

Archivos de Cardiología de México

Volumen **74**
Volume

Suplemento **2**
Supplement




Abril-Junio **2004**
April-June

Artículo:

Diagnóstico molecular en cardiología: Cardiomiopatía hipertrófica familiar en pacientes mexicanos

Derechos reservados, Copyright © 2004
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

**Otras secciones de
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



Medigraphic.com

Diagnóstico molecular en cardiología: Cardiomiopatía hipertrófica familiar en pacientes mexicanos

David Jay,* Alfonso Buendía,** Miguel Ángel Medina,* Graciela Cervantes,* Teresa García,* Elizabeth J García,* María de la Luz Ibarra,* Aloha Meave,*** Efrén Arquímedes,**** Humberto Azuara****

Resumen

La cardiomiopatía hipertrófica (CMH) es el desorden cardíaco heredable que se presenta con mayor frecuencia en la población general, afectando a 1 de cada 500 individuos. El análisis genético molecular ha revelado que la CMH es una enfermedad de la sarcómera causada por mutaciones en genes que codifican para proteínas contráctiles en el corazón. Hasta la fecha se han identificado más de cien mutaciones en nueve genes distintas asociadas a la enfermedad. Esta heterogeneidad genética esta acompañada de una diversidad comparable en las características clínicas del padecimiento tales como la hipertrofia ventricular izquierda, variabilidad en la edad de presentación de la enfermedad y riesgo variable de muerte súbita. De aquí que resulte de importancia fundamental identificar las mutaciones genéticas que pueden causar esta condición. El conocimiento de este conjunto de mutaciones brindará más luz sobre los mecanismos moleculares causantes del trastorno. Así mismo, la prueba genética molecular, puede ser una herramienta útil en el diagnóstico de la enfermedad y permitirá hacer una mejor estratificación del pronóstico asociado a un paciente con CMH. A pesar de estos avances, no existe información disponible sobre la incidencia genética de este padecimiento en países del hemisferio sur. El propósito de esta comunicación es el de describir brevemente algunas de las alteraciones en el material genético causantes de la CMH. Así mismo, se muestra la primera variante alélica (14136 T>C; Leu950Pro) identificado en México causante de CMH.

Palabras clave: Cadena pesada de la miosina β cardíaca. MYH7. Cardiomiopatía hipertrófica. CMH. Hipertrofia ventricular. Mutación de sentido equivocado.

Key words: Hypertrophic cardiomyopathy. HCM. β -myosin heavy chain. MYH7. Ventricular hypertrophy. Missense mutation.

* Departamento de Biomedicina Cardiovascular.

** Cardiología Pediátrica.

*** Resonancia Magnética; Instituto Nacional de Cardiología, I. Ch.

**** Hospital General, Carlos Azcuaga Cabrera.

Correspondencia: David Jay. Departamento de Biomedicina Cardiovascular. Instituto Nacional de Cardiología, "Ignacio Chávez" (INCICH, Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Tlalpan. 14080, México, D.F.). Tel. (+52)(55)5573-2911 Ext. 1237. Fax (+52)(55)5573-0926. Correo electrónico: david.jay@cardiologia.org.mx

Summary

MOLECULAR DIAGNOSIS IN CARDIOLOGY.
HYPERTROPHIC MYOCARDIOPATHY IN MEXICANS

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is one of the most frequently occurring inherited cardiac disorders, affecting up to 1 in 500 of the population. Molecular genetic analysis has shown that HCM is a disease of the sarcomere, caused by more than a hundred mutations in cardiac contractile protein genes. To date nine disease-associated genes have been identified. This genetic heterogeneity is associated with a wide range of clinical features, such as a variable degree of left ventricular hypertrophy, a variable age of onset, and a variable degree of risk for sudden cardiac death. This diversity explains why molecular genetic studies in this regard are of paramount importance. Knowledge of the set of mutations will provide insights into the mechanisms by which these alterations cause cardiac disease as well as provide useful tools for the genetic diagnoses of these conditions. Genetic testing will also allow to better stratify the prognosis of a given HCM patient. Despite this knowledge, there is no available information associate with the incidence of genetic alterations causing HCM in populations in the south hemisphere. The purpose of the present communication is to briefly describe some of the alterations in the genetic material that can lead to HCM. We also show the first allelic variant (14136 T>C; Leu950Pro) identified in Mexico as the cause of HCM.

