

# Espectro mutacional de los genes sarcoméricos *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3* y *TPM1* en pacientes con miocardiopatía hipertrófica

Mónica García-Castro<sup>a</sup>, Eliecer Coto<sup>a</sup>, Julián R. Reguero<sup>b</sup>, José R. Berrazueta<sup>c</sup>, Victoria Álvarez<sup>a</sup>, Belén Alonso<sup>a</sup>, Rocío Sainz<sup>c</sup>, María Martín<sup>b</sup> y Cesar Morís<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Genética Molecular. Instituto de Investigación Nefrológica. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. Asturias. España.

<sup>b</sup>Servicio de Cardiología. Fundación Asturcor. Hospital Central de Asturias. Oviedo. Asturias. España.

<sup>c</sup>Servicio de Cardiología. Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. Cantabria. España.

**Introducción y objetivos.** Las mutaciones en los genes sarcoméricos son la causa más frecuente de miocardiopatía hipertrófica. Para cada gen, la frecuencia de mutaciones varía entre los estudios, y las manifestaciones clínicas son muy heterogéneas, lo que dificulta el empleo de la información genética en la práctica clínica. Nuestro objetivo es determinar la frecuencia de mutaciones en los genes sarcoméricos *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3* y *TPM1* en una serie de pacientes con miocardiopatía hipertrófica.

**Métodos.** Se analizaron las regiones codificantes de estos cinco genes mediante secuenciación en 120 pacientes (el 29% con antecedentes familiares), comparando el fenotipo según el gen mutado.

**Resultados.** Se hallaron mutaciones en 32 pacientes; 10 y 20 tenían mutaciones en *MYH7* (8%) y *MYBPC3* (16%). Se hallaron mutaciones de *TNNT2* y *TPM1* en 2 y 1 pacientes, y ninguna de *TNNI3*. Dos pacientes tenían dos mutaciones (dobles mutantes). El 61% de las mutaciones no habían sido descritas previamente. No hallamos diferencias en la media de edad al diagnóstico o el tamaño de la hipertrofia entre los portadores de mutaciones en *MYH7* y los de *MYBPC3*.

**Conclusiones.** El 26% de los pacientes tenían mutaciones en alguno de los cinco genes estudiados. Más de la mitad de las mutaciones no habían sido descritas. El gen *MYBPC3* fue el más mutado, seguido de *MYH7*. No se

hallaron diferencias fenotípicas entre los pacientes según el gen mutado, lo que dificultaría el empleo de la información genética para estratificar el riesgo en estos pacientes.

**Palabras clave:** Miocardiopatía hipertrófica. Muerte súbita cardíaca. Mutaciones. Genes sarcoméricos.

## Mutations in Sarcomeric Genes *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, and *TPM1* in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy

**Introduction and objectives.** Mutation of a sarcomeric gene is the most frequent cause of hypertrophic cardiomyopathy. For each such gene, however, previous studies have reported a range of different mutation frequencies, and clinical manifestations have been highly heterogeneous, both of which limit the use of genetic information in clinical practice. Our aim was to determine the frequency of mutations in the sarcomeric genes *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, and *TPM1* in a cohort of Spanish patients with hypertrophic cardiomyopathy.

**Methods.** We used sequencing to analyze the coding regions of these five genes in 120 patients (29% with a family history) and investigated how the patient phenotype varied with the gene mutated.

**Results.** In total, 32 patients were found to have mutations: 10 in *MYH7* (8%), 20 in *MYBPC3* (16%), 2 in *TNNT2*, 1 in *TPM1* and none in *TNNI3*. Overall, 61% of mutations had not been described before. Two patients had two mutations (i.e., double mutants). There was no difference in the mean age at diagnosis or the extent of the hypertrophy between those with *MYH7* mutations and those with *MYBPC3* mutations.

**Conclusions.** Some 26% of patients had a mutation in one of the five sarcomeric genes investigated. More than half of the mutations had not been described before. The *MYBPC3* gene was the most frequently mutated, followed by *MYH7*. No phenotypic differences were observed between carriers of the various mutations, which makes it difficult to use genetic information to stratify risk in these patients.

Estudio financiado por proyecto FIS 06/0214, del Fondo de Investigaciones Sanitarias-Fondos FEDER Unión Europea (Investigador principal, Eliecer Coto García). Red de Investigación Renal-REDINREN (RD06/0016) del Instituto de Salud Carlos III. Eliecer Coto es beneficiario del Programa de Intensificación de la Actividad Investigadora del Instituto de Salud Carlos III.

Correspondencia: Dr. E. Coto.  
Laboratorio de Genética Molecular. Hospital Universitario Central de Asturias (Maternidad).  
33006 Oviedo. España.  
Correo electrónico: eliecer.coto@sespa.prncast.es

Recibido el 28 de abril de 2008.

Aceptado para su publicación el 12 de septiembre de 2008.

**Key words:** Hypertrophic cardiomyopathy. Sudden cardiac death. Mutations. Sarcomeric genes.

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

## ABREVIATURAS

MCH: miocardiopatía hipertrófica.  
MSC: muerte súbita cardíaca.

## INTRODUCCIÓN

La miocardiopatía hipertrófica (MCH) es la causa más frecuente de muerte súbita cardíaca (MSC) en adultos jóvenes, y una causa importante de morbimortalidad a edad avanzada. El cuadro clínico asociado es muy variable y abarca desde los síntomas incapacitantes hasta la ausencia de síntomas. Muchos pacientes permanecen asintomáticos durante largos periodos, aunque el porcentaje de pacientes con síntomas severos aumenta con la edad<sup>1</sup>.

