



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE
DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

**Estudio genético mediante “*Next Generation Sequencing*” de la
miocardiopatía hipertrófica felina**

Cristina Gil Ortuño

2024



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE
DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Estudio genético mediante “*Next Generation Sequencing*” de la miocardiopatía hipertrófica felina

Autora: Cristina Gil Ortuño

Directores: María Sabater Molina

Juan Ramón Gimeno Blanes



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Cristina Gil Ortuño

doctorando del Programa de Doctorado en

Integración y Modulación de Señales en Biomedicina

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Estudio genético mediante “Next Generation Sequencing” de la miocardiopatía hipertrófica felina

y dirigida por,

D./Dña. María Sabater Molina

D./Dña. Juan Ramón Gimeno Blanes

D./Dña.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 20 de Marzo de 2024

**CRISTINA GIL
ORTUÑO -
NIF:4868468
3P**

Firmado
digitalmente por
CRISTINA GIL
ORTUÑO -
NIF:48684683P
Fecha: 2024.03.20
20:55:09 +01'00'

Fdo.: Cristina Gil Ortuño

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia

RESUMEN

La miocardiopatía hipertrófica (MCH) es una enfermedad hereditaria caracterizada por el aumento del grosor de la pared ventricular y la consiguiente rigidez del músculo cardíaco, dando lugar a la reducción del volumen de las cavidades cardíacas. Este fenómeno desencadena una serie de síntomas clínicos, tales como disnea, taquicardia (TV), dolor torácico, síncope e insuficiencia cardíaca. En la población humana, la MCH se erige como la enfermedad cardiovascular hereditaria más prevalente, afectando al 0,2% de la población con una inclinación leve hacia el género masculino, y generalmente se detecta en la edad adulta.

Aunque la MCH se manifiesta en otras especies de forma inducida o natural, los felinos, en particular los gatos, destacan al expresar naturalmente la enfermedad con una frecuencia significativa del 14,7%. Los gatos presentan un desarrollo del fenotipo similar al humano, aunque con una progresión más acelerada debido a su menor esperanza de vida. El diagnóstico y tratamiento de la enfermedad en gatos siguen pautas similares, ajustadas a las peculiaridades de la especie y a la incapacidad de los felinos para comunicar sus síntomas.

La enfermedad, tanto en humanos como en gatos, se caracteriza por una expresión heterogénea con penetrancia incompleta, mayoritariamente asociada a una herencia dominante, aunque casos minoritarios presentan otros patrones de herencia. A pesar de estas similitudes, la comprensión genética de la MCH en gatos se encuentra menos desarrollada en comparación con la de los humanos. Mientras que en la población humana se conocen más de 1.500 mutaciones que afectan a genes del sarcómero (predominantemente en los genes *MYH7* y *MYBPC3*), del disco Z y relacionados con la señalización del calcio, en gatos, solo se han identificado 5 variantes posiblemente patogénicas en los genes *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2* y *ALMS1*. Dos de estas variantes, p.Ar820Trp en *MYBPC3* y p.Glu1883Lys en *MYH7*, son compartidas por gatos y seres humanos con MCH.

Sin embargo, estas variantes no explican por sí solas la elevada incidencia de casos observada en gatos con MCH, subrayando la necesidad de integrar datos adicionales para encontrar nuevas causas y validar la patogenicidad de las variantes descritas.

La estrecha similitud fenotípica y genotípica entre los gatos y los humanos con MCH posiciona a los felinos como un modelo excepcional para la investigación fisiopatológica de la enfermedad y orienta hacia futuros avances en la comprensión de la genética subyacente en esta especie. Es por ello, que en el presente trabajo se plantea un exhaustivo examen de la genética asociada a la MCH en gatos con el propósito de obtener un beneficio dual. Por un lado, se

busca mejorar el diagnóstico de esta condición en los felinos, y por otro, se aspira a utilizar estos hallazgos como plataforma para el estudio y comprensión de la enfermedad en la población humana.

La metodología empleada en este estudio abarcó la puesta a punto de un panel propio de 27 genes vinculados a cardiopatías, mediante la tecnología de secuenciación masiva de nueva generación (NGS). Inicialmente, se conformó una población heterogénea 48 gatos evaluados clínicamente por expertos veterinarios. Esta población se componía de 13 individuos sanos y 35 afectados. Posteriormente, tras la aplicación de las guías de referencia para la interpretación de variantes, se llevó a cabo un análisis exhaustivo de las variantes seleccionadas como posiblemente patogénicas en una población ampliada de 134 gatos (58 controles y 76 gatos con MCH), mediante secuenciación Sanger. Finalmente, se integraron tanto los resultados propios como los provenientes de estudios relevantes asociados a las variantes descritas en la literatura como patogénicas. Este enfoque permitió explorar y analizar el conjunto de datos con un número más representativo e informativo, potenciando así la exhaustividad y relevancia de los resultados obtenidos.

Los resultados revelaron la existencia de un mayor número de variantes en comparación con las registradas en las bases de datos, evidenciando la baja representación de la variabilidad genética en gatos. Al segmentar los datos según el fenotipo, se destacó que el grupo afectado no solo presentaba un mayor número de variantes totales en comparación con el grupo control, sino que también exhibía una mayor frecuencia de variantes en homocigosis.

Se identificaron 24 variantes candidatas con baja frecuencia potencialmente asociadas a MCH. Tras analizar la frecuencia alélica de estas variantes en una población total de 134 individuos, se seleccionaron 10 variantes como potencialmente patogénicas. Es relevante destacar que la mayoría de estas variantes se manifestaron en genes desmosómicos. En función de estos datos, el rendimiento diagnóstico del panel desarrollado alcanzó un 57%. Adicionalmente, se observaron ciertas afinidades en varias variantes en la raza Sphynx, las cuales no habían sido previamente descritas.

En relación a las variantes clásicamente asociadas a la MCH, la revisión sistemática de la literatura permitió examinar un mayor número de casos. La combinación de estos resultados con los obtenidos en este estudio cuestiona algunas clasificaciones previas, sugiriendo que podrían ser modificadas por no tener criterios suficientes para ser catalogadas como patogénicas.

ABSTRACT

Hypertrophic Cardiomyopathy (HCM) is a hereditary disease characterized by an increase in ventricular wall thickness and subsequent stiffness of the cardiac muscle, leading to a reduction in the volume of cardiac chambers. This phenomenon triggers a series of clinical symptoms, such as dyspnea, tachycardia, chest pain, syncope, and heart failure. In the human population, HCM stands out as the most prevalent hereditary cardiovascular disease, affecting 0.2% of the population with a slight inclination towards the male gender, usually detected in adulthood.

While HCM manifests in other species, induced or naturally, felines, particularly cats, stand out by expressing the disease naturally with a significant frequency of 14.7%. Cats exhibit a phenotype development similar to humans, albeit with a more accelerated progression due to their shorter lifespan. The diagnosis and treatment of the disease in cats follow similar guidelines, adapted to the species' peculiarities and the inability of felines to communicate their symptoms.

The disease, both in humans and cats, is characterized by heterogeneous expression with incomplete penetrance, predominantly associated with dominant inheritance, although minority cases exhibit other inheritance patterns. Despite these similarities, the genetic understanding of HCM in cats is less developed compared to humans. While over 1,500 mutations affecting sarcomere genes (mainly in *MYH7* and *MYBPC3* genes), Z-disc genes, and those related to calcium signaling are known in the human population, only 5 possibly pathogenic variants in *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, and *ALMS1* genes have been identified in cats. Two of these variants, p.Ar820Trp in *MYBPC3* y p.Glu1883Lys in *MYH7*, are shared by cats and humans.

However, these variants alone do not explain the high incidence of observed cases in cats with HCM, emphasizing the need to integrate additional data to find new causes and validate the pathogenicity of the described variants.

The close phenotypic and genotypic similarity between cats and humans with HCM positions felines as an exceptional model for the pathophysiological investigation of this pathology, directing towards future advancements in understanding the underlying genetics in this species. Hence, this work proposes a comprehensive examination of the genetics associated with HCM in cats with the dual purpose of improving the diagnosis of this condition in felines and using these findings as a platform for the study and understanding of the disease in the human population.

The methodology employed in this study involved the establishment of a custom panel of 27 genes linked to cardiopathies, subjected to sequencing using next-generation sequencing (NGS) technology. Initially, a heterogeneous

population of 48 cats clinically evaluated by veterinary experts was formed, consisting of 13 healthy individuals and 35 affected ones. Subsequently, after applying reference guidelines for variant interpretation, a thorough analysis of variants selected as possibly pathogenic was conducted in an expanded population of 134 cats (58 controls and 76 cats with HCM) through Sanger-directed sequencing. Finally, both self-generated results and those from relevant studies associated with variants described as pathogenic in the literature were integrated. This approach allowed exploration and analysis of the dataset with a more representative and informative number, thereby enhancing the comprehensiveness and relevance of the obtained results.

The results revealed a higher number of variants compared to those recorded in databases, indicating the low representation of genetic variability in cats. When data were segmented based on phenotype, it was highlighted that the affected group not only presented a higher total number of variants compared to the control group but also exhibited a higher frequency of variants in homozygosity.

In terms of identifying unusual variants with pathogenicity criteria, 24 candidate variants were identified, and after analyzing the allelic frequency of carriers of these variants in a total population of 134 individuals, 10 variants considered potentially pathogenic were selected. It is noteworthy that most of these variants manifested in desmosomal genes. Based on these data, the diagnostic performance of the developed panel reached 57%. Additionally, certain affinities were observed in various variants in the Sphynx breed, which had not been previously described.

Regarding variants classically associated with HCM, a systematic literature review allowed the examination of a larger number of cases. The combination of these results with those obtained in this study questions some previous classifications, suggesting that they could be modified due to insufficient criteria to be categorized as pathogenic.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a todas aquellas personas que han contribuido a la realización de esta tesis doctoral.

En primer lugar, deseo agradecer a mis directores de tesis. A Juan Ramón Gimeno, cuya pasión por la investigación y entusiasmo en la vida son contagiosos. Gracias por transmitirme algunos de tus conocimientos y por integrarme en un grupo de investigación excepcional, no solo a nivel intelectual, sino también a nivel personal. A María Sabater, por su implicación, valentía y habilidad para llevar múltiples tareas a la vez. Gracias por brindarme la oportunidad de investigar en el laboratorio y por enseñarme tanto.

También quiero mostrar mi agradecimiento a mis compañeros del laboratorio, en especial a Eli, una compañera polifacética, siempre dispuesta a ayudar. Capaz de llevar para delante el laboratorio prácticamente ella sola, pero sin duda, su mayor cualidad es su maestría para organizar comidas después del trabajo, ¡es inigualable! A Inma, por enseñarme los primeros pasos en el laboratorio y por darme consejos que han sido de gran utilidad, ya que esas primeras PCRs siempre dejan huella.

Por supuesto, este trabajo no hubiese sido posible sin la colaboración e implicación de María José Fernández del Palacio y Patricia Sebastián, quienes han impulsado esta investigación con sus conocimientos y experiencia en la cardiología veterinaria. Agradezco su esfuerzo, dedicación y continua colaboración con el grupo de Cardiogenética.

No puedo dejar de mencionar a mis compañeros de la parte más clínica, Mari Carmen y David, así como a Juan Pedro. Su colaboración fue fundamental para mi desarrollo de estos años en el laboratorio, también desde un punto de vista más humano y en situaciones más distendidas, como los aperitivos medio improvisados.

También quiero agradecer a mis compañeros de trabajo del ACTI, quienes me han brindado su apoyo, comprensión y animado a terminar la tesis. Nadie mejor que ellos saben lo estresante que es este proceso.

A mis amigas de toda la vida, pese a la distancia y que los caminos se separen siguen estando ahí, y han aguantado mi ausencia en muchas ocasiones por estar dedicando ese tiempo a la tesis.

Por último, pero no por ello menos importante, mi gratitud se extiende también a mi familia, quienes son los responsables de que haya podido concluir esta tesis. Sin su apoyo incondicional, nada de esto hubiera sido posible. En especial, quiero agradecer a mis padres, Marcial y Amparo, mi sustento en todo momento. A mi hermana Nuria, mi apoyo incondicional, quien siempre ha estado ahí para escuchar mis quejas y darme consejos, ánimos,,,. A Jesús, mi

compañero de vida, por su paciencia para aguantarme en los peores momentos de estrés, irritabilidad y desánimo. También agradezco a su familia, quienes se han visto afectados de manera colateral durante un largo periodo de tiempo y me han tratado con mucho cariño y empatía.

Gracias a todos.

Índice

INTRODUCCIÓN	1
1. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA	4
1.1 Definición y fisiopatología.....	4
1.2 Epidemiología.....	8
1.3 Diagnóstico y manejo clínico	9
1.4 Genética de la miocardiopatía hipertrófica familiar	11
1.5 Secuenciación de alto rendimiento como herramienta de futuro	17
2. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA EN ANIMALES.....	19
2.1 Animales con miocardiopatía hipertrófica.....	19
2.1.1 Gatos	19
2.1.2 Perros	20
2.1.3 Roedores.....	20
2.1.4 Vacas, camellos y monos.....	21
2.1.5 Cerdos.....	22
2.2 Modelos animales inducidos con miocardiopatía hipertrófica	22
2.2.1 Cerdos.....	23
2.2.2 Roedores	24
2.2.3 Lagomorfos.....	24
2.2.4 Insectos y peces	25
3. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA EN GATOS	27
3.1 Generalidades, prevalencia e historia natural	27
3.2 Diagnóstico y manejo clínico	29
3.3 Prevalencia.....	32
3.4 Genética en la miocardiopatía hipertrófica felina	34
3.4.1 Gen MYBPC3.....	34
3.4.2 Gen MYH7	37
3.4.3 Gen <i>TNNT2</i>	38
3.4.4 Gen <i>ALMS1</i>	39
3.4.5 Estudios con resultados negativos	39
3.5 Tratamiento y nuevos fármacos	41
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	43
Justificación	45

Objetivos.....	46
MÉTODOS.....	47
1. Selección de casos y muestra de partida.....	49
2. Extracción de ADN genómico y cuantificación	49
3. Estudio genético a través de Next Generation Sequencing (NGS)	50
3.1 Estrategia de diseño.....	50
3.2 Calidad del ADN de las bibliotecas	51
3.3 Preparación de las bibliotecas	52
3.4 Análisis de variantes.....	55
3.5 Análisis y selección de variantes.....	58
3.6 Cálculo de variantes en homocigosis	58
4. Secuenciación Sanger	58
4.1 Diseño de cebadores.....	59
4.2 Amplificación de ADN, comprobación y purificación	60
4.3 Reacción de secuenciación y purificación. Análisis de secuencias.....	61
5. Determinación de la patogenicidad de las variantes	61
6. Revisión sistemática y metaanálisis.....	62
7. Análisis estadístico	63
RESULTADOS	66
1. Características generales de la cohorte de gatos.....	68
2. Datos generales de la secuenciación.....	70
2.1 Calidad de las lecturas.....	70
2.2 Estudio de la variación genética en los genes asociados a cardiopatías	72
3. Variantes potencialmente patogénicas seleccionadas a partir de la secuenciación masiva.....	78
4. Estudio de patogenicidad y clasificación de las variantes seleccionadas	80
4.1 Variantes en genes que codifican proteínas del filamento delgado del sarcómero	82
4.2 Variantes en genes que codifican proteínas del filamento delgado del sarcómero	87
4.3 Variantes en genes que codifican proteínas del citoesqueleto.....	88
4.4 Variantes en genes que codifican proteínas que dan lugar a fenocopias	91
4.5 Variantes en genes que codifican proteínas del desmosoma	92
5. Resultados de la secuenciación Sanger.....	100
5.1 Características generales de la cohorte de gatos completa	100

5.2 Estudio de las frecuencias genotípicas en nuestra población	101
5.3 Variantes en función de la raza.....	114
6. Rendimiento genético.....	116
7. Estudio de la homocigosidad por fenotipo.....	119
8. Estudio de las variantes publicadas asociadas a MCH felina	123
8.1 Gen <i>MYBPC3</i> : variante p.Ala31Pro	124
8.2 Gen <i>MYBPC3</i> : variante p.Arg820Trp	126
8.3 Gen <i>MYH7</i> : variante p.Glu1883Lys	127
8.4 Gen <i>TNNT2</i> : variante c.50-108G>A.....	128
8.5 Gen <i>ALMS1</i> : variante p.Gly3367Arg.....	129
DISCUSIÓN.....	132
OBJETIVO 1. Secuenciación masiva en gatos usando un panel de genes: Explorando la variabilidad genética felina.	134
OBJETIVO 2. Identificación de variantes nuevas en la miocardiopatía hipertrófica felina	136
OBJETIVO 3. Rendimiento genético en miocardiopatía hipertrofica felina	142
OBJETIVO 4. Homocigosidad en gatos	146
OBJETIVO 5. Análisis de variantes previamente descritas en la literatura	148
CONCLUSIONES	152
BIBLIOGRAFIA.....	156

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Principales genes relacionados con miocardiopatía hipertrófica.....	14
Tabla 2. Fenocopias de la miocardiopatía hipertrófica y sus genes relacionados.	15
Tabla 3. Presentación de casos de miocardiopatía hipertrófica de forma natural en diferentes especies.	19
Tabla 4. Modelos inducidos de miocardiopatía hipertrófica en diferentes especies.	23
Tabla 5. Prevalencia de la miocardiopatía hipertrófica en gatos en diferentes estudios.....	33
Tabla 6. Variantes descritas en gatos como causantes de miocardiopatía hipertrófica felina, y las razas donde se encuentra en exclusividad.....	34
Tabla 7. Genes seleccionados en el panel.....	51
Tabla 8. Reactivos para amplificación de adaptadores.....	53
Tabla 9. Reactivos para amplificación post hibridación.....	54
Tabla 10. Cebadores diseñados para la secuenciación Sanger y sus condiciones.	59
Tabla 11. Características de la cohorte de individuos seleccionados para la realización de la secuenciación masiva.	69
Tabla 12. Características de los individuos fallecidos.	69
Tabla 13. Variantes exónicas o de splicing reportadas en genes asociados a miocardiopatías en la base de datos y en nuestra cohorte.	74
Tabla 14. Variantes candidatas seleccionadas el análisis de los resultados de la secuenciación masiva.	79
Tabla 15. Clasificación de las variantes seleccionadas en gatos con miocardiopatía hipertrófica, y su homóloga en humanos.	81
Tabla 16. Características de la cohorte total de gatos.	100
Tabla 17. Frecuencia genotípica de las variantes seleccionadas.....	101
Tabla 18. Tabla equilibrio de Hardy-Weinberg.	112
Tabla 19. Frecuencia alélica menor de las variantes estudiadas en las diferentes razas.	115
Tabla 20. Portadores afectados de variantes seleccionadas a través del estudio de secuenciación masiva.	118
Tabla 21. Comparación de las frecuencias genotípicas de las variantes descritas en los estudios publicados y en nuestra cohorte de gatos.....	123
Tabla 22. Comparativa del rendimiento genético en diferentes estudios en población felina con miocardiopatía hipertrófica.....	144
Tabla 23. Listado de gatos seleccionados para la secuenciación masiva del panel de genes	176
Tabla 24. Número variantes identificadas en cada individuo en el análisis a través de NGS.	177
Tabla 25. Selección de gatos para ampliar el estudio usando secuenciación Sanger.....	178
Tabla 26. Variantes en MYBPC3 y en MYH7 no seleccionadas y su aparición en la población genotipada por NGS.	180
Tabla 27. Variantes en homocigosis de los gatos evaluados por secuenciación masiva..	188
Tabla 28. Criterios para la clasificación habitual de las variantes genómicas según su patogenicidad siguiendo las guías de interpretación de variantes.....	189

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de las miocardiopatías familiares según la Sociedad Europea de Cardiología.....	3
Figura 2. Estructura del sarcómero. Esquema realizado con BioRender.	5
Figura 3. Ciclo de interacción actina-miosina durante la contracción del músculo cardíaco. r.....	6
Figura 4. Representación esquemática de los principales patrones de hipertrofia. A) Corazón normal; B) MCH septal asimétrico con obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo; C) MCH septal asimétrico sin SAM; D) MCH apical; E) MCH concéntrica (simétrica).....	7
Figura 5. Vista macroscópica de un corazón humano con MCH. Figura de Ommen & Semsarian, 2021.	7
Figura 6. Localización y frecuencia de los genes causantes de miocardiopatía hipertrófica. Imagen de Maron & Maron, 2013.....	13
Figura 7. Clasificación de la patología de las variantes. En la base de la pirámide se encuentran las variantes comunes y toleradas, que representan la mayoría de las variantes de un individuo. En la punta de la pirámide se encuentran las variantes más graves y menos frecuentes, que han acumulado criterios de patogenicidad.	17
Figura 8. Estadios de la miocardiopatía felina de menor a mayor gravedad según la sintomatología del animal.	29
Figura 9. Pruebas recomendadas para el diagnóstico diferencial de la MCH en gatos.	30
Figura 10. Vista macroscópica de un corazón de gato con MCH. Figura de Kittleson et al, 2015..	32
Figura 11. Árbol filogenético que muestra las razas de gatos de Europa Occidental predispuestas a padecer MCH. Figura adaptada de Lipinski et al., 2008.....	33
Figura 12. Distribución de los polimorfismos encontrados en la población de estudio de 14 gatos con MCH según el gen.	40
Figura 13. Extractor automático Maxwel 16 System para la extracción de ácidos nucleicos (izquierda). Espectrofotómetro NanoPhotometer N60 (centro). Quantus Fluorometer y reactivos para la cuantificación del ADN (derecha).....	50
Figura 14. Protocolo SureSelect QXT de Agilent Technologies para la preparación de bibliotecas de secuenciación.....	52
Figura 15. Fases del análisis bioinformático de los resultados obtenidos en la secuenciación masiva.....	56
Figura 16. Mapeo ficticio de una zona del genoma.	57
Figura 17. Diagrama de flujo para el proceso de selección de cohortes para el metaanálisis de la variante p.Ala31Pro en MYBPC3.....	63
Figura 18. Datos sobre la calidad de las lecturas obtenidas mediante secuenciación masiva. A) Calidad de las lecturas según su posición. B) Distribución del tamaño de las lecturas. C) Porcentaje de bases no identificadas y añadidas como “n” a lo largo de la lectura. D) Porcentaje del contenido GC según la muestra. E) Recuento del número de lecturas por muestra, diferenciando lecturas “Forward” y “Reverse”.....	71
Figura 19. Representación de la profundidad de cobertura en los genes secuenciados.	72
Figura 20. Distribución del porcentaje de variantes diferentes que aparecen en cada gen en los controles y los afectados de MCH.....	75
Figura 21. Distribución y frecuencia del tipo de variantes genéticas en individuos afectados en comparación con individuos controles.	76

Figura 22. Comparación de la frecuencia de variantes genéticas entre el grupo afectado y el grupo control, destacando genes con diferencias significativas en el número de variantes con respecto al tamaño del gen. * $p < 0,05$	77
Figura 23. Distribución de la variante c.1921+4A>C en función de la edad de los portadores individuales.	103
Figura 24. Representación de portadores individuales de la variante c.1921+4A>C clasificados por su raza.....	103
Figura 25. Distribución de la variante c.-12C>T en función de la edad de los portadores individuales.	104
Figura 26. Representación de portadores individuales de la variante c.-12C>T clasificados por su raza.	104
Figura 27. Distribución de la variante p.Arg196His en función de la edad de los portadores individuales.	105
Figura 28. Representación de portadores individuales de la variante p.Arg196His clasificados por su raza.....	106
Figura 29. Distribución de la variante p.Ala1442Thr en función de la edad de los portadores individuales.	106
Figura 30. Representación de portadores individuales de la variante p.Ala1442Thr clasificados por su raza.....	107
Figura 31. Distribución de la variante p.Ser1457Asn en función de la edad de los portadores individuales.	108
Figura 32. Representación de portadores individuales de la variante p,Ser1457Asn clasificados por su raza.....	108
Figura 33. Distribución de la variante p.Arg1489Pro en función de la edad de los portadores individuales.	109
Figura 34. Representación de portadores individuales de la variante p.Arg1489Pro clasificados por su raza.....	110
Figura 35. Distribución de la variante p.Ile1447Thr en función de la edad de los portadores individuales.	110
Figura 36. Representación de portadores individuales de la variante p.Ile1447Thr clasificados por su raza.....	111
Figura 37. Distribución de la variante p.Glu2635Asp en función de la edad de los portadores individuales.	113
Figura 38. Representación de portadores individuales de la variante p.Glu2635Asp clasificados por su raza.....	113
Figura 39. Rendimiento genético de nuestra estrategia de secuenciación masiva dirigida a un panel de genes y distribución de los positivos según el número de variantes portadoras.	116
Figura 40. Diagrama de Venn de los individuos portadores de variantes en los distintos genes potencialmente patogénicos.....	117
Figura 41. Distribución de la cantidad de portadores de las variantes probablemente patogénicas en los individuos con diagnóstico genético positivo.....	117
Figura 42. Representación de la cantidad total de variantes genéticas en estado homocigoto, diferenciando entre el grupo de gatos de control y el grupo de gatos afectados.	119
Figura 43. Comparación de la frecuencia de variantes genéticas en homocigosis entre el grupo afectado y el grupo control, destacando genes con diferencias significativas en el número de variantes homocigotas con respecto al tamaño del gen. * $p < 0,05$	120

Figura 44. Distribución de las variantes homocigotas que están presentes solo en afectados en los genes que muestran diferencias en la frecuencia de variantes homocigotas en los individuos afectados con respecto a los controles.....	121
Figura 45. Grado de homocigosidad por gato ordenados según la raza, teniendo en cuenta las variantes totales en homocigosis con respecto a las bases leídas en cada muestra individualmente.....	122
Figura 46. Portadores de la variante p.Ala31Pro en MYBPC3 según su fenotipo en 7.051 gatos Maine Coon. NC	
NC: no conocido.....	125
Figura 47. Meta-análisis de los estudios con portadores de la variante p.Ala31Pro en MYBPC3. OR OR:	
odd ratio; IC95%: intervalo de confianza.....	126
Figura 48. Portadores de la variante p.Arg820Trp en según su fenotipo en 486 gatos de la raza Ragdoll. NC NC:	
no conocido.....	127
Figura 49. Portadores de la variante c.50-108G>A en TNNT2 según su fenotipo en 223 gatos, diferenciados según nuestra cohorte de gatos analizada y los datos publicados. ..	129
Figura 50. Portadores de la variante p.Gly3367Arg en ALMS1 según su fenotipo en 631 gatos, diferenciados según nuestra cohorte de gatos analizada y los datos publicados. ..	131
Figura 51. Reinterpretación de variantes descritas en la literatura.	151
Figura 52. Amplitud de cobertura por gen y muestra.	181
Figura 53. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del nucleótido alterado por la variante c.1921A>C.	182
Figura 54. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Ala1334Thr y p.Ala1442Thr.	183
Figura 55. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Leu42Val.	183
Figura 56. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de la base alterada en la variante c.50-108G>A.	184
Figura 57. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de la base y el aminoácido alterado en las variantes c.-12C>T y p.Glu274Lys.	184
Figura 58. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Ile1447Thr, p.Ser1457Asn y p.Arg1489Pro.....	185
Figura 59. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Ala80Pro.....	185
Figura 60. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Ser1255Ala.	186
Figura 61. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Asn944Ser, p.Arg1401Gly y p.Glu2635Asp.....	186
Figura 62. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Arg539Cys.	187
Figura 63. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Ala41Val, p.Arg196His y p.Pro622Leu.	187

ABREVIATURAS

A: Adenina

aa: Aminoácido

ACMG: Colegio Americano de Genética Médica y Genómica

ACTC1: Actina

ACVIM: Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria

AD: Autosómica dominante

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADP: Adenosín difosfato

AI: Aurícula izquierda

AMP: Asociación de Patología Molecular

AR: Autosómica recesiva

ARN: Ácido ribonucleico

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

ATP: Adenosín trifosfato

C: Citosina

DAI: Desfibrilador automático implantable

DE: Desviación estándar

DES: Desmina

dNTPs: Desoxirribonucleótidos trifosfato

DSG2: Desmogleína

DSP: Desmoplaquina

ECG: Electrocardiograma

ExAC: Exome Aggregation Consortium database

FE: Fracción de eyección

FHOD3: Dominio 2 de la homología de formina que contiene el gen 3

G: Guanina

HTA: Hipertensión arterial

IC: Insuficiencia cardíaca

IC95%: intervalo de confianza al 95%

ICC: Insuficiencia cardíaca congestiva

IGV: Integrative Genome Viewer

JUP: Placoglobina

MAF: Frecuencia de alelo menor

MCA: Miocardiopatía arritmogénica

MCD: Miocardiopatía dilatada

MCH: Miocardiopatía hipertrófica

MCR: Miocardiopatía restrictiva

mm: milímetro

mM: milimolar

MSC: Muerte súbita cardíaca

MYBPC3: Proteína C de unión a miosina
MYH7: Cadena pesada de la β -miosina cardiaca
MYL2: Cadena ligera reguladora de la miosina
NGS: Secuenciación de nueva generación, Next generation sequencing
nM: Nanomolar
OR: odds ratio
OTSVI: Obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo
Pb: Pares de bases
PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
PKP2: Placofilina
RMN: Resonancia Magnética Nuclear
ROH: Regiones de homocigosidad
SAM: Movimiento sistólico de la válvula mitral
T: Timina
TBE: Tromboembolismo
TNNCI: Troponina C cardiaca
TNNI3: Troponina I cardiaca
TNNT2: Troponina T cardiaca
TPM1: α -Tropomiosina
TSVI: Tracto de salida del ventrículo izquierdo
TTR: Transtirretina
TV: Taquicardia ventricular
TVNS: Taquicardia ventricular no sostenida
UTR: regiones no traducidas
VI: Ventrículo izquierdo
VUS: Variante de significado incierto
WPW: Wolff Parkinson White
WT: Wild type
 μ l: Microlitro

INTRODUCCIÓN

Las miocardiopatías son un grupo heterogéneo de trastornos del músculo cardíaco que producen una alteración en la estructura y/o la función del miocardio en ausencia de cardiopatía isquémica o condiciones anormales de carga (Jacoby & McKenna, 2012).

La manera más habitual de clasificar estas miocardiopatías es mediante la evaluación clínica del sujeto. Clásicamente, se han definido cuatro tipos de miocardiopatías según sean hipertróficas, dilatadas, arritmogénicas o restrictivas (Figura 1). Un quinto grupo reúne aquellas miocardiopatías que no pueden ser clasificadas en ninguno de los anteriores, en el que se encuentra la miocardiopatía no compactada, que se caracteriza por la trabeculación del músculo del ventrículo izquierdo (Singh & Patel, 2022). En la práctica, los límites de la clasificación son difusos y es común encontrar solapamientos entre los diferentes fenotipos. Por ejemplo, la miocardiopatía hipertrófica (MCH) puede darse junto a la miocardiopatía restrictiva en estadios avanzados de la enfermedad (Burke et al., 2016; Jacoby & McKenna, 2012).

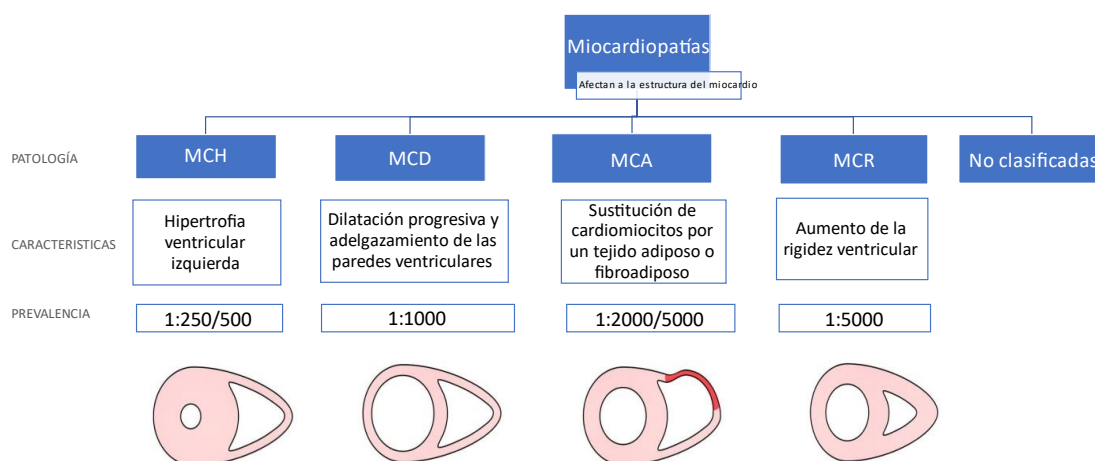


Figura 1. Clasificación de las miocardiopatías familiares según la Sociedad Europea de Cardiología. MCH: Miocardiopatía hipertrófica; MCD: Miocardiopatía dilatada; MCA: Miocardiopatía arritmogénica; MCR: Miocardiopatía restrictiva. Figuras de Davies M. Heart 2000;83:469-474.

Las miocardiopatías pueden tener un componente familiar si más de un miembro de la familia presenta el mismo trastorno o cualquier otra enfermedad que pueda ser causada por la misma mutación genética. Existe, por tanto, la posibilidad de transmitirse a la descendencia. Por otro lado, las miocardiopatías no familiares afectan solo al paciente índice, cuando el estudio clínico y genealógico de los demás miembros de la familia haya descartado cualquier causa familiar.

La prevalencia de estas enfermedades en la población es variable y en ocasiones subestimada si no existe un protocolo de detección y seguimiento especializado. Factores como la edad, sexo y la raza son determinantes para su

correcto diagnóstico. Los últimos estudios, estiman que la prevalencia en las miocardiopatías más comunes en población adulta sería 1:250/500 para la MCH, 1:1000 para la miocardiopatía dilatada (MCD) y 1:2000/5000 para la miocardiopatía arritmogénica (MCA) (McKenna et al., 2017) (Figura 1).

Las miocardiopatías están asociadas a muerte súbita cardíaca (MSC) y pueden afectar también a población joven y aparentemente sana (Maron, 2010). En ocasiones, la MSC es el primer síntoma de la enfermedad (Rizzo et al., 2019), lo cual causa un gran impacto en la familia, que no solo tiene que afrontar la pérdida de un ser querido, sino asumir el diagnóstico de una enfermedad no planteada. Tanto la detección precoz, antes de que suceda el evento, como el estudio *post mortem* en los casos de fallecimiento, son fundamentales para el caso principal y para su familia. La evaluación en cascada de los familiares puede detectar afectados asintomáticos y determinar la modificación del estilo de vida, así como evitar ciertas competiciones deportivas o incluso recomendar la implantación de dispositivos cardíacos de prevención.

1. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA

1.1 Definición y fisiopatología

La descripción moderna de MCH fue realizada por el patólogo Donald Teare en 1958 como “una hipertrofia en el grosor de la pared del ventrículo izquierdo (VI) en la ausencia de otra causa identificable” (Teare, 1958). Esta causa identificable alude a la falta de cualquier otra enfermedad del corazón o sistémica que favorezca la hipertrofia del miocardio (Ramírez & Padrón, 2004) como la hipertensión arterial (HTA), la enfermedad de las arterias coronarias, la enfermedad valvular, una respuesta fisiológica a causa del entrenamiento de resistencia en deportistas de élite o, a alguna cardiopatía congénita suficiente para causar la anormalidad miocárdica observada. El músculo cardíaco se vuelve rígido y pierde elasticidad, mientras que su engrosamiento disminuye el volumen de las cavidades cardíacas dificultando el bombeo de la sangre en el corazón. Esto puede causar una disfunción mecánica diastólica, la isquemia cardíaca y el desarrollo de arritmias (Basit et al., 2022; Rochelson et al., 2018). La obstrucción hemodinámica del tracto de salida del ventrículo izquierdo (OTSVI) debido al engrosamiento del tabique anterior basal, puede provocar una diferencia de presión que atrae a la válvula mitral hacia el tabique interventricular dejando esta válvula abierta. La regurgitación mitral resultante dificulta, aún más, la salida de la sangre del corazón hacia la aorta. Este fenómeno, denominado SAM por sus siglas en inglés, “*Systolic Anterior Motion*”, está presente en un tercio de los afectados por MCH y es uno de los principales síntomas a tratar (Jacoby & McKenna, 2012; Veselka et al., 2017). Esta obstrucción está

relacionada no solo con el espesor del septo cardíaco, también con las dimensiones del tracto de salida del VI (TSVI) y con la anatomía de la válvula mitral y los músculos papilares (Kwon et al., 2008; Sherrid et al., 2016).

La unidad estructural y contráctil del músculo cardíaco es el sarcómero (Figura 2). Se trata de un complejo multiproteico alineado longitudinalmente que confiere el aspecto estriado característico de los cardiomiocitos y las células del músculo esquelético. La generación de fuerza ocurre mediante el deslizamiento coordinado de los filamentos gruesos y delgados entre sí, mediado por los puentes cruzados, mientras que la proteína titina contribuye a la tensión pasiva (Crocini & Gotthardt, 2021). Los filamentos delgados están compuestos por una doble cadena de actina, y entre cada par de filamentos delgados se ubica un filamento grueso conformado por miosina, del cual emergen las cabezas globulares de la cadena pesada de miosina. Estas cabezas son las encargadas de interactuar con la doble cadena de actina. Además de estas cabezas, se unen cadenas ligeras esenciales y reguladoras de miosina, las cuales desempeñan un papel crucial en la modulación de la contracción y la cinética de los puentes cruzados. La tropomiosina se encuentra adyacente al filamento delgado y oculta los sitios de unión de la miosina con la actina. En conjunto con la troponina C, la troponina cardíaca I y la troponina T cardíaca, conforma un sistema regulador sensible al calcio (Ca^{+2}), que controla las interacciones entre actina y miosina, en coordinación con la proteína C fijadora de miosina cardíaca (Stafford et al., 2021).

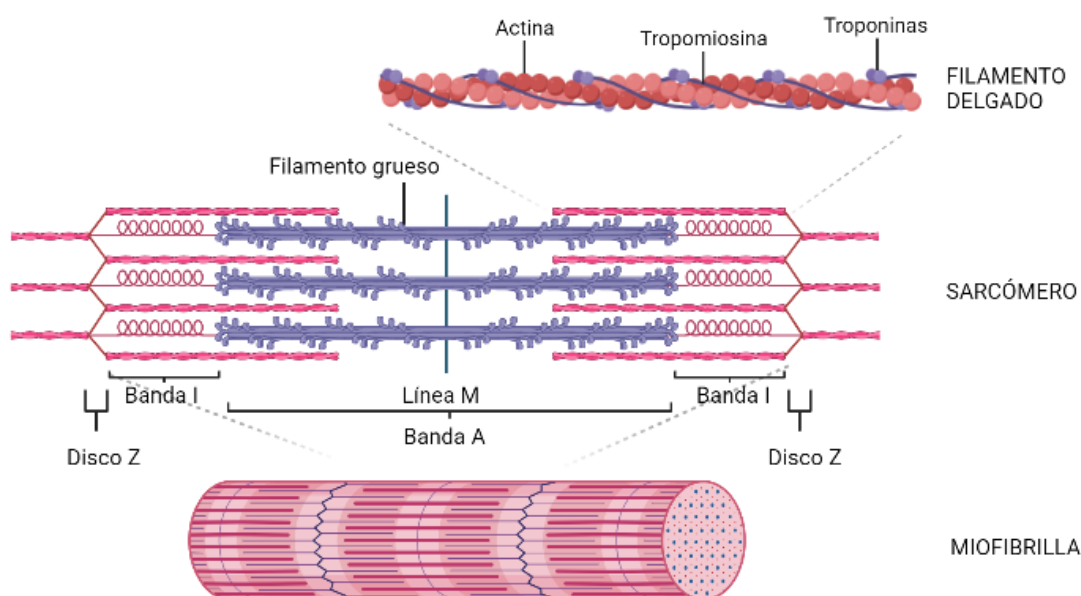


Figura 2. Estructura del sarcómero. Esquema realizado con BioRender.