La cardiomiopatía hipertrófica (CMH) familiar es una enfermedad heredable autosómica dominante que afecta a 1 de cada 500 individuos y que se caracteriza macroscópicamente por un incremento en la masa del ventrículo izquierdo que puede progresar a dilatación cardíaca e insuficiencia funcional en ausencia de una causa secundaria (como hipertensión) e histológicamente por un desarreglo en la organización de las miofibrillas y los cardiomiocitos.¹⁻⁵

Como muchos otros desordenes autosómicos, la CMH es un padecimiento genéticamente heterogéneo. Hasta el momento se han encontrado nueve genes distintos y más de 100 mutaciones asociadas a la enfermedad¹ (Tabla I). Todas estas alteraciones se han detectado en genes que codifican para proteínas sarcoméricas por lo que se ha desarrollado la noción de que la CMH es una enfermedad de la sarcómera.^{1,5,6} El gen (*MYH7*) de la cadena pesada de la miosina cardíaca (β MHC) fue el primero en ser identificado en la CMH ubicándose en el cromosoma 14q1.⁷ Posteriormente, se han identificado al gen de la troponina T (cTnT) en el cromosoma 1q3 (CMH2), al gen de la tropomiosina α en el cromosoma 15q2 (CMH3), al gen de la proteína C que une miosina (MyBP-C) en el cromosoma 11p11.2, al gen de la cadena ligera esencial de la miosina (CLC-1) en el cromosoma 3p, al gen de la cadena regulatoria ligera de la miosina (CLC-2) en el cromosoma 12q, al gen de la troponina I (cTnI) en el cromosoma 19p13.2, al gen de la actina- α cardíaca en el cromosoma 15q11 y al gen de la titina en el cromosoma 2q31. En el caso de familias con CMH con el síndrome de Wolff-Parkinson-White el locus se mapeó en el cromosoma 7q3 pero el gen no ha sido identificado.^{1,2,6,8-10}

No todas las mutaciones en los distintos genes están asociadas con la misma prognosis. De esta manera, curvas de supervivencia muestran que la sustitución de la Arginina 403 de la β MHC por glutamina está asociada a muerte prematura, mientras que la sustitución de la valina 606 por metionina es benigna. Otras mutaciones particularmente malignas son la sustitución de la arginina 249 por glutamina y especialmente la sustitución de la arginina 453 por cisteína.¹¹ Mutaciones en la cTnT parecen ser particularmente perniciosas ya que aunque están asociadas con una hipertrofia moderada (poco engrosamiento ventricular), presenta una de las incidencias más altas de muerte súbita, en comparación con cualquier otro tipo de mutación.⁴ De

Tabla I. Genes causantes de CMH y sus frecuencias.

Gen	Cromosoma	Frecuencia de aparición en CMH
β MHC	14q1	35-50
MYBP-C	11q11	15-20
Troponina cardíaca T	1q3	15-20
α -tropomiosina	15q2	<5
Troponina cardíaca I	19q13	<1
MLC-1	3p	<1
MLC-2	12q	<1
Actina- α cardíaca	15q11	?
Titina	2q31	?
Desconocido	7q3	?