Se ha estimado<sup>2</sup> que el 0,2% de las personas tendrían un grosor de la pared  $\geq 15$  mm. En la base fisiopatológica de la MCH están las mutaciones en los genes que codifican las proteínas del sarcómero. Se diagnostica a un 30-40% de los pacientes como casos esporádicos, pero la penetrancia incompleta de algunas mutaciones podría subestimar el porcentaje de los casos realmente familiares<sup>3</sup>. La heterogeneidad clínica se debe en primer lugar a la existencia de al menos 12 genes que pueden estar mutados. Las primeras mutaciones se hallaron en el gen *MYH7*, que codifica la cadena pesada de la betamiosina cardíaca<sup>4-7</sup>. Más tarde se identificaron mutaciones en otros genes, como *TNNT2* (troponina T) y *MYBPC3* (proteína C de unión a la miosina cardíaca)<sup>8-14</sup>.

La mayor parte de las mutaciones se han hallado en una sola familia, lo que dificulta la obtención de datos concluyentes sobre el fenotipo asociado a cada mutación. Sólo en las encontradas en un número grande de pacientes se han obtenido datos relevantes de la correlación genotipo-fenotipo. Los primeros estudios indicaban que las mutaciones en *MYH7* darían formas severas de hipertrofia y en *TNNT2*, una hipertrofia menos severa pero elevado riesgo de MSC. Los portadores de mutaciones en *MYBPC3* presentarían formas menos severas y menos riesgo de MSC<sup>3,8,12-25</sup>. Sin embargo, se han descrito mutaciones de mal pronóstico en genes inicialmente relacionados con formas menos agresivas, algo que ilustraría la dificultad de predecir el fenotipo a partir del genotipo. El objetivo de nuestro estudio es identificar la prevalencia y las características fenotípicas de las mutaciones en cinco genes

sarcoméricos (*MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3* y *TPMI*) en pacientes de Asturias y Cantabria.

## MÉTODOS

### Pacientes

Estudiamos a 120 pacientes no emparentados y diagnosticados entre 2002 y 2007 por especialistas de los servicios de cardiología del Hospital Universitario Central de Asturias y del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander. El diagnóstico se realizó siguiendo los criterios de la ACC/ESC, tomando como criterio de inclusión un grosor ecocardiográfico de la pared ventricular izquierda  $> 15$  mm en ausencia de otras causas que justificasen la hipertrofia<sup>26</sup>. Las características clínicas de los pacientes se resumen en la tabla 1.

Se consideró casos familiares a los pacientes con algún pariente que también había sido diagnosticado de MCH y esporádicos a aquellos de los que no había constancia de otros familiares afectados. En los pacientes en los que se halló alguna mutación se determinó su presencia en todos los familiares que accedieron a participar en el estudio, independientemente de si tenían o no síntomas de la enfermedad, y a los que eran portadores de la mutación se les realizó un estudio ecocardiográfico.

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado para ser incluidos en el estudio, que fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Central de Asturias.

### Análisis genético

Mediante la reacción en cadena de la polimerasa, se amplificaron los exones y las bases intrónicas flanqueantes de los genes *MYH7* (38 exones), *MYBPC3* (34 exones), *TNNT2* (15 exones), *TNNI3* (9 exones) y *TPMI* (9 exones). Los cebadores empleados para la reacción en cadena de la polimerasa se diseñaron a partir de las secuencias de referencia depositadas en la base de datos GenBank. Cada fragmento de la reacción en cadena de la polimerasa se purificó y se secuenció mediante química de BigDye en un equipo ABI310 (Applied Biosystems; Foster City, California, Estados Unidos) (fig. 1). Las mutaciones y los polimorfismos hallados en los cinco genes sarcoméricos se nombraron siguiendo la base de datos Cardionomics ([www.cardionomics.org](http://www.cardionomics.org)). Los cebadores y las condiciones de amplificación serán facilitados por los autores en la dirección de correspondencia.

Las mutaciones en los genes *TNNT2* (15 exones) y *TNNI3* (9 exones) en 115 de los 120 casos y en exones seleccionados de *MYH7* y *MYBPC3* en algunos pacientes ya han sido publicados<sup>27-29</sup>.

**TABLA 1. Características clínicas y ecocardiográficas y tratamiento de los 120 pacientes incluidos en el estudio y de los pacientes con mutaciones en MYH7 o MYBPC3 y sin mutaciones en ninguno de los cinco genes**

	Pacientes (n = 120)	MYH7 (n = 10)	MYBPC3 (n = 18)	Sin mutación (n = 88)
Varones/mujeres (% varones)	78/42 (65)	5/5 (50)	13/5 (72)	58/30 (67)
Edad al comienzo de los síntomas (años)	43 ± 17 (3-76)	35 ± 17 (3-51)	42 ± 18 (8-72)	44 ± 17 (8-76)
Historia familiar <sup>a,b</sup>	35 (29)	7 (70)	7 (39)	18 (20)
MSC	21 (17)	3 (30)	4 (22)	12 (13)
Esporádicos	85 (71)	3 (30)	11 (61)	70 (79)
Presentación (síntomas clínicos)				
Disnea <sup>c</sup>	83 (69)	8 (80)	9 (50)	64 (73)
Índice NYHA, n (%)				
Clase I-II	60 (49)	3 (30)	5 (28)	52 (56)
Clase III-IV	21 (18)	4 (40)	4 (22)	13 (15)
Angina	42 (35)	2 (20)	4 (22)	33 (35)
Síncope	22 (18)	2 (20)	2 (11)	18 (19)
Fibrilación auricular	23 (18)	2 (20)	4 (22)	17 (18)
Arritmia (Holter)	28 (22)	1 (10)	1 (6)	26 (28)
Datos ecocardiográficos				
Septo interventricular (mm)	20 ± 6 (13-35)	21 ± 5 (16-29)	22 ± 5 (17-35)	19 ± 6 (13-35)
Gradiente (mmHg)	56 (47)	6 (60)	7 (39)	47 (53)
TSVI > 30 mmHg	35 (29)	4 (40)	6 (33)	25 (28)
Tratamiento				
Farmacológico	84 (70)	6 (60)	11 (61)	65 (74)
Marcapasos	7 (6)	1 (10)	0	6 (7)
Cardiodesfibrilador	3 (2)	0	0	3 (3)
Miectomía	1 (1)	1 (10)	0	0
Trasplante cardiaco	5 (4)	2 (20)	0	3 (3)

MCH: miocardiopatía hipertrófica; MSC: muerte súbita cardiaca (antes de los 50 años); NYHA: clase funcional de la New York Heart Association; SIV/PP: septo interventricular/pared posterior; TSVI: gradiente del tracto de salida del ventrículo izquierdo.