Durante la contracción del músculo cardíaco, suceden varias acciones a nivel celular. Al inicio de este proceso, la despolarización del cardiomiocito activa

los canales de Ca^{+2} dependientes de voltaje en la membrana, lo que desencadena una afluencia de iones de Ca^{+2} que se unen a la troponina C. Esta unión induce cambios conformacionales en las troponinas cardíacas I y T, lo cual provoca que la tropomiosina descubra los sitios de unión a la miosina en el filamento delgado de actina. Las cabezas globulares de la cadena pesada de miosina se unen a la actina formando puentes cruzados, liberando ADP y el fosfato inorgánico, lo que genera un "golpe de fuerza" y desencadena el deslizamiento de los filamentos, provocando la contracción muscular. Cuando el ATP se une a las cabezas de la miosina, estas se separan de la actina. Posteriormente, la hidrólisis del ATP da lugar nuevamente a la formación de ADP y fosfato inorgánico, lo que permite repetir el ciclo de contracción muscular (Jacoby & McKenna, 2012; Stafford et al., 2021) (Figura 3).

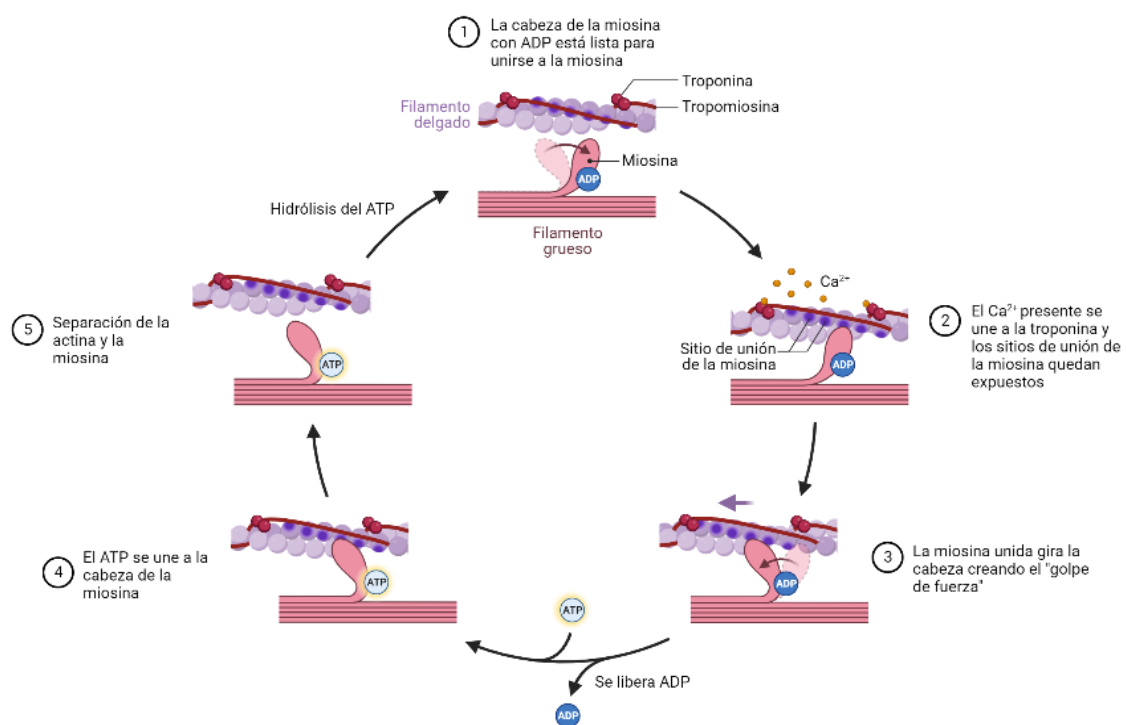


Figura 3. Ciclo de interacción actina-miosina durante la contracción del músculo cardíaco. Esquema realizado con BioRender.

En cuanto a las características anatomopatológicas, a nivel macroscópico es común apreciar determinadas zonas donde el músculo de la pared del corazón se encuentra engrosado. Puede existir zonas de fibrosis debido al reemplazo de cardiomiocitos exhaustos que mueren y son sustituidos por tejido fibroso no funcional para transmitir la corriente eléctrica, lo que dificulta la contracción del músculo. Estas zonas tienen un aspecto pálido y rígido. La morfología de la pared del corazón con hipertrofia puede ser asimétrica o concéntrica en función de si el engrosamiento se distribuye de forma uniforme (Marian & Braunwald, 2017). La hipertrofia asimétrica es la forma más común, afecta en mayor medida al tabique, aunque también puede incidir en otras

regiones del miocardio, tales como el ápice, la sección media o la pared posterior del ventrículo (Figura 4). Las fases terminales de la enfermedad implican insuficiencia cardíaca (IC) y dilatación ventrículo-auricular, con adelgazamiento de la pared y cicatrización (Pasipoularides, 2018).

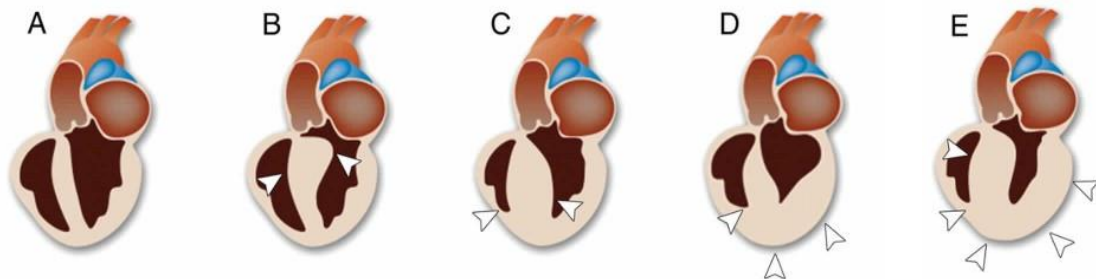


Figura 4. Representación esquemática de los principales patrones de hipertrofia. A) Corazón normal; B) MCH septal asimétrico con obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo; C) MCH septal asimétrico sin SAM; D) MCH apical; E) MCH concéntrica (simétrica). Fuente: <https://healthjade.net/asymmetric-septal-hypertrophy/>

A nivel microscópico, la MCH está caracterizada por la disposición espacial desordenada de los miocitos, también llamado “disarray”. Estos miocitos agrandados y con el núcleo distorsionado se entremezclan con miocitos intactos, lo cual hace que las fibras musculares pierdan su habitual organización paralela regular (Figura 5). De nuevo, la existencia de zonas con acumulación de tejido conectivo es comúnmente apreciable. Otro rasgo histológico propio de la enfermedad son las lesiones de pequeños vasos (Marian & Braunwald, 2017).

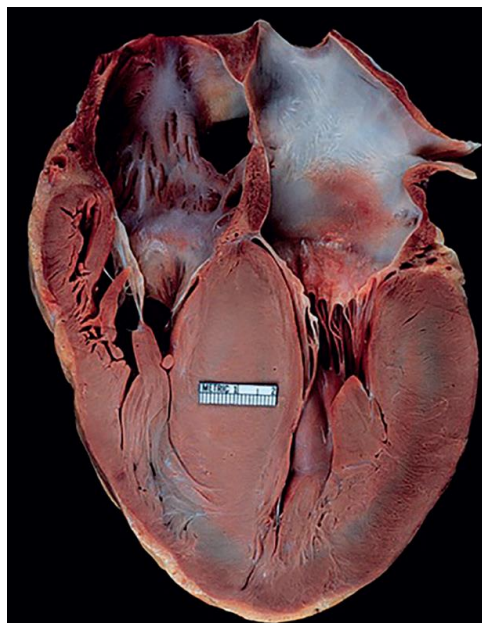


Figura 5. Vista macroscópica de un corazón humano con MCH. Figura de Ommen & Semsarian, 2021.

1.2 Epidemiología

La MCH es la enfermedad cardiovascular hereditaria más común (Maron et al., 2012) que afecta a diferentes razas y a ambos sexos, con una pequeña predisposición en los hombres tanto en número de casos, como en una edad de aparición más temprana (Veselka et al., 2017). Se trata de una patología asociada a la edad, su expresión suele aparecer pasada la adolescencia y se hace evidente en edad adulta, durante la década de los 30 o 40 años. Esto no descarta casos ocasionales en la infancia o incluso descritos durante la evaluación prenatal (Lee et al., 2017). La prevalencia de esta enfermedad se estima en al menos una persona afectada por cada 500 individuos (1:500) en la población general adulta, lo que representaría aproximadamente 95.000 casos en España. No obstante, algunos estudios sugieren una subestimación y elevan esta proporción a 1:250 al considerar a los portadores genéticos (McKenna et al., 2017). Un análisis de la prevalencia en la población trabajadora española, utilizando pruebas diagnósticas accesibles como el electrocardiograma (ECG) y la ecocardiografía, reveló que aproximadamente el 0,2% de esta población padece de MCH (Rodríguez-Capitán et al., 2021). Los casos detectados en niños son poco comunes, con una incidencia de entre 0,3 y 0,5 afectados por cada 100.000 individuos a nivel mundial (Authors/Task Force members et al., 2014).

Aunque lo más habitual es un curso clínico relativamente benigno, la MCH es una de las causas más comunes de MSC en niños y adultos jóvenes (menores de 30 años). Algunos estudios señalan que este riesgo disminuye significativamente con la edad (Maron & Maron, 2013), aunque no hay evidencias suficientes que lo corroboren (Y. Hong et al., 2022). Entre los factores de riesgo de MSC se incluyen la presencia de taquicardia ventricular no sostenida (TVNS), episodios de síncope, una respuesta anormal de la presión arterial durante el ejercicio, antecedentes familiares de MSC y un elevado grosor de la pared del ventrículo izquierdo (Elliott et al., 2000).

Se considera una enfermedad con herencia dominante (Richard et al., 2003), lo que significa que los hijos tienen un 50% de probabilidad de heredar la variante causante si está presente en uno de los 22 pares de cromosomas no sexuales de los padres. Cuando la variante está en uno de los cromosomas sexuales, se denomina ligada al sexo, y las probabilidades de heredar la mutación dependen del cromosoma sexual transmitido a la descendencia. En algunos casos, la herencia es recesiva, lo que requiere la presencia de dos copias del gen mutado, reduciendo así la probabilidad de tener un hijo afectado al 25% (Friedrich et al., 2012; Marian & Braunwald, 2017). Este tipo de herencia suele observarse en familias con antecedentes de consanguinidad. También pueden ocurrir otros patrones de herencia poco comunes debido a mutaciones *de novo*, cuya mutación se produce en una célula germinal de uno de los progenitores o durante la embriogénesis del cigoto (Cecconi et al., 2016; Parrott et al., 2020).

La MCH familiar se caracteriza por una marcada heterogeneidad fenotípica, incluso dentro de individuos de la misma familia que comparten la misma mutación, debido a la penetrancia incompleta (Semsarian & Semsarian, 2020). Además, la expresión de la enfermedad es altamente variable, puede variar individualmente desde formas muy agresivas a formas inapreciables (Stafford et al., 2021). Los síntomas clínicos de la enfermedad son la disnea, la TV, el dolor de pecho, los síncope y la IC. En general, estos síntomas son más evidentes conforme aumenta la edad del individuo (Veselka et al., 2017). Las condiciones ambientales, los cambios epigenéticos, los factores hormonales y la interacción entre las mutaciones o polimorfismos de uno o varios genes no están completamente estudiados y pueden ser la explicación de la variabilidad en la gravedad de ciertos fenotipos o casos sin causa genética conocida (Cecconi et al., 2016; Marian & Braunwald, 2017).

1.3 Diagnóstico y manejo clínico

El diagnóstico puede darse de forma directa, a partir de síntomas clínicos o tras un resultado anormal en una revisión médica rutinaria; o de forma indirecta, como consecuencia del estudio de un familiar afectado o de una muerte súbita inesperada en la familia.

La MCH se identifica generalmente por técnicas de imagen no invasivas, siendo la más sensible y el *gold standard*, el ecocardiograma. La evaluación inicial de un paciente implica un estudio integral utilizando diferentes pruebas y cuestionarios para definir el perfil del paciente. Tanto la guía americana como la europea sobre el diagnóstico y el manejo de la MCH coinciden en los aspectos más generales. Entre las características principales es necesario conocer si existen antecedentes familiares de alguna enfermedad cardíaca, la evaluación de los síntomas cardíacos y no cardíacos, la presencia de anormalidades en el ECG, la realización de pruebas de laboratorio y/o el uso de varias técnicas de imagen complementarias (Authors/Task Force members et al., 2014).

La ecocardiografía transtorácica bidimensional usa ondas sonoras para reproducir una imagen del corazón que permite ver su forma, su tamaño y su movimiento. La MCH es diagnosticada cuando el grosor de la pared del ventrículo izquierdo es superior a 15 mm o en casos donde el grosor sea ≥ 13 mm (Marian & Braunwald, 2017) junto a otras características propias de la enfermedad (historia familiar, obstrucción dinámica del flujo de salida o patrones anormales del ECG). Siempre es necesario descartar otros síndromes o condiciones que puedan causar una hipertrofia, como la estenosis aórtica, la hipertensión no controlada o las fenocopias. Además, la técnica Doppler permite estimar el gradiente máximo instantáneo con la velocidad máxima del TSVI y caracterizar la magnitud de la regurgitación mitral, lo que evalúa las anomalías de las válvulas aórtica y mitral y de los volúmenes de la aurícula izquierda (AI),

y estima la presión pulmonar sistólica y la función sistólica y diastólica de ambos ventrículos. Con esta técnica es posible caracterizar los mecanismos de OTSVI, el movimiento anterior sistólico de la válvula mitral, así como otros mecanismos de obstrucción del flujo como la obstrucción intraventricular (Maron et al., 2022).

La resonancia magnética nuclear muestra imágenes del corazón con mayor resolución usando ondas de radio y un campo magnético. Es muy útil como prueba complementaria en casos donde la imagen por ecocardiografía da resultados limítrofes. Sirve para visualizar los segmentos cardíacos e identificar patrones de fibrosis que ayudan en la claridad diagnóstica y evaluación del riesgo de MSC, ya que la fibrosis es un sustrato celular para las arritmias cardíacas y la MSC (Ommen & Semsarian, 2021). También es de utilidad para la planificación preoperatoria de una miectomía.

El ECG muestra los ritmos cardíacos, y es un marcador temprano sensible, aunque no específico. La MCH suele mostrar una combinación de anomalías de las ondas ST y T, y ondas Q patológicas (Authors/Task Force members et al., 2014). Su economía y sencillez hace que también sea una técnica ampliamente utilizada. Se puede usar un dispositivo portátil para ECGs (ECG ambulatorio o monitor Holter) que registra la actividad del corazón durante el día cotidiano de una persona. Suele usarse 24 horas o más y puede detectar arritmias fuera del momento de la consulta. La presencia de TVNS asintomática y arritmias supraventriculares paroxísticas es frecuente (Authors/Task Force members et al., 2014).

Otra prueba no invasiva es la prueba de esfuerzo o ergometría, que es útil en la evaluación de la reacción del corazón ante el ejercicio. Para ello se combina la valoración de la capacidad funcional del paciente y la detección de una OTSVI latente (Rowin et al., 2017).

Se recomienda un seguimiento cada 12 meses en adultos, con la reevaluación de la morfología del VI, síntomas de IC, episodios de fibrilación auricular, desarrollo de OTSVI, disminución de la fracción de eyección (FE), o si algún cambio que variara el riesgo de muerte súbita. Las pruebas de ecocardiografía y ECG se repiten cada año, mientras que la monitorización ambulatoria de ECG se puede hacer cada 1-2 años, y la RMN se debe reevaluar cada 3-5 años si es posible (Maron et al., 2022).

Las guías aconsejan la realización de un análisis genético en conjunto con una evaluación de antecedentes hereditarios, que incluya la confección de un árbol genealógico que abarque al menos 3 generaciones. El hallazgo de una mutación patogénica o posiblemente patogénica en un probando afectado o en fallecidos de muerte súbita inexplicada es beneficioso para identificar miembros de la familia portadores que además estén en riesgo de desarrollar MCH. Permite el diagnóstico diferencial de fenocopias y el asesoramiento por un experto sobre el consejo prenatal y de la preconcepción (Maron et al., 2022).

Dado que no se puede revertir la enfermedad, el tratamiento farmacológico en pacientes con MCH se enfoca en aliviar los síntomas y prevenir las complicaciones. El tratamiento en los pacientes asintomáticos consiste en la monitorización y seguimiento regular cardiológico para detectar la aparición de síntomas o algún cambio en la condición cardíaca. Según los factores de riesgo individuales y las características de la MCH, puede ser necesario el uso de medicamentos pese a no presentar sintomatología. En los pacientes con síntomas claros, el tratamiento depende en si tienen OTSVI. Para pacientes con gradientes de reposo o provocados mayores de 50 mm Hg es importante asegurar que el paciente mantiene una ingesta adecuada de líquidos y evitar altas dosis de diuréticos o vasodilatadores puros. Los β -bloqueadores generalmente se utilizan como primera terapia farmacológica. Se sustituyen por verapamilo o diltiazem si son ineficaces o no son bien tolerados. Para pacientes que no tienen una OTSVI significativa, se pueden utilizar β -bloqueadores y bloqueadores de los canales de Ca^{+2} . Las terapias avanzadas en pacientes con obstrucción en los que que no funciona el tratamiento anterior incluyen agregar disopiramida, un potente inótropo negativo, o el alivio de la obstrucción a través del adelgazamiento mecánico del tabique por miectomía septal quirúrgica o ablación septal. Cuando algunos pacientes experimentan síntomas graves de IC, se suelen tratar siguiendo las directrices de manejo de la insuficiencia cardíaca. Este enfoque incluye opciones como la terapia de resincronización cardíaca, dispositivos de asistencia ventricular o, en casos graves, consideración para un trasplante cardíaco (Ommen & Semsarian, 2021). Se han desarrollado nuevas moléculas destinadas al tratamiento de la hipertrofia obstructiva sintomática. Estas moléculas actúan inhibiendo de manera reversible la formación de puentes cruzados de miosina-actina (Ho et al., 2020). Además de las medidas anteriores, cuando existe un riesgo aumentado de MSC causada por arritmias, se contemplará la posibilidad de implantar un desfibrilador (Maron et al., 2022).

1.4 Genética de la miocardiopatía hipertrófica familiar

Se trata de una enfermedad genética, donde la mayoría de las mutaciones causales identificadas codifican para proteínas del sarcómero cardíaco (Cecconi et al., 2016; Stafford et al., 2021). El sarcómero está constituido por unidades contráctiles básicas del músculo responsables de la fuerza, la velocidad y la extensión de la contracción muscular (Kittleson et al., 2015). Además, existen causas genéticas en genes no sarcoméricos, como las mutaciones en el disco Z y proteínas para la señalización del Ca^{+2} (Cecconi et al., 2016; Maron et al., 2012; Simpson et al., 2017). El número de genes asociados con la MCH sigue creciendo gracias al uso de la secuenciación masiva. Tradicionalmente, se ha tratado como una enfermedad de base mendeliana donde hay un gen principal alterado (Burke et al., 2016), sin embargo, la aparición de casos complejos incrementa las teorías de que se trate de un trastorno oligogénico, donde una

mutación principal pueda verse modificada por la interacción de otros genes mutados (Yamada & Nomura, 2021). Según los estudios de cohortes, entre el 5 y 10% de los pacientes tienen dos o más mutaciones en genes del sarcómero y presentan una enfermedad más grave a edad más temprana, evidenciando una relación dosis-efecto (Girolami et al., 2010; Jacoby & McKenna, 2012; Rafael et al., 2017; Wessels et al., 2015).

La mayoría de los pacientes con MCH (60-70%) presentan alguna variante en los dos genes principales que componen el miofilamento. Estos dos genes son *MYH7*, que codifica la cadena pesada de la β -miosina, y *MYBPC3*, que codifica la proteína C de unión a la miosina cardíaca (Cecconi et al., 2016). Otros genes del sarcómero que tienen evidencia clara en relación con la enfermedad, aunque las mutaciones en ellos son menos frecuentes (aproximadamente entre el 1-5%), incluyen *TNNT2* (troponina T2 cardíaca), *TNNI3* (troponina I tipo 3), *TPM1* (tropomiosina), *MYL2* (cadena ligera de miosina 3), *MYL3* (cadena ligera de miosina 3) y *ACTC1* (α -actina cardíaca 1) (Sabater-Molina et al., 2018; Stafford et al., 2021) (Figura 6). También se han asociado mutaciones en *TTN* (titina), *TCAP* (teletonina), *MYOZ2* (miocenina 2), *TRIM63* (ubiquitina E3 ligasa motivo tripartito proteína 63 o MuRF1) y *FHL1* (cuatro dominios y medio LIM 1) con la MCH, aunque en familias pequeñas o casos esporádicos. Por último, variantes en genes potencialmente relacionados, como *TNNC1* (troponina C cardíaca), *MYH6* (cadena pesada de α -miosina), *PLN* (fosfolamban), *CAV3* (caveolina 3), *ALPK3* (α -quinasa 3) y *JPH2* (junctofilina 2), también se han descrito en pacientes afectados por MCH, pero su contribución a la enfermedad aún es motivo de controvertido (Marian & Braunwald, 2017). La Tabla 1 resume los principales genes asociados a la MCH, su frecuencia, su herencia asociada y la evidencia que existe actualmente de que sean causantes de la enfermedad.

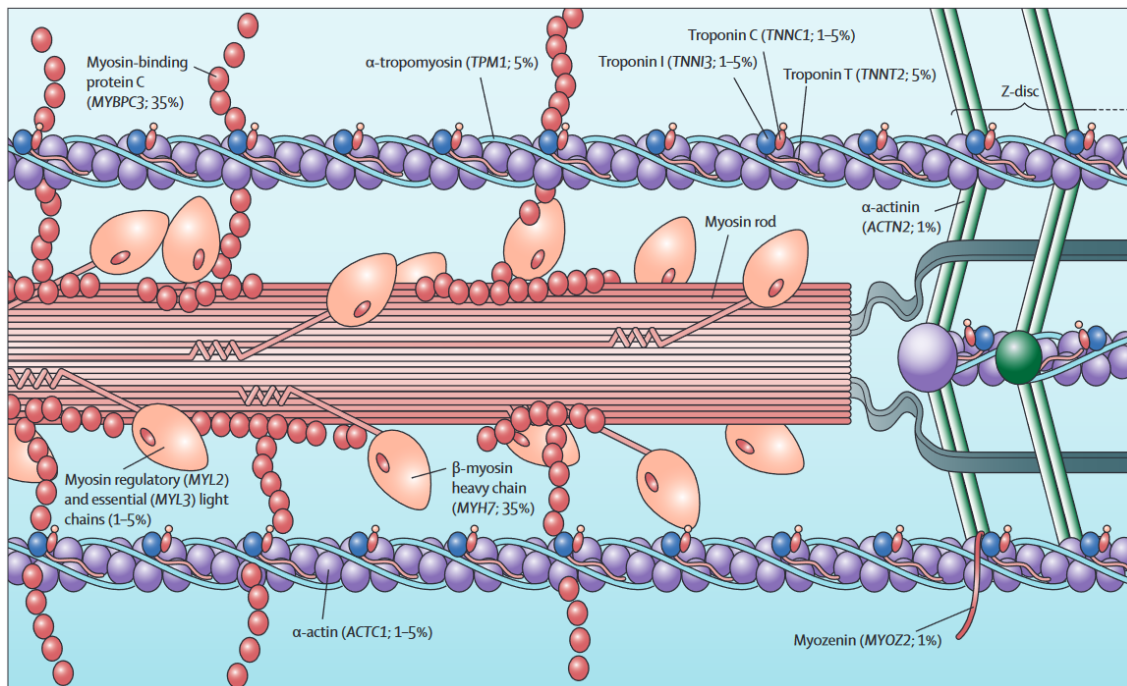


Figura 6. Localización y frecuencia de los genes causantes de miocardiopatía hipertrófica. Imagen de Maron & Maron, 2013.

Tabla 1. Principales genes relacionados con miocardiopatía hipertrófica.

Gen	Locus	Proteína	Herencia	Frecuencia	Localización	Evidencia
ACTC1	15q14	α Actinia cardiaca 1	AD	< 1%	Filamento fino	+++
ACTN2	1q43	α Actinia cardiaca 2	AD	NC	Disco Z	+
ALPK3	15q25.3	α quinasa 3	AR	NC	Núcleo	+
CAV3	3p25.3	Caveolina 3	AD	NC	Membrana celular	+
CSRP3	11p15.1	Proteína LIM de unión 3	AD	NC	Disco Z	++
DES	2q35	Desmina	AD	NC	Filamento intermedio	+
FLNC	7q32.1	Filamina C	AD	NC	Disco Z	+
FHOD3	18q12.2	Dominio 2 de la homología de formina que contiene el gen 3	AD	NC	Citoesqueleto	+
JPH2	20q13.12	Juntofilina 2	AD	NC	Retículo sarcoplasmático	+
LDB3	10q23.2	Dominio LIM de unión 3	AD	NC	Disco Z	+
MYBPC3	11p11.2	Proteína C cardiaca de unión a miosina	AD	30-40%	Filamento grueso	+++
MYH6	14q11.2	Cadena pesada 6 de unión a la miosina	AD	< 1%	Filamento grueso	+
MYH7	14q11.2	Cadena pesada 7 de unión a la miosina	AD	20-30%	Filamento grueso	+++
MYL2	12q24.11	Cadena ligera 2 de unión a la miosina	AD	2-4%	Filamento grueso	+++
MYL3	3p21.31	Cadena ligera 3 de unión a la miosina	AD, AR	1-2%	Filamento grueso	+++
MYLK2	20q11.21	Cadena ligera miosinquinasa	AD	NC	Citoplasma	+
MYOZ2	4q26	Miozenina	AD	NC	Disco Z	+
MYPN	10q21.3	Miopaladina	AD	< 1%	Disco Z	+
NEXN	1p31.1	Nexilina	AD	NC	Disco Z	+
PLN	6q22.31	Fosfolamban	AD	< 1%	Retículo sarcoplasmático	+
PRKAG2	7q36.1	Subunidad no catalítica, gamma2, proteinquinasa activada por AMP	AD	< 1%	Citoplasma	+
TCAP	17q12	Teletonina	AD	NC	Disco Z	+
TNNC1	3p21.1	Troponina C tipo 1	AD	< 1%	Filamento fino	+++
TNNI3	19q13.42	Troponina I tipo 3	AD	4-8%	Filamento fino	+++
TNNT2	1q32.1	Troponina cardíaca T2	AD	5-10%	Filamento fino	+++
TPM1	15q22.2	Tropomiosina	AD	< 1%	Filamento fino	+++
TTN	2q31.2	Titina	AD	< 1%	Disco Z	+
VCL	10q22.2	Vinculina	AD	NC	Disco Z	+

NC: no conocida. +++: evidencia clara; ++:evidencia posible; +: escasa evidencia.

Entre el 5-10% de los casos diagnosticados inicialmente como MCH son, en realidad, trastornos que mimetizan su fenotipo con hipertrofia cardíaca o deterioro de la energía mitocondrial (Pasipoularides, 2018). El diagnóstico diferencial de la MCH y sus fenocopias es complicado e importante con vistas al manejo, pronóstico, tratamiento y riesgo de herencia en los miembros de la familia. Estas enfermedades pueden ser metabólicas, enfermedades de origen genético, e incluso, una respuesta fisiopatológica exagerada generada ante la HTA o por el ejercicio intenso continuado (corazón de atleta) (Marian & Braunwald, 2017). Para descartarlas es necesario un examen completo del individuo con ECG, ecocardiograma, pruebas bioquímicas y estudio genético de los principales genes asociados a MCH y a fenocopias. Las pruebas genéticas pueden orientar al diagnóstico correcto de la sospecha de una fenocopia. Ya se han identificado genes que causan fenocopias de la MCH (Tabla 2) (Stafford et al., 2021).

Tabla 2. Fenocopias de la miocardiopatía hipertrófica y sus genes relacionados.

Gen	Locus	Proteína	Síndrome
DES	2q35	Desmina	Desminopatías
DTNA	18q12.1	α distrobrevina	No compactación del ventrículo izquierdo
GAA	17q25.3	α glucosidasa	Enfermedad de Pompe
GLA	Xq22.1	α galactosidasa	Enfermedad de Fabry
KRAS, SOS1,	12p12.1 2p22.1	Protooncogén KRAS, GTPasaSOS Ras/Rac factor de intercambio de nucleótidos de guanina 1	Síndrome de Noonan, Costello, Leopard
PTPN11, RAF1	12q24.13 3p25.2	Proteína tirosina fosfatasa no receptor tipo 11 Protooncogén Raf-1, serina/treonina quinasa	
LAMP2	Xq24	Proteína de membrana asociada a lisosomas 2	Enfermedad de Danon
PRKAG2	7q36.1	Subunidad no catalítica, gamma2, proteinquinasa activada por AMP	Hipertrofia cardiaca asociada al síndrome WPW
TTR	18q12.1	Transtirretina	Amiloidosis

Hallar la causa genética es complejo, ya que la MCH se caracteriza por una elevada heterogeneidad genética y una gran variación alélica dentro de un mismo gen (Akhtar & Elliott, 2018). Estas características contribuyen a que exista tanta variabilidad en la morfología del fenotipo y en la gravedad de la enfermedad. El rendimiento genético en la MCH familiar se estimaba en un 60% (Authors/Task Force members et al., 2014), sin embargo, la aplicación estricta de los actuales criterios de clasificación hace que disminuya a 30 o 40% (Bonaventura et al., 2021; Butters et al., 2020; Hathaway et al., 2021). Aspectos que favorecen la tasa de detección son que la enfermedad aparezca a edad temprana, que existan antecedentes familiares de MCH y el aumento del grosor de la pared del VI (Van Driest et al., 2005).

Aunque existen determinadas variantes con determinados perfiles como una asociación a expresión incompleta, a mayor riesgo de MSC o IC, hoy en día el diagnóstico genético no altera el tratamiento. No siempre es posible una clara relación directa entre la genética y la gravedad, el pronóstico o el curso clínico de pacientes individuales (Glinge et al., 2016). La aparición frecuente de mutaciones privadas, exclusivas de la una sola familia, dificultaba la evaluación de su patogenicidad, ya que no se suele contar con portadores suficientes para establecer la correlación genotipo-fenotipo (Bonaventura et al., 2021). El mayor beneficio de las pruebas genéticas en MCH consiste en la detección en cascada de familiares con riesgo de desarrollar una enfermedad (Ingles et al., 2015). Debido a la relevancia clínica que puede tener el diagnóstico genético, un diagnóstico erróneo o mala interpretación puede tener consecuencias dañinas (Ingles et al., 2019; Veselka et al., 2017).

No todas las variantes que aparecen en genes vinculados con MCH son patogénicas, existen variantes toleradas y presentes frecuentemente en población sana (Marian & Braunwald, 2017). Es común encontrar variantes de significado incierto (VUS), donde no hay suficientes evidencias para determinar su patogenicidad en este momento. La mayoría de las mutaciones patogénicas en MCH son de tipo *missense*, que generan proteínas donde hay un cambio de un aminoácido; sin embargo, un pequeño porcentaje son mutaciones que producen proteínas truncadas (mutaciones *non-sense* o *frameshift*). En el caso de las mutaciones *frameshift*, se altera el marco de lectura de la proteína provocando una proteína de distinto tamaño al habitual o un procesamiento alternativo de *splicing* generando un ARN mensajero diferente (Maron et al., 2012). Se han propuesto dos mecanismos por los cuales las mutaciones son perjudiciales, el primero es que las proteínas mutantes tengan un efecto negativo llamado péptido venenoso o que las proteínas defectuosas sean eliminadas provocando la disminución de la cantidad de la proteína causando haploinsuficiencia (Kuster & Sadayappan, 2014).

Existen guías de interpretación de variantes, pero en muchas ocasiones faltan evidencias para realizar una correcta clasificación de la variante. Un enfoque estandarizado para clasificar e interpretar la patogenicidad de una variante ha sido desarrollado por el Colegio Americano de Genética Médica y Genómica (ACMG, siglas en inglés) y la Asociación de Patología Molecular (AMP, siglas en inglés), utilizando un sistema de clasificación de 5 niveles (Figura 7). Este sistema se basa en utilizar los datos disponibles para evaluar la patogenicidad de una variante. Algunos de los criterios incluyen la ausencia o rareza en bases de datos de referencia de población, la cosegregación de la variante con la enfermedad y la presencia de la variante en dominios funcionales característicos del gen. Las herramientas de predicción *in silico* proporcionan un apoyo para respaldar otras características. Si el conjunto de evidencias es suficiente para asignar esa variante como la causa de la enfermedad, la variante

se clasificará como probablemente patógena o patogénica. Si, por el contrario, el análisis de los diferentes puntos descarta que sea causal, se clasificará como probablemente benigna o benigna, mientras que aquellos con pruebas insuficientes o contradictorias serán consideradas como variantes VUS (Richards et al., 2015). La determinación requiere estudios sólidos en familias grandes con varias generaciones disponibles para poder determinar la cosegregación entre la variante y el fenotipo. Además, la información de las variantes está en continua actualización con la incorporación de nuevos reportes por parte de los laboratorios, información fenotípica, algoritmos computacionales mejorados para predecir la patogenicidad, y la expansión de estudios funcionales (Deignan et al., 2019). La reevaluación periódica de las variantes ha demostrado ser beneficiosa para el aumento del rendimiento genético ya que las clasificaciones de la patología de una determinada variante pueden cambiar en el futuro (Costain et al., 2018). La discrepancia en la aplicación de las guías con resultados distintos en diferentes grupos subraya la necesidad de mayor consistencia y precisión en la aplicación de estas guías, además de criterios adicionales como una guía de consenso sobre cómo anotar variantes de baja penetrancia en genes asociados a trastornos mendelianos o estandarizar subcategorías dentro de las variantes VUS (Niehaus et al., 2019).



Figura 7. Clasificación de la patología de las variantes. En la base de la pirámide se encuentran las variantes comunes y toleradas, que representan la mayoría de las variantes de un individuo. En la punta de la pirámide se encuentran las variantes más graves y menos frecuentes, que han acumulado criterios de patogenicidad.

1.5 Secuenciación de alto rendimiento como herramienta de futuro

Parte de los resultados genéticos negativos pueden explicarse por la existencia de otros genes relacionados con la enfermedad que aún no se han

identificado. La tecnología de secuenciación masiva de nueva generación (NGS) se ha convertido en una poderosa y eficiente herramienta clínica para el *screening* de mutaciones (Pandey et al., 2016). Permite disminuir los tiempos de ejecución, minimizar los costes, utilizar cantidades menores de ADN genómico y analizar un mayor número de genes. Esto nos sirve para descifrar mejor la relación entre heterogeneidad genética y fenotípica (Cecconi et al., 2016).

La relación coste-beneficio es uno de los requisitos más importantes a la hora de hacer pruebas genéticas, por eso, para el estudio de miocardiopatías lo más común es recurrir a la secuenciación de paneles con genes asociados fuertemente a la patología de estudio o patologías similares. Los paneles de genes suelen cubrir las partes codificantes y al menos la parte de los intrones que puede afectar al *splicing*. Para la confirmación o para cubrir regiones con baja cobertura, esta técnica se complementa con secuenciación Sanger (Xue et al., 2015). En caso de no encontrar ninguna mutación en esos genes, se puede demandar una secuenciación más amplia. La secuenciación del genoma completo implica secuenciar tanto exones como intrones de todos los genes del individuo. Estas aproximaciones tan amplias generan una gran cantidad de información, pero tienen un procesamiento posterior e interpretación muy complicado. Otra opción intermedia, es secuenciar el exoma, es decir, las partes codificantes y las zonas flanqueantes de genoma. La parte codificante es donde suelen ocurrir las mutaciones patogénicas conocidas, pero no hay que despreciar las mutaciones presentes en los intrones, sobre todo aguas arriba y abajo del exón, por su potencial modificador. Las mutaciones en el intrón pueden alterar el fenómeno de *splicing* creando mutaciones que saltan o añaden parte de la secuencia codificante. También pueden actuar sobre regiones que regulan fuertemente el gen. Ejemplos frecuentes de este tipo de mutaciones han sido documentados en el gen *MYBPC3* (Ribeiro et al., 2020).

La guía de la Sociedad Americana de Insuficiencia Cardíaca de 2018 recomienda que se realicen pruebas genéticas a todos los pacientes con un diagnóstico clínico de MCH, especialmente en aquellos con antecedentes familiares. De manera rutinaria, las pruebas genéticas deben incluir al menos los genes que forman parte del sarcómero y aquellos que producen fenocopias de la MCH (Stafford et al., 2021).

2. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA EN ANIMALES

2.1 Animales con miocardiopatía hipertrófica

La aparición de MCH no es exclusiva en humanos, se ha descrito de forma natural en especies no humanas como gatos, perros, vacas, camellos, monos, cerdos y hámsters (Simpson et al., 2017; Machida et al., 1996; Gutierrez et al., 2000; Miller et al., 1995; Nigro et al., 1997; Sakamoto et al., 1997) (Tabla 3). A excepción de los gatos, la frecuencia de la enfermedad es muy baja. Algunos casos han sido documentados gracias a estudios realizados después del fallecimiento.

Tabla 3. Presentación de casos de miocardiopatía hipertrófica de forma natural en diferentes especies.

	Frecuencia	Razas predispuestas	Genes alterados	Fenotipo				Ref
				Hipertrofia	Fibrosis	Disarray	OTSVI	
Felino	15-25%	Maine Coon, Ragdoll Sin raza Maine Coon Sphynx Otras razas	MYBPC3 MYH7 TNNT2 ALMS1 NC	SI	SI	SI	SI	1-5
Canino	<1%	Razas puras y razas mixtas	NC	Leve	NO	Leve	SI	6-9
Roedor	Muy baja	Syrian hamster	SGCD	SI	SI	¿NO?	ND	10-11
Vaca	Muy baja	Holstein	NC	SI	SI	SI	ND	12
Camello	Muy baja		NC	SI	SI	SI	ND	13
Mono	Muy baja		NC	SI	SI	SI	ND	14-15
Cerdo	Muy baja	Duroc Landrace Yorkshire	NC	SI	SI	SI	ND	16-18

ND: no descrito; OTSVI: obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo; Ref: referencia bibliográfica.

1: McNamara et al., 2020; 2: Meurs et al., 2005; 3: Meurs et al., 2007; 4: Meurs et al., 2021; 5: Schipper et al., 2019; 6: Bellumori et al., 2013; 7: Liu et al., 1979; 8: Schober et al., 2022; 9: Washizu et al., 2003; 10: Nigro et al., 1997; 11: Sakamoto et al., 1997; 12: Machida et al., 1996; 13: Gutierrez et al., 2000; 14: Knowlen et al., 2013; 15: Miller et al., 1995; 16: Dai et al., 1996; 17: Lin et al., 2002; 18: Huang et al., 1996.

