRAFÍA

- Report of the 1995 World Health Organization. International Society and Federation of Cardiology Task Force on the definition and Classification of Cardiomyopathies. *Circulation*. 1996; 93:841-2.
- Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK, Kappenberger LJ, Kuhn HJ, Seidman CE, et al. ACC/ESC clinical expert consensus document on hypertrophic cardiomyopathy: a report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Committee to Develop an Expert Consensus Document on Hypertrophic Cardiomyopathy). *Eur Heart J*. 2003;24:1965-91.
- Marian AJ, Roberts R. Recent advances in the molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1995;92:1336-47.
- Roberts R, Sigwart U. New concepts in hypertrophic cardiomyopathies, part I. *Circulation*. 2001;104:2113-6.
- Kimura A, Harada H, Park JE, Nishi H, Satoh M, Takahashi M, et al. Mutations in the cardiac troponin I gene associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet*. 1997;16:379-82.
- Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1997; 336:775-85.
- McKenna WJ, Monserrat L. Identificación y tratamiento de los pacientes con miocardiopatía hipertrófica y riesgo de muerte súbita. *Rev Esp Cardiol*. 2000;53:123-30.
- Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichreau C, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation*. 2003;107:2227-32.
- Driest SL, Jaeger MA, Ommen SR, Will ML, Gersh BJ, Tajik AJ, et al. Comprehensive analysis of the beta-myosin heavy chain gene in 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2004;4:602-10.
- Erdmann J, Daehmlow S, Wischke S, Isnuywa M, Werner U, Raible J, et al. Mutation spectrum in a large cohort of unrelated consecutive patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Genet*. 2003;64:339-49.
- Song L, Zou Y, Wang J, Zhen Y, Lou K, Zhang Q, et al. Mutations profile in Chinese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Chim Acta*. 2005;351:209-16.
- Van Driest SL, Ommen SR, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Sarcomeric genotyping in hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc*. 2005;80:463-9.
- García-Castro M, Regueiro 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.
- Enjuto M, Francino A, Navarro-López F, Viles D, Pare JC, Ballesta AM. Malignant hypertrophic cardiomyopathy caused by the Arg723Gly mutation in beta-myosin heavy chain gene. *J Mol Cell Cardiol*. 2000;32:2307-13.
- Dracopoli NC, Korf BR, Moir DT, Morton CC, Seidman CE, Seidman JG, editors. *Current protocols in human genetics*. New York: John Wiley and Sons Inc.; 2002.
- Jaenicke T, Diederich KW, Haas W, Schleich J, Lichter P, Pfordt M, et al. The complete sequence of the human beta-myosin heavy chain gene and a comparative analysis of its product. *Genomics*. 1990;8:194-206.
- Liew CC, Sole MJ, Yamauchi-Takahara K, Kellam B, Anderson DH, Lin LP, et al. Complete sequence and organization of the human cardiac beta-myosin heavy chain gene. *Nucleic Acids Res*. 1990;18:3647-51.
- Wendel B, Reinhard R, Wachtendorf U, Zacharzowsky UB, Osterziel KJ, Schulte HD, et al. The human beta-myosin heavy chain gene: sequence diversity and functional characteristics of the protein. *J Cell Biochem*. 2000;79:566-75.
- Blair E, Redwood C, Oliveira M, Moolman-Smook JC, Brink P, Corfield VA, et al. Mutations of the light meromyosin domain of the beta-myosin heavy chain rod in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2002; 90:263-9.
- Marian AJ, Roberts R. On Koch's postulates, causality and genetics of cardiomyopathies. *J Mol Cell Cardiol*. 2002;34:971-4.
- Genomics of Cardiovascular Development, Adaptation, and Remodeling. NHLBI Program for Genomic Applications, Harvard Medical School [citado Feb 2006]. Disponible en: <http://www.cardiogenomics.org>
- Gruver EJ, Fatkin D, Dodds GA, Kisslo J, Maron BJ, Seidman JG, et al. Familial hypertrophic cardiomyopathy and atrial fibrillation caused by Arg663His beta-cardiac myosin heavy chain mutation. *Am J Cardiol*. 1999;83:H13-8.