Ver texto para las definiciones.

esta manera, es posible que las mutaciones en distintas proteínas sarcoméricas lleven al desarrollo de la CMH mediante distintos mecanismos moleculares. Estudios funcionales y estructurales han mostrado que la CMH no es el defecto primario inducido por las mutaciones sino más bien es un proceso compensatorio. La alteración primaria que desencadena la compensación hipertrófica en todos los casos parece ser, sin embargo, una disminución en el desempeño contráctil de la sarcómera en presencia de la proteína mutada. De esta manera, se ha observado que mutaciones específicas en la miosina conllevan una disminución en la capacidad de hidrolizar ATP, así como una reducción por parte de la molécula de formar microfilamentos estables.¹² Sweeney et al.¹³ también observaron, en fragmentos mutados de meromiosina pesada, una capacidad disminuida para desplazar filamentos de actina. Por otro lado, es conveniente considerar que la maquinaria que desencadena la hipertrofia compensadora debe involucrar la expresión de otros genes y también la participación de factores externos no genéticos. Esto último queda de manifiesto en el hecho de que la CMH, a pesar de caracterizarse por una expresión generalizada de la proteína mutada, involucra predominantemente al ventrículo izquierdo, en donde mayores presiones y volúmenes son manejados. Así mismo, se observa localización septal en más de dos tercios de los individuos afectados. En este sentido, y en relación con la naturaleza compensatoria de la CMH, se ha medido la expresión de isoformas fetales de proteínas como los oncogenes *c-fos*, *c-jun* y *c-myc*, así como de factores como el factor de crecimiento transformante β 1 (TGF

$\beta 1$ y el factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (ILGF-1).^{14,15} En algunos de estos casos, se ha determinado una expresión regional. Tal es el caso del péptido natriurético cerebral que se expresa en el ventrículo durante la CMH.¹⁶

Un hallazgo experimental interesante reciente, en el que se utilizaron ratas predispuestas genéticamente y con sobrecarga de presión a desarrollar CMH, fue que la ciclosporina y el FK506 prevenían el desarrollo del trastorno.¹⁷ Esto ponía de manifiesto el papel central de la calcineurina en la patogenia de la enfermedad. Estos datos además, están de acuerdo con el incremento citosólico de calcio que se ha observado durante la CMH como uno de los mecanismos compensadores que permiten aumentar la contractilidad y el rendimiento cardíaco.¹⁸ A este respecto, sin embargo, Müller et al.¹⁹ encontraron que cuando la sobrecarga se hace a nivel del arco aórtico y no a nivel de la aorta abdominal, como en el caso de los experimentos anteriores, la ciclosporina no tenía ningún efecto. A este respecto se sabe que la oclusión de la aorta abdominal está asociada a la activación del sistema de renina-angiotensina²⁰ y a la subsiguiente activación de fosfolipasa C y movilización de calcio intracelular;²¹ pudiendo explicar la activación de la calcineurina en el modelo anterior pero poniendo de manifiesto que aunque esta fosfatasa dependiente de calcio es suficiente para el desarrollo de la hipertrofia no es necesaria en todos los casos.¹⁹

Variante alélica 14136 T>C (Leu950Pro) Identificada en México

Los casos que se analizaron en este estudio corresponden a pacientes pertenecientes a una familia nuclear en donde la manifestación de la CMH revela un patrón de herencia autosómica dominante según se indica en la *Figura 1*. El paciente "propositus" (probanda) presentaba signos de CMH concéntrica severa (incluyendo septum interventricular de 29 mm) y antecedentes familiares de la enfermedad incluyendo casos con muerte súbita. Para el análisis se utilizó ARN obtenido de linfocitos extraídos de sangre periférica y se amplificaron regiones sobrepuestas del gen que codifica para la cadena pesada de la miosina- β cardíaca ya que, como se mencionó arriba, mutaciones en este gen dan cuenta de hasta un 50% de casos con CMH. Todas las regiones amplificadas fueron secuenciadas en ambas direcciones encontrándose una mutación de sentido

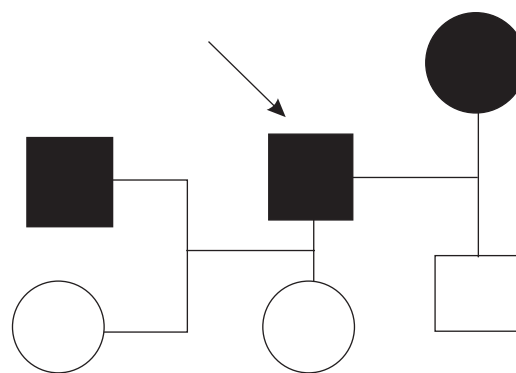


Fig. 1. Pedigrí de la familia afectada con CMH. La flecha indica al sujeto "propositus" (probanda).