2.1.1 Gatos

De todos los animales afectados naturalmente, los gatos son los únicos en los que la enfermedad se presenta con frecuencia y espontáneamente, llegando a afectar hasta al 15% de la población de gatos domésticos (Freeman et al., 2017). Estudios realizados en varias camadas han demostrado la

existencia de una herencia familiar en distintas razas (März et al., 2015). Los gatos afectados por la MCH presentan un fenotipo que refleja características propias de la enfermedad en humanos, como el desorden en el tejido cardíaco, la presencia de fibrosis, el engrosamiento de la pared del VI y la OTSVI (Kittleson et al., 2015). En relación con la causa genética, se han sugerido mutaciones en genes del sarcómero, incluyendo *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, e incluso en el gen *ALMS1*, asociado a otra enfermedad, el Síndrome de Alström (McNamara et al., 2020; Meurs et al., 2005, 2007, 2021; Schipper et al., 2019, p. 7). Se ha observado que humanos y gatos comparten dos mutaciones conservadas, una en el gen *MYBPC3* (p.Arg820Trp, rs775404728) y otra en el gen *MYH7* (p.Glu1883Lys, rs121913652) (Ripoll Vera et al., 2010; Tajsharghi et al., 2007). No obstante, la mayoría de las causas genéticas aún son desconocidas, y los análisis genéticos en gatos son costosos y de acceso limitado. Existen pruebas genéticas comerciales disponibles para ciertas razas, destinadas principalmente al control de la reproducción, que suelen demandar criadores profesionales.

2.1.2 Perros

En cuanto a los perros, la prevalencia de la enfermedad es mucho más baja, en torno al 1% (Schober et al., 2022). La MCH se ha descrito en perros de diferentes razas puras, tanto de tamaño grande (Rottweilers, Dalmatians, Doberman, Portuguese waterdogs) como en razas de pequeño tamaño (Shih Tzu, Chihuahua, Terrier) (Schober et al., 2022; Washizu et al., 2003). También se han registrado casos en perros de raza mixta (Bellumori et al., 2013). Aunque los síntomas son similares a los observados en humanos, su aparición tiende a ser menos común y con una expresión menos evidente. Algunos casos descritos muestran una ligera hipertrofia en el tabique interventricular y un desorden poco marcado o inexistente en las fibras miocárdicas (Liu et al., 1979). Recientemente, se ha demostrado que la OTSVI también se presenta en perros de manera significativa (Schober et al., 2022). Sin embargo, la causa genética detrás del desarrollo de la MCH en perros sigue siendo desconocida.

2.1.3 Roedores

Se trata de un modelo autosómico recesivo, por lo tanto, se necesitan tener las dos copias mutadas del gen δ -sarcoglicano (SGCD) para expresar el fenotipo (Nigro et al., 1997). La mutación incluye la delección de la región promotora que, aunque crearía un promotor alternativo, genera transcritos que no son capaces de mantener la estabilización del sarcolema. Dependiendo de la cepa se generan diferentes fenotipos, pudiendo causar tanto MCH como MCD.

Este modelo muestra una hipertrofia del corazón severa a los 100 días de edad, con necrosis, fibrosis y mineralización de miofibras. La masa y el grosor de la pared del VI aumentan en dos cepas de hámster mutado (BIO14.6 y UMX7.1). Estos animales también mostraban cambios en la amplitud del complejo QRS en los registros electrocardiográficos (Sakamoto et al., 1997). El modelo de hámster sirio con MCH ha sido usado para hacer estudios *in vivo* del complejo de glicoproteína asociada a distrofina y para evaluar el efecto de varios fármacos (Riou et al., 1995; Ruel et al., 1996; Sakamoto et al., 1997). En humanos, las mutaciones en el gen SGCD están relacionadas con los fenotipos de MCD y con la distrofia muscular de cinturas (Hershberger & Jordan, 1993).

2.1.4 Vacas, camellos y monos

En la literatura existen también casos esporádicos de MCH en vacas, camellos y monos. La mayoría se diagnosticaron tras el estudio *post mortem* ya que estos animales no suelen exhibir signos clínicos hasta que la enfermedad está avanzada, ni suelen llevar un seguimiento cardiológico específico. En todos estos casos, el diagnóstico de la hipertrofia ha sido casual e infrecuente.

Los casos reportados en vacas corresponden a vacas no emparentadas de la raza Holstein, conocida por su alta producción de leche y carne, así como por su adaptabilidad a diversos entornos ambientales. Los ganaderos han seleccionado estas características deseables con el tiempo con el cruce selectivo los ejemplares más destacados. En ambos casos documentados, encontraron vacas muertas de manera inesperada; una de ellas sufrió dos episodios de pérdida súbita del conocimiento en semanas previas. Durante la autopsia de estos animales, se observó desorganización en las células musculares cardíacas, aumento en el grosor de las paredes de las arterias coronarias y una notable presencia de fibrosis miocárdica (Machida et al., 1996).

En el caso publicado en un camello, se trataba de un camello de una instalación turística que había sufrido previamente varios episodios de síncope después del ejercicio moderado durante los últimos 6 meses. El estudio necrótico del tejido confirmó el diagnóstico de la MCH sospechada, con el engrosamiento tanto de la pared del VI como del septo, además de un lumen pequeño en el VI y presencia de fibrosis intersticial (Gutierrez et al., 2000).

Los casos detectados en monos mostraban hipertrofia de las paredes y del miocardio ventricular izquierdo (Knowlen et al., 2013; Miller et al., 1995), pero algunos monos se les diagnosticó hipertensión o no se descartó su presencia, lo cual podría ser causa o agravante de la hipertrofia.

2.1.5 Cerdos

La hipertrofia cardíaca de forma natural en cerdos ha sido descrita de manera poco común en la literatura científica. Estos animales presentan características histológicas anormales como desorientación marcada de las células del músculo cardíaco, engrosamiento de la pared arterial coronaria intramural con estrechamiento de la luz y fibrosis endocárdica y miocárdica (Dai et al., 1996; Lin et al., 2002). Pese al interés de descubrir la aparente base hereditaria (Huang et al., 1996), no se ha encontrado la causa genética, aunque sí que se ha demostrado la forma de inducir la enfermedad por ingeniería genética.

2.2 Modelos animales inducidos con miocardiopatía hipertrófica

Los modelos animales son una herramienta para entender mejor las vías moleculares clave en el desarrollo de la MCH, su repercusión, la interacción de mutaciones concretas y el desarrollo de nuevas terapias (Duncker et al., 2015; Shephard & Semsarian, 2009). Además, la capacidad de manipular la expresión génica creando modelos transgénicos, ha permitido crear modelos animales de una determinada enfermedad. El avance en la edición genética incluso ha logrado reproducir de manera efectiva y precisa mutaciones existentes en humanos. Para generar estos modelos animales artificiales, tradicionalmente se han utilizado roedores, conejos, y animales menores, como peces o moscas. El objetivo de generar estos modelos y caracterizarlos es estudiar funcionalmente las consecuencias de la alteración de ese gen, sus interacciones y la aplicación de posibles tratamientos (Dai et al., 1996; Montag et al., 2018; Simpson et al., 2017).

La caracterización de la fisiopatología de la MCH es un desafío debido a la complejidad de los mecanismos causantes de la enfermedad y los moduladores de la patología (Purevjav, 2019). Cada modelo animal tiene sus características propias, con sus ventajas y desventajas. En la siguiente tabla se muestran un resumen de los principales modelos animales de la MCH generados artificialmente (Tabla 4).

Los resultados son difíciles de traducir a humanos debido a las diferencias en la anatomía y fisiología cardiovascular. La investigación traslacional debe realizarse con mucho cuidado, debe no solo elegirse el modelo apropiado sino tener en cuenta las preguntas de investigación adecuadas, la cantidad suficiente de animales de estudio y la interpretación correcta y relevante de los resultados en animales para la población humana. Los modelos de animales grandes ofrecen una oportunidad más directa (Stern & Ueda, 2018). El uso de modelos

animales ha demostrado que las principales mutaciones en MCH mejoran la contractilidad del músculo, aumentando la fuerza, la hidrólisis del ATP y la velocidad de actina-miosina. Por ello, los nuevos fármacos en estudio se dirigen hacia inducir una relajación precisamente en ese punto. Antes de que se produzcan cambios histológicos ya existe el ciclo anormal del Ca^{+2} y una relajación retardada.

Tabla 4. Modelos inducidos de miocardiopatía hipertrófica en diferentes especies.

Modelo	Genes alterados	Fenotipo				Ref
		Hipertrofia	Fibrosis	Disarray	Obstrucción	
Cerdo	MYH7	SI	ND	Leve	NO	1-2
Ratón/Rata	MYBPC3	No	No	SI	NO	3-4
	MYH6	siempre	siempre			
	TNNI3					
	TNNT2					
	TPM1					
	ACTC1					
	CSRP3					
	MTOZ2					
	MYPN					
Conejo	TNNI3	SI	SI	SI	NO	4-5
	MYH7					
Drosophila	MYBPC3	ND	ND	ND	NO	6
Pez cebra	ACTN2	SI	ND	ND	NO	7-8
	CSRP3					
	TNNT2					
	MYBPC3					
	MYH7					
	TTN					

ND: no descrito; Ref: referencia bibliográfica.

1: Montag et al., 2018; 2: Santini et al., 2020; 3: Bang, 2017; 4: Duncker et al., 2015; 5: Lowey et al., 2018; 6: Manh et al., 2005; 7: Bang, 2017; 8: Gut et al., 2017

2.2.1 Cerdos

A Aprovechando la similitud en la anatomía cardíaca y las semejanzas electrofisiológicas y cardiovasculares con los humanos, el cerdo se ha utilizado como modelo para estudiar la MCH. Se ha implementado la introducción de la mutación p.Arg723Gly en el gen *MYH7*, previamente asociada a la MCH en seres humanos (rs121913630), utilizando la técnica genética TALEN y clonando cerdos heterocigotos para la mutación. Estos cerdos presentaban un fenotipo temprano con una leve desorganización de los miocitos, núcleos celulares malformados y una sobreexpresión de *MYH7*. Los lechones morían a las pocas horas del parto, probablemente debido a la IC (Montag et al., 2018). Otro de los modelos porcinos generados, porta la mutación p.Arg403Gln. Esta mutación ha sido descrita como causa de la MCH en humanos (rs121913624). Los cerdos

con la mutación en heterocigosis desarrollan rápidamente un fenotipo cardíaco con hipercontractilidad e hipertrofia. La administración del fármaco mavacamten en estos animales restauraba los niveles del estado super relajado de la miosina en las fibras musculares, permitiendo así una contracción eficiente (Santini et al., 2020).

2.2.2 Roedores

Al igual que en otras enfermedades, los modelos animales inducidos más usados en la investigación de MCH son los roedores. Entre las razones de ello, está el conocimiento sobre su genética y su fácil manipulación, además de un mantenimiento bajo. Otra de las ventajas es que su corto periodo gestacional y su corta vida permiten llevar a cabo experimentos para evaluar la evolución de la enfermedad (Purevjav, 2019). La principal desventaja de estos animales menores es que tienen limitaciones traslacionales debido a las diferencias en la fisiología y sutilezas en la expresión génica. Los roedores expresan la isoforma de la cadena pesada de α -miosina en lugar de la β -miosina, lo que genera modelos menos exactos. Algunos de los modelos murinos inducidos genéticamente no terminan de recapitular las características fenotípicas, histopatológicas y clínicas de MCH en humanos, e incluso dan resultados diferentes a los que muestran otros animales. Otras diferencias entre roedores y el ser humano incluyen el metabolismo y la anatomía (Freeman et al., 2017).

Existen numerosos modelos recreados en roedores. El primer modelo de ratón con MCH se creó en 1996 con ratones transgénicos (Vikstrom et al., 1996). En 1999 se generó un modelo en ratón en el cual se alteró el gen *MYH6*. Los portadores homocigotos morían rápidamente después del nacimiento, mientras que los heterocigotos mostraban las típicas características de la MCH, incluyendo la hipertrofia del VI (Ueda & Stern, 2017). Otros modelos transgénicos en ratón incluyen, por ejemplo, la mutación *missense* p.Ile79Asn en el gen *TNNT2*, que ha sido asociado en humanos con un riesgo mayor de muerte súbita pese a causar una hipertrofia del VI leve. Los ratones desarrollaron una mayor contractilidad y disfunción diastólica del corazón, lo que podría explicar la mortalidad, especialmente durante ejercicio (Ueda & Stern, 2017).

2.2.3 Lagomorfos

Estos animales solventarían algunos de los inconvenientes de los roedores. Además de que expresan principalmente la isoforma β -miosina, su sistema cardiovascular es más cercano al humano que los ratones y ratas, especialmente con respecto al flujo de iones de Ca^{+2} durante el ciclo de contracción (Ueda & Stern, 2017). Ya que algunos modelos murinos no

mostraban los resultados esperados debido a la expresión predominante de la α -miosina, se usó un modelo transgénico de conejo portador de la mutación p.Arg403Gln en *MYH7*. En conejos, se ha mostrado que existe una pérdida de función tanto en las moléculas de miosina como en las miofibrillas aisladas, lo que lleva a una disminución de la potencia de salida de sangre del corazón (Lowey et al., 2018). Otro ejemplo en el que se utilizaron conejos modificados genéticamente fue para estudiar la mutación p.Arg146Gly en *TNNI3*, si bien tuvo que limitarse su expresión para que el animal sobreviviese, se certificó que cantidades modestas de la proteína alterada podrían provocar defectos sutiles como la organización aberrante de conexinas y un patrón alterado de la fase de repolarización sin perder la función cardíaca (Sanbe et al., 2005).

2.2.4 Insectos y peces

Se han creado modelos mediante ingeniería genética en insectos y peces. Entre los más empleados están la mosca y el pez cebra, ya que son modelos establecidos que se reproducen rápidamente y en gran número y permiten el uso de herramientas de manipulación genética simples. No obstante, poseen una estructura cardíaca bastante elemental y están más distantes evolutivamente del ser humano. Estos modelos han sido utilizados para investigar funcionalmente posibles mutaciones.

El corazón de *Drosophila* exhibe una estructura similar a un tubo lineal primitivo, análoga al tubo cardíaco embrionario presente en los vertebrados. Se ha observado que numerosos genes y redes reguladoras relacionadas con el desarrollo, la función y el proceso de envejecimiento del corazón, se han conservado a lo largo de la evolución. Las técnicas para el fenotipado permiten caracterizar el desarrollo, las propiedades, y la estructura en el corazón de *Drosophila*. Esto lo ha convertido en sistema modelo para estudios de genética básica, de envejecimiento y enfermedades cardíacas (Purevjav, 2019). La incorporación de mutaciones humanas en *MYBPC3* en moscas produjo anomalías estructurales sarcoméricas y alteraciones en el vuelo, que estaban agravadas por la edad y la dosis de genes humanos, además de cambios en el transcriptoma con genes relacionados con la contracción muscular (Manh et al., 2005).

En cuanto al modelo de pez cebra (*Danio rerio*), es una de las tecnologías más efectivas para descubrir y estudiar funcionalmente nuevos genes candidatos a miocardiopatía, especialmente por la capacidad de usar técnicas de modificación de la expresión genética como los morfolinós. Entre los ejemplos, se han usado morfolinós dirigidos al gen *MYBPC3* para estudiar variantes de sitio de *splicing* descubiertas en humanos. Los animales mostraban menor número de cardiomiocitos, un engrosamiento de la pared del ventrículo y una reducción drástica de la frecuencia cardíaca, el volumen sistólico y el gasto

cardíaco. El tratamiento de estos individuos con ARN mensajero sintético de *MYBPC3* consiguió restaurar parcialmente el genotipo (Da'as et al., 2020). Una ventaja de utilizar embriones de pez cebra en investigaciones es su transparencia, facilitando indicadores fluorescentes *in vivo* que pueden observarse con imágenes microscópicas. El pez cebra se propone como una herramienta de especial utilidad en el estudio de mecanismos reguladores de la diferenciación de los cardiomiocitos y otras células cardíacas, la regeneración, la morfogénesis, los efectos y la toxicidad de fármacos y la regulación génica (Purevjav, 2019).

3. MIOCARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA EN GATOS

3.1 Generalidades, prevalencia e historia natural

La MCH ocurre naturalmente en gatos, siendo la enfermedad cardíaca más diagnosticada en estos animales (Granström et al., 2011; Lipinski et al., 2008) y la principal causa de morbilidad y mortalidad. Afecta al 14,6% de población de gatos domésticos aparentemente sanos (Simpson et al., 2017). Sin embargo, en gatos mayores, la prevalencia aumenta hasta un 29% (Paige et al., 2009). El estudio en colonias de animales emparentados sugiere que la causa puede ser heredada siguiendo una transmisión autosómica dominante (Maron & Fox, 2015) junto a una penetrancia incompleta, al menos, en gatos jóvenes. Sus expresiones fenotípicas son muy similares a las del humano, con una marcada heterogeneidad de la enfermedad con hipertrofia ventricular izquierda y disfunción diastólica con FE normal, en ausencia de otras enfermedades que puedan causar hipertrofia. En el diagnóstico diferencial hay que tener en cuenta enfermedades como la estenosis aórtica (enfermedad rara en gatos), hipertiroidismo, hipertensión sistémica o acromegalia (Kittleson & Côté, 2021b). En gatos, la hipertrofia simétrica es la forma más común. Es raro detectar el engrosamiento en la pared del vértice del VI, posiblemente porque sea una zona de difícil acceso y porque en gatos la hipertrofia del músculo papilar es habitual (Kittleson & Côté, 2021b). La histopatología muestra la disposición desordenada de miocitos agrandados, la enfermedad microvascular, la fibrosis intersticial y el remodelado cardíaco en etapa terminal (Granström et al., 2011; Maron & Fox, 2015). Estos hallazgos no tienen por qué estar presente en todos los gatos (Kittleson & Côté, 2021b).

Esta enfermedad puede afectar a gatos domésticos de diversas edades. En la población general, la edad promedio de diagnóstico se sitúa entre los 5 y 7 años (Abbott, JA., 2010) aunque se han identificado casos desde los 3 meses (Kittleson & Côté, 2021a). En ciertas razas predispuestas, como los gatos de la raza Ragdoll, se puede detectar de manera precoz, con una edad media de detección de aproximadamente 15 meses antes del diagnóstico habitual (Meurs et al., 2007). Aunque afecta a ambos sexos, los gatos machos tienen una ocurrencia de MCH significativamente mayor comparado con las hembras (ratio 3:1), y de forma más severa (Granström et al., 2011; Kittleson & Côté, 2021b). La MCH afecta a distintas razas e incluso a gatos sin raza, pero existen linajes puros donde se ha observado que el riesgo de la enfermedad es mayor (Kittleson & Côté, 2021b). Entre las razas predispuestas están las siguientes: Maine Coon, Ragdoll, British Shorthair, Persa, Bengalí, Sphynx, Bosque de Noruega, Birmano, American Shorthair y Siberiano (Fuentes et al., 2020; Kittleson & Côté, 2021b).

En 1999 se describe la primera familia de gatos afectados. Se trataba de una familia Maine Coon que pertenecía a un criadero americano, el patrón de herencia autosómica dominante con penetrancia completa hacía que muchos de los descendientes de esos cruces estuvieran afectados por la enfermedad (Kittleson et al., 1999). Los afectados presentaban las principales características fenotípicas como el engrosamiento de la pared del VI, la OTSVI, el *disarray* en el músculo del miocardio, la enfermedad de las arterias coronarias y la fibrosis miocárdica. El interés hacia esta familia de gatos hizo que los propios investigadores compraran esta colonia para más tarde estudiarla desde el punto de vista genético (Kittleson et al., 2015).

Los síntomas clínicos en los gatos son similares a los que ocurren en el humano, pero el desarrollo de la enfermedad es más rápido debido a la menor esperanza de vida. Entre las señales de alerta que se pueden observar físicamente está la disnea, la letargia, una tendencia anómala a esconderse, anorexia, vómitos o debilidad de las extremidades posteriores (Figuerola A et al., 2014). Es muy común que los gatos presenten un soplo cardíaco provocado por el movimiento sistólico anterior de la válvula mitral (SAM) aunque no es requisito indispensable ni determinante de la MCH. Este soplo se intensifica cuando el gato está excitado o estresado (Kittleson & Côté, 2021b). Los gatos afectados presentan disfunción sistólica, dilataciones anormales y OTSVI, lo que conduce a una IC progresiva y fallo congestivo cardíaco (Maron & Fox, 2015). Afortunadamente, la MCH severa solo ocurre en unos pocos gatos. La mayoría de estos gatos con síntomas graves finalmente mueren de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), MSC o tromboembolismo arterial (TBE) (Fuentes et al., 2020). Una explicación para la formación de estos trombos sería la lentitud del flujo sanguíneo en la AI y las lesiones en el propio endotelio (Kittleson & Côté, 2021a). Una característica de los gatos es que no presentan aterosclerosis (Freeman et al., 2017; Meurs et al., 2007). Pueden manifestar edema pulmonar, provocado por un agrandamiento de la AI debido al aumento de presión que eleva la presión venosa pulmonar, agranda las venas pulmonares y, por tanto, la presión capilar pulmonar (Kittleson & Côté, 2021b).

Aunque existe el riesgo de síncope o MSC, es menos común que en humanos. Es posible que la prevalencia de la MSC esté subestimada ya que muchos propietarios no informan sobre la muerte del animal (Kittleson & Côté, 2021a). Estudios del tejido necrótico en series de gatos, muestran que aproximadamente el 43% de los gatos que mueren inesperadamente, son diagnosticados como hipertróficos de forma *post mortem* (Wilkie et al., 2015). En cuanto a la media de supervivencia de gatos con MCH, los estudios clínicos muestran un intervalo muy amplio, de 92 a 2153 días (Freeman et al., 2017).

La clasificación recomendada para los gatos con MCH consiste en una categorización según la etapa pronóstica, para ello existen 5 estadios. El estadio A, incluye gatos que están predispuestos a sufrir una cardiomiopatía, pero no

tienen evidencia de un miocardio anormal. El estadio B se divide en un estadio B1, con los gatos que tienen bajo riesgo de sufrir un inminente ICC o TBE, y el estadio B2, que abarca a los gatos con riesgo alto. Otro parámetro para distinguir los subniveles del B es el tamaño auricular, la función sistólica y la hipertrofia del VI. En el estadio C, se clasifican los gatos que ya han desarrollado síntomas de ICC o TBE. El último estadio y el más grave, incluye a los gatos con signos de ICC resistente al tratamiento y se clasifican como estadio D (Fuentes et al., 2020; Kittleson & Côté, 2021a) (Figura 8).

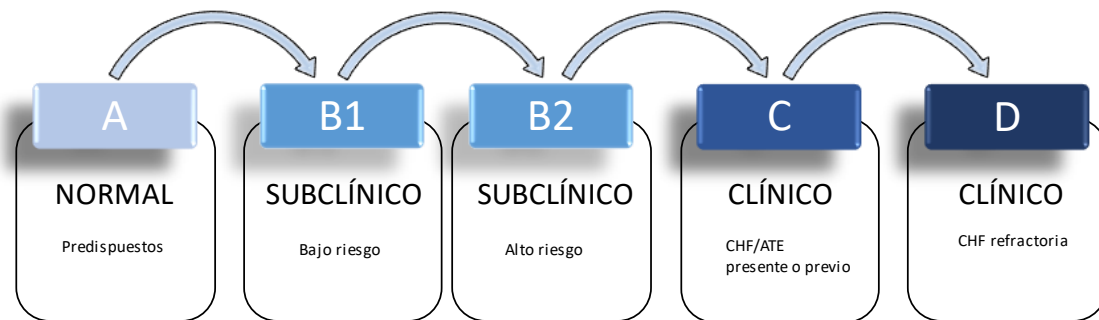


Figura 8. Estadios de la miocardiopatía felina de menor a mayor gravedad según la sintomatología del animal.

Una menor edad y la ausencia de signos clínicos se asocian a una mayor supervivencia (Fox et al., 2018). Los marcadores de riesgo de sufrir complicaciones incluyen la presencia de un sonido de galope o arritmia en el examen físico, agrandamiento de la AI, disminución del acortamiento fraccional de la AI, hipertrofia extrema del VI, disminución de la función sistólica del VI, la existencia de un trombo intracardiaco, adelgazamiento de la pared regional con hipocinesia y un patrón de llenado diastólico restrictivo (Fuentes et al., 2020). En gatos, la OTSVI no está asociado con el incremento de morbilidad y mortalidad, y, por ende, no es un factor de mal pronóstico (Kittleson & Côté, 2021b). Esta discrepancia podría deberse a diferencias entre la MCH en humanos y gatos, o posiblemente a variaciones en las mediciones entre especies, así como a un posible sesgo causado por la detección preventiva de estos gatos, quienes son más propensos a ser identificados tras la detección de un soplo antes de manifestar síntomas clínicos (Fuentes et al., 2020).

3.2 Diagnóstico y manejo clínico

El diagnóstico suele darse en razas donde ya se conoce una clara predisposición, en una revisión rutinaria en el veterinario o tras la detección de alguno de los síntomas. También puede que el diagnóstico sea mediante pruebas de biomarcadores específicos como el péptido natriurético tipo b N-terminal pro o la troponina cardíaca I, aumentados incluso en gatos asintomáticos, aunque sus niveles no pueden correlacionarse con la gravedad

de la MCH (Ueda & Stern, 2017). Otro diagnóstico posible, aunque menos probable, es si se aprecia una protuberancia auricular izquierda al realizar una radiografía torácica (Kittleson & Côté, 2021a).

Con el fin de diferenciar otros diagnósticos con un fenotipo similar se procede a un análisis de rutina de suero para descartar otras patologías como hipertiroidismo, fallo renal, hipertensión o diabetes mellitus (Longeri et al., 2013). También se deben tener en cuenta otras pruebas complementarias como el uso de los test genéticos, la historia del animal, un examen físico, el uso de biomarcadores cardíacos, el ECG, el ecocardiograma y la resonancia (Fuentes et al., 2020) (Figura 9). La técnica más sensible y que mejor predice la enfermedad, es el ecocardiograma (Granström et al., 2011), que permite realizar medidas del corazón por operadores cualificados y en condiciones tranquilas para el gato, idealmente sin sedación, aunque puede considerarse en ciertas ocasiones. La interpretación clínica es determinante y puede generar discrepancias en el diagnóstico. Los valores de referencia pueden cambiar con respecto al tamaño del animal (Häggström et al., 2016) y las características de la especie (Trehieu-Sechi et al., 2012). Para unificar los criterios, en el año 2020 se ha publicado una guía consenso sobre la miocardiopatía en gatos por el Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria (ACVIM, por sus siglas en inglés). Dicha guía propone una clasificación actualizada de las miocardiopatías basada en el fenotipo ecocardiográfico y proporciona recomendaciones para el enfoque diagnóstico y el tratamiento de los gatos con enfermedad del miocardio.



Figura 9. Pruebas recomendadas para el diagnóstico diferencial de la MCH en gatos.

Según los criterios de la ACVIM se recomienda realizar una exploración estándar en los gatos de pedigrí. Este examen debe incluir la medida cuantitativa de las dimensiones de la cavidad cardíaca izquierda (grosor de la pared y diámetro del VI), así como el acortamiento fraccional de la AI y el VI, una evaluación cualitativa de la geometría anormal de la cavidad cardíaca y la

presencia o ausencia de SAM. Para la obtención de las imágenes, el gato puede estar en posición decúbito lateral o de pie (Fuentes et al., 2020). Se recomienda el uso de ecografías de dos dimensiones en lugar de las tradicionalmente imágenes en modo M para medir el espesor de la pared del VI, el modo M puede usarse para medir una región ya identificada como anormalmente gruesa (Fuentes et al., 2020; Kittleson & Côté, 2021b). Al ser una hipertrofia que con frecuencia se encuentra en una región en concreto, es necesario supervisar cuidadosamente todo el VI para no pasarlo por alto (Kittleson & Côté, 2021b). Para detectar la disfunción diastólica se usa ecografía Doppler (Kittleson & Côté, 2021b).

Para la mayoría de los gatos con tamaño normal, un grosor de pared interventricular y/o del ventrículo izquierdo superior o igual a 6 mm en diástole sería diagnóstico, mientras que un < 5 mm se considera normal. Si el grosor supera los 7 mm, determinaría una MCH severa (Mary et al., 2010). Cuando las medidas están entre 5 y 6 mm, deben interpretarse en el contexto del tamaño corporal, los antecedentes familiares, la morfología y la función de la AI y el VI, la presencia de OTSVI y las velocidades de imagen del Doppler tisular. En caso de duda, se recomienda clasificar al gato como equívoco y volver a evaluarlo en una fecha posterior (Fuentes et al., 2020). Otro aspecto a tener en cuenta es la edad, ya que se trata de una enfermedad progresiva, gatos de una edad elevada (a partir de 9 años) pero con una medida $< 5,5$ mm serían considerados como normales (Granström et al., 2011; Silverman et al., 2012). Gatos con hipertrofia severa de los músculos papilares, pero sin engrosamiento de la pared del VI se consideran como equívocos (Longeri et al., 2013).

Aunque no es común, el diagnóstico *post mortem* puede darse a partir del estudio histopatológico. En estos casos las paredes son más gruesas de lo esperado porque el miocardio se contrae irreversiblemente tras la muerte (Figura 10). Además de estos valores engrosados, el corazón hipertrófico suele ser de un tamaño mayor de lo normal. La proporción normal entre el peso del corazón y el peso corporal está en el rango de 3-4 g/kg en gatos, en los gatos con MCH tienen un promedio de 6,3 g/kg (Kittleson & Côté, 2021b).

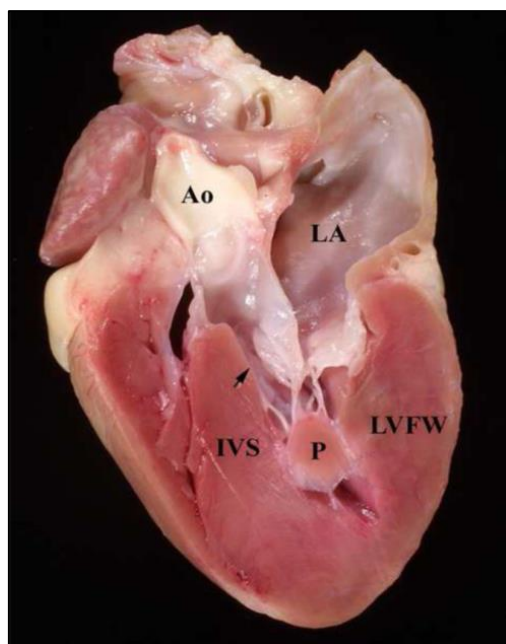


Figura 10. Vista macroscópica de un corazón de gato con MCH. Figura de Kittleson et al, 2015. Ao: aorta; LA: aurícula izquierda; IVS: tabique intraventricular; LVFW: pared libre del ventrículo izquierdo; P: músculo papilar.

3.3 Prevalencia

Al igual que la forma humana, la MCH felina se ha descrito como un patología con herencia autosómica dominante (Longeri et al., 2013; Wess et al., 2010), penetrancia incompleta y expresión variable. Portadores con la misma mutación pueden tener fenotipos distintos, con mayor o menor afectación (Kittleson et al., 2015). Se han encontrado formas familiares de MCH en gatos American Shorthair, Bosques de Noruega, Sphynx y en gatos de raza mixta (Fries et al., 2008; März et al., 2015; Silverman et al., 2012).

Existen muchas razas de gatos afectados por MCH, la prevalencia en cada raza varía. La MCH felina tiene una predisposición en determinadas razas como las razas Maine Coon, Ragdoll, British longhair, Sphynx, Cartujo, British shorthair, Bosques de Noruega y Persa; pero también puede aparecer en gatos sin raza (Longeri et al., 2013; Maron & Fox, 2015; Mary et al., 2010; Simpson et al., 2017) (Figura 11). Los patrones de hipertrofia pueden variar o ser específicos dependiendo de la raza, por ejemplo, los gatos Maine Coon tienen más afectada la parte de la pared libre del ventrículo derecho que otras partes del VI (Godiksen et al., 2011). La prevalencia difiere según la cohorte seleccionada y la raza, pudiendo llegar a superar el 20% (Tabla 5). Los datos disponibles se recogen a partir de estudios de animales domésticos pasando por alto la posible población afectada en gatos salvajes (Longeri et al., 2013; Mary et al., 2010), la heterogeneidad en la población de estudio y en los criterios de diagnóstico, y los casos asintomáticos que aún no han sido diagnosticados. Hay una

predisposición en machos (Freeman et al., 2017; Granström et 2011) y, aunque son necesarios más estudios, algunos de ellos relacionan un mayor tamaño corporal de la mascota con mayores concentraciones de glucosa e IGF-1 que influyen que el desarrollo de MCH (Freeman et al., 2017).

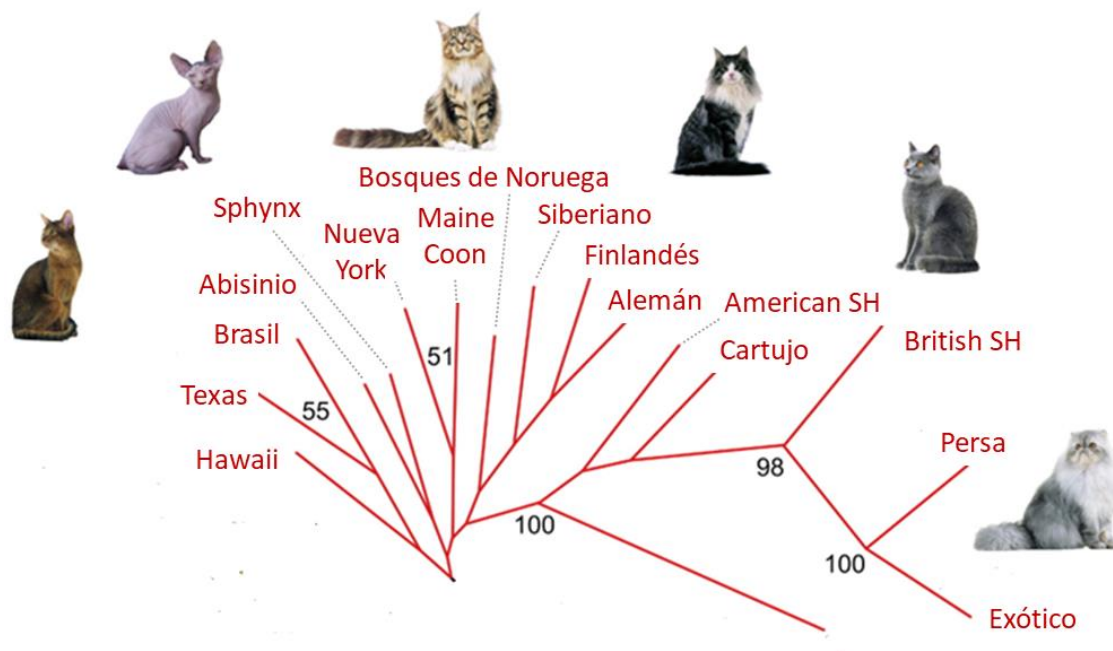


Figura 11. Árbol filogenético que muestra las razas de gatos de Europa Occidental predisuestas a padecer MCH. Figura adaptada de Lipinski et al., 2008.

Tabla 5. Prevalencia de la miocardiopatía hipertrófica en gatos en diferentes estudios.

Raza	Características cohorte			Prevalencia	Referencia
	n	M/H	Edad (años) ± DE		
Maine Coon	164	60/104	2,6 ± 2,0	7%	(Mary et al., 2010)
	42	10/32	4,8 ± 2,3	9,5%	(Gundler et al., 2008)
Sphynx	114	54/60	2,6 ± 1,9	20,2%	(Chetboul et al., 2012)
British shorthair	329	115/214	2,3	8,5%	(Granström et al., 2011)
Bosques de Noruega	53	16/35	4,6 ± 3,2	24,5%	(März et al., 2015)
Estudio de razas conjuntas (92% sin raza)	780	NC	0,5-9	14,7%	(Payne et al., 2015)
Estudio de razas conjuntas (mayoría razas mixtas)	103	60/43	<1,0 - ≥16,0	14,6%	(Paige et al., 2009)

Un estudio con más de 3000 gatos Maine Coon reveló una distribución geográfica uniforme en 21 países y un porcentaje similar de afectados por MCH en América del Norte, Europa, Asia y Australia (Fries et al., 2008). Sin embargo, estos datos pueden estar influenciados por variables locales, como el desarrollo

económico. Se requieren más investigaciones con una diversidad de razas para obtener conclusiones más precisas.

3.4 Genética en la miocardiopatía hipertrófica felina

A pesar del estudio de varios genes completos e incluso la secuenciación del genoma completo, solo ha sido posible encontrar 5 mutaciones que puedan ser la causa de la MCH felina (Tabla 6). Las dos primeras mutaciones se reportaron en el gen *MYBPC3* (Maron & Fox, 2015), cuya secuencia está altamente conservada en especies mamíferas (Kittleson et al., 2015). Estas mutaciones, p.Ala31Pro y p.Arg820Trp, están asociadas específicamente en las razas Maine Coon y Ragdoll, pero hay individuos afectados de estas razas que carecen de estas mutaciones, lo que sugiere que pueden existir causas adicionales (Simpson et al., 2017). Además, la prevalencia de estas variantes es más alta que la de la propia enfermedad. Recientemente, se ha encontrado otra variante posiblemente causal pero sin evidencias suficientes, en el gen que codifica la proteína *MYH7* (Schipper et al., 2019). Una variante intrónica en *TNNT2* fue descrita como patogénica en homocigosis por unos autores y más tarde, otro estudio la ha clasificado como VUS. Por último, en gatos de raza Sphynx, se ha detectado una variante en el gen *ALMS1*. Pese a estos descubrimientos, siguen existiendo afectados donde no se han encontrado variantes potencialmente causales en esos genes (Simpson et al., 2017). Las incógnitas sobre la genética en gatos con MCH persisten hoy en día.

Tabla 6. Variantes descritas en gatos como causantes de miocardiopatía hipertrófica felina, y las razas donde se encuentra en exclusividad.

Año	Gen	Variante	Raza predispuesta	Referencia
2005	MYBPC3	p.Ala31Pro	Maine Coon	Meurs et al., 2005
2007	MYBPC3	p.Arg820Trp	Ragdoll	Meurs et al., 2007
2019	MYH7	p.Glu1883Lys	-	Schipper et al., 2019
2020	TNNT2	c.50-108G>A	-	McNamara et al., 2020; Schipper et al., 2022
2021	ALMS1	p.Gly3379Arg	Sphynx	Meurs et al., 2021

3.4.1 Gen MYBPC3

En la literatura encontramos estudios sobre genética en gatos afectados por MCH felina desde 2005, cuando se publicó la primera causa genética de

MCH felina. La secuenciación del gen completo *MYBPC3* se realizó tras observar una marcada reducción de los niveles de la proteína en el miocardio de gatos Maine Coon afectados (Meurs et al., 2005). La secuenciación de tipo Sanger de los 38 exones que componen el gen *MYBPC3* se realizó en 23 gatos Maine Coon de una misma colonia (16 afectados y 5 controles). La mutación detectada causaba un cambio en el exón 3, el aminoácido alanina del codón 31 estaba sustituido por el aminoácido prolina (c.91G>C; p.Ala31Pro). Todos los afectados fueron portadores de esta mutación, 10 gatos eran portadores en heterocigosis y 6 lo eran en homocigosis (Meurs et al., 2005). En estudios posteriores con un número mayor de gatos, se ha demostrado que esta variante es exclusiva en gatos de la raza Maine Coon, una raza de pelo largo originaria de los Estados Unidos. Únicamente, se han encontrado 3 casos portadores en otras razas distintas: British Longhair (1), Ragdoll (1) y Siberiano (1). Por sus características físicas, la explicación más probable es que se haya dado un cruce reproductivo entre estos gatos y alguno de raza Maine Coon (Fries et al., 2008; Mary et al., 2010).