<sup>a</sup>Con parientes en primer grado diagnosticados de MCH y/o MSC.

<sup>b</sup>p = 0,05, pacientes MYH7 frente a sin mutación.

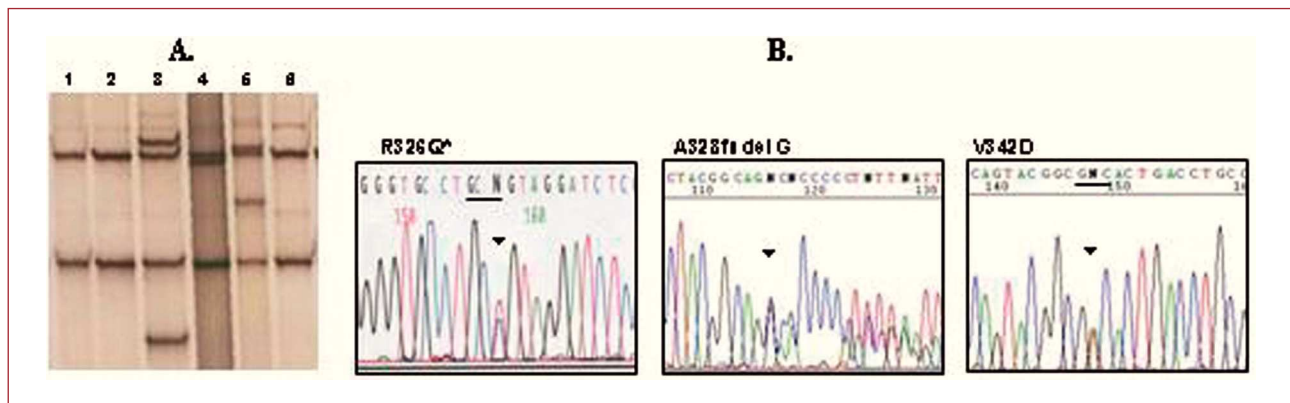
<sup>c</sup>p = 0,02, pacientes MYH7 frente a MYBPC3.

Las cifras expresan media ± desviación estándar (intervalo) o n (%). Entre los pacientes MYBPC3 no se han incluido los 2 con dos mutaciones. En las arritmias del Holter se incluyeron fibrilación auricular, taquicardias ventriculares sostenida y no sostenida, taquicardias supraventricular y sostenida y bloqueo auriculoventricular.

### Estudio en controles

Para considerar un cambio nucleotídico en un gen como una mutación asociada al desarrollo de una enfermedad, deben cumplirse varias condicio-

nes. Primero, el cambio debe alterar la secuencia de aminoácidos de la proteína. Segundo, la mutación debe hallarse en los afectados de una misma familia, por lo que podríamos excluir el efecto patogénico de un cambio si algún afectado no lo hubiese



**Fig. 1.** A: patrones electroforéticos en geles SSCA para el fragmento del exón 13 del gen MYBPC3. Las calles 1, 2 y 6 corresponden a secuencias normales (sin mutaciones). En la calle 3 el patrón corresponde al cambio V342D (mutación); en la 4, al cambio R326Q (polimorfismo) y en la 5, a la delección A328fs (mutación). B: secuencias de los fragmentos con las tres variantes nucleotídicas del exón 13 de MYBPC3 (\*secuencia de la hebra inversa).

TABLA 2. Características de los pacientes portadores de mutaciones en los genes *MYH7*, *TNNT2* y *TPM1*

Gen	Exón	Mutación	Posición*	Sexo/edad	Historia familiar de MCH/MSC	Presentación	SIV/PP (mm)	Portadores/estudiados	Hipertrofia	Referencia
<i>MYH7</i>	3	S4L	c.c10t	V/40	No	Síncope	16/16	0/2	0	Este estudio
<i>MYH7</i>	9	F247L	c.t739c	M/35	Sí (MCH)	Síncope, PC, FA	19/17	1/1	1	Este estudio
<i>MYH7</i>	14	R453C	c.c1357t	M/25	Sí (MCH + MSC)	Disnea, FA, TxC	17/12	1/1	1	33
<i>MYH7</i>	16	A583V	c.c1748t	V/16	Sí (MCH + MSC)	Disnea, angina	23/12	2/4	2	Este estudio
<i>MYH7</i>	18	R663H	c.g1988a	V/51	Sí (MCH + MSC)	Disnea, angina	29/12	2/3	2	30,33
<i>MYH7</i>	20	R723G	c.c2167g	V/31	Sí (MCH)	Disnea	23/15	0/2	0	Este estudio
<i>MYH7</i>	21	R787C	c.c2359t	V/51	Sí (MCH)	Disnea	19/13	0/4	0	Este estudio
<i>MYH7</i>	22	M822V	c.g2464a	M/3	No	Disnea, IM, TxC	18/18	0/3	0	27,33
<i>MYH7</i>	22	R870H	c.g2609a	M/40	No	Disnea, miectomía	24/22	1/1	1	30,33
<i>MYH7</i>	32	K1459N	c.g4377t	M/56	Sí (MCH)	Disnea	19/19	0/2	0	30
<i>TNNT2</i>	9	R92Q	c.g275a	V/40	Sí (MSC)	Disnea	19/10	1/1	0	33
<i>TNNT2</i>	16	R278C	c.c832t	M/49	No	Disnea, angina	22/12	3/7	1	33
<i>TPM1</i>	5	D175N	c.g522a	M/41	Sí (MCH)	Disnea, angina, TSV	32/13	2/4	2	33

FA: fibrilación auricular; IM: insuficiencia mitral; M: mujer; MSC: muerte súbita; PC: parada cardíaca; SIV/PP: septo/pared posterior; TSV: taquicardia supraventricular; TxC: trasplante cardíaco; V: varón.