- Greber-Platzer S, Marx M, Fleischmann C, Suppan C, Dobner M, Wimmer M. Beta-myosin heavy chain mutations and hypertrophic cardiomyopathy in Austrian children. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33:141-8.
- Moolman JC, Brink PA, Corfield VA. Identification of a novel Ala797Thr mutation in exon 21 of the beta-myosin heavy chain gene in hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mutat*. 1995;6:197-8.
- Moolman-Smook J, De Lange W, Bruwer EC, Brink PA, Corfield VA. The origins of hypertrophic cardiomyopathy-causing mutations in two South African subpopulations: a unique profile of both independent and founder events. *Am J Hum Genet*. 1999;65:1308-20.
- Moolman-Smook J, De Lange W, Corfield V, Brink P. Expression of HCM causing mutations: lessons learnt from genotype-phenotype studies of the South African founder MYH7 A797T mutation. *J Med Genet*. 2000;37:951-6.
- Perrot A, Schmidt-Traub H, Hoffmann B, Prager M, Bit-Avragim N, Rudenko RI, et al. Prevalence of cardiac beta-myosin heavy

- chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Med.* 2005;83:468-77.
28. Heller MJ, Nili M, Homsher E, Tobacman LS. Cardiomyopathic tropomyosin mutations that increase thin filament Ca<sup>2+</sup> sensitivity and tropomyosin N-domain flexibility. *J Biol Chem.* 2003;278:41742-8.
  29. Rayment I, Holden HM, Sellers JR, Fananapazir L, Epstein ND. Structural interpretation of the mutations in the beta-cardiac myosin that have been implicated in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:3864-8.
  30. Nishi H, Kimura A, Harada H, Koga Y, Adachi K, Matsuyama K, et al. A myosin missense mutation, not a null allele, causes familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 1995;91:2911-5.
  31. Gruen M, Gautel M. Mutations in beta-myosin S2 that cause familial hypertrophic cardiomyopathy (FHC) abolish the interaction with the regulatory domain of myosin-binding protein-C. *J Mol Biol.* 1999;286:933-49.
  32. Muraishi A, Kai H, Adachi K, Nishi H, Imaizumi T. Malalignment of the sarcomeric filaments in hypertrophic cardiomyopathy with cardiac myosin heavy chain gene mutation. *Heart.* 1999;82:625-9.
  33. Niimura H, Patton KK, McKenna WJ, Soultis J, Maron BJ, Seidman JG, et al. Sarcomere protein gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy of the elderly. *Circulation.* 2002;105:446-51.
  34. Alders M, Jongbloed R, Deelen W, Van der Wijngaard A, Doevendans P, Ten Cate F, et al. The 2373insG mutation in the MYBPC3 gene is a founder mutation, which accounts for nearly one-fourth of the HCM cases in the Netherlands. *Eur Heart J.* 2003;24:1848-53.
  35. Jaaskelainen P, Kuusisto J, Miettinen R, Karkkainen P, Karkkainen S, Heikkinen S, et al. Mutations in the cardiac myosin-binding protein C gene are the predominant cause of familial hypertrophic cardiomyopathy in eastern Finland. *J Mol Med.* 2002;80:412-22.
  36. Olivetto I, Maron MS, Adabag AS, Casey SA, Vargiu D, Link MS, et al. Gender-related differences in the clinical presentation and outcome of hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:480-7.
  37. Vidal-Puig A, Moller DE. Comparative sensitivity of alternative single-strand conformation polymorphism (SSCP) methods. *Biotechniques.* 1994;17:490-6.
  38. Jordanova A, Kalydjieva L, Savov A, Claustres M, Schwarz M, Estivill X, et al. SSCP analysis: a blind sensitivity trial. *Human Mutat.* 1997;10:65-70.