La variante p.Ala31Pro está localizada en el dominio C0 de la proteína, que interactúa con la miosina. Se trata de una región conservada en muchas especies y los programas *in silico* se contradicen en la predicción de su patogenicidad. GOR4 y Protein Structure Analysis simulan que se produciría un cambio en la estructura de la proteína que repercute en su plegamiento y estabilidad y, por tanto, en su capacidad de integración al sarcómero, mientras que Polyphen la reporta como un cambio benigno (Longeri et al., 2013; Wess et al., 2010).

La prevalencia estimada de esta variante en gatos Maine Coon es de entre el 35% al 42%, mayor que la propia prevalencia de la enfermedad en esta raza en concreto, de 7% hasta 10% (Gundler et al., 2008; Mary et al., 2010). La relación fenotipo-genotipo ha sido estudiada y muestran una relación significativa entre un fenotipo más severo en los portadores homocigotos y mayor riesgo de padecer MCH (Kittleson et al., 1999; Longeri et al., 2013), sin embargo, los resultados en cuanto a pequeñas diferencias entre heterocigotos y no portadores se contradicen dependiendo del estudio (Granström et al., 2015; Sampedrano et al., 2009). Un pequeño porcentaje de gatos Maine Coon con MCH no tienen la mutación p.Ala31Pro (Kittleson & Côté, 2021b) y existen portadores sin fenotipo, incluso en gatos de avanzada edad (Gil-Ortuño et al., 2020).

Aunque anteriormente se había descrito una reducción del nivel de proteína C fijadora de miosina en afectados, Van Dijk et al., 2016 demostraron que el porcentaje de la proteína mutada era mucho menor que la de tipo salvaje, haciendo que la cantidad total de proteína C no fuera diferente en el miocardio de gatos afectados y sanos (van Dijk et al., 2016). Esto apoyaría la hipótesis del péptido venenoso, donde la proteína anormal se incorpora a las miofibrillas y

actúa como proteína dominante negativa causando disfunción sarcomérica (Stern & Ueda, 2018), lo cual explicaría el aumento de penetrancia en los gatos homocigotos (van Dijk et al., 2016). El modelo animal en *Drosophila melanogaster* con esta mutación, muestra la regulación a la baja de los ARNs nucleolares y un plegamiento anormal de la proteína (Kittleson & Côté, 2021b).

La segunda mutación en *MYBPC3* también fue descrita por el grupo de Meurs en 2007 (Meurs et al., 2007). En este caso, tras el estudio de 21 gatos Ragdoll afectados, 8 de ellos eran miembros de dos familias. Se detectó un cambio de arginina por triptófano en el codón 819 (c.2455C>T; p.Arg819Trp) del exón 24. Veinte de los afectados (11 en heterocigosis y 9 en homocigosis) fueron portadores. Se utilizaron 110 gatos de esta y de otras razas como grupo control, uno de los gatos sanos de la raza Ragdoll también era portador de la variante. Ninguna otra mutación se identificó en la parte codificante ni en las regiones de *splicing* del gen *MYBPC3* (Meurs et al., 2007). Los estudios genéticos de esta variante en más de 600 gatos de razas diferentes, incluyendo afectados y controles, demuestran que es exclusiva de los gatos de raza Ragdoll (Borgeat et al., 2014, 2015; Longeri et al., 2013). Aunque el cambio se produce en el codón 819, comúnmente se nombra como p.Arg820Trp para coincidir con la nomenclatura de humanos y no llevar a confusión. En humanos, el codón 820 de la proteína *MYBPC3* es un punto caliente donde se producen distintas variantes infrecuentes (p.Arg820Trp, p.Arg820Pro, p.Arg820Glu, p.Met819Alafs*12) relacionadas con MCH y otras patologías como la miocardiopatía no compactada (Gil-Ortuño et al., 2020; Ripoll Vera et al., 2010). Este codón está localizado en el dominio 6, una región de fibronectina tipo III, aunque se sugiere que puede interactuar con el dominio 9 formando regiones superpuestas que harían un collar alrededor del filamento sarcomérico de miosina de la cadena pesada (Meurs et al., 2007). El estudio *in silico* (con programas PolyPhen, GOR4 and Protean) de esta mutación propuso clasificarla como probablemente dañina. La alteración cambiaría la estructura de la proteína provocando una disrupción en su conformación y un incremento en la hebra extendida, que incrementa la hidrofobicidad en la región alterada (Meurs et al., 2007).

La prevalencia de la variante p.Arg820Trp en gatos Ragdoll es de 34%, siendo 5% en homocigosis. La esperanza de vida en los homocigotos es menor (5,65 años), mientras que no existen diferencias significativas entre los heterocigotos y los no portadores (Borgeat et al., 2014). Un estudio más reciente con datos ecocardiográficos de 64 gatos, reporta diferencias en el grosor de la pared máxima entre portadores y no portadores (Borgeat et al., 2015).

Además de estas dos variantes, varios autores propusieron otra variante de interés en el exón 3 (c.220G>A; p.Ala74Thr) de *MYBPC3*. Esta variante se encontró en varias razas (Bengalí, British Shorthair, Maine Coon, Bosques de

Noruega, Persa, Ragdoll, Siberiano, Sphynx (Longeri et al., 2013; Wess et al., 2010). No existe asociación estadística significativa entre el genotipo y la MCH, la variante estaba presente tanto en gatos afectados como sanos de avanzada edad, incluso con las dos copias de la variante. Este aminoácido se localiza en un dominio no conservado donde se han descrito otras variantes. La predicción computacional (PolyPhen y Modeller9v8) clasifica la variante como no dañina ya que no parece impactar en la estructura de la proteína (Longeri et al., 2013; Wess et al., 2010). Actualmente, se acepta como polimorfismo.

Debido a estos hallazgos, a día de hoy, se recomienda el *screening* de las mutaciones p.Arg31Pro y p.Arg820Trp en *MYBPC3* en gatos Maine Coon y Ragdoll respectivamente, con el fin de disminuir la incidencia excluyendo a los portadores homocigotos para la cría (Fuentes et al., 2020).

3.4.2 Gen MYH7

Otra variante de interés reportada es un cambio del aminoácido Glutamina por Lisina en el codón 1883 en el gen *MYH7* (c.5647G>A; p.Glu1883Lys). Esta variante se encontró en un gato doméstico sin raza de 6 años con signos de paraplejia de las patas traseras, disnea y cianosis que, tras un empeoramiento en su estado clínico, fue sometido a eutanasia. Gracias a la historia familiar se supo que un compañero de camada murió súbitamente a los 2 años. El estudio ecocardiográfico mostraba un aumento de la pared libre del VI, TBE y posible edema pulmonar. La autopsia reportó un tamaño de corazón agrandado con una AI dilatada y una hipertrofia concéntrica con estrechamiento de la luz ventricular. Los espesores de la pared libre del VI, tabique interventricular y pared libre del ventrículo derecho fueron de 12, 9 y 3 mm. El estudio histopatológico confirmó el diagnóstico de MCH mostrando hipertrofia concéntrica con fibrosis intersticial (Schipper et al., 2019). Para realizar el estudio genético se secuenciaron las regiones codificantes de los genes *MYBPC3* y *MYH7*. La variante seleccionada como posiblemente patogénica p.Glu1883Lys, está descrita en humanos con el identificador rs12913652, en una familia emparentada con diagnóstico mixto de miopatía y MCH (Armél & Leinwand, 2009). Dicha variante está clasificada en la base de datos Clinvar como VUS, con una frecuencia poblacional muy baja (MAF<0.01). Se trata de la primera variante reportada en el gen *MYH7* en gatos con MCH. Ninguno de los 200 controles (125 sin raza, 25 British sorthair, 25 Maine Coon, 25 Ragdoll) fueron portadores (Schipper et al., 2019). Hasta el momento no hay otros casos documentados de gatos con esa variante.

El modelo animal de *Drosophila* muestra que la expresión de p.Glu1883Lys altera la alineación de los filamentos gruesos y la estructura del sarcómero. La mosca portadora empeoraba conforme crecía, a la vez que se formaba cuerpos hialinos que recuerdan a la miopatía por almacenamiento de miosina. La capacidad para volar y saltar en estos animales se veía

comprometida, indicando la alteración severa de efectos funcionales (Schipper et al., 2019, p. 1).

3.4.3 Gen *TNNT2*

Con el objetivo de identificar causas adicionales de esta enfermedad en gatos, McNamara et al., 2020 llevaron a cabo la secuenciación del genoma completo mediante secuenciación masiva de una muestra de un gato Maine Coon con alteraciones en el tamaño de las cámaras cardíacas y una hipertrofia septal *borderline* desde los 8 meses, cuyo seguimiento clínico muestra la progresiva dilatación de las cámaras junto a la hipertrofia y la función sistólica conservada (McNamara et al., 2020). La prueba inicial de secuenciación Sanger para detectar la mutación específica de esta raza en el gen *MYBPC3* resultó negativa. Posteriormente, el análisis mediante NGS reveló más de 20,000 variantes. Tras aplicar un proceso de selección mediante la estratificación del riesgo utilizando un panel de 174 genes cardíacos, se identificó una variante en el gen *TNNT2* (ENSFCAG00000004613; c.95-108G>A), que aparecía en homocigosis. El estudio *in silico* (ASSP) predijo que esta variante, pese a estar fuera del exón, incluiría un nuevo sitio aceptor que podría alterar el *splicing*, lo cual generaría una proteína más corta que perdería su función. Tras el estudio de cosegregación en los progenitores, asociaron la variante en homocigosis con la MCH y la IC temprana, pues los padres eran portadores de una sola copia del gen modificada y no manifestaban la enfermedad pese a tener una edad más avanzada (McNamara et al., 2020).

Un estudio posterior de esta variante por otros investigadores pone en duda su patogenicidad y la clasifica finalmente como VUS. Schipper et al., 2019 reportan que la frecuencia alélica de la variante c.95-108G>A en 160 muestras de gatos Maine Coon es de 32%. Además, esta variante aparece en otras razas según la base de datos “The 99 lives”: British Shorthair, Devon Rex, Persian, Ragdoll, Siamese, Tennessee Rex and Thai y otras razas no puras. La razón de probabilidades (odd ratios, OR) para desarrollar MCH en gatos homocigotos para la variante, en comparación con otros genotipos se estima en 1,41, con un intervalo de confianza del 95% de 0,37 a 5,37 y un valor de *p* de 0,61. La predicción *in silico* con los programas GENSCAN, ASSP, SSPNN, ESEfinder y Netgene2, dieron resultados contradictorios. Los programas ASSP y SSPNN sí que predicen que se crea un nuevo sitio aceptor de *splicing* que genera un codón de stop prematuro, sin embargo, la secuenciación del ADN copia del miocardio de dos portadores (uno heterocigoto sano y un homocigoto afectado) no mostraron la incorporación de ninguna secuencia nueva en el intrón 3 (Schipper et al., 2022).

3.4.4 Gen *ALMS1*

En 2021 se publicó un artículo donde secuenciaron el genoma completo de 13 gatos controles de raza de pelo corto (de más de 10 años) y 14 gatos afectados de MCH de la raza Sphynx. Los gatos afectados tenían un grosor de la pared diastólica final del VI de al menos 6 mm para el tabique interventricular y/o la pared libre del VI. Los criterios de selección de variantes fueron que estuvieran presentes en al menos 50% de los afectados y en menos del 5% de los controles. Ninguna de las 189 variantes seleccionadas con un impacto moderado o alto estaba en genes causales comunes y se estudiaron por secuenciación Sanger en una población más grande. Ampliaron el estudio a 68 gatos Sphynx afectados y 214 gatos sanos de otras razas (Bengalí, Birmano, British shorthair, Burmés, Doméstico shorthair, Doméstico longhair, Himalayo, Maine Coon, Manx, Bosques de Noruega, Persa, Ragdoll, Scottish Fold, Siamés). De nuevo se excluían las variantes que estuvieran más del 5 % de los controles, o menos del 50% de los afectados. De 71 gatos Sphynx afectados, 62 gatos (27 heterocigotos y 35 homocigotos) con MCH fueron portadores de la variante p.Gly3367Arg (ENSFCAG00000008756; c.10126G>C) en el exón 12 del gen *ALMS1* (Meurs et al., 2021). Este gen se asocia al Síndrome Alstrom en humanos. Se trata de una enfermedad multisistémica de origen familiar que puede provocar degeneración retiniana, obesidad, sordera neurosensorial y diabetes tipo 2. Las cardiopatías MCD y MCR se han descrito en combinación con este síndrome, pero no la MCH (Marshall et al., 2015). Ninguno de los gatos tenía signos de padecer el Síndrome de Alstrom.

Según este estudio, la asociación con la presencia de MCH en gatos tenía un valor de $p < 0,0001$. Además, los análisis in silico realizados mediante tres programas (Polyphen, SIFT, Provean) revelaron un cambio perjudicial. A nivel de proteína cambiaría la estructura de la región donde se encuentra la variante. Mediante inmunofluorescencia, se comprobó que la actividad proliferativa nuclear estaba aumentada en afectados (Meurs et al., 2021).

La variante también se reportó en 5 de 212 gatos controles de razas diferentes a la Sphynx. Por tanto, no se trata de una exclusiva de gatos Sphynx, ni exclusiva en gatos afectados, ya que también existen gatos Sphynx afectados que no son portadores además de que, en este estudio, no se incluyeron gatos Sphynx como control (Meurs et al., 2021). Las implicaciones de esta mutación en la MCH todavía son inciertas (Kittleson & Côté, 2021b).

3.4.5 Estudios con resultados negativos

Aunque el aumento de la tecnología de secuenciación y el abaratamiento de los costes permite ampliar el estudio de muchos genes, la mayoría de los

estudios genéticos en gatos se han realizado a través de un enfoque de secuenciación dirigida a genes candidatos.

Entre varios ejemplos encontramos un estudio en 2009 con muestras de 14 gatos de diferentes razas (British Sorthair, Bosques de Noruega, Siberiano, Sphynx y Maine Coon) con pared VI y/o grosor de la pared interventricular de 6 mm en diástole y dos controles domésticos shorthair de más de 8 años. Se llevó a cabo la secuenciación de las partes codificantes y de las zonas de *splicing* de 8 genes completos relacionados con la MCH (*ACTC1*, *MYBPC3*, *MYL2*, *MYL3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TPM1*). No se identificó una mutación patogénica que pudiera explicar la MCH en estos gatos. Únicamente se reportaron 33 polimorfismos que no segregan con la enfermedad (Meurs et al., 2009) (Figura 12).

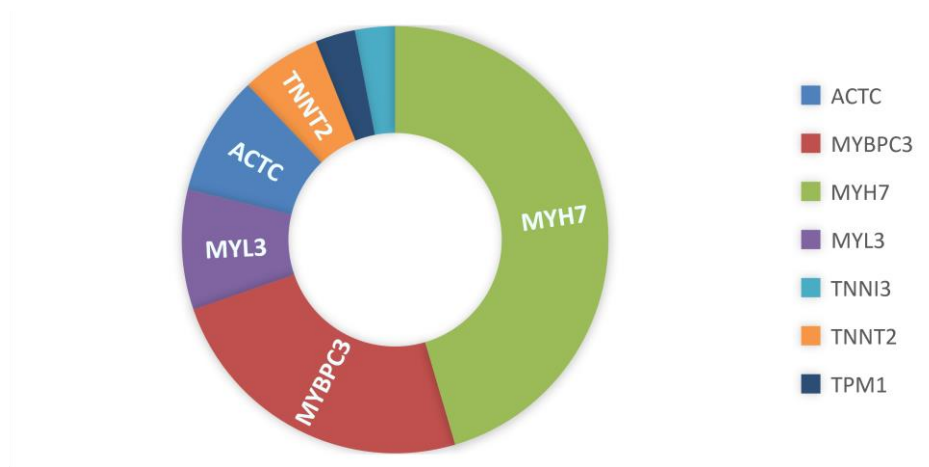


Figura 12. Distribución de los polimorfismos encontrados en la población de estudio de 14 gatos con MCH según el gen.

Otro estudio, se centra en el análisis de la secuenciación tanto de las regiones codificantes como de los sitios de *splicing* de 5 genes candidatos en gatos seleccionados a través de los datos conocidos en humanos (*MYOM1*, *MYBPC3*, *NDUFV2*, *ASPH*, *PFKM*) y del patrón de banda que mostraban las proteínas del miocardio de un gato afectado. Para ello se parte de la evaluación clínica de 7 gatos, 5 afectados de la raza Sphynx y 2 controles Shorthair. No se encontraron mutaciones causales pero si polimorfismos detectados tanto en afectados como en gatos normales de cada gen candidato.

Otros estudios para estudiar las mutaciones descritas en cohortes grandes y heterogéneas han mostrado resultados negativos. O'Donnell et al., 2021 estudiaron una población de 103 gatos, compuesta por 71 gatos domésticos Shorthair, 17 longhair, 4 Persas, 4 gatos Siberianos, 4 Bengalíes, 1 Devon Rex, 1 Siamés y 1 Bosques de Noruega. Las edades oscilaron entre 1 y 18 años con una mediana de 10 años. El grupo incluía 24 gatos hembras y 79 machos. Ninguno de ellos fue portador de las variantes conocidas en *MYBPC3*

(p.Ala31Pro and p.Arg820Trp) ni en *MYH7* (p.Glu1883Lys) (O'Donnell et al., 2021). Esto demuestra que las variantes conocidas tienden a ser exclusivas de una raza concreta.

3.5 Tratamiento y nuevos fármacos

No se recomienda el tratamiento de los gatos sin síntomas y de bajo riesgo (clasificación B1) (Fuentes et al., 2020). El tratamiento se divide en periodos de tiempo preclínico y clínico. Lo más común son los betabloqueantes, inhibidores ACE y antiplaquetarios como los utilizados en humanos. El tratamiento con diuréticos de asa está dirigido en el control de la IC. El uso de fármacos antitrombóticos busca reducir el riesgo de complicaciones como TBE (Kittleson & Côté, 2021b). En casos en los que el pronóstico es muy severo y el bienestar del animal esté viéndose comprometido, se debe recurrir a la eutanasia.

Los gatos pueden servir de intermediario entre los modelos de ratones y los humanos para la evaluación de estrategias terapéuticas, ya que, a diferencia de los ratones, desarrollan SAM y OTSVI (Duncker et al., 2015; Stern et al., 2016). Recientemente, se han utilizado gatos con MCH para el estudio fármacos en fase de ensayo clínico. La sustancia llamada mavacamten o MYK-461, que actúa directamente sobre la miosina inhibiendo la producción de fuerza del sarcómero con el fin de reducir la contractilidad del músculo cardíaco, se probó en 5 gatos con MCH de forma natural. Con la administración intravenosa del fármaco se observó una disminución de los gradientes de presión de TSVI, la eliminación del SAM y la reducción de la contractilidad del sarcómero (Stern et al., 2016). Este fármaco ya había sido probado en modelos murinos de MCH con esperanzadores resultados, aunque se tratase de un modelo más distante del humano. Actualmente, este fármaco se encuentra aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos y la Agencia Europea de Medicamentos y ha sido comercializado. Otro inhibidor de la miosina que ha sido probado en felinos es la molécula aficamtem, CK-274. En este caso, se usaron gatos portadores de la mutación p.Ala31Pro de forma natural y con MCH obstructiva. Los resultados ecocardiográficos muestran reducciones en la función sistólica del VI, el gradiente de presión del TSVI y en tiempos de relajación isovolumétrica que son dependientes de la dosis (Sharpe, Oldach, Kaplan, et al., 2023). El ajuste preciso de la dosis y el efecto a largo plazo aún debe ser evaluado.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Justificación

Aunque los modelos de ratón han sido útiles para caracterizar la genética y la patología celular de la MCH, se han visto limitados por las diferencias en la fisiología de los ratones y los humanos, sobre todo por la ausencia de OTSVI. El gato con MCH es un modelo natural excelente para el estudio de la MCH. Posee similitudes tanto en el fenotipo como en el genotipo con el humano y además tiene una rápida progresión de la enfermedad y puntos finales bien definidos. El felino cuenta con una genética heterogénea y una traslación mucho más fácil por su tamaño y longevidad, están predispuestos a desarrollar la enfermedad antes y de forma más agresiva que los humanos con una frecuencia muy alta.

Los beneficios de las pruebas genéticas en animales permiten una mejor elección de las opciones de atención médica y los planes de tratamiento y puede evitar eventos fatales como síncope, fallo cardíaco y TBE. Además de ayudar a reducir los animales afectados dentro de las razas controlando la reproducción de los portadores genéticos. El avance y el abaratamiento de las técnicas de secuenciación ha posibilitado que en los últimos años se hayan estudiado más la genética de la MCH felina, sin embargo, la importancia clínica de estas variantes no queda clara, ni explican la enfermedad en muchos gatos con resultado genético negativo. Además, existen variantes genéticas compartidas entre gatos y humanos con MCH.

Considerando las semejanzas de la MCH entre hombres y gatos, la exploración de la genética felina puede ayudar a comprender la fisiopatología de la enfermedad y contribuir a mejorar su gestión tanto en el ámbito veterinario como en la caracterización de un modelo más directo de la enfermedad en humanos.

Objetivos

1. Diseñar un panel de genes asociados a MCH felina (descritos y potenciales) basado en tecnología NGS.
2. Estudiar la patogenicidad de las variantes seleccionadas y establecer la relación entre el genotipo y el fenotipo.
3. Comprobar y establecer su rentabilidad para identificar mutaciones en una población de gatos afectados de MCH no emparentados entre sí.
4. Establecer si el grado de homocigosidad puede tener un impacto en el desarrollo de la MCH.
5. Analizar las variantes descritas en la literatura en nuestra cohorte de gatos (con MCH y controles) para evaluar su patogenicidad.

MÉTODOS

1. Selección de casos y muestra de partida

La selección de los gatos se realizó tras una revisión cardiológica en la consulta de Cardiología del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia. Estos gatos fueron evaluados por especialistas mediante un estudio físico y de imagen con un ecógrafo Philips iE33. El criterio para diagnosticar a los gatos afectados fue la medida superior o igual a 6 mm del espesor del septo interventricular y/o pared libre del VI, descartando otras causas que puedan provocar dicho engrosamiento. Los gatos controles no tenían síntomas ni grosores inusuales durante las revisiones en la consulta de Cardiología. A partir de estos criterios se clasificaron según su fenotipo en controles y afectados.

Durante la visita cardiológica se recogieron los datos demográficos de los expedientes de los felinos.

Las muestras biológicas de los animales se obtuvieron mediante punción venosa. La sangre recogida, fue utilizada para el análisis hematológico y bioquímico realizado tras la consulta veterinaria. Posteriormente, se reservaron 400 µl de esta sangre en tubos con anticoagulante EDTA y se almacenaron a 4°C para realizar el estudio genético.

Los dueños de los animales fueron informados de manera oral del tipo de estudio genético y de los objetivos del mismo.

2. Extracción de ADN genómico y cuantificación

La extracción y purificación de ADN se realizó a partir de 400 µl de sangre periférica total del animal utilizando el extractor automático Maxwell 1324 (Promega, Nacka, Suecia) junto al kit comercial Maxwell 16 Blood DNA Purification Kit (Figura 13).

Para analizar la integridad del ADN total, se empleó un enfoque espectrofotométrico utilizando el NanoPhotometer N60 (Implen), que posibilita la determinación de los índices de absorbancia 260/280 y 260/230 (Figura 13). La medición cuantitativa del ADN se llevó a cabo utilizando el equipo Quantus Fluorometer (Promega), un método fluorométrico para la cuantificación del ADN de doble cadena mediante el protocolo suministrado por el fabricante (Figura 13).

La cantidad mínima de ADN de partida para la generación de las bibliotecas fue una dilución de 25 ng/µl de ADN. Se prepararon alícuotas de trabajo a esta concentración, mientras que el excedente de ADN se almacenó - 20°C en el laboratorio de Cardiogenética del IMIB.



Figura 13. Extractor automático Maxwell 16 System para la extracción de ácidos nucleicos (izquierda). Espectrofotómetro NanoPhotometer N60 (centro). Quantus Fluorometer y reactivos para la cuantificación del ADN (derecha).

3. Estudio genético a través de Next Generation Sequencing (NGS)

El estudio de secuenciación masiva se llevó a cabo en 48 gatos de 12 razas distintas.

3.1 Estrategia de diseño

Se diseñó y validó un panel dirigido a un grupo pequeño de genes estrechamente relacionados con miocardiopatías según la bibliografía disponible en humanos (Tabla 7). Además de las zonas codificantes, se incluyeron zonas intrónicas y regiones promotoras no codificantes 3'-UTR y 5'-UTR, que pueden tener un papel importante en la regulación de la expresión de los genes. La estrategia elegida fue emplear un panel de captura por hibridación basado en el enriquecimiento del ADN mediante captura con sondas específicas. Este tipo de paneles permite detectar variantes puntuales y pequeñas indels (inserciones o deleciones).

Tabla 7. Genes seleccionados en el panel.

Gen	ID Ensembl gemona gato (Felis_catus_9.0)	Coordenadas	Nombre
ACTC1	ENSFCAG00000014067	B3:70080059-70085659	α actina cardíaca 1
DES	ENSFCAG00000011256	C1:204379621-204386522	Desmina
DSC2	ENSFCAG00000042132	D3:54937739-55049313	Desmocolina
DSG2	ENSFCAG00000031128	D3:55423102-55574583	Desmogleína
DSP	ENSFCAG00000010022	B2:21370239-21418564	Desmoplaquina
FLNC	ENSFCAG00000000954	A2:146885674-146911934	Filamina C
FHOD3	ENSFCAG00000008802	D3:59630489-60102204	Formin homology 2 domain containing 3
GLA	ENSFCAG00000038099	X:83631654-83639229	Galactosidasa
JUP	ENSFCAG00000002133	E1:42506087-42518462	Placoglobina
LAMP2	ENSFCAG00000004533	X:100973530-101012558	Proteína de membrana asociada lisosómica 2
LMNA	ENSFCAG00000011776	F1:69733953-69758980	Lamina A/C
MYBPC3	ENSFCAG00000002530	D1:101324989-101341953	Proteína C de unión a miosina
MYH6	ENSFCAG00000009092	B3:76134158-76160134	Cadena pesada de miosina 6
MYH7	ENSFCAG00000009092	B3:76165301-76188380	Cadena pesada de miosina 7
MYL2	ENSFCAG00000011170	D3:8973170-8980956	Cadena ligera de miosina 2
MYL3	ENSFCAG00000042196	A2:16290210-16296259	Cadena ligera de miosina 3
PKP2	ENSFCAG00000030734	B4:67117478-67212538	Placofilina
PLN	ENSFCAG00000005573	B2:109748495-109748653	Fosfolamban
PRKAG2	ENSFCAG00000003842	A2:165581663-165842537	Subunidad gamma 2 no catalítica activadora AMP proteín-quinasa
PTPN11	ENSFCAG00000009695	D3:10268070-10345235	Proteína tirosina fosfatasa, no receptor tipo 11
STRN	ENSFCAG00000012784	A3:112982715-113073733	Estriatina
TMEM43	ENSFCAG00000001863	A2:55373198-55388657	Proteína 43 transmembrana
TNNC1	ENSFCAG00000015714	A2:21044756-21047572	Troponina C1
TNNI3	ENSFCAG00000005628	E2:3439821-3450055	Troponina I3
TNNT2	ENSFCAG00000004613	F1:42194772-42209527	Troponina T2
TPM1	ENSFCAG00000037855	B3:43987226-44036037	Tropomiosina 1
TTR	ENSFCAG00000011314	D3:55510444-55517530	Transtirretina

3.2 Calidad del ADN de las bibliotecas

Como puntos de control en el proceso de generación de las bibliotecas, la integridad de las muestras de ADN se evaluó con el sistema TapeStation 4200 (Agilent Technologies, Santa Clara, EEUU).

Se utilizaron dos tipos de ensayos específicos para evaluar la integridad del ADN: el ScreenTape D1000 y el D1000 de alta sensibilidad. La longitud prevista de los fragmentos fue de 245-325 pares de bases para las bibliotecas de precaptura y 325-450 pb para las bibliotecas finales. La preparación se llevó

a cabo conforme a los procedimientos establecidos por el proveedor antes de cargarlo en el equipo Agilent TapeStation 4200. Este dispositivo realizó una electroforesis automática que combina la electroforesis capilar con la detección de fluorescencia, posibilitando la medición precisa del tamaño, la concentración y la integridad del ADN.

3.3 Preparación de las bibliotecas

El enriquecimiento consiste en seleccionar las regiones de interés mediante la técnica de hibridación de ácidos nucleicos. En nuestro caso el protocolo fue adaptado para su realización en 4 días (Figura 14) siguiendo las pautas y directrices establecidas por el protocolo SureSelect QXT (Agilent Technologies, Santa Clara, EEUU).

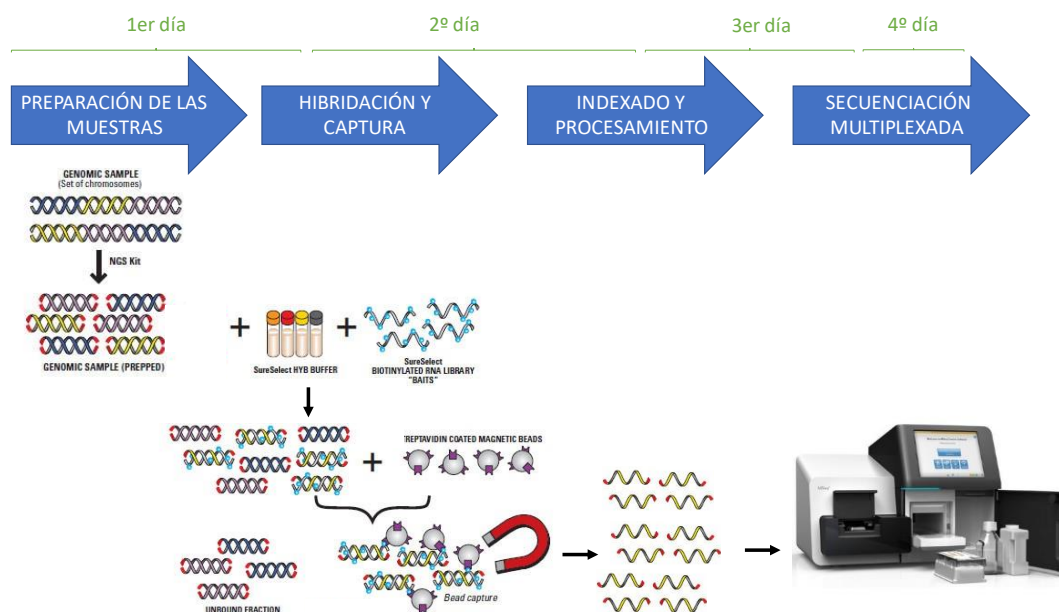


Figura 14. Protocolo SureSelect QXT de Agilent Technologies para la preparación de bibliotecas de secuenciación.

3.3.1 Preparación de las bibliotecas

El ADN de partida se fragmentó enzimáticamente y se realizó la ligación de adaptadores a los extremos de forma individual. Para ello, se añadieron 17 µl del SureSelect QXT Buffer, 2 µl de ADN de cada muestra y 2 µl de SureSelect QXT Enzyme Mix. Esta combinación se incubó a 45°C durante 10 minutos, seguidos de un minuto a 4°C. Posteriormente, se detuvo la actividad enzimática mediante la adición de 32 µl de la solución de parada 1X SureSelect QXT Stop Solution. Se llevaron a cabo dos purificaciones utilizando bolas AMPure XP y etanol fresco al 70%, tras lo cual se recolectó el eluyente.

A continuación, se procedió a la reparación y a la amplificación de las librerías a través de una PCR (reacción en cadena de la polimerasa), con la adición de los reactivos que se detallan en la Tabla 8.

Tabla 8. Reactivos para amplificación de adaptadores.

Reactivos	Cantidad* (µl)
Agua libre de nucleasas	425
Hercalase II 5X Reaction Buffer	170
100 mM dNTP Mix	8,5
DMSO	42,5
SureSelect QXT Primer Mix	17
Herculase II Fusion DNA Polymerase	17
TOTAL	680

*cantidades para 16 muestras con exceso.

Se estableció la programación del termociclador de la siguiente manera: 68°C durante 2 minutos, seguido de 98°C durante 2 minutos. A continuación, se realizaron 8 ciclos que consistieron en desnaturalización a 98°C durante 30 segundos, hibridación a 57°C durante 30 segundos y elongación a 72°C durante 1 minuto. Posteriormente, se incubó durante 5 minutos a 72°C y la temperatura se redujo a 4°C.

Posteriormente, se llevó a cabo una purificación empleando bolas magnéticas AMPure XP. Para concluir, se evaluó la calidad de las bibliotecas mediante TapeStation 4200.

3.3.2 Hibridación y captura

La ampliación selectiva de la biblioteca en las regiones de interés se logra mediante el proceso de hibridación y captura, utilizando sondas complementarias y basándose en la afinidad biotina-estreptavidina. Para generar y enriquecer las bibliotecas, se prepararon 12 µl de cada muestra conteniendo 750 ng de ADN, a los cuales se les añadieron 5 µl de SureSelect QXT Fast Blocker Mix. Esta mezcla se introdujo en el termociclador con la siguiente configuración: 95°C durante 5 minutos, seguido de 65°C durante 10 minutos y un minuto a 65°C (pausa), seguido por 60 ciclos de 65°C durante 1 minuto y 37°C durante 3 segundos, y finalmente se mantuvo a 65°C. En el momento de la pausa, se le añadieron 13 µl de la mezcla de los reactivos descritos en la Tabla 9 y se reanudó el programa del termociclador.

Tabla 9. Reactivos para hibridar las muestras de ADN con la biblioteca de captura.

Reactivos	Cantidad* (µl)
25% RNase Block solution	34
Capture Library < 3 Mb	34
SureSelect QXT Fast Hybridization Buffer	102
Agua libre de nucleasas	51
TOTAL	221

*cantidades para 16 muestras con exceso.

Para capturar el ADN, se emplearon bolas magnéticas con recubrimiento de estreptavidina. De acuerdo con el protocolo, las Dynabeads MyOne Streptavidin T1 fueron preparadas con anticipación antes de su unión con las muestras, una vez completada la hibridación. Tras 30 minutos de agitación, se descartó el sobrenadante mientras las bolas permanecían unidas al soporte magnético. Posteriormente, se añadieron 200 µl de SureSelect Wash Buffer 1, se mezcló y se eliminó el sobrenadante. Seguidamente, se llevaron a cabo tres lavados utilizando 200 µl de Wash Buffer 2, precalentado a 65°C. En la etapa final, se adicionaron 23 µl de agua libre de nucleasas para la elución final.

3.3.3 Adición de índices y amplificación post-hibridación

Antes de la unión de las diferentes muestras, se incorporaron una combinación única de índices para cada muestra, que servirán como etiquetas que facilitarán su distinción durante la secuenciación. Este proceso implica la preparación de los reactivos de la PCR según la Tabla 9.

Tabla 9. Reactivos para amplificación post hibridación.

Reactivos	Cantidad* (µl)
Agua libre de nucleasas	229,5
Herculase II 5× Reaction Buffer	170
100 mM dNTP Mix	8,5
Herculase II Fusion DNA Polymerase	17
TOTAL	425

*cantidades para 16 muestras con exceso.

A cada 25 µl de mezcla, se incorporaron los 23 µl recogidos en el paso anterior, junto a 1 µl del cebador índice P7 y 1 µl del cebador índice P5. Seguidamente, las muestras se introdujeron en un termociclador configurado de la siguiente manera: 98°C durante 2 minutos, seguido de 14 ciclos que incluían 30 segundos a 98°C, 30 segundos a 58°C y 1 minuto a 72°C; posteriormente, 5 minutos a 72°C y finalmente, se mantuvo a 4°C. Al concluir el programa, se recolectaron 50 µl del sobrenadante y se procedió a retirar las bolas magnéticas.

A continuación, se procedió a una nueva purificación usando bolas AMPure XP y se llevó a cabo un control de calidad para verificar tanto el tamaño del fragmento como la concentración de cada biblioteca.

De acuerdo a las instrucciones del protocolo "Denature and Dilute Libraries Guide" Document #15039740 v01 (Illumina, Inc., San Diego, EEUU), se preparó una mezcla equimolar de las muestras. Se agregaron 4 nM de cada muestra para diluir la mezcla a 20 pM y, posteriormente, a 12 pM. La desnaturalización de esta biblioteca se llevó a cabo utilizando NaOH al 0,2 N diluido.

La secuenciación de las regiones capturadas se efectuó utilizando la plataforma MiSeq de Illumina (Illumina, Inc., San Diego, EEUU). Siguiendo las indicaciones de Illumina y considerando la capacidad del cartucho, en nuestro caso un panel de < 3 Mb donde se buscaba secuenciar lecturas bidireccionales (pair-end) de 75 pb.

3.4 Análisis de variantes

El análisis bioinformático se dividió en 3 fases (Figura 15). En el análisis primario, donde el propio secuenciador de Illumina realizó el *demultiplexing*, dividiendo las lecturas de secuencias en archivos separados para cada muestra etiquetada con un par de índices distintos, y llevó a cabo el *base calling*, asignando cada nucleótido a una señal específica de intensidad de luz y ordenándolos para formar los archivos fastq.

La fase de análisis secundario implicó el mapeo de las lecturas contra un genoma de referencia y el llamado de variantes para anotar aquellas posiciones donde la lectura de la muestra difería de la utilizada como referencia. Se utilizó nf-core/sarek, un flujo de trabajo diseñado para detectar variantes que integra diversas herramientas para el análisis.

En la fase de análisis terciario, se anotó la información adicional de la variante y se procedió al filtrado de las variantes.