\*Consideramos como nucleótido 1 la A del primer codón codificante (ATG, Met).

La columna de portadores/estudiados indica el número de portadores/personas que fueron analizadas genéticamente en cada familia (excluido el caso índice), y la columna de hipertrofia, el número de estos portadores con hipertrofia.

heredado. Por otro lado, los portadores de la mutación tendrían mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad, por lo que no deberían hallarse entre personas sin síntomas de la enfermedad.

Todas las variantes halladas en los pacientes y que no figuraban en las bases de datos como polimorfismos se analizaron en 200 personas sanas que habían firmado un consentimiento informado para participar en el estudio. Todos eran mayores de 18 años y no tenían síntomas de enfermedad cardiovascular, aunque no fueron estudiados ecocardiográficamente, por lo que no podemos descartar una hipertrofia asintomática. Cada fragmento en el que se halló un cambio nucleotídico que podría ser una mutación se amplificó en el paciente que lo presentaba y en los 200 controles, y se analizó su patrón de migración electroforética en geles de poli-acrilamida no desnaturizantes mediante la técnica SSCA y siguiendo un protocolo descrito previamente (fig. 1)<sup>27,28</sup>.

### Grado de conservación de los aminoácidos entre especies

Las mutaciones afectan a aminoácidos importantes para la estructura y la función de la proteína, lo que limitaría su divergencia evolutiva. Todos los cambios nucleotídicos que modificaban la secuencia de la proteína y no fueron hallados en los controles se consideraron posibles mutaciones patogénicas. Como criterio adicional de implicación en la enfermedad, determinamos su grado de conservación entre el hombre, el chimpancé y el ratón, comparando las secuencias de las tres especies depositadas en la base de datos ENSEMBL ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)).

### Análisis estadístico

Se empleó el programa estadístico SPSS™ versión 11.0 para los análisis estadísticos. Mediante ANOVA y la prueba de la U de Mann-Whitney, se compararon las variables continuas, y se empleó la prueba de la  $\chi^2$  para las variables discretas. En todos los análisis se consideraron estadísticamente significativas las diferencias con una  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS

En 109 (91%) pacientes, la sospecha de MCH se derivó de sus manifestaciones clínicas (disnea de esfuerzo, palpitaciones, angina o síncope) y en 11, por la existencia de alteraciones electrocardiográficas en un examen médico habitual. De los 120 pacientes, 35 (29%) tenían al menos un familiar que también padecía MCH. Se hallaron 31 mutaciones en 32 pacientes: 10 con mutación en *MYH7*, 20 en *MYBPC3*, 2 en *TNNT2* y 1 en *TPM1* (tablas 2 y 3). Dos mutaciones en *MYBPC3* (G263X y E542Q) fueron halladas en más de 1 paciente, 1 tenía dos mutaciones (R278C-TNNT2 y R733H-MYBPC3) y otro era homocigoto para la mutación A627V en *MYBPC3*.

### Mutaciones en *MYH7*

De los 120 pacientes, 10 (8%) tenían mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina (tabla 2). Nueve mutaciones se localizaban en los primeros 22 exones del gen y solamente el cambio K1459N en la cola de la proteína. Cuatro de las mutaciones habían sido descritas. La media de edad

**TABLA 3. Características de los pacientes portadores de mutaciones en MYBPC3**

Exón	Mutación	Posición*	Sexo/edad	Historia familiar de MCH/MSC	Presentación	SIV/PP (mm)	Portadores/estudiados	Hipertrofia	Referencia
7	Y237C	c.a710g	V/33	Sí (MCH)	Soplo aórtico	35/30	2/4	1	Este estudio
8	G263X	c.g787t	V/32	No	Dx casual, síndrome de preexcitación	19/16	3/3	0	Este estudio
8	G263X	c.g787t	V/49	Sí (MCH + MSC)	Asintomático	17/11	0/1	0	Este estudio
13	A328fs del G	c.g982c	V/30	No	Disnea, soplo mitral	24/17	2/4	0	Este estudio
13	V342D	c.t1025a	V/43	No	Dx casual	17/13	2/3	1	33
14	Q404fs del C	c.c1210a	M/31	Sí (MCH + MSC)	Disnea, angina	23/10	0/2	0	Este estudio
18	R495W	c.c1483t	V/17	No	Dx casual	27/10	3/3	1	Este estudio
18	G531R	c.c1591a	M/72	No	Disnea, soplo mitral, FA	20/13	1/1	0	33
18	G532fs del G	c.g1595c	M/59	No	Disnea, FA, angina	17/10	0/2	0	Este estudio
18	E542Q	c.g1624c	V/43	No	Fatiga	18/13	1/2	0	33
18	E542Q	c.g1624c	V/57	No	Angina, soplo	20/14	0/0	0	33
20	A627V	c.c1880t	V/16	Sí (MSC)	Disnea, angina, TxC	28/17	3/5	1	33
24	R726C	c.c2176t	M/68	No	Asintomática	24/12	0/0	0	Este estudio
24	R733H	c.g2190a	M/49	No	Disnea, angina	22/12	4/7	0	Este estudio
25	V771M	c.g2311a	V/8	Sí (MCH)	Disnea, síncope	18/11	2/5	1	33
26	M844fs ins GA	c.t2531g	M/60	Sí (MSC)	Disnea, fatiga	17/17	8/9	3	Este estudio
27	R891fs ins G	c.c2671g	V/44	No	Disnea	18/15	1/1	1	Este estudio
29	Q998E	c.c2992g	V/37	Sí (MSC)	Síncope, palpitaciones	22/14	0/0	0	33
30	R1022S	c.c3064a	V/31	Sí (MCH)	Disnea, FA	25/21	1/3	1	Este estudio
32	R1138H	c.g3413a	V/60	No	Disnea, FA angina	19/19	0/1	0	Este estudio

FA: fibrilación auricular; IM: insuficiencia mitral; M: mujer; MSC: muerte súbita; PC: parada cardíaca; SIV/PP: septo/pared posterior; TSV: taquicardia supraventricular; TxC: trasplante cardíaco; V: varón.