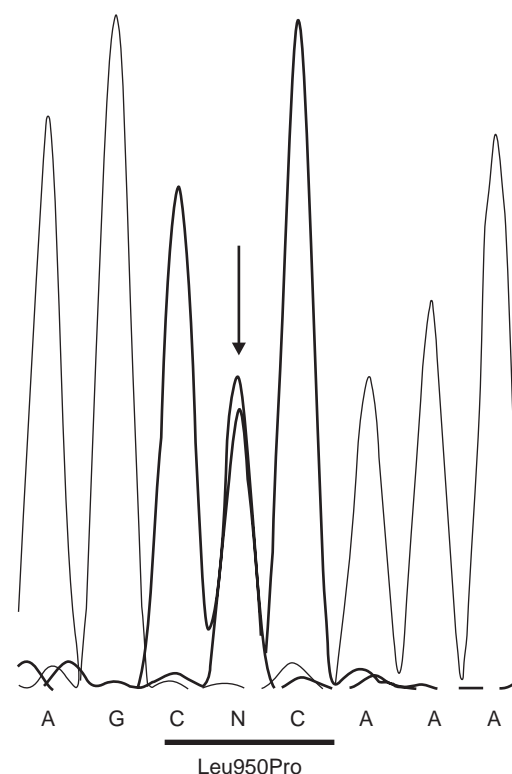


Fig. 2. Secuencia mutada del gen *MYH7* en la posición 14136 T>C; Leu950Pro.

equivocado (T>C) en una secuencia que corresponde a la posición 14136 del gen (*Fig. 2*). Aunque el número reducido de individuos analizados no permitió obtener resultados estadísticamente significativos, se llegó a la conclusión de que esta mutación era la causante de la CMH por dos razones principales. En primer lugar, la alteración representa una variante alélica nueva (no publicada anteriormente) que sólo se presentó en los miembros afectados de la familia; estando

ausente en los individuos no afectados y en otras muestras control obtenidas de la población general. En segundo lugar, la mutación T14136C corresponde a un cambio de codón (CTC>CCC) que involucra la sustitución de una leucina por prolina en la posición 950 de la proteína. Esta posición corresponde al final de la región del cuello e inicio de la porción de varilla de la proteína. Aquí se encuentra un dominio de la molécula que se caracteriza estructuralmente por la presencia de alfa hélices en el péptido. Además, es la porción que soporta toda la "torsión mecánica" durante el

ciclo catalítico al desplazarse la miosina sobre la actina. La introducción de una prolina en una hélice alfa induce el rompimiento total de la estructura secundaria prediciendo, inequívocamente, una función molecular alterada en esta región particularmente sensible.

Será importante seguir este estudio en otros miembros de la familia extendida en donde también se ha detectado CMH. El estudio permitirá establecer hasta donde cambios moleculares predeciblemente significativos tienen implicaciones pronósticas y terapéuticas.