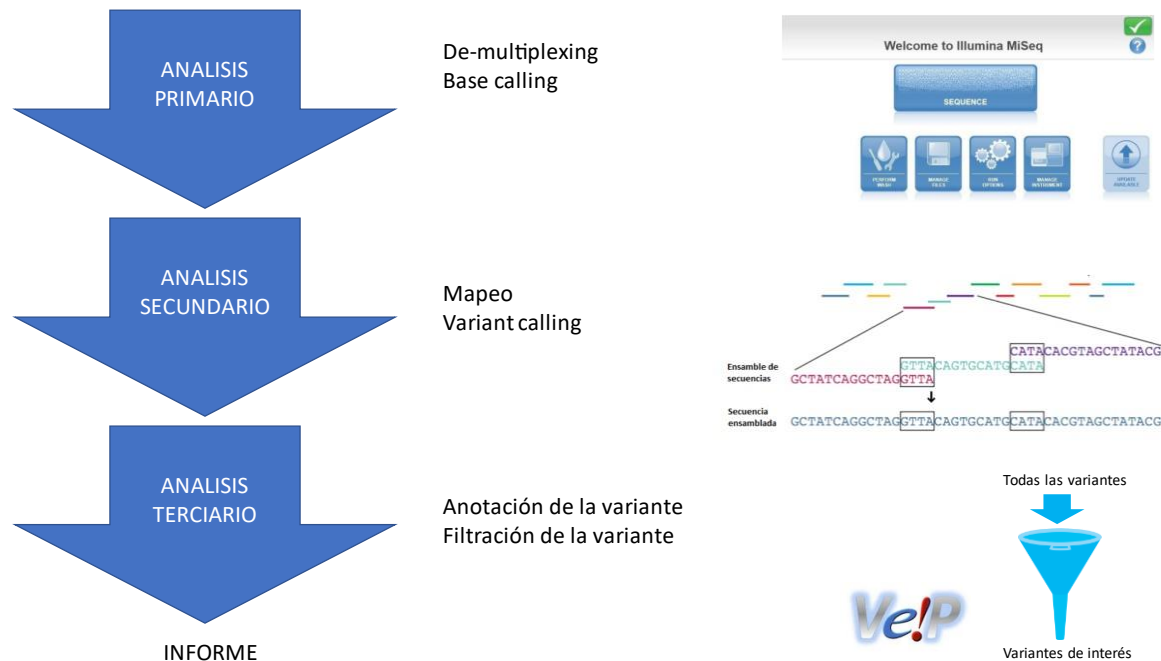


Figura 15. Fases del análisis bioinformático de los resultados obtenidos en la secuenciación masiva.

3.4.1 Análisis de calidad

El análisis de calidad permitió verificar que la secuenciación fue precisa y no presentó errores de instrumentación u otros tipos. Desde el propio secuenciador (Miseq, Illumina), se obtuvieron datos de calidad de la carrera para verificar la uniformidad entre las muestras, incluyendo rendimiento, densidad de cluster, distribución de calidad y distribución de lecturas en cada muestra. Además de los criterios proporcionados por el secuenciador, utilizamos el programa FastQC y MultiQC para realizar el control de calidad. Estos programas generaron un conjunto de gráficos y tablas que facilitaron la evaluación de la calidad de la muestra a partir de los archivos fastq recopilados del secuenciador.

3.4.2 Mapeo y alineamiento contra la secuencia de referencia

Utilizamos la versión más reciente del genoma de gato, Felis_catus_9.0.106, como genoma de referencia. El objetivo era organizar las lecturas obtenidas en aquellas posiciones del genoma donde coincidieran. El archivo resultante (archivo BAM) proporcionó información sobre cuántas veces se había leído una determinada posición del genoma. Cuanto mayor sea el número de lecturas menor será la probabilidad de que esté anotada de forma errónea. En este aspecto, distinguimos entre los términos "cobertura" y "amplitud de cobertura", refiriéndonos con profundidad de cobertura, al número de veces

como el tipo de variante (sinónima, *missense*, *splicing*, *frameshift*, truncamiento), su ubicación (exón, intrón, zona de *splicing* y regiones UTR), si estaba registrada en bases de datos genómicas y el posible impacto del tipo de variante.

3.5 Análisis y selección de variantes

Después de anotar las variantes, se llevó a cabo un proceso de filtrado tomando en consideración los siguientes criterios:

- Información en la literatura y bases de datos: Se consideró la información disponible en la literatura científica y en diversas bases de datos relevantes, utilizando tanto información de felinos como de humanos.
- Tipo de variante: Por su relevancia clínica, se optó por seleccionar variantes exónicas, excluyendo las variantes sinónimas. Además, se tuvieron en cuenta las variantes ubicadas en las secuencias flanqueantes de los exones, dentro de un rango de ± 8 pb.
- Presencia en el grupo control: Se seleccionaron aquellas variantes que tenían una frecuencia menor al 0,05 en el grupo de controles.
- Predicción *in silico* del efecto de la variante: Se utilizó el programa SIFT, integrado en el informe obtenido a través de VEP, para evaluar las predicciones computacionales sobre el impacto funcional de las variantes en gatos.
- Conservación de la variante entre diferentes especies: Se procedió a estudiar la variante homóloga en humanos para evaluar su grado de conservación.

3.6 Cálculo de variantes en homocigosis

Para evaluar si el número de variantes homocigotas y si el grado de homocigosidad podía estar implicado en el desarrollo del fenotipo, se calculó el número de variantes homocigotas por gen. El cálculo de la homocigosis de cada individuo se realizó dividiendo el número de sitios (posiciones genómicas) donde se ha identificado una variante en homocigosis entre la longitud en pares de bases leídas. Para identificar las posiciones con variantes en homocigosis en el genoma de los gatos, se utilizó la herramienta "bcftools roh".

4. Secuenciación Sanger

Todas las variantes seleccionadas tras el estudio de secuenciación masiva se confirmaron por secuenciación Sanger. Además, se realizó el estudio

de secuenciación de estas variantes en una población de 86 nuevos gatos, haciendo la población más heterogénea y numerosa.

4.1 Diseño de cebadores

Para el diseño de cebadores se utilizó el programa online Primer3Plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) usando las secuencias de referencia de los genes de la base de datos Ensembl o NCBI (Tabla 10). Entre los principales criterios para asegurar un óptimo funcionamiento está priorizar cebadores que tengan una temperatura de alineamiento (Tm) de entre 57 y 70°C, que el porcentaje de GC sea 50-60%, que la longitud del cebador sea en torno a 20 pb y el tamaño del amplicón sea menor de 700pb, además de seleccionar zona de alineamiento con el cebador sin polimorfismos e incluir las zonas flanqueantes al exón.

Para comprobar la especificidad de los cebadores, se utilizó la herramienta PCR *in silico* (UCSC) (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>) que ofrece una visualización del fragmento teórico que se obtendría con los cebadores, comprobando que sean específicos de una única zona en el genoma.

Tabla 10. Cebadores diseñados para la secuenciación Sanger y sus condiciones.

Nombre	Secuencia de los primers (5->3)	Tamaño del producto (pb)	Temperatura
ALMS1-EX17	TCACACTGCAACACTCCTATTG TTACCTGCATTATCTTTCTGAGG	298	Td 62-60°C
DES- EX1	AGCCTGTCCCACACCTCTTA GGTCAGGAACCTCTGGTTCA	596	Td 62-60°C
DES- EX3	TCTCCACGGCCAGTTTTATC CCCTCACCGGGGTCTAAAG	382	Td 62-60°C
DSG2- EX15	GGTCCTGGACAGCCACAG AGAGAGGTCCGTTGGAACA	571	Td 65-63°C
DSP- EX20	GCTCATCTTCTAAGGCTGACCT CAAAGCAAGCACTTCCCATT	294	Td 62-60°C
DSP- EX23	GCTCCGAGGACAATGCTC CGTTTCCGTTCACTGGTTTC	592	Td 62-60°C
DSP- EX24	AGGGTGGTCCTGGTAGACAG TTCTTTTACCGCCTCTGCTG	600	Td 62-60°C
FHOD3- EX10	ATTAAGGGGAGCGTGGAATG CCTTTTCAGGATCCTTGTGC	396	Fija a 58°C
FHOD3- EX24	TCACCCCTACTTTGGTCTCG GGTGGTCATTGGGGGAAG	248	Td 62-60°C
FHOD3- EX25	CTCCGTGCCTGGAAGAGTAG AGCCTTTTGCCGATGAGTT	398	Td 62-60°C
JUP- EX8,9	GATTCTCCAGATGCCAAGA CTTTCAGCAACGGGGATG	580	Td 65-63°C
MYBPC3- EX2	TGTCCGCATATGAGAAATGG CTGGGTGAGGGAGAGATGG	497	Td 62-60°C

MYBPC3- EX3	GCTTAGAAGCTGCTCCACGA AGCAGAGGCCTTTGTGACCT	240	Td 62-60°C
MYBPC3- EX19	CTACCACGAGACTGGGGTGT CACTCCAGCTTCCTTGCTCT	369	Td 62-60°C
MYBPC3- EX21	GATGATACCCTCCAGGCTGA GGAAACCGTGTAGGCAGAAA	213	Td 62-60°C
MYBPC3- EX30	GTAGGACCTGACCCCCAGAG GGGTGGGAGTAAAGGTACAGC	229	Td 62-60°C
MYH6- EX27	TCGGAAATGAGCCTGTCTGT CTCTGCCTGTCTTGCTCCTT	296	Td 62-60°C
MYH6- EX28	GGTATTGTGGGGAGGAGGAT AGGAGGAGGTCCCAGTCTTC	398	Td 62-60°C
MYL2- EX5	TCAACTTCTCCTGGGCTGAC AAAGGCCAACCATGACTGAG	249	Td 62-60°C
PKP2- EX1	AGCGTCTTCCGCAGGTCT AGAATGAGGGTTGGGTAGGG	353	Td 62-60°C
PKP2- EX3	GGCCAACCTCTTCATGTGAT TGTCCCACAGATTGACAAGG	848	Td 62-60°C
PKP2- EX9	TTGGGAGGTTTACAGGATGC GAAACCAAGAGTCCGATGCT	498	Td 62-60°C
TNNT2- EX1	AAAGGCAGCCATAGGCAGTA CCTCCACACCATGAGCAAG	400	Td 62-60°C
TNNT2- EX2	AGTGTCTGCAGGACGGAGAA CTCACACGGCCTCTGTCTC	222	Td 62-60°C
TTR- EX3	ATGTGCGTGATGTCACCTTG CCTCTGCATATTCATGGAACG	221	Td 62-60°C

pb: pares de bases. Td: Touchdown

4.2 Amplificación de ADN, comprobación y purificación

La amplificación del ADN se realizó mediante PCR utilizando los siguientes reactivos: PCR Buffer 10x, 1U Hot Start Taq DNA polimerasa, 5 mM de dNTPs, 10 µM de cada cebador de amplificación y 20 ng de ADN.

La configuración del termociclador fue la siguiente: una activación inicial de la enzima polimerasa a 95°C durante 15 minutos, seguida de 45 ciclos a 94°C durante 1 minuto, 45 segundos a la temperatura de hibridación específica del cebador y 72°C durante 1 minuto. Finalmente, se llevó a cabo una extensión a 72°C durante 10 minutos. Se utilizaron dos programas "touchdown", donde la temperatura de hibridación disminuyó gradualmente.

Dado que los primeros exones presentan un contenido de GC más elevado, lo que complica su secuenciación, se empleó el kit GC-RICH PCR (Sigma-Aldrich) para los cebadores diseñados en el exón 1. Para la primera master mix, se combinaron agua, 1 µl de cada cebador a 10 nM (forward y reverse), 5 µl de cada cebador a 10 nM y la solución GC-Rich resolution, junto con el ADN. En la segunda mezcla, se incluyeron 4 µl de agua, 10 µl de 5x GC-RICH PCR Reaction buffer con DMSO y 1 µl de GC-RICH PCR System enzyme mix. De esta segunda mezcla, se añadieron 15 µl a cada muestra. La amplificación se realizó en el termociclador con una desnaturalización inicial de 3 minutos a 95°C, seguida de 10 ciclos a 95°C durante 30 segundos, 62°C

durante 30 segundos y 72°C durante 45 segundos, y luego 25 ciclos a 95°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos y 72°C durante 45 segundos, seguido de una elongación final de 7 minutos a 72°C antes de enfriar a 4°C.

La confirmación de la amplificación correcta y específica se llevó a cabo mediante electroforesis en un gel de agarosa al 2% con tampón TBE 1x (Invitrogen). El tamaño del amplicón se visualizó utilizando un marcador de peso molecular de 100 a 2000 pb (100 bp DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific) en un transiluminador (UVP BioDoc It Gel Imaging System).

Posteriormente, los cebadores y los dNTPs residuales se eliminaron mediante un tratamiento enzimático utilizando el kit ExoStart (Sigma). Se añadieron 2 µl de la mezcla ExoStart a 5 µl del fragmento amplificado en la PCR, seguido de una incubación de 15 minutos a 37°C y luego 15 minutos a 80°C.

4.3 Reacción de secuenciación y purificación. Análisis de secuencias.

Para llevar a cabo la secuenciación, se empleó el kit BigDye Terminador v1.1 de (Applied Biosystems). La mezcla de reacción incluyó 1 µl de 10x Buffer sequencing, 1 µl de BigDye™ Terminator v1.1 Ready Reaction Mix, 1 µl del cebador (ya sea Forward o Reverse) a una concentración de 3,2 µM, 1 µl del producto de PCR previamente purificado y 4 µl de agua de grado molecular. El programa en el termociclador para la reacción constó de una etapa inicial de 1 minuto a 96°C, seguida de 25 ciclos compuestos por 10 segundos a 96°C, 5 segundos a 50°C y 4 minutos a 60°C.

Para eliminar residuos de reactivos no utilizados en la reacción de secuenciación, se usó una placa OPTIMA DTR 96-Well Plate (EdgeBio) que permitió filtrar los productos de las reacciones de secuenciación mediante centrifugaciones: 3 minutos a 800g para eliminar el exceso de agua y 5 minutos a 900g para eluir el producto purificado. Posteriormente, se añadieron 10 µl de Hi-Di Formamide (Applied Biosystems) para prevenir la formación de estructuras entre las cadenas de ADN antes de la secuenciación propiamente dicha en un secuenciador ABI3500 (Applied Biosystems).

El análisis de los electroferogramas se llevó a cabo utilizando el software "SeqScape v.2.5" y "Sequencing Analysis v.5.2", ambos de Applied Biosystems.

5. Determinación de la patogenicidad de las variantes

Para evaluar la potencial patogenicidad de las variantes, seguimos un enfoque que implica identificar variantes ortólogas en humanos a través del alineamiento de secuencias genéticas. La conservación entre especies se

visualizó a través de la herramienta Jalview mediante un alineamiento múltiple entre distintas especies. Para realizar predicciones *in silico*, utilizamos el programa SIFT específico para gatos, el cual determina si un cambio de aminoácido es perjudicial o tolerado.

Con el fin de contextualizar la frecuencia de las distintas variantes, realizamos comparaciones utilizando bases de datos poblacionales como ExAC, 1000G y TOPMED. La clasificación de las variantes en humanos se basó en las pautas recomendadas por la sociedad ACMG/AMP del año 2015 (Richards et al., 2015), utilizando la calculadora InterVar (wglab.org). Adicionalmente, realizamos búsquedas en bases de datos clínicas como ClinVar y LOVD para identificar posibles clasificaciones previamente establecidas de patogenicidad, así como referencias en artículos publicados en la literatura.

6. Revisión sistemática y metaanálisis

Para la revisión sistemática y el posterior metaanálisis de la variante p.Ala31Pro en *MYBPC3*, se procedió a la selección y filtrado de las cohortes siguiendo los criterios PRISMA. Luego de una exhaustiva revisión, se excluyeron los artículos que tenían baja relevancia, aquellos que carecían de datos o que presentaban la posibilidad de incluir gatos emparentados. Asimismo, se excluyeron artículos que pudieran haber empleado la misma población en diferentes publicaciones (Figura 17). Para llevar a cabo los procedimientos estadísticos y crear el gráfico Forest Plot, utilizamos el paquete 'metafor' en el entorno de programación R.

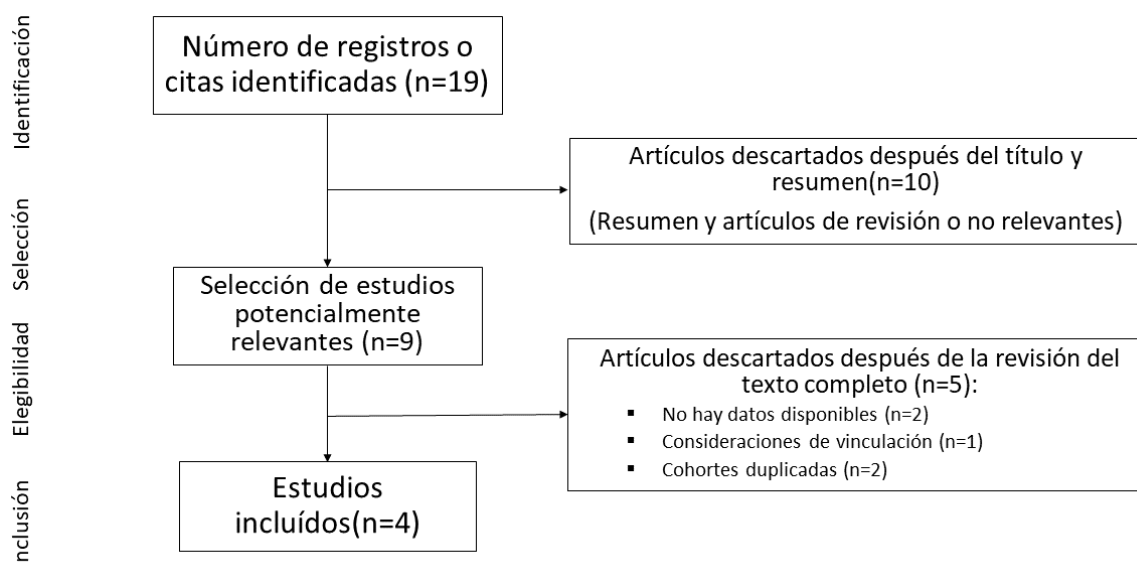


Figura 17. Diagrama de flujo para el proceso de selección de cohortes para el metaanálisis de la variante *p.Ala31Pro* en *MYBPC3*.

7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software SPSS v28 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

La descripción de la población total del estudio se realizó mediante el cálculo de estadísticas descriptivas básicas. Los datos se presentan como media $\pm$ desviación estándar (DE), rango o frecuencia (porcentaje). Se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución normal de las variables cuantitativas. Las comparaciones entre variables cuantitativas se efectuaron mediante pruebas T de comparación de medias, la prueba U de Mann-Whitney y ANOVA de un factor para comparaciones entre más de dos grupos.

El equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) fue evaluado mediante la prueba χ^2 . Aquellas variantes que no cumplieran con el equilibrio de HWE fueron excluidas del análisis. El nivel de significancia adoptado fue $p > 0,05$. Las frecuencias alélicas fueron calculadas a partir de los genotipos de todos los gatos. Se determinó el grado de asociación de las variantes mediante OR e intervalos de confianza del 95%. Las variantes genotipadas fueron evaluadas considerando diversos patrones de herencia: codominante (A/A vs A/a vs a/a), dominante (A/A vs A/a + a/a), recesiva (A/A + A/a vs a/a) y sobredominante (A/A + a/a vs A/a). Para estos cálculos se utilizó el software SNPstats (<https://www.snpstats.net/start.htm>).

En todos los análisis, se consideró un valor de p asociado a la prueba estadística de contraste menor a 0,05 para establecer la significancia estadística.

RESULTADOS

1. Características generales de la cohorte de gatos

La secuenciación masiva se llevó a cabo en 48 gatos, de los 134 individuos incluidos en el estudio (Anexo, Tabla 23). Todos los sujetos fueron previamente evaluados en la consulta de cardiología del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia. Las principales características de esta cohorte se detallan en la Tabla 11.

Para la categorización de los grupos, se clasificaron según su fenotipo en: 13 controles (27,1%), y 35 afectados (72,9%). La población total muestra una predominancia de individuos de género masculino, representando el 60,4% del total. Al estratificar por fenotipo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,180$) entre el grupo de control, con 6 (46,2%) gatos macho, y el grupo de individuos afectados, que estaba compuesto por 23 individuos (65,7%).

En lo que respecta a la edad en la que fueron sometidos a evaluación clínica, los gatos del grupo control presentaban una edad media de $5,5\pm 3,0$ años, con un rango que iba desde el año de edad hasta los 10 años. En el grupo de individuos afectados, la edad media en el momento del diagnóstico fue de $6,5\pm 4,1$ años, con individuos identificados en un rango de edades que variaba desde 1 hasta 14 años. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las edades de diagnóstico de los dos grupos ($p=0,607$).

En este estudio se incluyeron gatos de diversas razas, siendo las razas más representativas los gatos comunes europeos, 18 (37,5%), seguidos por los ejemplares Persa, 12 (25,0%).

Tabla 11. Características de la cohorte de individuos seleccionados para la realización de la secuenciación masiva.

	CONTROLES	AFECTADOS	TOTALES	p valor
n	13	35	48	
Sexo (machos,%)	6 (46,2%)	23 (65,7%)	29 (60,4%)	0,180
Edad (años)				
media ± DE	5,5±3,0	6,5±4,1	6,2±3,8	0,607
[mínimo-máximo]	1-10	1-14	1-14	
Razas				
Bengalí	1 (7,7%)	-	1 (2,1%)	
Bosques de Noruega	1 (7,7%)	-	1 (2,1%)	
British Shorthair	-	1 (2,9%)	1 (2,1%)	
Cartujo	-	1 (2,9%)	1 (2,1%)	
Común Europeo	4 (30,8%)	15 (40,0%)	19 (37,5%)	
Devon Rex	1 (7,7%)	-	1 (2,1%)	
Maine Coon	2 (15,4%)	-	2 (4,2%)	
Mezcla de Angora	-	1 (2,9%)	1 (2,1%)	
Persa	2 (15,4%)	10 (28,6%)	12 (25,0%)	
Ragdoll	1 (15,4%)	2 (5,7%)	3 (8,3%)	
Scottish Fold	-	1 (2,9%)	1 (2,1%)	
Sphynx	-	4 (11,4%)	4 (8,3%)	
No conocida	-	1 (2,9%)	1 (2,1%)	

DE: desviación estándar

De los 35 gatos con MCH, se ha documentado que un total de 6 individuos (17,1%) fallecieron durante el estudio (Tabla 12). Las causas de su deceso se relacionaron principalmente con ICC y TBE. Salvo el caso C78, todos estos individuos eran machos menores de 5 años. El individuo C78 es una hembra de edad avanzada diagnosticada de MCH que carecía de sintomatología clínica al momento de la consulta. Los gatos fallecidos pertenecían a las razas más representadas dentro de nuestra cohorte, específicamente al gato común europeo y a la raza Persa.

Tabla 12. Características de los individuos fallecidos.

Individuo	Sexo	Edad (años)	Raza	Causa
C32	Macho	1	Común europeo	ICC
C52	Macho	2	Persa	ICC+TBE
C62	Macho	3	Común europeo	Desconocida
C72	Macho	5	Común europeo	ICC + TBE
C78	Hembra	14	Persa	Asintomática
C90	Macho	3	Persa	TBE sin edema pulmonar

ICC: insuficiencia cardíaca congestiva. TBE: tromboembolismo.

2. Datos generales de la secuenciación

2.1 Calidad de las lecturas

A partir de los archivos fastq obtenidos de la plataforma MiSeq, llevamos a cabo la evaluación de la calidad de los datos brutos de secuenciación utilizando las herramientas FastQC y MultiQC. Los parámetros de calidad evaluados nos permiten determinar si el experimento se ha ejecutado de manera precisa y si los resultados generados pueden ser empleados con un alto grado de confianza.

En todos los individuos sometidos a secuenciación, se observa una calidad de lectura muy alta (Phred score>30) a lo largo de toda la secuencia (Figura 18A). Esto implica que la probabilidad de que se produzca un error en la identificación de una base es extremadamente baja, 1 error en 1000 bases (con una precisión del 99,9%).

Adicionalmente, verificamos que el tamaño de las lecturas es el determinado (75 pb), que se encuentra dentro de los parámetros esperados (Figura 18B), y que la presencia de bases no definidas es mínima (Figura 18C). El porcentaje de contenido GC varía en un rango que va desde el 43,0% hasta el 52,0% en todas las muestras (Figura 18D).

La media de lecturas por muestra es de aproximadamente 1,51 millones de lecturas, y se observa un 24,3% de duplicaciones (Figura 18E). En ninguna de las muestras se detectó contaminación debido a la presencia de adaptadores unidos a los fragmentos de ADN, y tampoco se identificaron secuencias sobrerrepresentadas en más de un 1,0%.

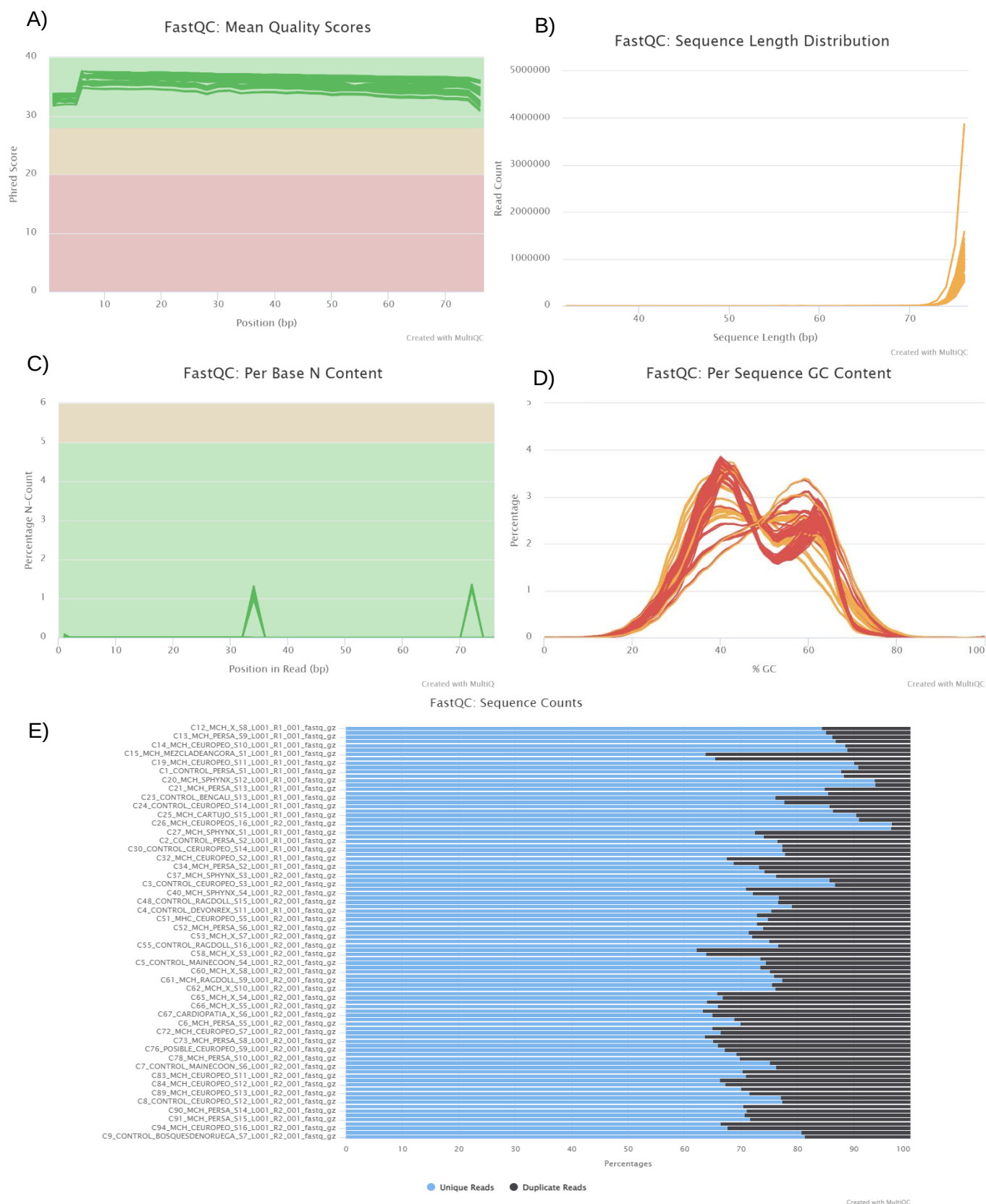


Figura 18. Datos sobre la calidad de las lecturas obtenidas mediante secuenciación masiva. A) Calidad de las lecturas según su posición. B) Distribución del tamaño de las lecturas. C) Porcentaje de bases no identificadas y añadidas como “n” a lo largo de la lectura. D) Porcentaje del contenido GC según la muestra. E) Recuento del número de lecturas por muestra, diferenciando lecturas “Forward” y “Reverse”.

Durante la validación de la correcta secuenciación de nuestro panel, verificamos la amplitud de cobertura en cada muestra, asegurándonos de que las regiones codificantes de los genes habían sido secuenciadas (Anexo, Figura 52). Además, al evaluar la profundidad de la cobertura, observamos que la media de lecturas por gen en las partes codificantes superaba las 15 lecturas en todas las muestras secuenciadas, obteniendo una cobertura media total de 65x (Figura 19).

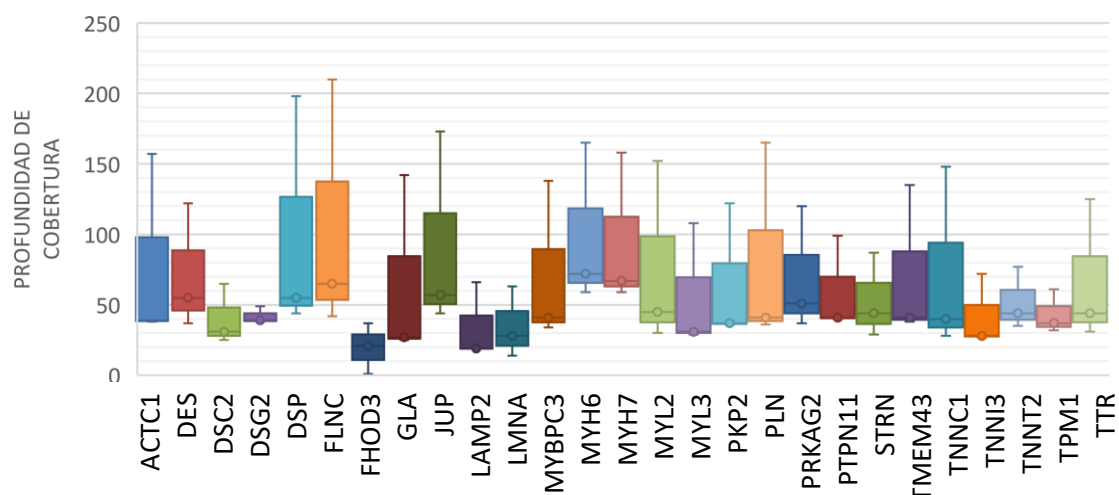


Figura 19. Representación de la profundidad de cobertura en los genes secuenciados.

2.2 Estudio de la variación genética en los genes asociados a cardiopatías

2.2.1 Identificación de variantes en una cohorte de gatos secuenciados mediante NGS

Para la evaluación de la variabilidad genética en la población total (incluye gatos control y gatos afectados) se registraron todas las variantes diferentes encontradas en cada gen. En total, hemos identificado 564 variantes en las regiones codificantes y de *splicing* en los genes seleccionados (incluyendo variantes sinónimas). Cuando comparamos estas variantes con las reportadas en la base de datos Ensembl (último acceso: 24 octubre 2023) observamos que más del 90,0% de las variantes identificadas no habían sido previamente registradas (Tabla 13).

En concreto, la mayoría de las variantes publicadas en la base de datos se concentran en los genes *MYH7* y *MYBPC3*, que han sido los más estudiados en la literatura. En nuestra cohorte de 48 gatos, además de *MYH7*, *MYBPC3*, observamos más variantes respecto al tamaño del transcrito, en los genes

PRKAG2, DSG2, TMEM43, DSC2, TNNI3, JUP, MYH6, DSP, FLNC, TNNT2 y *PKP2*. En cuanto a los demás genes, encontramos más variantes distintas en nuestra cohorte que en los datos públicos, aunque las variantes registradas fueron menores con respecto a su tamaño. Los únicos genes donde no encontramos ninguna variante en el exón o en las regiones ± 8 pb fueron los genes *GLA*, *LAMP2* y *PLN*.

Tabla 13. Variantes exónicas o de splicing reportadas en genes asociados a miocardiopatías en la base de datos y en nuestra cohorte.

Gen	Proteína	Tamaño (pb)	Variantes Ensembl	Variantes COHORTE	Variantes/pb* Ensembl (%)	Variantes/pb* COHORTE (%)
ACTC1	α actina cardíaca 1	2028	2	3	0,099	0,148
DES	Desmina	1824	0	4	0,000	0,219
DSC2	Desmocolina	4081	3	42	0,074	1,029
DSG2	Desmogleína	3993	1	50	0,025	1,252
DSP	Desmoplaquina	8655	2	73	0,023	0,843
FHOD3	Dominio de homología a formina 2 que contiene 3	6314	2	29	0,025	0,355
FLNC	Filamina C	8160	11	52	0,174	0,824
GLA	Galactosidasa	1402	0	0	0,000	0,000
JUP	Placoglobina	2243	2	21	0,089	0,936
LAMP2	Proteína de membrana asociada lisosómica 2	2233	0	0	0,000	0,000
LMNA	Lamina A/C	2619	0	9	0,000	0,344
MYBPC3	Proteína C de unión a miosina	3822	28	41	0,733	1,073
MYH6	Cadena pesada de miosina 6	5838	8	53	0,137	0,908
MYH7	Cadena pesada de miosina 7	6790	30	58	0,442	0,854
MYL2	Cadena ligera de miosina 2	689	0	3	0,000	0,435
MYL3	Cadena ligera de miosina 3	1502	1	8	0,067	0,533
PKP2	Placofilina	3086	4	18	0,130	0,583
PLN	Fosfolamban	159	0	0	0,000	0,000
PRKAG2	Subunidad γ 2 no catalítica activadora AMP proteín quinasa	1712	1	30	0,058	1,752
PTPN11	Proteína tirosina fosfatasa, no receptor tipo 11	2826	0	10	0,000	0,354
STRN	Estriatina	4902	1	3	0,020	0,061
TMEM43	Proteína 43 transmembrana	1203	3	14	0,249	1,164
TNNC1	Troponina C1	486	0	1	0,000	0,206
TNNI3	Troponina I3	2753	4	28	0,145	1,017
TNNT2	Troponina T2	1048	0	8	0,000	0,763
TPM1	Tropomiosina 1	1393	1	4	0,072	0,287
TTR	Transtiretina	603	0	2	0,000	0,332

* % de variantes por pb leídas en cada gen

El análisis del número total de variantes (incluyendo variantes intrónicas y de regiones UTR) estratificado por fenotipos y genes, reveló más variantes en el grupo afectado que en el grupo control. La representación del porcentaje de variantes según el tamaño de cada gen mostró la presencia de un mayor número de variantes diferentes en los genes asociados con cardiopatías en el grupo de gatos con MCH (Figura 20). El gen *PLN*, destacó por tener muchas variantes distintas pese a su pequeño tamaño, ya que se han encontrado 29 variantes en el grupo control y 66 en el grupo de gatos con MCH.

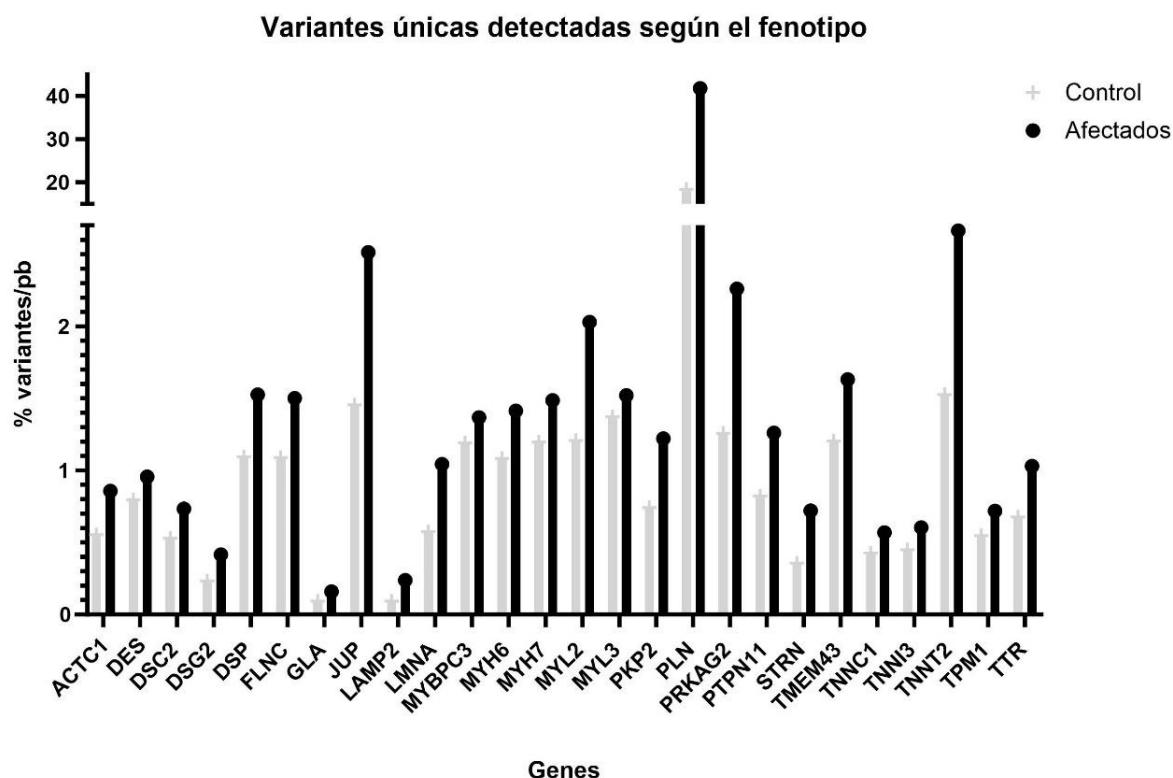


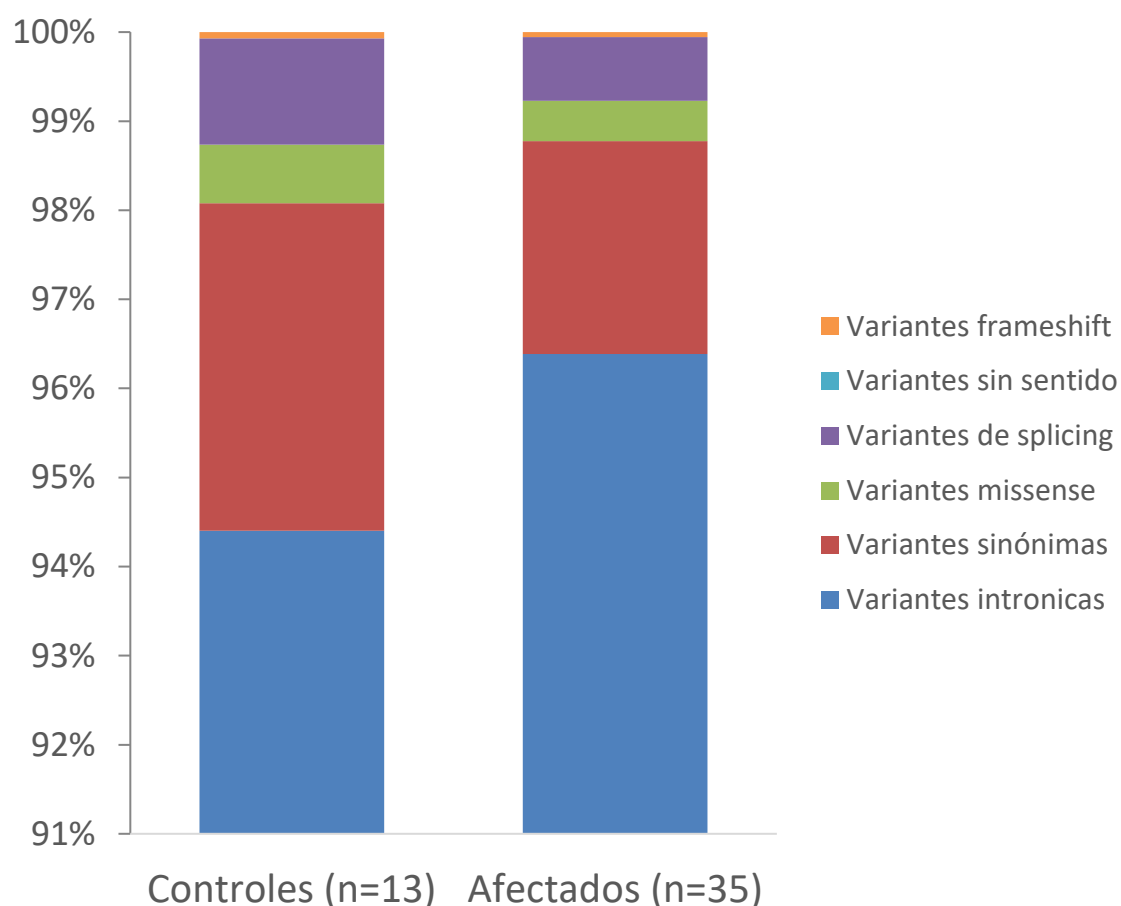
Figura 20. Distribución del porcentaje de variantes diferentes que aparecen en cada gen en los controles y los afectados de MCH.