\*Consideramos como nucleótido 1 la A del primer codón codificante (ATG, Met).

El caso índice se incluye entre los portadores. La columna de portadores/estudiados indica el número de portadores/personas que fueron analizadas genéticamente en cada familia (excluido el caso índice), y la columna de hipertrofia, el número de estos portadores con hipertrofia.

al diagnóstico en estos 10 pacientes fue 35 años (tabla 1). Siete (70%) tenían antecedentes familiares de la enfermedad. Los pacientes con R453C, A583V y R663H tenían familiares que habían sufrido MSC precoz (antes de los 50 años). La mutación V822M se halló en una mujer diagnosticada a la edad de 3 años. Esta mutación no se halló en ninguno de los dos padres, por lo que se trataría de una mutación de novo. Los pacientes con R453C y V822M habían sido trasplantados a los 43 y los 22 años, respectivamente.

### Mutaciones en MYBPC3

Hallamos 18 mutaciones en MYBPC3 en 20 de los 120 (16%) pacientes (tabla 3). Sólo 6 (33%) de las 18 eran conocidas. Todas las mutaciones en MYBPC3 afectaban a residuos aminoácidos conservados entre especies. Cinco eran cambios en la pauta de lectura de la proteína por inserción/delección de nucleótidos (A328fs del G, Q404fs del C, G532fs del G, M844fs ins GA y R891fs ins G), una un codón de parada (G263X) y 13 cambios de un aminoácido por otro. La media de edad al diagnóstico en estos pacientes fue 42 años y 8 (40%) tenían antecedentes familiares de MCH y/o MSC (tabla 1). En 10 de los casos esporádicos pudimos estudiar a alguno de sus familiares, y hallamos a varios portadores asintomáticos (tabla 3).

Un paciente era homocigoto para la mutación A627V, y fue el único con mutación en MYBPC3 que había recibido un trasplante cardíaco. Dos familiares portadores de la mutación estaban clínicamente asintomáticos y sin hipertrofia. M844fs se identificó en un paciente del que 8 familiares también eran portadores, pero sólo 3 tenían síntomas clínicos de la enfermedad (fig. 2). Una paciente con la mutación R773H tenía también la mutación TNNT2-R278C, y se describe más adelante.

Tres pacientes jóvenes padecían disnea de esfuerzo durante la práctica deportiva (fig. 3). En estos casos se identificaron las mutaciones G263X, R495W y R1022S. El paciente G263X tenía 32 años y una hipertrofia de 19 mm; su madre, su hermana y un hermano gemelo eran también portadores de la mutación, pero estaban clínicamente asintomáticos y sin hipertrofia. El paciente R495W tenía 17 años y un septo de 27 mm; su madre, su tío y su abuelo también eran portadores, pero sólo éste tenía hipertrofia (18 mm) a la edad de 85 años. El paciente R1022S tenía 31 años y un septo de 25 mm; la madre también era portadora y no tenía síntomas clínicos, pero sí un septo de 18 mm.

### Mutaciones en TNNT2, TNNI3 y TPM1

En 2 (1,66%) de los 120 pacientes hallamos las mutaciones R92Q y R278C en TNNT2 (tabla 2). El

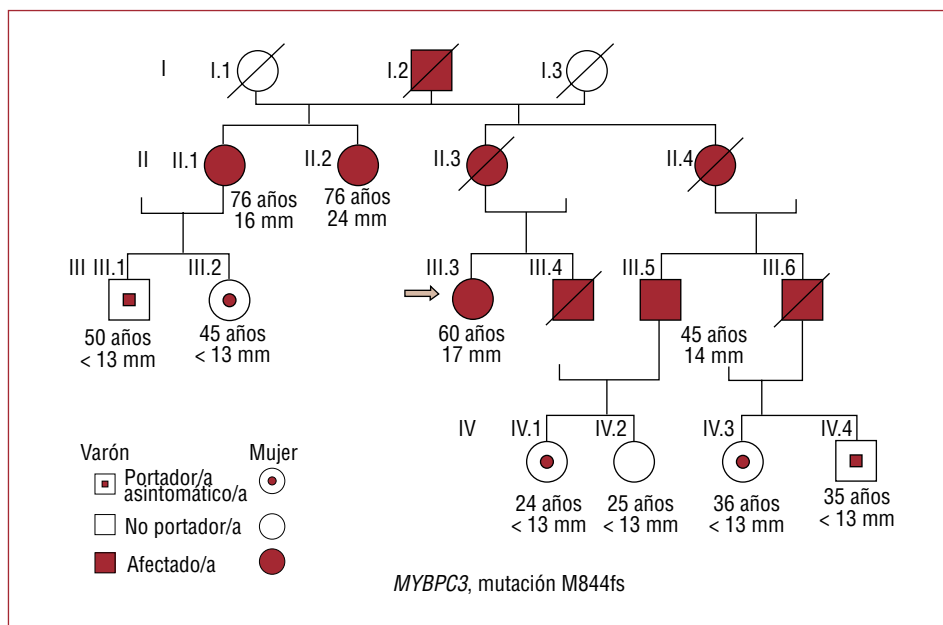


Fig. 2. Árbol de la familia con la mutación M844fs en el gen MYBPC3. El caso índice se indica con una flecha. Tres familiares de éste también eran portadores de la mutación, tenían síntomas clínicos de la enfermedad e hipertrofias de 14, 17 y 24 mm. Otros 5 portadores no tenían síntomas clínicos ni hipertrofia.