Referencias

1. ROBERTS R, SIGWART U: *New concepts in hypertrophic cardiomyopathies, part I*. Circulation 2001; 104: 2113-6.
2. TOWBIN JA: *The role of cytoskeletal proteins in cardiomyopathies*. Current Opinion in Cell Biology 1998; 10: 131-139.
3. MARON BJ, BONOW RO, CANNON RO III, LEON MB, HEPSTEIN SE: Hypertrophic cardiomyopathy: interrelations of clinical manifestations, pathophysiology, and therapy. N Engl J Med 1987; 16: 780-789.
4. MARON BJ: *Hypertrophic cardiomyopathy*. Lancet 1997; 350: 127-133.
5. DAVID JAY: *Aspectos moleculares y genéticos en cardiología*. Arch Inst Cardiol Mex 1999; 69: 157-162.
6. MARIAN AJ, ROBERTS R: *Molecular genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy: Genetic markers for sudden cardiac death*. J Cardio Electrophys 1998; 9: 88-98.
7. JARCHO JA, MCKENNAN W, PARE JAP, SOLOMON SD, HOLCOMBE RF, DICKIE S, ET AL: *Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14q1*. N Engl J Med 1989; 32: 1372-1378.
8. CARRIER L, BONNE G, BAHREND E, YU B, RICHARD P, NIEL F, ET AL: *Organization and sequence of human cardiac myosin binding protein C gene (MYBPC3) and identification of mutations predicted to produce truncated proteins in familial hypertrophic cardiomyopathy*. Circ Res 1997; 80: 427-34.
9. POETTER K, JIANG H, HASSANZADEH S, MASTER SR, CHANG A, DALAKAS MC, ET AL: *Mutations in either the essential or regulatory light chains of myosin are associated with a rare myopathy in human heart and skeletal muscle*. Nat Genet 1996; 13: 63-9.
10. MACRAE CA, GHASIAS N, KASS S, DONNELLY S, BASSON CT, WATKINS HC, ET AL: *Familial Hypertrophic cardiomyopathy with Wolff-Parkinson-White syndrome maps to a locus on chromosome 7q3*. J Clin Invest 1995; 96: 1216-20.
11. 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.
12. STRACESKI AJ, GEISTERFER-LowRANCE A, SEIDMAN CE, SEIDMAN JG, LEINWAND LA: *Functional analysis of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy*. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 589-593.
13. SWEENEY HL, STRACESKI AJ, LEINWAND LA, TIKUNOV BA, FAUST L: *Heterologous expression of a cardiomyopathic myosin that is defective in its actin interaction*. J Biol Chem 1994; 269: 1603-1605.
14. HENGSTENBERG C, MAISCH B: *Increased nuclear proto-oncogene expression in hypertrophic cardiomyopathy*. Cardioscience 1993; 4: 15-20.
15. LI RK, LI G, MICKLE DA, WEISEL RD, MERANTE F, LUSS H, ET AL: *Overexpression of transforming growth factor-beta1 and insulin-like growth factor-I in patients with idiopathic hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation 1997; 96: 874-881.
16. HASEGAWA K, FUJIWARA H, DOYAMA K, MIYAMAE M, FUJIWARA T, SUGA S, ET AL: *Ventricular expression of brain natriuretic peptide in hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation 1993; 88: 372-380.
17. SUSSMAN MA, LIM HW, GUDE N, TAIGEN T, OLSON EN, ROBBINS J, ET AL: *Prevention of cardiac hypertrophy in mice by calcineurin inhibition*. Science 1998; 281: 1690-1693.
18. PALMITER KA, SOLARO RJ: *Molecular mechanisms regulating the myofilament response to Ca²⁺: implications of mutations causal for familial hy-*

- pertrophic cardiomyopathy*. Basic Res Cardiol 1997; 92 Suppl 1: 63-74.
19. MÜLLER JG, NEMOTO S, LASER M, CARABELLO BA, MENICK DR, MOKKENTIN DJ: *Calcineurin Inhibition and Cardiac Hypertrophy*. Science 1998; 282: 1007a.
 20. WIESNER RJ, EHMKE H, FAULHABER J, ZAK R, RUEGG JC: *Dissociation of Left Ventricular Hypertrophy, β -Myosin Heavy Chain Gene Expression, and Myosin Isoform Switch in Rats After Ascending Aortic Stenosis*. Circulation 1997; 95: 1253-1259.
 21. SADOHIMA J, IZUMO S: *Signal transduction pathways of angiotensin II—induced c-fos gene expression in cardiac myocytes in vitro. Roles of phospholipid-derived second messengers*. Circ Res 1993; 73: 424-438.