No se encontraron diferencias en el número de variantes detectadas entre individuos de sexo masculino y femenino, ni tampoco en relación a la raza de los individuos.

2.2.2 Análisis del tipo de variantes

Teniendo en cuenta la totalidad de las variantes, analizamos el tipo de variantes presentes en cada muestra. Se observó que la mayoría de las variantes encontradas correspondía a variantes intrónicas, seguido de variantes sinónimas, variantes de *splicing* y *missense*. Las variantes *frameshift* son muy

poco comunes y no se encontraron variantes sin sentido en ninguno de los grupos. El número total de variantes varía según el gato e incluso en gatos de la misma raza (Anexo, Tabla 24). Al comparar el número total de variantes entre ambos grupos de animales, se observó que el grupo de los afectados tenía una cantidad significativamente mayor de variantes que los controles, y esta diferencia se atribuyó principalmente a las variantes intrónicas (2624,2 ± 1400,8 vs 1550,1 ± 1246,7; $p < 0,020$) (Figura 21).



Tipo variante	Controles (n=13)	Afectados (n=35)	Totales (n=48)	p valor
Totales	1701,8 ± 1282,0	2816,1 ± 1456,1	2514,2 ± 1484,6	0,017
Intrónicas	1550,1 ± 1246,7	2624,2 ± 1400,8	2333,3 ± 1431,5	0,020
Sinónimas	60,4 ± 6,2	65,1 ± 7,3	63,8 ± 7,3	0,044
Missense	10,8 ± 3,6	12,2 ± 3,6	11,9 ± 3,7	0,212
Splicing	19,6 ± 3,5	19,5 ± 3,0	19,5 ± 3,1	0,900
Sin sentido	0	0	0	-
Frameshift	1,1 ± 1,4	1,5 ± 1,7	1,4 ± 1,6	0,425

Figura 21. Distribución y frecuencia del tipo de variantes genéticas en individuos afectados en comparación con individuos controles.

En lo que respecta a la distribución de las variantes genéticas, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los gatos afectados y los controles. La frecuencia de las variantes, en relación con su tamaño, es mayor en gatos afectados en los genes: *ACTC1*, *JUP*, *LAMP2*, *LMNA*, *PLN*, *TPN11* y *TNNT2* (Figura 22). Las variantes que marcan esta diferencia son principalmente variantes que se producen en las zonas no codificantes.

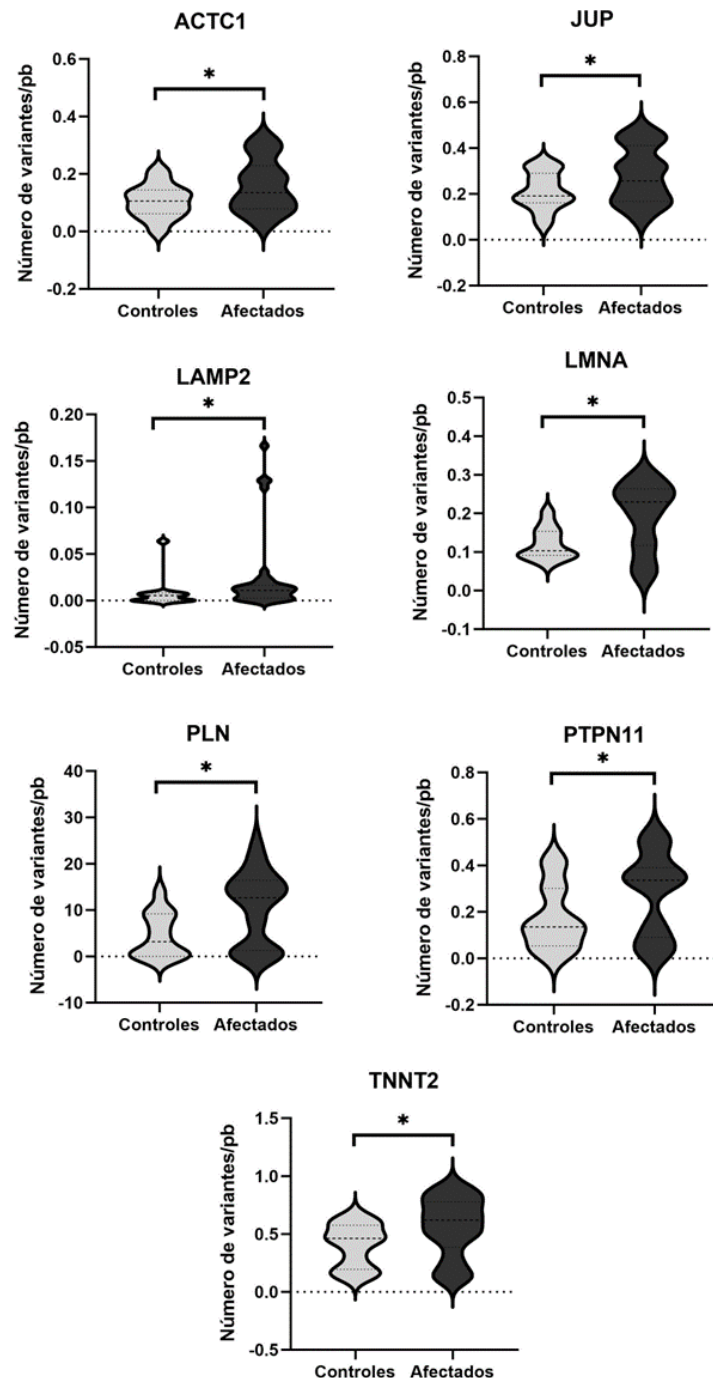


Figura 22. Comparación de la frecuencia de variantes genéticas entre el grupo afectado y el grupo control, destacando genes con diferencias significativas en el número de variantes con respecto al tamaño del gen. * $p < 0,05$.

3. Variantes potencialmente patogénicas seleccionadas a partir de la secuenciación masiva

Después de examinar los resultados derivados de la secuenciación masiva, se seleccionaron 24 variantes que se consideraron potencialmente causales (Tabla 14). Estas variantes se identificaron en 11 genes diferentes. La selección de estas variantes se basó en los criterios detallados en la sección de materiales y métodos. Dentro de la selección, destacaron 6 variantes en el gen *MYBPC3*, 5 de ellas descritas y ninguna variante de interés en el gen *MYH7*. Las variantes en *MYBPC3* y *MYH7* que no cumplen criterios de selección se descartaron como causantes de la enfermedad (Anexo, Tabla 26). En relación con otros genes previamente vinculados a la MCH, encontramos variantes de interés en el gen *MYL2* y *TNNT2*. Adicionalmente, identificamos variantes en genes recientemente relacionados con MCH en humanos, aunque su contribución a la enfermedad es menor en términos de frecuencia. Estos genes incluyen *DES*, *FHOD3* y *MYH6*. También detectamos variantes en genes relacionados con el desmosoma y vinculadas a otras cardiopatías, en particular, en los genes *DSG2*, *DSP*, *JUP* y *PKP2*.

La mayoría de las variantes seleccionadas fueron de tipo *missense*, a excepción de una variante de *splicing*, una intrónica y una variante que se sitúa en la región 5'-UTR del gen.

Tabla 14. Variantes candidatas seleccionadas el análisis de los resultados de la secuenciación masiva.

Gen	Coordenada	Consecuencia	Variante	Portadores	HG	Razas asociadas
Genes del filamento del sarcómero						
MYBPC3	D1:101340688	Missense	p.Ala59Thr	4	No	CE, RG
MYBPC3	D1:101340009	Missense	p.Pro104Leu	4	No	CE, RG
MYBPC3	D1:101339968	Missense	p.Gly118Arg	4	No	P, DR
MYBPC3	D1:101333049	Splicing	c.1921+4A>C	3	No	P; DR
MYBPC3	D1:101331062	Missense	p.Ala699Thr	5	No	P, CE, RG
MYBPC3	D1:101325998	Missense	p.Ile1130Val	5	No	P, CE, RG
MYH6	B3:76141596	Missense	p.Ala1334Thr	1	No	CE
MYH6	B3:76140732	Missense	p.Ala1442Thr	2	No	P; CE
MYL2	D3:8976004	Missense	p.Leu42Val	1	No	BS
TNNT2	F1:42204052	Intrónica	c.50-108G>A	3	Sí	CE; P
Genes del citoesqueleto						
DES	C1:204379735	5'-UTR	c.-12C>T	4	No	CE; S; RG
DES	C1:204381583	Missense	p.Glu274Lys	2	Sí	CE
FHOD3	D3:60084196	Missense	p.Ser1457Asn	3	No	MA; BS; CE
FHOD3	D3:60084292	Missense	p.Arg1489Pro	1	No	S
FHOD3	D3:60091517	Missense	p.Ile1447Thr	1	No	CE
Genes asociados a fenocopias						
TTR	D3:55514174	Missense	p.Ala80Pro	1	No	CE
Genes desmosómicos						
DSG2	D3:55473887	Missense	p.Ser1255Ala	4	No	MA; C; CE; SF
DSP	B2:21379717	Missense	p.Asn944Ser	1	Sí	CE
DSP	B2:21375684	Missense	p.Arg1401Gly	6	No	MA; P; CE
DSP	B2:21370989	Missense	p.Glu2635Asp	10	No	CE; S; SF; BS
JUP	E1:42510685	Missense	p.Arg539Cys	3	No	S
PKP2	B4:67212376	Missense	p.Ala41Val	1	No	S
PKP2	B4:67195666	Missense	p.Arg196His	7	No	CE; S
PKP2	B4:67136007	Missense	p.Pro622Leu	1	No	S

HG: Homocigosis. P: Persa; DR: Devon Rex; CE: Común europeo; S: Sphynx, BS: British Sorthair; SF: Scottish Fold; RG: Ragdoll; MA: Mezcla de Angora; C: Cartujo.

Dada la limitada disponibilidad de información y datos poblacionales específicos en felinos, recurrimos a una aproximación utilizando la variante homóloga en humanos para indagar sobre el impacto potencial de la variante y su repercusión en la enfermedad. Esta estrategia nos permite inferir y establecer comparaciones basadas en la similitud genética entre especies, aunque es importante reconocer las diferencias entre humanos y felinos.

4. Estudio de patogenicidad y clasificación de las variantes seleccionadas

Para el estudio de patogenicidad, se siguieron los criterios de las guías AGMG/AMP. La clasificación de las variantes en gato y su variante homóloga en humanos se muestra en la Tabla 15.

Tabla 15. Clasificación de las variantes seleccionadas en gatos con miocardiopatía hipertrófica, y su homóloga en humanos.

Gen	Variante	MAF	SIFT	Clasificación	Variante en humanos	Descrito	MAF	ACMG	ClinVar	Patología asociada	Ref
MYBPC3	p.Ala59Thr	0,080	T	VUS	p.Thr59Ala	rs121909375	0	VUS	P	MCH	¹
MYBPC3	p.Pro104Leu	0,06	T	VUS	p.Leu104Pro	No	-	VUS	-	MCH	
MYBPC3	p.Gly118Arg	0,04	T	VUS	p.Gly118Arg	No	-	VUS	-	MCH	
MYBPC3	c.1921+4A>C	NC		VUS	c.1927+4A>C	No	-	VUS	-	MCH	
MYBPC3	p.Ala699Thr	0,04	T	VUS	p.Ala701Thr	No	-	VUS	-	MCH	
MYBPC3	p.Ile1130Val	0,1	T	VUS	p.Ile1131Val	No	-	VUS	-	MCH	
MYH6	p.Ala1334Thr	NC	P	VUS	p.Ala1334Thr	No	-	VUS	-	CIA, Sd seno enfermo familiar, MCD	
MYH6	p.Ala1442Thr	NC	P	VUS	p.Ala1442Thr	No	-	VUS	-		
MYL2	p.Leu42Val	NC	P	VUS	p.Leu56Val	No	-	VUS	-	MCH	
TNNT2	c.50-108G>A	0	-	LB	c.98-116G>A	No	-	LB	-	MCH	
DES	c.-12C>T	NC	-	VUS	c.-12C>T	No	-	VUS	-		
DES	p.Glu274Lys	NC	P	VUS	p.Glu230Lys	No	-	VUS		Miopatía, MCD, MCH	
FHOD3	p.Ser1457Asn	NC	T	VUS	p.Ser1502Asn	rs745415621	4,0 x10 ⁻⁶	VUS	-	MCH	
FHOD3	p.Arg1489Pro	NC	P	VUS	p.Arg1534Pro	No	-	VUS		MCH	
FHOD3	p.Ile1447Thr	NC	P	VUS	No conservado	No	-	-	-	MCH	
TTR	p.Ala80Pro	NC	T	VUS	p.Glu81Gln	No		LP	-	Amiloidosis	
DSG2	p.Ser1255Ala	NC	T	VUS	p.Ser1059Ala	No	-	VUS	-	MCA, MCD	
DSP	p.Asn944Ser	NC	T	VUS	p.Ser935Asn	No	-	VUS	-	MCA, MCD, EB, QP	
DSP	p.Arg1401Gly	NC	P	VUS	p.Arg1392Gly	No	-	VUS	-	MCA, MCD, EB, QP	
DSP	p.Glu2635Asp	NC	T	VUS	p.Glu2626Asp	No				MCA, MCD, EB, QP	
JUP	p.Arg539Cys	NC	P	VUS	p.Arg540Cys	rs782455234	2,0 x10 ⁻⁴	VUS	VUS	MCA y enfermedad de Naxos	²
PKP2	p.Ala41Val	NC	T	VUS	p.Ala41Val	rs1220759009	3,0 x10 ⁻⁴	VUS	VUS	MCA	
PKP2	p.Arg196His	NC	T	VUS	p.Arg196His	rs146566525	2,0 x10 ⁻⁶	VUS	VUS	MCA	
PKP2	p.Pro622Leu	NC	T	VUS	p.Pro621Leu	rs773061639	2,5 x10 ⁻⁵		VUS	MCA	

NC: no conocido; P: patogénica; T: tolerada, VUS: variante de significado incierto, LP: probablemente patogénica; CIA: comunicación interventricular; EB: Epidermolisis, QP: Queratodermia palmoplantar; Sd: síndrome. ¹: Niimura et al., 2002; ²: Inagaki et al., 2018.

4.1 Variantes en genes que codifican proteínas del filamento delgado del sarcómero

4.1.1 Variantes en el gen *MYBPC3*

Identificamos 6 variantes en el gen *MYBPC3*. Cinco de ellas son variantes *missense* que han sido descritas previamente en una población de gatos con MCH (proyecto:PRJEB30318). La variante de *splicing* no ha sido descrita previamente, su posición puede tener posibles implicaciones en el proceso de traducción de la proteína. Este gen se ha estudiado en la MCH en gatos y variantes concretas se han asociado con dicha enfermedad (Meurs et al., 2005; Meurs et al., 2007).

***MYBPC3*: c.175G>A; p.Ala59Thr**

La variante p.Ala59Thr es una variante *missense* que implica la sustitución de una alanina por una treonina en el aminoácido 59 del exón 2 de la isoforma ENSFCAT00000002530.

Se observó en 4 gatos de ambos sexos, todos ellos heterocigotos para la variante. Los gatos pertenecen a la raza Ragdoll y al gato común. Uno de los gatos portadores era un gato sano, de 1 año (C55), mientras que los gatos afectados fueron diagnosticados a los 5 y 14 años.

Esta variante ha sido documentada anteriormente en un estudio de 26 gatos afectados de MCH, de los cuales 4 son portadores (proyecto:PRJEB30318). Su identificador es rs3166774707, y la frecuencia alélica de esta variante se estima en 0,08. El programa SIFT la predice como tolerada de baja confianza con un score de 0,16 (0,0 deletérea–1,0 tolerada).

En seres humanos, ese aminoácido no se encuentra conservado (Anexo, Figura 53), dado que el aminoácido de referencia es treonina, y el cambio inverso p.Thr59Ala ha sido descrito como patogénico en ClinVar (rs121909375), aunque con un único reporte hasta la fecha (Niimura et al., 2002).

***MYBPC3*: c.311C>T; p.Pro104Leu**

Se identificó una variante que implica un cambio de aminoácido en la posición 104 de la proteína. En esta instancia, la prolina es reemplazada por leucina en el transcrito ENSFCAT00000002530 del exón 3 del gen *MYBPC3*.

Esta variante se detectó en estado heterocigoto en los mismos gatos que portaban la variante p.Ala59Thr.

La variante está catalogada con el identificador rs784711982 y tiene una frecuencia de 0,06. Según la predicción del programa SIFT, se considera como una variante tolerada (puntuación: 0,14) en términos de su posible patogenicidad.

En seres humanos, tanto el cambio de aminoácido como la posición se mantienen, denominándose como p.Pro104Leu (Anexo, Figura 53). Esta variante no ha sido descrita y se clasificaría como VUS según las pautas de interpretación clínica.

MYBPC3: c.352G>C; p.Gly118Arg

Hemos identificado otra variante relevante en el exón 3 del gen *MYBPC3*. En este caso, se trata de una variante que conlleva un cambio del aminoácido glicina a arginina en la posición 118 del transcrito ENSFCAT00000002530.

En el análisis de 48 individuos genotipados por NGS, se identificaron 4 portadores de esta variante, de las razas Persa y Devon Rex. Estos individuos son heterocigotos, y dos de ellos, son individuos sanos de 10 y 6 años (C2 y C4). A los afectados se les diagnosticó a los 6 y 2 años (C6 y C52).

La variante ha sido registrada con el identificador rs31667774799 en gatos afectados con MCH, con una frecuencia de 0,04. Según el análisis mediante SIFT, se clasifica como una variante tolerada (0,11).

En seres humanos, la variante conservaría su naturaleza como p.Gly118Arg (Anexo, Figura 53). Aunque no ha sido descrita previamente, según la información disponible, su predicción la catalogaría como VUS.

MYBPC3: c.1921+4A>C

Se trata de una variante en el intrón 19 de la isoforma ENSFCAT00000002530 de EMSEMBL. El cambio de adenina por citosina se produce a solo 4 pb del final del exón 19, lo que puede generar cambios en el procesamiento de *splicing*.

Esta variante se ha observado en tres gatos secuenciados por NGS, dos afectados (gatos C6 y C52) y un control (C4). Todos los gatos son portadores en heterocigosis de la variante. Los gatos C6 y C52 son gatos persas diagnosticados a los 8 y 2 años, respectivamente. El gato C4 es de raza Devon Rex control de 6 años que hasta ahora no muestra ningún signo de la enfermedad. C6 y C4 son hembras, mientras que C52 es un macho.

Esta variante no se ha descrito antes en la población felina. Se trata de una zona no codificante conservada entre varias especies (Anexo, Figura 53).

En humanos, el cambio se mantendría en la posición c.1927+4A>C. Aunque no ha sido descrita, existen variantes cercanas clasificadas como VUS (c.1927+3A>C) o probablemente patogénicas: c.1927+1G>A, c.1927+1G>T y c.1927+2T>C.

MYBPC3: c.2095G>A; p.Ala699Thr

Identificamos una variante en el exón 21 del gen *MYBPC3* que ocasiona un cambio de alanina a treonina en la posición 699 del transcrito ENSFCAT00000002530.

Entre los gatos portadores de esta variante, se identificaron 5 ejemplares pertenecientes a las razas Persa, Ragdoll y común europeo. De ellos, 3 eran gatos afectados por MCH, mientras que 2 estaban libres de síntomas al momento del estudio. Entre los individuos sanos (C2 y C55), uno era muy joven, de tan solo 1 año, mientras que el otro era un gato adulto de 10 años. Respecto a los afectados, tenían edades de diagnóstico comprendidas entre 5 y 14 años.

En la población felina también se ha registrado esta variante, concretamente en 2 de 26 gatos analizados con MCH. Su frecuencia poblacional es del 0,04 y ha sido catalogada con el identificador rs3166774612. Según el análisis de SIFT, se predice como un cambio tolerado, otorgándole una puntuación de 0,58 en términos de su posible impacto funcional.

En humanos, la variante homóloga sería p.Ala701Thr (Anexo, Figura 53). Aunque no ha sido previamente documentada, se clasificaría como una variante VUS.

MYBPC3: c.3388A>G; p.Ile1130Val

Otra variante que identificamos como relevante es la variante p.Ile1130Val, que ocasiona un cambio de isoleucina a valina en la posición 1130 del transcrito ENSFCAT00000002530 del gen *MYBPC3*.

Esta variante fue encontrada en los mismos individuos que portaban la variante p.Ala699Thr.

Además, ha sido registrada con el identificador rs3166774609 en gatos afectados por MCH, con una frecuencia del 0,10 en la población afectada. La predicción mediante SIFT sugiere que se trata de un cambio tolerado, con una puntuación de 0,58.

En seres humanos, este cambio equivaldría a p.Ile1131Val (Anexo, Figura 53), generando una variante que se clasificaría como VUS debido a la insuficiente evidencia disponible para categorizarla de otra manera.

4.1.2 Variantes en el gen MYH6

Encontramos dos variantes de interés en el gen *MYH6*, el cual no ha sido previamente asociado con la MCH en gatos. Estas variantes específicas en *MYH6* son del tipo *missense* y hasta ahora no han sido documentadas en la literatura científica en gatos.

MYH6: c.4000G>A; p.Ala1334Thr

Esta variante genera un cambio de alanina por treonina en el aminoácido 1334 del transcrito ENSFCAT00000009093, en el exón 27. Existen modificaciones en las propiedades físico-químicas entre la alanina y la treonina (distancia Grantham: 58).

El único portador de esta variante es una gata afectada de raza común, diagnosticada a los 9 años de edad (identificada como C83). Es portadora de la variante en heterocigosis. La predicción de SIFT la clasifica como una variante probablemente dañina, con una puntuación de 0,01. La zona donde se produce el cambio se encuentra altamente conservada entre distintas especies (Anexo, Figura 54).

En humanos se conserva tanto la posición como el cambio de aminoácido, c.4000G>A, p.Ala1334Thr. En las bases de datos humanas no se describe esta variante homóloga. La predicción *in silico* con Mutation Taster la da como posiblemente patogénica con un score de 0,999 (valores cercanos a 1 indican una mayor seguridad en la predicción).

En las bases de datos poblacionales humanas se ha identificado una variación en una posición próxima que conlleva una alteración en el aminoácido alanina, sustituyéndolo por treonina, denominada p.Ala1330Thr. Esta variante, identificada como rs757840030, es extremadamente rara (MAF<0,0002), y su potencial patogenicidad ha generado disputas en su interpretación. Diversos laboratorios han documentado su existencia y la han clasificado como VUS y probablemente benigna.

MYH6: c.4324G>A; p.Ala1442Thr

A 40 aminoácidos de la variante anterior, encontramos otra variante que también implica un cambio del aminoácido alanina por treonina. La variante p.Ala1442Thr, se encuentra en el exón 28 del transcrito ENSFCAT00000009093.

En nuestro estudio, reportamos dos gatos afectados adultos (gato C13 y gato C26) con una copia de esta variante. El primer gato es macho y fue diagnosticado a los 7 años. El segundo portador es una hembra de 12 años. Los gatos pertenecen a la raza Persa y al gato común europeo respectivamente. La predicción de su patogenicidad la clasifica como probablemente dañina.

En humanos el cambio de aminoácido alanina por treonina se conserva en la posición 1442 del exón 30. El cambio de nucleótido es c.4324G>A. Los tres programas *in silico* empleados (Mutation Taster:0,999, SIFT:0,03 y PolyPhen:1) la clasifican como perjudicial. La variante no está descrita en humanos. En esa posición hay otra variante descrita, un cambio de alanina por valina, rs141534763, con una frecuencia alélica menor del 0,01%. El cambio se produce en un dominio relacionado con la homodimerización y la regulación de la miosina que se encuentra altamente conservado entre especies (Anexo, Figura 54).

Existen variantes flanqueantes poco frecuentes que han sido categorizadas como VUS por falta de evidencias. La primera de ellas, p.Ala1443Asp, rs727503234, está relacionada con MCD y defectos congénitos del corazón en la literatura. La segunda, p.Asn1438Ser, rs745683537, ha sido asociada a afectados con condiciones relacionadas con MYH6. La tercera variante, p.Glu1457Lys, rs267606905, ha sido descrita en individuos con MCD y con MCH. Se trata de una zona donde se producen cambios infrecuentes que puede generar distintas patologías.

4.1.3 Variantes en el gen MYL2

Encontramos una variante de interés en el gen MYL2. Aunque dicho gen ha sido objeto de estudio previo en la MCH felina, hasta ahora no se había establecido una conexión entre alteraciones en la secuencia de este gen y la MCH felina.

MYL2: c.124C>G; p.Leu42Val

La variante identificada se encuentra en el exón 5 del transcrito ENSFCAT00000068951 y provoca una sustitución de leucina por valina en el aminoácido 42. Las diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de estos aminoácidos son sutiles (distancia Grantham de 32).

Durante nuestro estudio, encontramos solo un gato macho portador de esta variante en heterocigosis de la raza British Shorthair (gato C66). Este gato había sido diagnosticado de MCH a los 2 años. Aunque no se ha informado anteriormente de esta variante, el programa SIFT la clasifica como perjudicial

(puntuación 0,01). La posición donde se produce este cambio exhibe una notable conservación evolutiva entre diversas especies (Anexo, Figura 55).

En humanos, el cambio se mantiene en una posición distinta, específicamente en el aminoácido 56 (Figura). La anotación de esta variante es c.166C>G; p.Leu56Val. No hemos encontrado registros previos de esta variante en las bases de datos genéticas humanas. Los análisis computacionales predicen que dicho cambio puede tener un efecto perjudicial en la función de la proteína (Mutation:0,999). Este cambio está dentro de un dominio EF-hand (aminoácidos 24-59) que se une al Ca^{+2} y podría alterar la interacción del Ca^{+2} durante el proceso de contracción del sarcómero.

Esta región es un punto caliente que registra diferentes variantes infrecuentes en posiciones cercanas. La variante p.Ala55Pro se clasifica como potencialmente patógena, mientras que la variante p.Ala55Ser presenta discrepancias en su interpretación clínica. Otras variaciones cercanas han sido clasificadas por las guías como VUS, como p.Gly57Arg (rs2428140), Gly57Glu (rs199474809) y p.Val59Met (rs2071674789). Por otro lado, las variantes p.Arg58Gln y p.Arg58Leu (rs104894369) se han definido como patogénicas y se han mencionado en varios estudios científicos. En particular, la variante p.Arg58Gln se ha detectado en 16 individuos afectados MCH y se ha confirmado su asociación con esta enfermedad en seis familias a través del análisis de la segregación. Además, investigaciones *in vitro* han aportado evidencia funcional que sugiere que la variante p.Arg58Gln podría influir negativamente en la función de la proteína (Kampourakis et al., 2018).

4.2 Variantes en genes que codifican proteínas del filamento delgado del sarcómero

4.2.1 Variantes en el gen *TNNT2*

***TNNT2*: c.50-108G>A**

Inicialmente esta variante se había traducido como una mutación de truncamiento, denominada p.Trp52Ter. Sin embargo, con la actualización de la anotación del genoma de gatos, se ha redefinido esta nomenclatura. Ahora, esta variante se encuentra en una región intrónica (Anexo, Figura 56). Pese a estar en una región profunda del intrón, esta variante se ha reportado recientemente en dos artículos con diferentes interpretaciones sobre su patogenicidad en la MCH felina (McNamara et al., 2020; Schipper et al., 2022). En la nueva nomenclatura, la variante se ha designado como c.50-108G>A en la isoforma

canónica ENSFCAT00000064608, ubicada a 108 bases aguas arriba del exón 2.

Durante el estudio, se identificaron tres gatos portadores de esta variante. Dos de ellos son gatos machos de 6 y 11 años (gato C53 y C67) que presentan la variante en homocigosis. El tercer gato es una hembra de raza Persa (individuo C73) que es portadora heterocigota de la variante y fue diagnosticada a los 14 años de edad.

En el contexto humano, se conservaría la variante en la posición NM_001276345.2: c.98-115G>A y se predice de forma *in silico* como una variante benigna. No se ha descrito específicamente en humanos, pero se ha encontrado una variante cercana, con una diferencia de un nucleótido. Esta variante se encuentra a 116 nucleótidos del exón, en una región profunda del intrón y se predice como una variante benigna. En esta zona no se conocen variantes patogénicas hasta el momento. Actualmente, el conocimiento de variantes patogénicas en las zonas del intrón es escaso.

4.3 Variantes en genes que codifican proteínas del citoesqueleto

4.3.1 Variantes en el gen DES

Encontramos dos variantes en el gen *DES* en nuestra cohorte de gatos afectados, una situada en la región 5'-UTR y otra en la parte codificante, que causa un cambio en el aminoácido. Variantes en este gen no han sido previamente asociadas en felinos con MCH.

DES: c.-12C>T

Dependiendo de la secuencia de referencia, la variante cambia su clasificación, ya que la isoforma ENSFCAT00000054522 de EMSEMBL incluye varios aminoácidos adicionales al inicio de la secuencia que crean un codón de inicio prematuro. Usando esta nomenclatura, la variante generaría un cambio de aminoácido en la posición 39, p.Arg39Cys. En la isoforma del NCBI, XM_003991178, esta secuencia forma parte de la región 5'-UTR. La secuencia más similar a la humana es la anotada en el NCBI. En la isoforma XM_003991178, el cambio ocurre a 12 bases del primer exón, donde se sustituye una citosina por una timina.

Esta variante se ha observado en cuatro gatos afectados heterocigotos (gatos C37, C53, C89 y C94). El gato C37 es una hembra de raza Sphynx que fue diagnosticada a los 4 años. Los gatos C53 y C89 son gatos comunes (macho y hembra, respectivamente) diagnosticados a los 6 y 7 años. El gato C94 es una hembra de raza Ragdoll diagnosticada a los 5 años.

Esta variante no se ha descrito antes en la población felina. Se trata de una zona no codificante conservada entre varias especies (Anexo, Figura 57).

En humanos, el cambio se mantendría en la región 5'-UTR a 12 bases del inicio del primer exón, donde también se produciría un cambio de citosina por timina, c.-12C>T. Las variantes descritas en esta zona en ClinVar y LOVD (Leiden Open Variation Database) están clasificadas como benignas o VUS y no existen estudios funcionales que evalúen el impacto de las variantes en esta región.

DES: c.820G>A; p.Glu274Lys

La variante p.Glu274Lys produce un cambio del aminoácido ácido glutámico por lisina en el codón 274 del exón 3 del transcrito ENSFCAT00000054522. Las diferencias entre las propiedades de estos dos aminoácidos dan una distancia de Grantham de 56.

Encontramos un portador común europeo macho de 5 años (gato C58). Es portador de la variante en homocigosis. La predicción *in silico* de este cambio, la clasifica como un cambio patogénico, con una puntuación de 0.

En humanos se conserva el aminoácido ácido glutámico en el exón 3 en la posición 230 de la proteína. Además, la conservación en otras especies se mantiene (Anexo, Figura 57). El cambio de aminoácido se encontraría en la región enrollada coil 2 y el estudio bioinformático da resultados contradictorios sobre la probabilidad de que sea un cambio patogénico (Mutation Taster:0,976; SIFT:0,01; Polyphen:0,003).

En el caso de los humanos, se han documentado dos variantes en la misma posición del aminoácido diferentes con muy baja frecuencia. Una de estas variantes, conocida como p.Glu230Glu (rs142145822), ha sido catalogada como probablemente benigna, y su frecuencia alélica en la población es inferior a 0,004, aunque muestra una frecuencia significativamente mayor en la población asiática. En contraste, la otra variante identificada, c.689A>G; p.Glu230Gly (rs1192099746), es aún menos común (MAF<0,000004), y no se encuentra registrada en ClinVar. Esto nos lleva a la deducción de que las variaciones en este aminoácido son excepcionalmente raras en la población humana y pueden dar lugar a varios cambios distintos.

4.3.2 Variantes en el gen *FHOD3*

El gen *FHOD3* se ha relacionado recientemente con la MCH en humanos con MCH pero no se conoce su implicación en gatos ya que no ha sido estudiado específicamente. En este estudio seleccionamos 3 variantes *missense* en este gen.

***FHOD3*: c.4340T>C; p.Ile1447Thr**

Se ha identificado una variante genética en gatos presente solo en la región codificante de una de las isoformas no canónicas del gen *FHOD3*, conocida como ENSFCAT00000051217. Esta variante se encuentra en la porción terminal de la proteína y no se conserva en otras especies (Anexo, Figura 58). En gatos, esta variante causa un cambio en el aminoácido isoleucina, que se sustituye por treonina en la posición 1447 de la proteína. Cuando se anota esta variante con las otras isoformas del gen, se trata de una variante intrónica, que se encuentra a 43 bases del exón. No ha sido previamente reportada en gatos y la predicción realizada por el programa SIFT indica que esta variante es perjudicial.

Durante nuestro análisis, encontramos un gato portador de esta variante en heterocigosis. Este gato en particular es una hembra común europea diagnosticada de MCH a los 7 años de edad (C89).

***FHOD3*: c.4370G>A; p.Ser1457Asn**

Hemos identificado una variante genética que produce un cambio del aminoácido serina por asparagina, específicamente en la posición 1457 de la isoforma ENSFCAT00000059238. Esta variante se localiza en el exón 25. La predicción muestra que la variante se considera tolerada y no se espera que tenga un impacto significativo en la función de la proteína. La región donde se produce este cambio se mantiene conservada en un alto número de especies (Anexo, Figura 58).

Durante nuestro análisis, encontramos tres gatos con MCH que son portadores heterocigotos de esta variante. El primer gato identificado como C15, es una hembra de raza mezcla de Angora diagnosticada a los 14 años. Los otros dos gatos son machos (gato C62 y C66) de 3 y 2 años, de las razas común europeo y British Shorthair, respectivamente.

En el caso de los seres humanos, la variante genética homóloga genera un cambio del aminoácido serina a asparagina en el codón 1502 del exón 27 de la isoforma más larga de la proteína expresada exclusivamente en el corazón humano, NP_001268669.1. El aminoácido afectado no pertenece a ningún dominio funcional identificado hasta la fecha. Se encuentra en la región C-

terminal de la proteína, entre el dominio FH2 (residuos 1075-1471) y el dominio DAD (residuos 1559-1591), en una región donde no se han observado variantes relevantes en humanos.

Esta variante ha sido registrada en la base de datos ExAC, identificada como p.Ser1502Asn (rs745415621) y se ha observado en una mujer europea sana de mediana edad. También se ha descrito otra variante en la misma posición, pero en ese caso el cambio es de serina a isoleucina, p.Ser1502Ile, y se encontró en un individuo de control.

***FHOD3*: c.4466G>C; p.Arg1489Pro**

Hemos identificado una variante *missense* en la posición 1489 de la isoforma ENSFCAT00000059238 del gen *FHOD3* en gatos. Esta variante implica un cambio del aminoácido arginina a prolina. Según el programa SIFT, se estima que esta variante sea perjudicial, con un score de 0,01. Se encuentra en una zona altamente conservada entre diferentes especies (Anexo, Figura 58).

Esta variante solo se detectó en una hembra de raza Sphynx diagnosticada a los 4 años (C37).

En humanos, se ha observado un cambio similar de arginina a prolina en el aminoácido 1534 del exón 27, p.Arg1534Pro, en la isoforma NP_001268669.1. Esta posición es un punto caliente donde se han reportado varios cambios poco frecuentes en la población de control (MAF<0,0001). Sin embargo, no se han encontrado mutaciones asociadas a enfermedades en esta región, lo que sugiere que podría ser una zona cambiante poco relevante para la funcionalidad del gen. En total, se han registrado ocho individuos "sanos" con cambios en esta base del aminoácido arginina, donde se producen sustituciones por serina, cisteína o glicina (rs773196842), así como una delección p.Arg1534ProfsTer67 (rs1157532983), que resulta en la interrupción prematura de la proteína y pérdida de función.

4.4 Variantes en genes que codifican proteínas que dan lugar a fenocopias

4.4.1 Variantes en el gen TTR

El gen *TTR* se ha asociado en humanos con el desarrollo de amiloidosis de origen genético. Hasta el momento no se tiene conocimiento de la implicación de este gen en los gatos afectados con cardiopatía.

TTR: c.238G>C; p.Ala80Pro

Identificamos una variante de tipo *missense* que afecta a la posición 80 de la isoforma ENSFCAT00000011317. El cambio implica una sustitución del aminoácido alanina por prolina. Este cambio se produce en el exón 3, en una zona que no se encuentra conservada entre especies (Anexo, Figura 59). La predicción computacional considera esta variante como un cambio tolerado, con una puntuación de 0,08.

La variante está presente en un gato macho afectado diagnosticado a los 5 años (gato C58). Este gato es un gato común europeo portador de la variante en heterocigosis.

La variante no se conserva en humanos, donde el cambio correspondiente es un cambio del aminoácido ácido glutámico por glutamina en la posición 81. Se han descrito variantes en esa posición relacionadas con varios fenotipos. La variante p.Glu81Gln, está descrita en humanos y relacionada con fiebre amarilla. Otra variante en esta misma posición, p.Glu81Gly, se considera VUS y asociada a amiloidosis. Por último, una tercera variante en ese aminoácido, p.Glu81Lys, ha sido reportada como una variante patogénica causante de amiloidosis.

4.5 Variantes en genes que codifican proteínas del desmosoma

4.5.1 Variantes en el gen DSG2

Las variantes en este gen están asociadas a MCA y MCD. No se conocen variantes en este gen relacionadas con la MCH felina.

DSG2: c.3763T>G; p.Ser1255Ala

Encontramos un cambio del aminoácido serina por alanina en la posición 1255 de la isoforma ENSFCAT00000085526. Este cambio se encuentra en el final de la proteína, en el exón 15. Se encuentra en una zona donde la conservación entre especies es alta (Anexo, Figura 60). La predicción de su patogenicidad con el programa SIFT la da como tolerada con un score de 0,25.

Descubrimos un total de 4 gatos afectados con esta variante. Todos son portadores heterocigotos. El primer gato portador es una hembra de 14 años de la raza mezcla de Angora (C15). Los otros portadores, son machos con edades

de diagnóstico de 6, 4 y 2 años; de las razas Cartujo, Persa y Scottish Fold (C23, C34, C65).