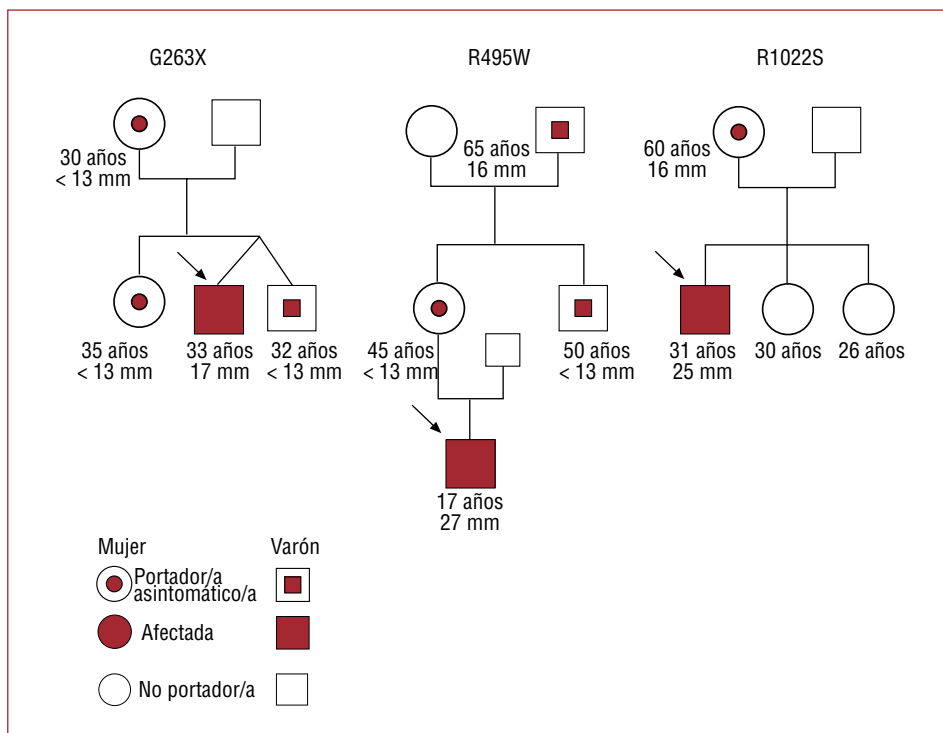


Fig. 3. Familias de tres casos esporádicos con mutaciones en MYBPC3. Los casos índice se indican con una flecha. Los tres practicaban deporte regularmente y fueron diagnosticados tras presentar síntomas asociados al ejercicio físico. En las familias de los pacientes R495W y R1022S había otro portador sin síntomas de la enfermedad, pero con hipertrofia cardíaca.

caso con R278C tenía también la mutación R733H en MYBPC3. En el gen TPM1 hallamos la mutación D175N en una paciente diagnosticada a los 41 años con una hipertrofia severa (32 mm) (tabla 2). Su hijo y su hermano tenían esta mutación y una hipertrofia de 27 y 20 mm.

MYBPC3. Una hija y una nieta de 40 y 6 años eran dobles portadoras, pero se mantenían asintomáticas. Dos hijas de 47 y 42 años eran portadoras de la mutación R733H, y tampoco tenían síntomas clínicos ni hipertrofia. Una hermana de 52 años con la mutación R278C tenía síntomas leves y un septo de 13 mm.

### Dobles portadores

Una mujer diagnosticada a los 49 años tenía dos mutaciones, R278C de TNNT2 y R733H de

### Correlación genotipo-fenotipo

Se compararon las características clínicas y ecocardiográficas según el gen mutado (tabla 1). La

media de edad al diagnóstico fue inferior en los casos con mutaciones en *MYH7* comparados con *MYBPC3*, aunque la diferencia no fue significativa. Los pacientes sin ninguna mutación tenían una media de edad mayor que los pacientes con mutaciones, aunque las diferencias tampoco fueron significativas. La hipertrofia era de  $21 \pm 5$  mm entre los pacientes *MYH7*,  $22 \pm 5$  mm en los *MYBPC3* y  $19 \pm 6$  mm en los pacientes sin mutación. El 70% de los pacientes *MYH7* tenían antecedentes de la enfermedad, comparados con el 40% de los *MYBPC3* y el 18% de los casos sin mutación.

### Polimorfismos

Además de las mutaciones, se hallaron varios cambios no asociados a la enfermedad (polimorfismos) en los cinco genes. Todos estos cambios nucleotídicos fueron identificados también en los controles. En *MYH7* se hallaron 27 polimorfismos, 23 de ellos en los exones y sólo uno implicaba un cambio de aminoácido (S1491C). En *MYBPC3* se hallaron 24 polimorfismos, 11 exónicos, de los que 5 cambiaban el aminoácido: R17Q, S236G, R326Q, W382R y V896M. La información de la variación en estos genes puede ser solicitada a los autores en la dirección para correspondencia.

### DISCUSIÓN

Nuestro trabajo es el primero que analiza la secuencia completa de los cinco genes sarcoméricos más frecuentemente mutados en la MCH en una serie grande de pacientes españoles. Anteriormente se habían publicado series grandes para todos los exones de *MYH7* o de un número reducido de casos para algunos exones de varios genes<sup>27-32</sup>.

El gen *MYBPC3* fue el más mutado (el 16% de los casos), seguido de *MYH7* (8%), y menos del 2% tenían mutaciones en los genes *TNNT2* y *TPMI*. Hallamos una menor frecuencia de casos con mutaciones en comparación con las descritas por otros autores. La mayoría de esos estudios se han realizado en centros de referencia a los que se remite a pacientes con formas severas de MCH, en los que sería más probable hallar antecedentes familiares de la enfermedad. En nuestro estudio, sólo el 29% de los casos tenían antecedentes de MCH y/o MSC, mientras que otros estudios tenían hasta un 90% de formas familiares<sup>8,12</sup>. La frecuencia de mutaciones sarcoméricas sería mayor entre los pacientes con antecedentes familiares de la enfermedad, y el menor número de mutaciones identificadas en nuestro estudio podría deberse a una mayor frecuencia de casos esporádicos. Por otro lado, en el 43% de los pacientes con historia familiar de MCH no se hallaron mutaciones, lo que indica que otros genes

podrían explicar la segregación familiar en estos casos.