En humanos esta variante se encuentra en el aminoácido 1118, a 8 bases de la última repetición de desmogleína, en la posición c.3175T>G donde se produciría un cambio del aminoácido serina por alanina en el codón 1059, p.Ser1059Ala. En gatos la proteína es más larga ya que incluye una región al inicio inexistente en humanos. La simulación de este cambio en humanos con los programas *in silico* la consideran una variante benigna.

En la misma posición genómica, se ha documentado un cambio genético que implica la sustitución de una serina por una treonina, rs201786158. Este cambio es poco común y ha sido observado en poblaciones de ascendencia asiática, aunque también se ha registrado en otras poblaciones étnicas. La interpretación de la posible patogenicidad de esta variante ha sido motivo de debate en la comunidad científica. Esta variante se menciona en estudios científicos, incluyendo investigaciones relacionadas con MCA (Ng et al., 2013; Sen-Chowdhry et al., 2007). Además, se menciona en una tesis doctoral titulada "Muerte súbita natural inexplicada: el valor de la investigación genética post mortem". En esta tesis, se reporta un caso de un paciente con MCH que falleció repentinamente, aunque también era portador de otras variantes genéticas en los genes *MYBPC3* y *TTN*, las cuales podrían estar relacionadas con su fenotipo clínico y, posiblemente, ser las responsables de su condición médica.

4.5.2 Variantes en el gen DSP

Las mutaciones que se presentan en el gen *DSP* han demostrado una clara asociación con MCA y MCD en humanos. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha documentado la existencia de variantes en dicho gen que estén vinculadas a la MCH felina. En nuestro estudio de selección de variantes en gatos afectados, hemos identificado tres mutaciones sospechosas que podrían alterar la función de la desmoplaquina.

DSP: c.2831A>G; p.Asn944Ser

Esta variante genética provoca una sustitución del aminoácido asparagina por serina en la posición 944 del exón 20 del transcrito ENSFCAT00000010027. Según las predicciones computacionales, este cambio se considera tolerado con un alto grado de confianza. La posición donde se encuentra este cambio, muestra una baja conservación entre diferentes especies. Por ejemplo, animales como el macaco, el camello, la rata y el conejo conservan la asparagina en esta posición, mientras que en humanos, vacas, cerdos, ratones y peces cebras se encuentra la serina (Anexo, Figura 61).

Hemos identificado 2 portadores machos de esta variante, ambos pertenecientes a la raza común europea (C53, C76). Uno de ellos es homocigoto para la variante y fue diagnosticado de MCH a los 6 años. El segundo gato tiene solo una copia alterada de la variante y fue diagnosticado a los 14 años.

La sustitución de aminoácidos entre humanos y gatos es inversa en esta posición. En humanos, el cambio de serina por asparagina ocurriría en la posición 935, que se encuentra en el extremo N-terminal de la proteína. Esta región N-terminal es crucial para la organización del complejo desmosómico, que se encarga de unir la proteína desmoplauina a otras proteínas como placoglobina y placofilina, además de reclutar otros componentes desmosomales en la membrana plasmática. Según las predicciones computacionales, esta variante en humanos se clasifica como benigna.

En la misma posición se ha descrito otra variante que implica un cambio de serina por glicina p.Ser935Gly, conocida como rs571791939, la cual fue identificada en una mujer sana según gnomAD. Esta variante no se encuentra registrada ni en ClinVar ni en publicaciones científicas.

DSP: c.4201C>G; p.Arg1401Gly

Identificamos una variante *missense* en el exón 23 del transcrito ENSFCAT00000010027 perteneciente al gen *DSP*. Esta variante resulta en la sustitución del aminoácido arginina por glutamina en la posición 1401 de la secuencia proteica y no ha sido previamente documentada en la población felina. Esta alteración afecta a un residuo altamente conservado a lo largo de diferentes especies (Anexo, Figura 61). Existen ligeras variaciones en las propiedades físico-químicas entre estos dos aminoácidos, lo que se refleja en una distancia de Grantham de 43. La predicción con el programa SIFT, sugiere que este cambio podría tener efectos perjudiciales para el individuo en cuestión.

En nuestra cohorte de gatos secuenciados, hemos observado esta variante genética en 6 ejemplares afectados. Todos los individuos son portadores heterocigotos. A excepción de un ejemplar (gato C15), el resto son machos. Los gatos portadores pertenecen a raza mixta de Angora (C15), Persa (C13 y C21) y a raza común (C53, C67, C84). En cuanto a las edades de los gatos durante el diagnóstico, van desde 5 a los 11 años en el caso de los machos y hasta los 15 años en el caso de la hembra.

En el contexto humano, esta variante genética se conservaría en la posición 1392 del transcrito NP_004406.2, dando como resultado una sustitución de aminoácidos, específicamente de arginina a glicina, *p.Arg1401Gly*. Esta mutación se encuentra en un dominio central helicoidal que conecta los dominios globulares N- y C-terminales de la proteína. Este dominio central fibroso rod

desempeña un papel crucial en la homodimerización, que consiste en la formación de una cola dimérica de la desmoplaquina. Además, sirve como sitio de unión a los filamentos intermedios intracelulares. Según las predicciones de programas computacionales especializados, se sugiere que este cambio es de naturaleza patológica.

Se han documentado otros cambios en la misma posición en el genoma humano. Uno de ellos implica la sustitución de arginina por glutamina, p.Arg1392Gln, identificado como rs201736018 y catalogado como VUS debido a su presencia de hasta 23 individuos en la base de datos gnomAD. Por otro lado, se ha registrado otro cambio en la posición mencionada, donde la arginina se reemplaza por triptófano, p.Arg1392Trp, rs987487921, y este último se clasifica como posiblemente benigno. No hay registros de individuos homocigotos para ambas variantes.

DSP: c.7905A>C; p.Glu2635Asp

Hemos identificado una variante genética que ocasiona una sustitución del ácido glutámico por ácido aspártico en la posición 2635 del transcrito ENSFCAT00000010027. Este cambio reside en el exón 24 de la proteína y se localiza en la región terminal de la misma, específicamente en una zona altamente conservada (Anexo, Figura 61). No se tiene registro previo de esta variante en gatos, y las predicciones *in silico* sugieren que dicha variante es tolerada.

Esta variante ha sido documentada en 10 gatos afectados, y en contraposición, se ha confirmado su ausencia en los controles. Esto representa un 20,8% de la población sometida a secuenciación masiva. Todos los gatos eran portadores heterocigotos de la variante. Dentro de este grupo de portadores, se han identificado dos ejemplares de la raza Sphynx, uno de género masculino con una edad de 1 año y una hembra de 6 años (C20 y C40, respectivamente). Adicionalmente, se ha constatado la presencia de un macho de raza Scottish Fold, de 2 años de edad (C65), así como un macho de raza British Shorthair, también de 2 años de edad (C66). Asimismo, se ha identificado una hembra de raza Ragdoll, de 5 años de edad (C94), que comparte esta variante genética. Los gatos restantes que portan esta variante pertenecen a la población de gatos comunes. Entre ellos, se encuentran 3 machos con edades de 12, 5 y 3 años (C51, C58, C62), así como 2 hembras de 9 y 7 años (C83 y C89).

En humanos este cambio se mantiene en la posición 2626 en el transcrito NP_004406.2, que se localiza en la región C-terminal o globular 2 (aminoácidos 1946-2871), región que contiene 17 repeticiones de tipo plectina organizadas en tres repeticiones en tándem y un tándem rico en glicina-serina-arginina, en

concreto en el dominio Plectin 14. Esta región regula la unión de desmoplaquina con los filamentos intermedios en el músculo cardíaco para anclarlos en el desmosoma. La variante, que genera un cambio de ácido glutámico por ácido aspártico, no se encuentra descrita en gnomAD. La predicción *in silico* muestra resultados contradictorios. Es frecuente identificar variantes *missense* en este gen que tienen baja frecuencia alélica en individuos sanos de la población general.

Existe otra variante en esta posición, que ocasiona una alteración de ácido glutámico a glutamina, p.Glu262Gln, rs144821643. Según la base de datos ClinVar, esta variante se caracteriza por su rareza en la población general y ha sido clasificada como VUS, principalmente debido a la limitada disponibilidad de evidencia científica que respalde su impacto funcional y clínico.

4.5.3 Variantes en el gen JUP

Hemos identificado una variante *missense* que conlleva una alteración en la secuencia de aminoácidos de la proteína placoglobina. Hasta el momento, no se ha registrado ninguna asociación entre variantes genéticas en este gen y MCH en gatos en la literatura científica.

JUP: c.1615C>T; p.Arg539Cys

Esta variante en particular implica un cambio de arginina por cisteína en la posición 539 del exón 8 del transcrito ENSFCAT00000038755. La variante no se ha registrado antes en gatos. De acuerdo con las predicciones computacionales en gatos, esta variante se clasifica como probablemente perjudicial. Esto se debe en parte a la alta conservación del residuo de arginina entre diversas especies (Anexo, Figura 62). Además, se observa una marcada diferencia fisicoquímica entre la arginina y la cisteína, lo que se refleja en una distancia de Grantham de 152.

En el transcurso de nuestro estudio mediante secuenciación masiva, identificamos 3 individuos afectados que son portadores heterocigotos de esta variante en la raza Sphynx. El único macho portador fue diagnosticado con MCH a la edad de un año (C27), mientras que las dos hembras portadoras fueron evaluadas en consulta a las edades de 4 y 6 años (C37 y C40).

En el contexto de los seres humanos, es relevante mencionar que esta misma variante se ha descrito en humanos, p.Arg540Cys (rs782455234), se encuentra en una repetición del dominio ARM 10 (aminoácidos 512–551). Los algoritmos de predicción indican que este cambio podría tener implicaciones perjudiciales.

Esta variante, p.Arg540Cys, ya ha sido documentada en seres humanos con una baja frecuencia alélica, 0,0002%, según datos de ExAC. En el contexto humano, esta variante se clasifica como VUS y se ha relacionado con MCA, la enfermedad de Naxos e incluso en individuos con MCH (Nykamp et al., 2017). También se han reportado otras dos variantes missense en la misma posición, p.Arg540His y p.Arg540Leu, en 26 individuos sanos y en 1 individuo, respectivamente.

4.5.4 Variantes en el gen PKP2

Las variantes en el gen *PKP2* han sido tradicionalmente asociadas con la MCA en seres humanos. En general, las variantes patogénicas en la placofilina tienden a provocar una terminación prematura de la proteína. Las variantes de tipo *missense*, aunque son comunes, suelen mostrar una asociación relativamente débil con la MCA, principalmente debido a la falta de evidencia científica sólida que respalde su patogenicidad. No se ha investigado la presencia de variantes en este gen en gatos.

***PKP2*: c.122C>T; p.Ala41Val**

Se ha observado una sustitución del aminoácido alanina por valina en la posición 41 del exón 1 del transcrito ENSFCAT00000029771. Aunque existe una diferencia en las propiedades químicas de estos aminoácidos, es relativamente pequeña. Esta variante no ha sido previamente documentada en gatos y SIFT la clasifica como una variante tolerada (puntuación 0,07). Es importante destacar que esta posición está conservada entre especies en las principales especies (Anexo, Figura 63).

Hemos identificado esta variante en un gato heterocigoto. Se trata de un macho de raza Persa de edad avanzada, con 11 años. Este gato también es portador de otra variante *missense* en el gen *PKP2* (C91).

En el contexto humano, la variante se conserva en la posición c.122C>T, p.Ala41Val. Los modelos computacionales sugieren que esta variante es benigna con una confianza baja. Esta variante ha sido previamente registrada en bases de datos poblacionales, con el identificador rs1220759009, específicamente en poblaciones latinas con una frecuencia extremadamente baja, del 0,0003% en genomAD. Su interpretación clínica se considera VUS y ha sido reportado en un paciente con cardiopatía.

***PKP2*: c.587G>A; p.Arg196His**

Este cambio genético implica la sustitución de una arginina por una histidina en el codón 196 de la proteína *PKP2*, p.Arg196His. El residuo de arginina se encuentra en el extremo N-terminal de la proteína *PKP2*, en exón 3 del transcrito ENSFCAT00000029771 y está altamente conservado entre especies (Anexo, Figura 66). Además, las diferencias en las propiedades fisicoquímicas entre la arginina y la histidina dan una distancia de Grantham de 56. Hasta el momento, no se ha documentado previamente en la literatura científica y su predicción con el programa SIFT, la clasifica como una variante tolerada (0,1).

Se ha identificado esta variante genética en 10 gatos afectados, todos heterocigotos para la variante. El 70% de estos gatos son gatos domésticos comunes. Con la excepción de un individuo de raza British Shorthair (C66), que fue diagnosticado a los 2 años de edad, el diagnóstico de MCH en los demás gatos portadores se estableció a edades más avanzadas, con un promedio de diagnóstico alrededor de los 8 años. Entre estos gatos portadores, se identificaron tres hembras diagnosticadas a los 7, 9 y 12 años (C89, C83 y C26, respectivamente), y cinco machos cuyas edades varían entre 3 y 12 años (C51, C53, C58, C67 y C90).

En el contexto humano, este cambio se conserva en la misma posición, p.Arg196His. Se encuentra en la misma posición del transcrito NM_001005242.3 y se clasifica como VUS (rs146566525), con una frecuencia extremadamente baja (MAF<0,0001) en poblaciones humanas. Los algoritmos desarrollados para predecir el efecto de este cambio se contradicen.

Existe otra variante en la misma posición, en la cual la arginina es sustituida por una cisteína, denominada p.Arg196Cys (rs748957791), con una baja frecuencia y sin descripción en la base de datos ClinVar. La mayoría de las mutaciones en este exón (aminoácidos 113-344) no se consideran patogénicas, ya que las variantes patogénicas suelen involucrar cambios *frameshift* o de codones de parada. No obstante, existe un par de variantes *missense*, p.Pro152Ser y p.Ser249Asn, descritas en la base de datos LOVD, que están clasificadas como probablemente patogénicas.

***PKP2*: c.1865C>T; p.Pro622Leu**

Este cambio genético implica la sustitución de una prolina por una leucina en el codón 622, p.Pro622Leu. Las diferencias entre estos dos aminoácidos son notables, con una distancia de Grantham de 98 unidades. Esta variante se ubica en el exón 9 del transcrito ENSFCAT00000029771 y, desde el punto de vista

computacional, se predice como una variante tolerada. La posición es conservada a lo largo de las especies (Anexo, Figura 66)

Hemos identificado esta variante en un gato macho de raza Persa, que cuenta con 11 años de edad, identificado como C91. Este gato es heterocigoto para la variante mencionada y, adicionalmente, es portador de la variante p.Ala41Val en el mismo gen.

En el contexto humano, aunque el cambio de aminoácido es conservado, la posición del cambio difiere ligeramente, ya que se ubica un aminoácido antes en la secuencia. En concreto, se registra una sustitución de prolina por leucina en el codón 621 de la isoforma NP_001005242, identificada como la variante c.1862C>T, p.Pro621Leu. Diversas predicciones indican que esta variante podría tener un efecto patogénico.

Esta variante genética se encuentra registrada en bases de datos poblacionales con el identificador rs773061639, y su presencia se ha documentado en poblaciones asiáticas. Además, ha sido incluida en la base de datos ClinVar con la clasificación de VUS. Su análisis y evaluación siguen siendo objeto de estudio en el contexto médico y genético.

5. Resultados de la secuenciación Sanger

5.1 Características generales de la cohorte de gatos completa

En el presente estudio, nos enfocamos en un análisis detallado de las 24 variantes genéticas previamente seleccionadas, en una población ampliada de gatos utilizando la secuenciación Sanger dirigida.

En esta cohorte, se incluyeron gatos de diversas razas y edades distribuidos en dos grupos: 58 gatos clasificados como sanos que componen el grupo control y 76 gatos con signos de MCH (Tabla 16) (Anexo, Tabla 25).

La proporción de sexos es equiparable tanto en los sujetos del grupo control como en aquellos del grupo de afectados, aunque se observa una leve predominancia de individuos machos (57,5%). En lo que respecta a la edad de diagnóstico, no existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo de individuos afectados, siendo los individuos del grupo control ligeramente más jóvenes. En términos de distribución racial, se observa que la población está compuesta principalmente por 49 gatos sin una ascendencia de raza pura (36,6%), seguidos por 27 gatos de raza Persa (20,1%) y 23 gatos Sphynx (17,2%).

Tabla 16. Características de la cohorte total de gatos.

	Controles	Afectados	Totales	p valor
n	58	76	134	
Sexo (machos,%)	31 (53,4%)	46 (57,5%)	77 (57,5%)	0,223
Edad (años)				
media ± DE	5,6±3,6	6,5±4,1	6,1±3,9	0,245
[mínimo-máximo]	1-15	1-15	1-15	
Razas				
Asiático	1 (1,7%)	-	1 (0,7%)	
Bengalí	4 (6,9%)	-	4 (3,0%)	
Bosques de Noruega	1 (1,7%)	1 (1,3%)	2 (1,5%)	
British Sorthair	1 (1,7%)	2 (2,6%)	3 (2,2%)	
Cartujo	-	1 (1,3%)	1 (0,7%)	
Común Europeo	21 (35,1%)	28 (36,8%)	49 (36,6%)	
Devon Rex	2 (3,4%)	-	2 (1,5%)	
Exótico	5 (8,6%)	1 (1,3%)	6 (4,5%)	
Maine Coon	4 (6,9%)	2 (2,6%)	6 (4,5%)	
Mezcla de Angora	-	1 (1,3%)	1 (0,7%)	
Persa	10 (17,2%)	17 (22,4%)	27 (20,1%)	
Ragdoll	2 (3,4%)	3 (3,9%)	5 (3,7%)	
Scottish Fold	-	1 (1,3%)	1 (0,7%)	
Sphynx	7 (12,3%)	16 (21,0%)	23 (17,2%)	
No conocida	-	3 (4,3%)	3 (2,2 %)	

Este aumento en el tamaño de la muestra nos permite una mayor robustez estadística y una comprensión más profunda de las relaciones entre las variantes genéticas estudiadas y los fenotipos observados en esta población de gatos.

5.2 Estudio de las frecuencias genotípicas en nuestra población

El análisis de las variantes previamente seleccionadas en la población total de gatos, ahora ampliada a 134 individuos, revela frecuencias más realistas de estas variantes tanto en gatos afectados como en los controles (Tabla 17). Utilizando estas frecuencias, podemos descartar aquellas variantes presentes en más del 5% de la población de control y que no demuestran una asociación significativa con la MCH felina.

Tabla 17. Frecuencia genotípica de las variantes seleccionadas.

Gen	Variante	Genotipo	Controles (n=58)	Afectados (n=76)	P valor
MYBPC3	p.Ala59Thr	G/A	5 (8,6%)	6 (7,9%)	0,70
		A/A	2 (3,5%)	1 (1,3%)	
MYBPC3	p.Pro104Leu	C/T	5 (8,6%)	4 (5,3%)	0,31
		T/T	1 (1,7%)	0 (0,0%)	
MYBPC3	p.Gly118Arg	G/C	4 (6,9%)	3 (4,0%)	0,45
MYBPC3	c.1921+4A>G	A/C	1 (1,7%)	3 (4,0%)	0,44
MYBPC3	p.Ala699Thr	G/A	5 (8,6%)	5 (6,6%)	0,89
		A/A	1 (1,6%)	1 (1,3%)	
MYBPC3	p.Ile1130Val	A/G	6 (10,3%)	5 (6,6%)	0,72
		G/G	1 (1,7%)	1 (1,3%)	
MYH6	p.Ala1334Thr	G/A	0 (0,0%)	1 (1,3%)	0,29
MYH6	p.Ala1402Thr	G/A	12 (20,7%)	16 (21,1%)	0,18
		A/A	0 (0,0%)	3 (4,0%)	
MYH6	p.Ala1442Thr	G/A	2 (3,5%)	6 (7,9%)	0,27
MYL2	p.Leu42Val	C/G	4 (6,9%)	2 (2,6%)	0,22
TNNT2	c.50-108G>A	G/A	6 (10,3%)	3 (4,0%)	0,33
		A/A	1 (1,7%)	2 (2,6%)	
DES	c.-12C>T	C/T	1 (1,7%)	5 (6,6%)	0,16
DES	p.Glu274Lys	A/A	0 (0,0%)	1 (1,3%)	0,29
FHOD3	p.Ser1457Asn	G/A	2 (3,5%)	7 (9,2%)	0,17
FHOD3	p.Arg1489Pro	G/C	1 (1,7%)	5 (6,6%)	0,12
		C/C	1 (1,7%)	5 (6,6%)	
FHOD3	p.Ile1447Thr	T/C	2 (3,5%)	1 (1,3%)	0,41
TTR	p.Ala80Pro	G/C	3 (5,2%)	1 (1,3%)	0,19
DSG2	p.Ser1255Ala	T/G	3 (5,2%)	7 (9,2%)	0,37
DSP	p.Asn944Ser	A/G	0 (0,0%)	1 (1,3%)	0,32
		G/G	0 (0,0%)	1 (1,3%)	
DSP	p.Arg1401Gly	C/G	5 (8,6%)	13 (17,1%)	0,15
DSP	p.Glu2635Asp	A/C	6 (10,3%)	19 (25,0%)	0,086
		C/C	1 (1,7%)	1 (1,3%)	
JUP	p.Arg539Cys	C/T	3 (5,2%)	7 (9,2%)	0,3
		T/T	1 (1,7%)	0 (0,0%)	
PKP2	p.Ala41Val	C/T	4 (6,9%)	4 (5,3%)	0,39
		T/T	1 (1,7%)	0 (0,0%)	
PKP2	p.Arg196His	G/A	1 (1,7%)	16 (21,1%)	2,0 x10 ⁻⁴
PKP2	p.Pro622Leu	C/T	5 (8,6%)	4 (5,3%)	0,44

5.2.1 Variantes presentes en menos del 5% de la población control

Variantes ausentes en controles

El análisis de las frecuencias genotípicas en nuestra población nos permitió identificar 3 variantes genéticas ausentes en individuos sanos. Esta ausencia en la población de control constituye uno de los criterios que respaldan la potencial patogenicidad de estas variantes. Además, la baja frecuencia en afectados subraya que estas variantes son extremadamente raras en la población general de gatos.

Las variantes de interés se identificaron como p.Ala1334Thr en el gen *MYH6*, p.Glu232Lys en *DES* y p.Asn944Ser en *DSP*. Específicamente, estas variantes afectan a la secuencia de tres genes críticos en la regulación y función del sistema cardiovascular, a saber: el gen que codifica la proteína sarcomérica α -miosina, el gen que genera la desmina y el que rige la síntesis de la desmoplaquina. Estos genes y sus productos proteicos desempeñan un papel crucial en la estructura y función cardíaca, y su alteración genética puede tener implicaciones significativas en el desarrollo y la predisposición a las cardiopatías.

Variantes presentes en un individuo sano

Encontramos 3 variantes que aparecen en un solo control y en varios afectados en los genes *MYBPC3*, *DES* y *PKP2*.

***MYBPC3*: c.1921+4A>C**

La primera variante de interés, c.1921+4A>C en el gen *MYBPC3*, se ha identificado en tres gatos afectados y un individuo control. Esta variante se presenta en ambos sexos, siendo todos los portadores individuos heterocigotos.

La edad de diagnóstico en los afectados varía significativamente, abarcando desde los 2 hasta los 10 años, mientras que el gato control, evaluado por última vez a los 6 años, era asintomático (Figura 23).

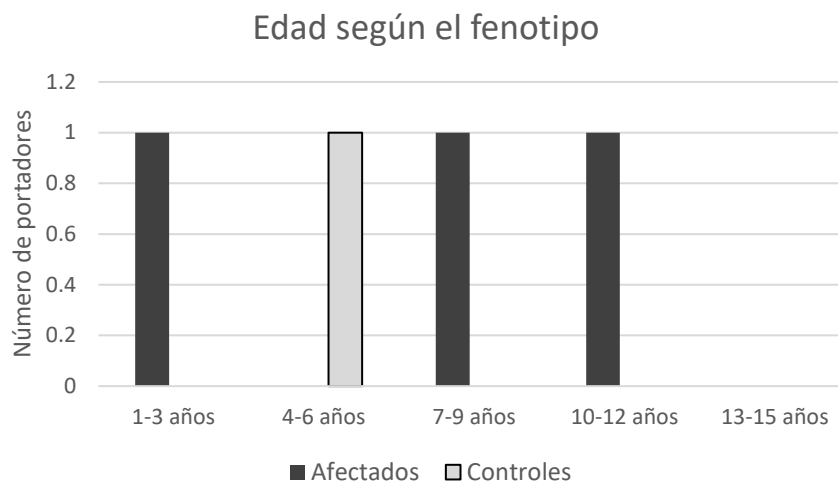


Figura 23. Distribución de la variante c.1921+4A>C en función de la edad de los portadores individuales.

Además, la variante c.1921+4A>C se ha observado principalmente en individuos de raza Persa, aunque se registró un portador de la raza Devon Rex, lo que sugiere una posible distribución de esta variante genética entre razas (Figura 24).

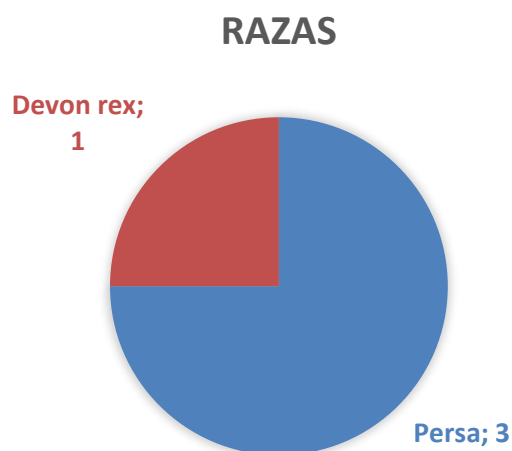


Figura 24. Representación de portadores individuales de la variante c.1921+4A>C clasificados por su raza.

DES: c.-12C>T

En segundo lugar, la variante c.-12C>T en *DES*, aparece en ambos sexos por igual. Encontramos 6 gatos portadores de esta variante, todos ellos en heterocigosis. Uno de los gatos portadores es un individuo sano (C103).

En lo que respecta a los gatos que presentan la variante c.-12C>T en desmina, se ha observado que su edad de diagnóstico oscila entre 1 y 7 años. El único individuo que es portador sano de la variante es un gato de 15 años (Figura 25). A pesar de su avanzada edad, este gato aún no ha mostraba signos clínicos de la enfermedad durante la evaluación clínica.

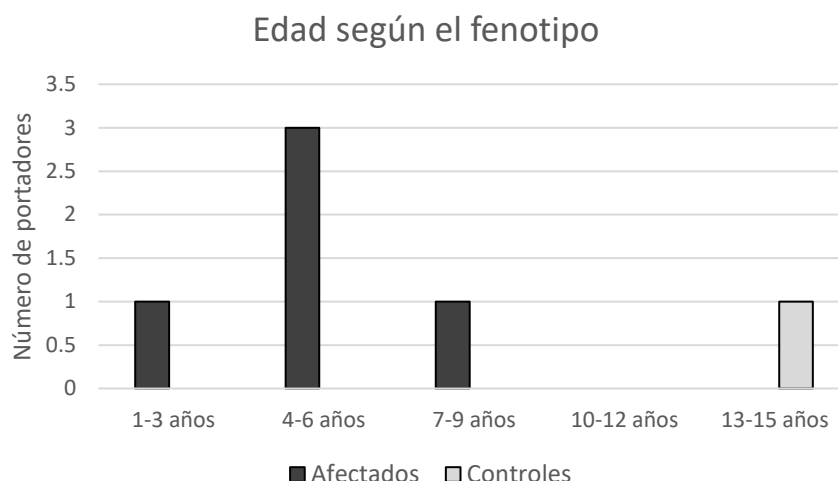


Figura 25. Distribución de la variante c.-12C>T en función de la edad de los portadores individuales.

Esta variante estaba presente en varias razas de gatos. En los gatos de raza común que participaron en el estudio, solo hemos encontrado 3 individuos portadores, lo que representa un 6,1% de la población total de gatos comunes. Por otro lado, hemos identificado 2 gatos de raza Sphynx, lo que supone el 8,7%. En cuanto a los gatos Ragdoll, se ha identificado que un solo individuo portador de esta raza (Figura 26). No obstante, la frecuencia de datos en esta raza es menos representativa debido a la baja cantidad de gatos Ragdoll incluidos.

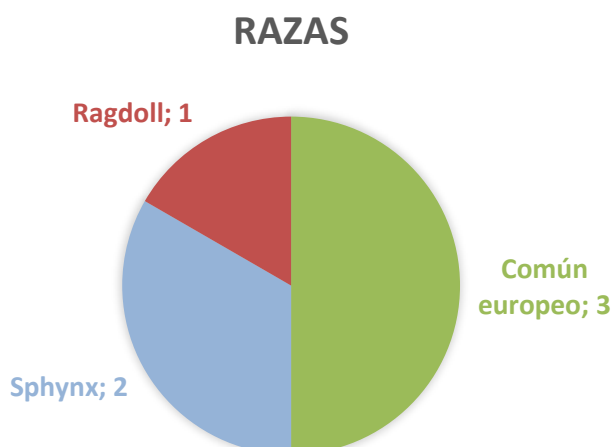


Figura 26. Representación de portadores individuales de la variante c.-12C>T clasificados por su raza.

PKP2: p.Arg196His

La variante p.Arg196His en *PKP2*, muestra una asociación estadísticamente significativa con la MCH felina, presentando una frecuencia notablemente elevada en gatos afectados (16 portadores) en comparación con un único control (21,1% vs 1,7%, $p=0,0002$, Tabla 17).

Esta variante aparece en individuos de ambos sexos, aunque es más prevalente en los machos (9, 60,0%). No se ha identificado ningún gato que sea homocigoto para esta variante.

En relación con la distribución de edades en gatos afectados, hemos observado diagnósticos que abarcan desde gatos muy jóvenes hasta gatos de mayor edad, siendo la media 7,6 años. Cabe resaltar que, en el grupo de estudio, hemos identificado un gato de 15 años que se encuentra en buen estado de salud (C81) (Figura 27).

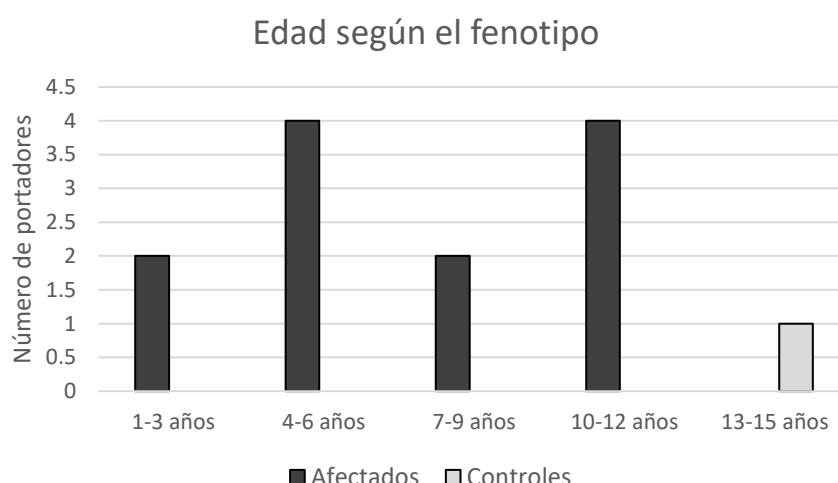


Figura 27. Distribución de la variante p.Arg196His en función de la edad de los portadores individuales.

La variante p.Arg196His en el gen *PKP2* se encuentra predominantemente en gatos comunes europeos, y la hemos detectado en un total de 11 ejemplares de esta raza, lo que representa aproximadamente el 22,4% de la población de gatos comunes de origen europeo en nuestro estudio. Además, hemos documentado casos aislados de esta variante en otras dos razas felinas, a saber, British Shorthair y Persa (Figura 28). Del resto de portadores no tenemos datos sobre la raza.

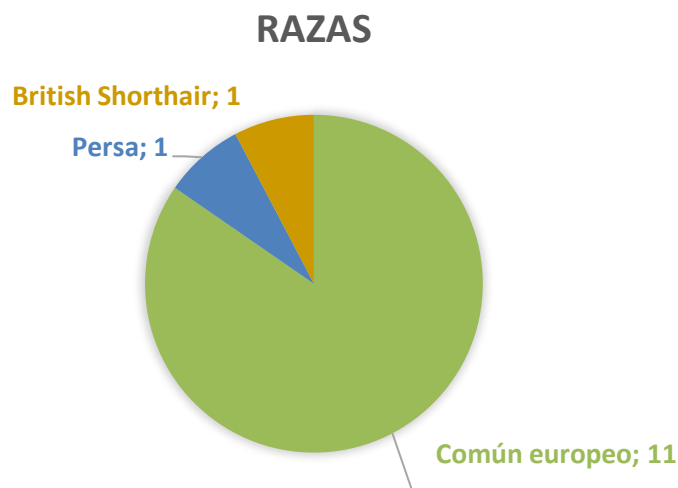


Figura 28. Representación de portadores individuales de la variante p.Arg196His clasificados por su raza.

Variantes presentes en dos individuos sanos

MYH6: p.Ala1442Thr

Identificamos la variante p.Ala1442Thr en el gen *MYH6* en 8 portadores que incluyen individuos de ambos sexos, aunque predominan ligeramente los machos. Los portadores, incluso los aparentemente sanos, son individuos de avanzada edad, siendo la edad media de los afectados 11,0 años (Figura 29).

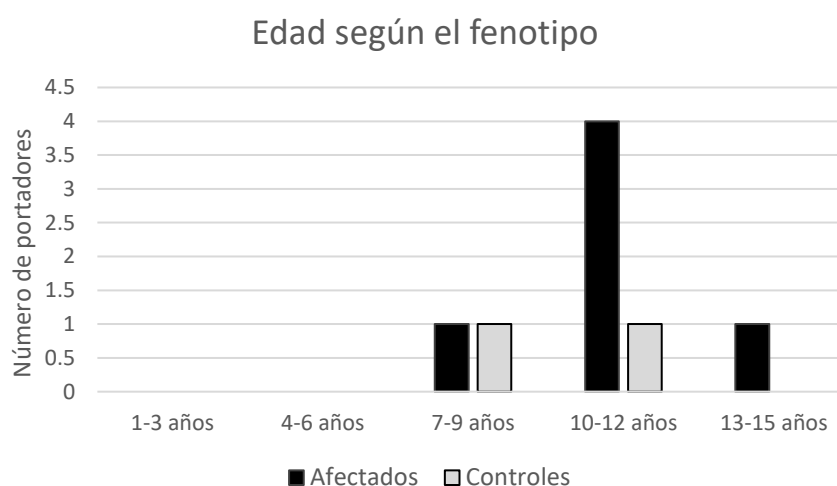


Figura 29. Distribución de la variante p.Ala1442Thr en función de la edad de los portadores individuales.

Esta variante se ha detectado en los dos grupos principales de razas de nuestra cohorte, específicamente en gatos Persas y gatos domésticos comunes. Identificamos 5 gatos Persas portadores y 3 gatos domésticos portadores, lo que

representa el 18,5% y el 6,1% de sus respectivas poblaciones. Estos resultados indican que la variante p.Ala1442Thr está presente en una proporción significativa de los gatos Persas y en una proporción menor en los gatos sin raza, sugiriendo una posible asociación con estas razas específicas en términos de predisposición genética (Figura 30).



Figura 30. Representación de portadores individuales de la variante p.Ala1442Thr clasificados por su raza.

***FHOD3*: p.Ser1457Asn**

La variante p.Ser1457Asn que afecta a *FHOD3*, se encuentra en un total de 5 gatos machos y 3 hembras en nuestra población de estudio. Todos los individuos que portan esta variante genética son heterocigotos.

En lo que respecta a los controles portadores de la variante, presentan edades muy dispares. Uno de ellos tiene solo un año de edad, mientras que el otro, es un gato de 15 años. En cuanto a los gatos afectados, la mayoría son jóvenes, excepto en un caso en el que la enfermedad se diagnosticó a los 14 años, lo que no excluye que estuviera enfermo antes del diagnóstico (Figura 31).

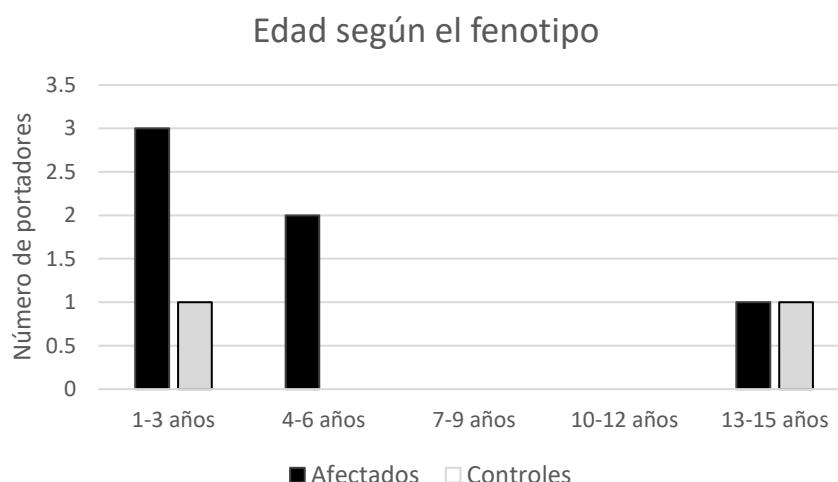


Figura 31. Distribución de la variante p.Ser1457Asn en función de la edad de los portadores individuales.

La variante p.Ser1457Asn muestra una distribución amplia en cuanto a su presencia en diferentes razas felinas. Nuestro análisis ha identificado 4 portadores de esta variante entre gatos comunes europeos, lo que supone el 8,2% de la población total de gatos sin raza pura. Además, hemos encontrado un individuo portador de esta variante en cada una de las siguientes razas: British Shorthair, Mezcla de Angora, Persa y Exótico. Estos resultados revelan que la presencia de la variante p.Ser1457Asn no se limita a una raza felina específica, lo que sugiere que es probable que esté presente en múltiples poblaciones de gatos, aunque en una frecuencia relativamente baja (Figura 32).

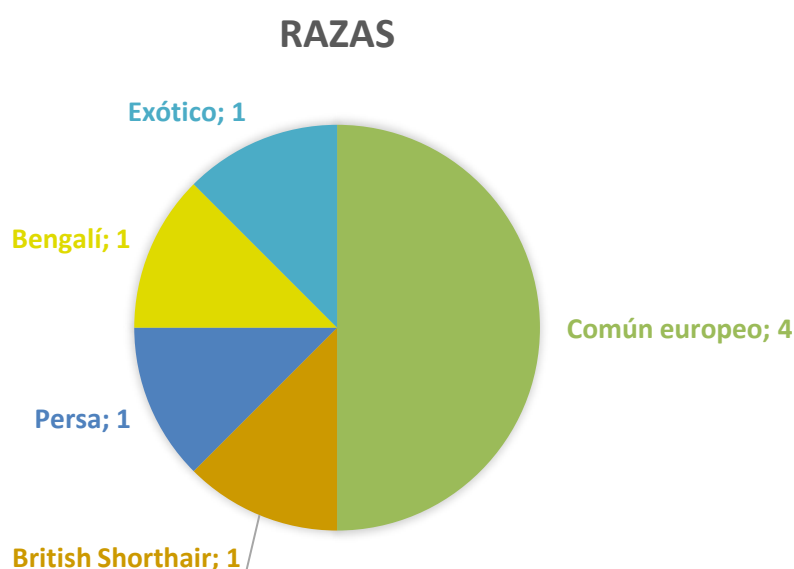


Figura 32. Representación de portadores individuales de la variante p.Ser1457Asn clasificados por su raza.