La baja frecuencia de mutaciones en *MYH7* (8%) ha sido descrita por otros, como Laredo et al<sup>30</sup> en pacientes de Galicia. El 61% de los pacientes con mutaciones en *MYBPC3* eran esporádicos, comparados con sólo un 30% de los *MYH7*. Ya había sido documentada<sup>3,8,12,15,33</sup> una mayor penetrancia para las mutaciones en *MYH7*, lo que incrementaría la probabilidad de que la enfermedad se manifieste en los portadores en cada familia. Los pacientes con mutaciones en *MYH7* manifestarían la enfermedad a edad más temprana, con mayor grado de hipertrofia, un fenotipo más maligno y un peor pronóstico<sup>8</sup>. Aunque hallamos una menor edad de manifestación de la enfermedad entre los pacientes *MYH7*, la diferencia con los *MYBPC3* y los casos sin mutación no alcanzó significación estadística, probablemente debido al reducido número de pacientes con mutaciones. Tampoco se hallaron diferencias en el tamaño del septo interventricular entre los tres grupos. La baja frecuencia de mutaciones en los genes que codifican los filamentos finos *TNNT2* y *TPMI* (< 2%) es similar a la descrita por otros grupos<sup>8</sup>.

La clasificación inicial de las mutaciones como «malignas» o «benignas» ha sido matizada por estudios más recientes, que han puesto de manifiesto la dificultad de estratificar el pronóstico para la mayoría de las mutaciones<sup>8,12-14</sup>. Dos de nuestros casos ilustran esta heterogeneidad clínica, incluso entre los portadores en una familia. Una mujer con dos mutaciones en *TNNT2* y *MYBPC3* había sido diagnosticada por angina y disnea a los 49 años y tenía una hipertrofia de 22 mm. Una hija y una nieta también eran dobles portadoras, pero estaban clínicamente asintomáticas y sin hipertrofia. Esto indica que la presencia de dos mutaciones sarcoméricas no estaría necesariamente asociada a una manifestación precoz y severa de la enfermedad. En otra familia con la mutación en *MYBPC3* M844fs se identificaron 9 portadores, de los que sólo 3 tenían hipertrofia. Algunos portadores se mantenían asintomáticos a edad avanzada, pero 2 habían sufrido muerte súbita a edad < 50 años. Estos casos indican que las manifestaciones clínicas son consecuencia de factores de riesgo genéticos y no genéticos y, por lo tanto, la información genética de cada paciente no debería emplearse como único elemento para establecer el pronóstico. Sin embargo, las personas sin enfermedad cardíaca pero portadoras de mutaciones en genes sarcoméricos podrían manifestar síntomas más adelante, por lo que deberían someterse a evaluaciones periódicas para evitar los efectos adversos de la MCH.

Tres pacientes fueron diagnosticados ecográficamente tras padecer fatiga asociada al ejercicio físico. El estudio genético identificó tres mutaciones

en *MYBPC3* en las tres familias, en las que hallamos portadores asintomáticos. Estos tres casos indican que algunas mutaciones, particularmente en *MYBPC3*, podrían ser de baja penetrancia, pero el ejercicio físico aceleraría el desarrollo de los síntomas y la hipertrofia entre los portadores. Una MCH en deportistas sin antecedentes de la enfermedad podría indicar la presencia de alguna mutación sarcomérica, probablemente en *MYBPC3*.

Todas las mutaciones en *MYH7* se traducían en cambios de un solo aminoácido, mientras que en *MYBPC3* también había cambios en la pauta de lectura de la proteína. Además, los polimorfismos con cambio de aminoácido eran menos frecuentes en *MYH7*. Esto indica una presión selectiva en contra de las mutaciones que modifican varios aminoácidos de la cadena pesada de la betamiosina que podrían conllevar un riesgo elevado de muerte precoz, por lo que no se hallarían entre adultos con *MCH*<sup>8</sup>.

Finalmente, la mitad de las mutaciones en *MYH7* (5/10) y la mayoría de las halladas en *MYBPC3* (13/18) no habían sido descritas previamente<sup>33</sup>. Sólo 2 de las 11 mutaciones halladas por Laredo et al<sup>30</sup> (R663H y K1459N) se hallaron también en nuestros pacientes. Esto indica que los análisis directos de mutaciones ya conocidas tendrían escasa utilidad pues no identifican mutaciones en casos realmente portadores<sup>34</sup>. En éstos sería necesaria la secuenciación completa de los genes sarcoméricos para excluir de forma definitiva la presencia de alguna mutación.

## CONCLUSIONES

En conclusión, en un análisis de los cinco genes sarcoméricos más frecuentemente mutados en la MCH en una serie de 120 pacientes de Asturias y Cantabria, se hallaron mutaciones en el 26% de los casos. El gen *MYBPC3* era el más mutado, seguido de *MYH7*, *TNNT2* y *TPM1*. Más de la mitad de las mutaciones no habían sido descritas. No hallamos mutaciones en *TNNI3*. No había diferencias ni en la edad media al diagnóstico ni en el tamaño del septo interventricular entre los portadores en *MYH7* y *MYBPC3*. Nuestro estudio ilustra la dificultad para definir el pronóstico en los portadores de mutaciones en estos genes.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a los pacientes y sus familiares.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA*. 2002;287:1308-20.
2. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA study. *Circulation*. 1995;92:785-9.
3. Arad M, Seidman JG, Seidman CE. Phenotypic diversity in hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet*. 2002;11:2499-506.
4. Jarcho JA, McKenna W, Pare JA, Solomon SD, Holcombe RF, Dickie S, et al. Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14q1. *N Engl J Med*. 1989;321:1372-8.
5. Geisterfer-Lowrance AA, Kass S, Tanigawa G, Vosberg HP, McKenna W, Seidman CE, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell*. 1990;62:999-1006.
6. Rosenzweig A, Watkins H, Hwang DS, Miri M, McKenna W, Traill TA, et al. Preclinical diagnosis of familial hypertrophic cardiomyopathy by genetic analysis of blood lymphocytes. *N Engl J Med*. 1991;325:1753-60.
7. Watkins H, Rosenzweig A, Hwang DS, Levi T, McKenna W, Seidman CE, et al. Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1992;326:1108-14.
8. Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C, et al. EUROGENE Heart Failure Project. Hypertrophic cardiomyopathy: Distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation*. 2003;107:2227-32.
9. Watkins H, Conner D, Thierfelder L, Jarcho JA, MacRae C, McKenna WJ, et al. Mutations in the cardiac myosin binding protein-C gene on chromosome 11 cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet*. 1995;11:434-7.
10. Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, Suk HJ, Anan R, O'Donoghue A, et al. Mutations in the genes for cardiac troponin T and  $\alpha$ -tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1995;332:1058-64.
11. Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, Lamas R, McKenna W, Vosberg HP, et al. Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell*. 1994;77:701-12.
12. Erdmann J, Daehmlow S, Wischke S, Senyuva M, Werner U, Raible J, et al. Mutation spectrum in a larger cohort of unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Genet*. 2003;64:339-49.
13. Ackerman MJ, VanDriest SL, Ommen SR, Will ML, Nishimura RA, Tajik AJ, et al. Prevalence and age-dependence of malignant mutations in the beta-myosin heavy chain and troponin T genes in hypertrophic cardiomyopathy. A comprehensive outpatient perspective. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:2042-8.
14. Van Driest SL, Ackerman MJ, Ommen SR, Shakur R, Will ML, Nishimura RA, et al. Prevalence and spectrum of thin filament mutations in an outpatient referral population with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2003;108:445-51.
15. Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S, Watkins H, Chudley AE, McKenna W, et al. Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1998;338:1248-57.
16. Maron BJ, Niimura H, Casey SA, Soper MK, Wright GB, Seidman JG, et al. Development of left ventricular hypertrophy in adults in hypertrophic cardiomyopathy caused by cardiac myosin-binding protein C gene mutations. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:315-21.
17. Moolman JC, Corfield VA, Posen B, Ngumbela K, Seidman C, Brink PA, et al. Sudden death due to troponin T mutations. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29:549-55.
18. Koga Y, Toshima H, Kimura A, Harada H, Koyanagi T, Nishi H, et al. Clinical manifestations of hypertrophic



- cardiomyopathy with mutations in the cardiac beta-myosin heavy chain or cardiac troponin T gene. *J Card Fail.* 1996;2:S97-103.
19. Sweeney HL, Feng HS, Yang Z, Watkins H. Functional analyses of troponin T mutations that cause hypertrophic cardiomyopathy: insights into disease pathogenesis and troponin function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:14406-10.
  20. Varnava A, Baboonian C, Davison F, De Cruz L, Elliott PM, Davies MJ, et al. A new mutation of the cardiac troponin T gene causing familial hypertrophic cardiomyopathy without left ventricular hypertrophy. *Heart.* 1999;82:621-4.
  21. Yamauchi-Takahara K, Nakajima-Taniguchi C, Matsui H, Fujio Y, Kunisada K, Nagata S, et al. Clinical implications of hypertrophic cardiomyopathy associated with mutations in the alpha-tropomyosin gene. *Heart.* 1996;76:63-5.
  22. Coviello DA, Maron BJ, Spirito P, Watkins H, Vosberg HP, Thierfelder L, et al. Clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by mutation of a "hot spot" in the alpha-tropomyosin gene. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29:635-40.
  23. Mogensen J, Murphy RT, Kubo T, Bahl A, Moon JC, Klausen IC, et al. Frequency and clinical expression of cardiac Troponin I mutations in 748 consecutive families with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:2315-25.
  24. Gomes AV, Potter JD. Cellular and molecular aspects of familial hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the cardiac troponin I gene. *Mol Cell Biochem.* 2004;263:99-114.
  25. Jongbloed RJ, Marcelis CL, Doevendans PA, Schmeitz-Mulkens JM, Van Dockum WG, Geraedts JP, et al. Variable clinical manifestation of a novel missense mutation in the alpha-tropomyosin (TPM1) gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:981-6.
  26. Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK, Kappenberger LJ, Kuhn HJ, Seidman CE. 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.
  27. García-Castro M, Reguero JR, Batalla A, Díaz-Molina B, González P, Álvarez V, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: low frequency of mutations in the beta-myosin heavy chain and cardiac troponin T genes among Spanish patients. *Clin Chem.* 2003;49:1279-85.
  28. García-Castro M, Reguero JR, Álvarez V, Batalla A, Soto MI, Albaladejo V, et al. Hypertrophic cardiomyopathy linked to homozygosity for a new mutation in the MYBPC3 gene (A627V) suggests a dosage effect. *Int J Cardiol.* 2005;102:501-7.
  29. García-Castro M, Reguero JR, Moris C, Alonso-Montes C, Berrazueta JR, Sainz R, et al. Prevalence and spectrum of mutations in the sarcomeric T and I genes in a cohort of Spanish cardiac hypertrophy patients. *Int J Cardiol.* 2007;121:115-6.
  30. Laredo R, Monserrat L, Hermida-Prieto M, Fernandez X, Rodríguez I, Cazón L, et al. Mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina en pacientes con miocardiopatía hipertrófica. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59:1008-18.
  31. García-Pavía P, Segovia J, Molano J, Mora R, Kontny F, Erik Berge K, et al. Miocardiopatía hipertrófica: baja frecuencia de mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina cardiaca. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:311-4.
  32. Mora R, Merino JL, Peinado R, Ollas F, García-Guereta L, Del Cerro MJ, et al. Miocardiopatía hipertrófica: baja frecuencia de mutaciones en el gen de la cadena pesada de la betamiosina cardiaca. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59:846-9.
  33. Cardiogenomics. Disponible en: [www.cardiogenomics.org](http://www.cardiogenomics.org)
  34. García-Castro M, Reguero JR, Batalla A, Catalán F, Mayordomo J, Coto E. Detección directa de mutaciones malignas en pacientes con miocardiopatía hipertrófica. *Rev Esp Cardiol.* 2003;56:1022-5.