***FHOD3*: p.Arg1489Pro**

La variante p.Arg1489Pro en el gen *FHOD3* se ha identificado en un grupo de estudio compuesto por 6 individuos machos y 6 hembras. Entre los portadores de esta variante, se observaron 6 casos de homocigosis, uno de los cuales era un gato control.

En el grupo de portadores, se observó que todos los individuos afectados por la variante eran menores de 7 años, la mayoría de ellos siendo menores de 3 años. Los dos controles portadores de la variante p.Arg1489Pro en *FHOD3* eran individuos jóvenes, con una edad de 3 años en el momento de la evaluación cardiológica (Figura 33).

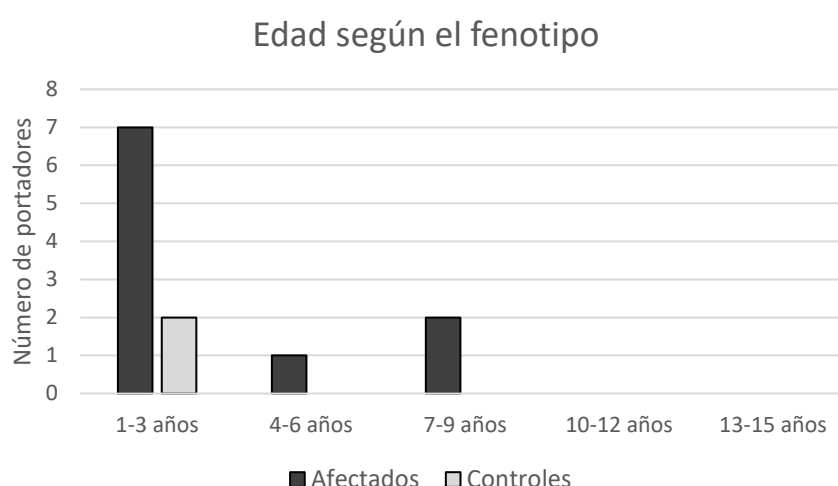


Figura 33. Distribución de la variante p.Arg1489Pro en función de la edad de los portadores individuales.

La variante p.Arg1489Pro muestra una prevalencia destacada en la raza Sphynx, se encuentra presente en el 47,82% de los gatos Sphynx. Solamente se ha detectado un portador de esta variante en un gato sin raza pura (Figura 34).

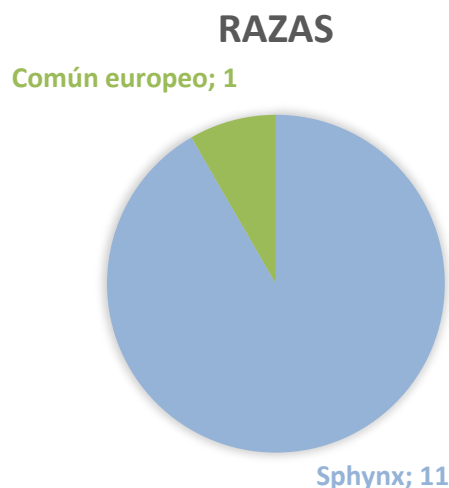


Figura 34. Representación de portadores individuales de la variante p.Arg1489Pro clasificados por su raza.

FHOD3: p.Ile1447Thr

En relación a la variante p.Ile1447Thr en *FHOD3*, hemos identificado 3 individuos portadores de esta variante, 2 de ellos son machos y uno es hembra. Solo uno de los portadores presentaba MCH, los otros dos estaban sanos en el momento de la evaluación cardiológica. Todos estos individuos son heterocigotos.

Respecto a las edades, uno de los controles portadores es un individuo muy joven, con tan solo un año de edad, mientras que el otro control portador es un gato más maduro, de 7 años. El gato afectado se diagnosticó a los 7 años (Figura 35).

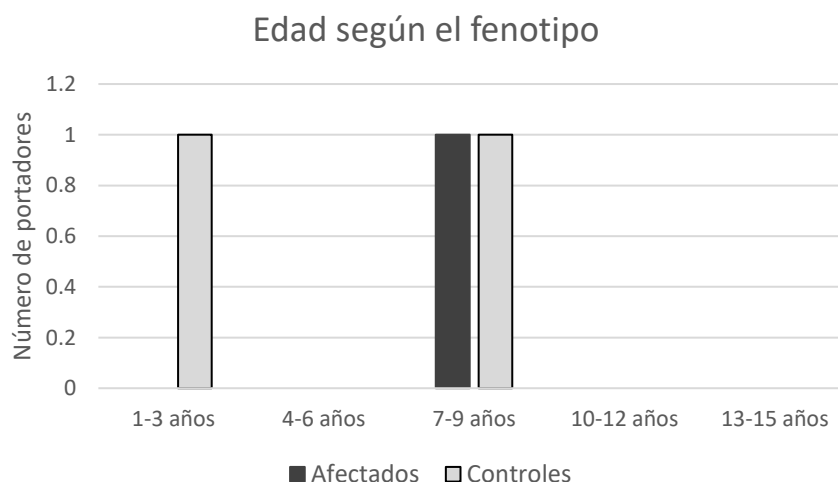


Figura 35. Distribución de la variante p.Ile1447Thr en función de la edad de los portadores individuales.

En lo que respecta a la asociación de esta variante genética en diferentes razas de gatos, hemos encontrado portadores en las razas más representadas en nuestro estudio, como el gato común europeo y el gato persa (Figura 36). Sin embargo, su frecuencia es menor del 4,1% en la población total de estas razas. Estos resultados sugieren que la variante es poco común incluso en las razas más representativas.

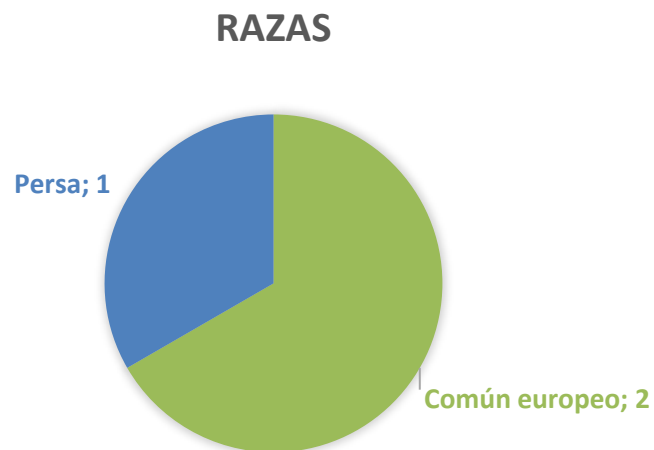


Figura 36. Representación de portadores individuales de la variante p.Ile1447Thr clasificados por su raza.

5.2 Estudio de asociación genética de los polimorfismos detectados

Para el estudio de asociación se utilizaron las variantes que presentaron una frecuencia en el grupo control >5% y cumplían el equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 18).

Tabla 18. Tabla equilibrio de Hardy-Weinberg.

Gen	Variante	Todos los sujetos (n=134)	Afectados (n=76)	Controles (n=58)
MYBPC3	p.Ala59Thr	0,0085	0,18	0,027
MYBPC3	p.Pro104Leu	0,038	1	0,34
MYBPC3	p.Gly118Arg	1	1	1
MYBPC3	p.Ala699Thr	0,038	0,13	0,17
MYBPC3	p.Ile1130Val	0,05	0,13	0,23
MYH6	p.Ala1402Thr	0,44	0,18	1
MYL2	p.Leu42Val	1	1	1
TNNT2	c.50-108G>A	0,0036	0,0046	0,23
TTR	p.Ala80Pro	1	1	1
DSG2	p.Ser1255Ala	1	1	1
DSP	p.Arg1401Gly	1	1	1
DSP	p.Glu2635Asp	0,65	1	0,23
JUP	p.Arg539Cys	0,23	1	0,086
PKP2	p.Ala41Val	0,16	1	0,13
PKP2	p.Pro622Leu	1	1	1

En el caso de la variante p.Glu2635Asp en DSP, esta se encuentra en 27 gatos de nuestra cohorte, siendo la frecuencia en el grupo de afectados mucho más alta que en el control (26,3% vs 12,1%, $p=0,037$). Esta variante es común en ambos géneros, aunque en nuestra muestra hemos observado un mayor porcentaje de individuos de sexo masculino que la presentan, con un 63,0% de casos registrados. El único individuo con dos copias homocigotas de esta variante es un gato sano.

En cuanto a la distribución de la edad de diagnóstico, nuestra muestra de controles abarca una amplia gama de edades. La mayoría de los pacientes afectados reciben su diagnóstico en etapas tempranas de su desarrollo, aunque también hemos identificado casos en los que la afección se detectó en etapas más avanzadas de la vida felina (Figura 37).

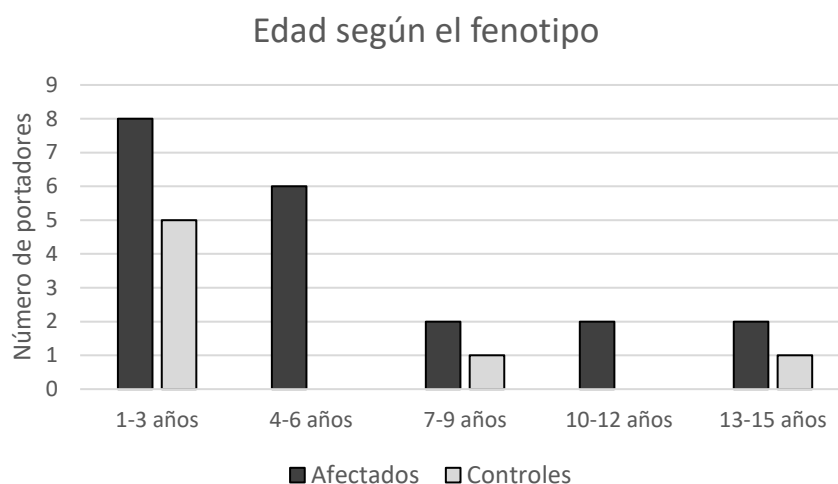


Figura 37. Distribución de la variante *p.Glu2635Asp* en función de la edad de los portadores individuales.

La distribución por razas muestra que esta variante se encontró en una proporción sustancial de la población de gatos Sphynx, 52,2% de los gatos Sphynx estudiados son portadores de esta variante. Además, se identificó esta variante en 10 gatos comunes, lo que representa el 20,4% de la población total de gatos comunes. También se detectó de manera aislada en otras razas, incluyendo British Shorthair, Bosques de Noruega, Ragdoll y Scottish Fold. Esto sugiere que la variante no está restringida solo a una raza específica (Figura 38).

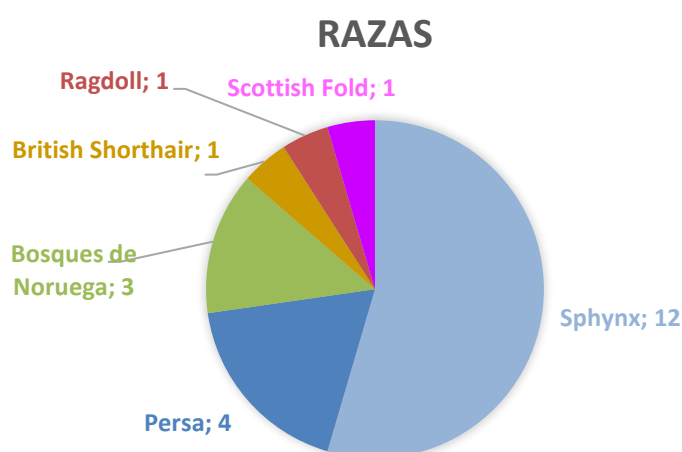


Figura 38. Representación de portadores individuales de la variante *p.Glu2635Asp* clasificados por su raza.

Las demás variantes analizadas por su posible implicación en el desarrollo de la enfermedad no mostraron una asociación relevante con la MCH.

5.3 Variantes en función de la raza

El análisis de la frecuencia alélica de las variantes seleccionadas mostró una asociación entre la variante p.Arg539Cys en el gen *JUP* y la raza Sphynx. No se identificaron portadores de otras razas en nuestra cohorte de estudio. En la población de gatos Sphynx analizados, esta variante se encontró en el 47,8%, con una frecuencia alélica mínima de 0,239, destacando su elevada prevalencia en la raza Sphynx (Tabla 19).

Asimismo, identificamos una elevada frecuencia alélica de otras dos variantes en gatos de la raza Sphynx en comparación con otras razas. La variante p.Arg1489Pro en el gen *FHOD3* mostró una frecuencia alélica mínima de 0,348, y fue detectada en aproximadamente el 52,2% de la población de gatos Sphynx en nuestro estudio. Un único portador adicional de esta variante se identificó en un gato de la raza común europea. En relación con la variante p.Leu42Val en el gen *MYL2*, que presenta una frecuencia alélica mínima de 0,109, se detectó en el 21,74% de la población de gatos Sphynx que fueron genotipados, y también se identificó en un único portador de otra raza, específicamente en la raza British Shorthair.

El estudio de las variantes seleccionadas en la población mostró que en la raza Sphynx se encuentran tres variantes prácticamente exclusivas, indicando una conexión genética entre estas variantes y esta raza en concreto. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar las diferentes razas al investigar la predisposición genética en la MCH en gatos.

Tabla 19. Frecuencia alélica menor de las variantes estudiadas en las diferentes razas.

Gen	Variante	BN (n=2)	BS (n=3)	Cartujo (n=1)	CE (n=49)	DR (n=2)	EX (n=6)	MC (n=6)	MA (n=1)	Persa (n=27)	RG (n=5)	SF (n=1)	SP (n=23)
DES	c.-12C>T				0,031						0,100		0,043
	p.Glu232Lys				0,020								
DSP	p.Asn944Ser				0,020								
	p.Arg1401Gly				0,082			0,083	0,500	0,074			0,022
	p.Glu2635Asp	0,250	0,167		0,102						0,100	0,500	0,304
DSG2	p.Ser1255Ala			0,500	0,020		0,083		0,500	0,093			
FHOD3	p.Ser1457ASn		0,167		0,041		0,083		0,500	0,019			
	p.Arg1489Pro				0,010								0,348
	p.Ile1447Thr				0,031								
JUP	p.Arg539Cys												0,239
MYBPC 3	p.Ala59Thr				0,122					0,019	0,200		0,022
	p.Pro104Leu				0,082						0,200		
	pGly118Arg				0,031	0,250				0,056			
	c.1921+4A>C				0,056	0,250							
	p.Ala699Thr				0,092					0,037	0,200		0,022
	p.Ile1130Val				0,122					0,019	0,2		0,022
MYH6	p.Ala1334Thr				0,010								
	p.Ala1442Thr				0,031					0,093			
MYL2	p.Leu42Val		0,167										0,109
PKP2	p.Ala41Val						0,250	0,167		0,056	0,100		
	p.Arg196His		0,167		0,112					0,112			
	p.Pro622Leu						0,250	0,167		0,056	0,100		
TNNT2	c.50-108G>A				0,112				0,250	0,019			
TTR	p.Ala80Pro	0,250			0,020								

BN: Bosques de Noruega; BS: British Shorthair; CE: Común Europeo; DR: Devon Rex; EX: Exótico; MC: Maine Coon; MA: mezcla de Angora; RG: Ragdoll; SF: Scottish Fold; SP: Sphynx

6. Rendimiento genético

El rendimiento del estudio genético de nuestro panel de genes en felinos con MCH alcanzó el 57,1% (Figura 39). Este resultado implica que, de los 35 gatos con MCH sometidos a evaluación, 20 de ellos exhibieron la presencia de una o más variantes genéticas que postulamos podrían estar vinculadas a la MCH. Todas estas variantes, hasta ahora no documentadas, han sido clasificadas como potencialmente patogénicas según los parámetros establecidos en nuestro estudio. Con la excepción de una variante situada en la región 5'-UTR, todas las variantes identificadas son del tipo *missense*.

Entre los gatos que recibieron un diagnóstico genético positivo, se observó que el 55% eran portadores de múltiples variantes genéticas. El 42,9% de los gatos afectados sometidos al panel (15 de 35), aún permanece sin un diagnóstico molecular concluyente.

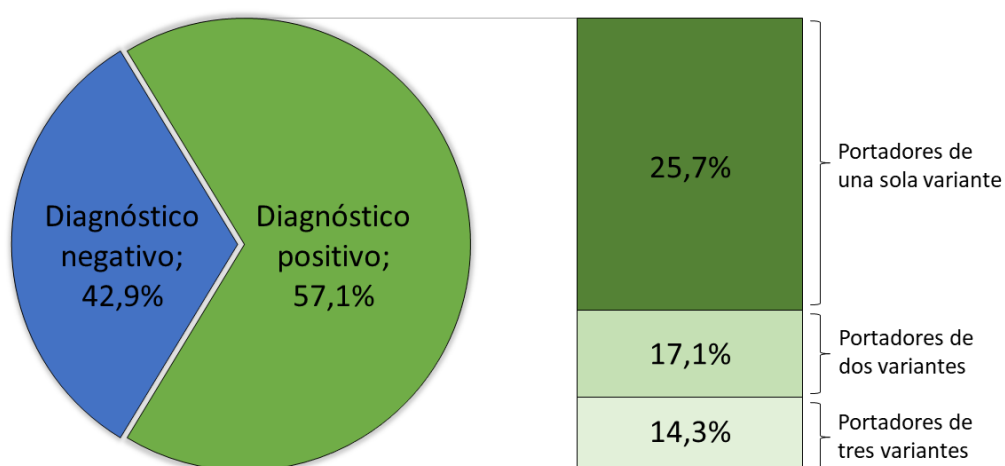


Figura 39. Rendimiento genético de nuestra estrategia de secuenciación masiva dirigida a un panel de genes y distribución de los positivos según el número de variantes portadoras.

Un total de 10 variantes fueron identificadas entre todos los portadores positivos analizados. De este conjunto, 3 variantes se localizaron en genes desmosómicos (*DSP* y *PKP2*), otras 3 en genes sarcoméricos (*MYBPC3* y *MYH6*), 2 en el gen *DES* y 2 en el gen *FHOD3*. En relación con la distribución en los individuos, la mayoría presentó alguna variante o dos en alguno de los genes desmosómicos, ya sea de manera aislada o en combinación con variantes en el gen *DES* o *FHOD3*. Por otro lado, los individuos portadores de variantes en el sarcómero, las exhibieron exclusivamente en esos genes, o bien, se heredaron

en conjunción con una variante en los genes del desmosoma. Sin embargo, ninguno de los portadores de variantes en el sarcómero lo es de alguna variante en *DES* o *FHOD3* (Figura 40).



Figura 40. Diagrama de Venn de los individuos portadores de variantes en los distintos genes potencialmente patogénicos.

En el conjunto de muestras secuenciadas mediante NGS, se identificaron como más prevalentes las variantes p.Arg196His en el gen *PKP2* y p.Glu2635Asp en el gen *DSP*. Notablemente, cada una de estas variantes estaba presente en el 45,5% de los gatos afectados por MCH (Figura 41).

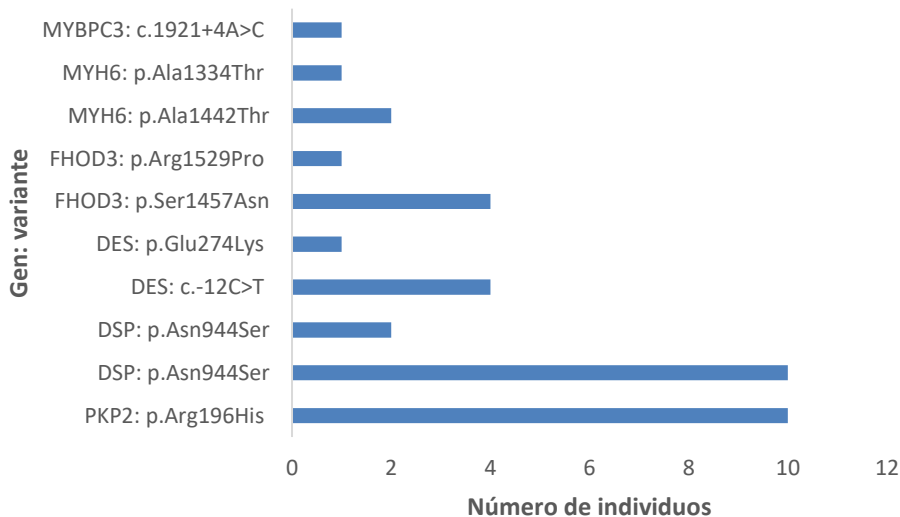


Figura 41. Distribución de la cantidad de portadores de las variantes probablemente patogénicas en los individuos con diagnóstico genético positivo.

A continuación, se detallan las variantes genéticas en gatos con diagnóstico positivo (Tabla 20).

Tabla 20. Portadores afectados de variantes seleccionadas a través del estudio de secuenciación masiva.

ID	Raza	Sexo	Edad	Gen	Variante	Genotipo
C12	NC	NC	NC	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C12	NC	NC	NC	FHOD3	p.Ser1457Asn	Heterocigosis
C13	Persa	Macho	7	MYH6	p.Ala1442Thr	Heterocigosis
C15	Mezcla Angora	Hembra	14	FHOD3	p.Ser1457Asn	Heterocigosis
C20	Sphynx	Macho	1	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C26	Común europeo	Hembra	12	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C26	Común europeo	Hembra	12	MYH6	p.Ala1442Thr	Heterocigosis
C37	Sphynx	Hembra	4	DES	c.-12C>T	Heterocigosis
C37	Sphynx	Hembra	4	FHOD3	p.Arg1529Pro	Heterocigosis
C40	Sphynx	Hembra	6	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C51	Común europeo	Macho	7	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C51	Común europeo	Macho	7	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C52	Persa	Macho	2	MYBPC3	c.1921+4A>C	Heterocigosis
C53	Común europeo	Macho	6	DSP	p.Asn944Ser	Homocigosis
C53	Común europeo	Macho	6	DES	c.-12C>T	Heterocigosis
C53	Común europeo	Macho	6	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C58	Común europeo	Macho	5	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C58	Común europeo	Macho	5	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C58	Común europeo	Macho	5	DES	p.Glu274Lys	Homocigosis
C62	Común europeo	Macho	3	FHOD3	p.Ser1457Asn	Heterocigosis
C62	Común europeo	Macho	3	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C65	Scottish Fold	Macho	2	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C66	British Shorthair	Macho	2	FHOD3	p.Ser1457Asn	Heterocigosis
C66	British Shorthair	Macho	2	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C66	British Shorthair	Macho	2	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C67	Común europeo	Macho	11	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C76	Común europeo	Macho	14	DSP	p.Asn944Ser	Heterocigosis
C83	Común europeo	Hembra	9	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C83	Común europeo	Hembra	9	MYH6	p.Ala1334Thr	Heterocigosis
C83	Común europeo	Hembra	9	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C89	Común europeo	Hembra	7	DES	c.-12C>T	Heterocigosis
C89	Común europeo	Hembra	7	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis
C89	Común europeo	Hembra	7	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C90	Persa	Macho	3	PKP2	p.Arg196His	Heterocigosis
C94	Ragdoll	Hembra	5	DES	c.-12C>T	Heterocigosis
C94	Ragdoll	Hembra	5	DSP	p.Glu2635Asp	Heterocigosis

NC: no conocido

7. Estudio de la homocigosidad por fenotipo

La evaluación de las variantes en homocigosidad revela que los gatos afectados muestran un mayor número de variantes en homocigosidad en comparación con los no afectados ($1034,5 \pm 504,2$ vs $627,3 \pm 493,3$, $p=0,040$) (Figura 42).

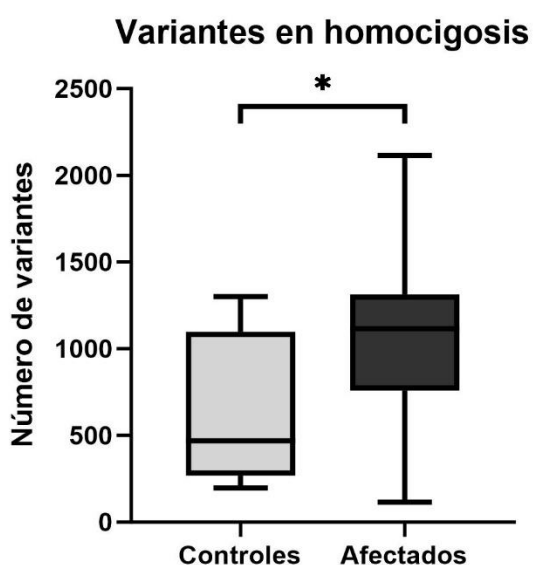


Figura 42. Representación de la cantidad total de variantes genéticas en estado homocigoto, diferenciando entre el grupo de gatos de control y el grupo de gatos afectados.

Al realizar el análisis comparativo para evaluar posibles diferencias entre hembras y machos, no se encontraron diferencias entre el sexo y una mayor presencia de variantes en homocigosidad. Los individuos machos presentan una media de $957,2 \pm 495,3$ variantes en homocigosidad mientras que las hembras tienen una media de $1247,6 \pm 478,4$, $p=0,228$.

En cuanto a su asociación entre las diferentes razas más representadas tampoco mostró resultados significativos, siendo el grupo de gatos común europeo el que más variantes en homocigosidad tiene ($1104,4 \pm 562,0$).

El estudio por genes detectó un mayor número de variantes (en relación a las pares de bases leídas) en homocigosidad en el grupo afectado con respecto a los controles en los genes *ACTC1*, *LAMP2*, *MYH6*, *TMEM43* y *TNNT2* (Figura 43).

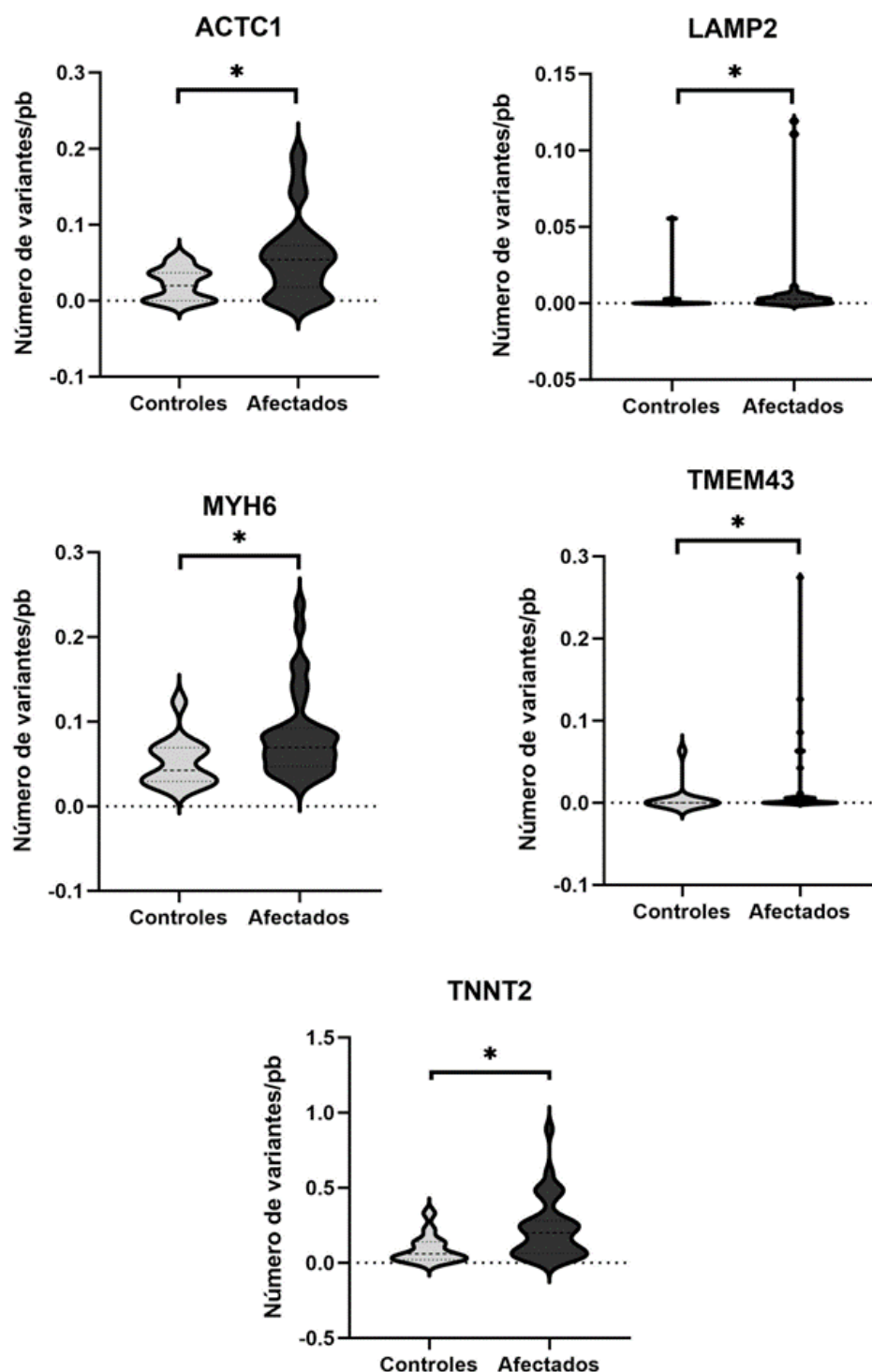


Figura 43. Comparación de la frecuencia de variantes genéticas en homocigosis entre el grupo afectado y el grupo control, destacando genes con diferencias significativas en el número de variantes homocigotas con respecto al tamaño del gen. * $p < 0,05$.

Al representar las posiciones donde aparecen las variantes en homocigosis exclusivamente en los gatos afectados en los genes que exhiben diferencias significativas en su frecuencia, se observa una distribución

principalmente concentrada en las regiones de los intrones. Se identifican zonas específicas donde estas variantes se presentan de manera agrupada (Figura 44).

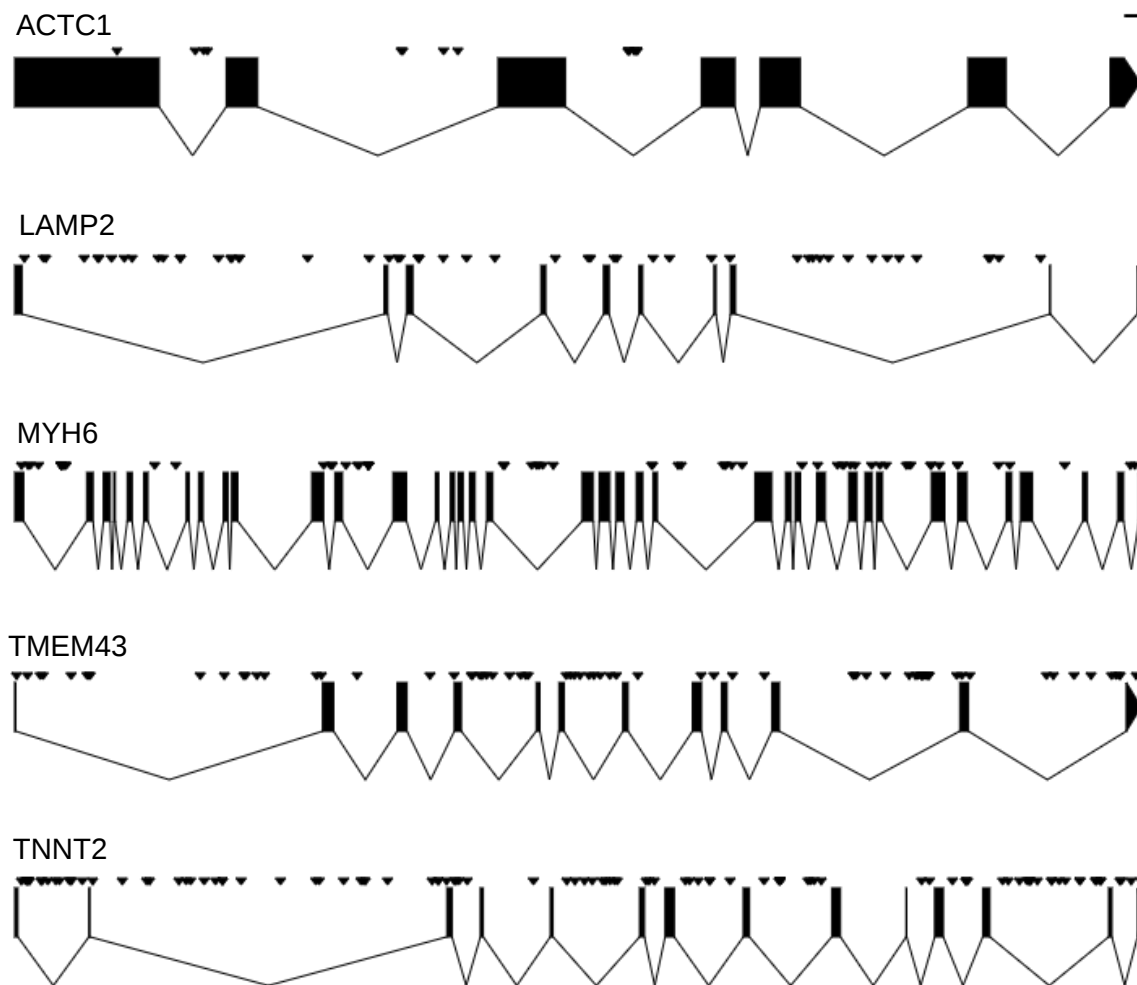


Figura 44. Distribución de las variantes homocigotas que están presentes solo en afectados en los genes que muestran diferencias en la frecuencia de variantes homocigotas en los individuos afectados con respecto a los controles.

Cuando evaluamos el grado de homocigosidad de manera individual en cada uno de los gatos (Figura 45), observamos una notable heterogeneidad incluso entre individuos de la misma raza. En el grupo de gatos control, destacan los ejemplares C9, C5 y C7 con un mayor número de variantes en homocigosis (Anexo, Tabla 27). El gato C9 es un ejemplar de la raza Bosques de Noruega, mientras que C5 y C7 son dos hembras de la misma camada de la raza Maine Coon. No disponemos de gatos afectados de estas razas para realizar comparaciones directas, pero pudimos apreciar que los demás gatos controles muestran niveles menores de homocigosidad, y en su mayoría son gatos comunes europeos, con la excepción de C23, que es un gato de la raza Bengalí.

Dentro del grupo de gatos afectados, se observó una variabilidad significativa en los niveles de homocigosidad, tanto en los gatos comunes europeos como en los gatos persa. En general, los gatos afectados tienden a exhibir un mayor grado de homocigosidad en comparación con los controles de la misma raza.

En el caso de los gatos Ragdoll, el único gato afectado (C61) presenta un ligero aumento en su grado de homocigosidad en comparación con los controles (C48 y C55) de la misma raza.

Entre los gatos de la raza Sphynx, a pesar de ser todos individuos afectados, existe una amplia variabilidad en sus niveles de homocigosidad, que van desde 0,02 hasta 0,30.

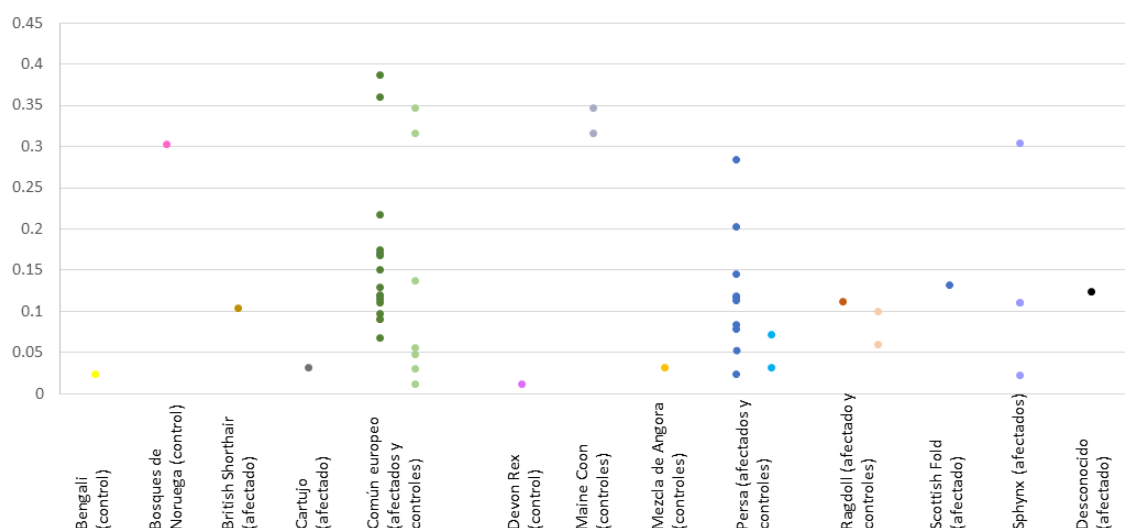


Figura 45. Grado de homocigosidad por gato ordenados según la raza, teniendo en cuenta las variantes totales en homocigosis con respecto a las bases leídas en cada muestra individualmente.

8. Estudio de las variantes publicadas asociadas a MCH felina

Hasta la fecha, se han documentado cinco variantes genéticas asociadas con MCH felina, detalladas en la Tabla 6 del apartado de la introducción. Por su relevancia, se ha explorado la frecuencia de estas variantes en nuestra cohorte de estudio, así como la frecuencia calculada a partir de los datos previamente publicados en la literatura (Tabla 21).

Tabla 21. Comparación de las frecuencias genotípicas de las variantes descritas en los estudios publicados y en nuestra cohorte de gatos.

Gen	Variante	MAF BD		Frecuencia COHORTE (n=134)		Frecuencia publicaciones		Ref.
				Control (n=58)	MCH (n=76)	Control	MCH	
MYBPC3	p.Ala31Pro	0	G/C	0 (0%)*	0 (0%)*	229(28,1%)	28 (30,4%)	1-8
			C/C	0 (0%)*	0 (0%)*	20 (2,5%)	32 (34,8%)	
MYBPC3	p.Arg820Trp	0	C/T	1 (7,7%)*	0 (0%)*	15 (28,8%)	18 (54,5%)	9-11
			T/T	0 (0%)*	0 (0%)*	1 (1,9%)	10 (30,3%)	
MYH7	p.Glu1883Lys	0,06	G/A	0 (0%)*	0 (0%)*	0 (0%)	1 (100%)	12
TNNT2	c.95-108G>A	0	G/A	6 (10,3%)	3 (4,0%)	26 (44,8%)	14 (45,2%)	13-14
			A/A	1 (1,7%)	2 (2,6%)	7(12,1%)	5 (16,1%)	
ALMS1	p.Gly3379Arg	0	G/C	7 (12,1%)	7 (9,2%)	4 (1,7%)	36 (28,1%)	15,16
			C/C	2 (3,5%)	6 (7,9%)	0 (0%)	35 (27,3%)	

*únicamente gatos incluidos en NGS

1: Meurs et al., 2005; 2: Fries et al., 2008; 3: Kittleson et al., 2008; 4: Sampedrano et al., 2009; 5: Mary J et al., 2010; 6: Wess et al., 2010; 7: Godiksen et al., 2011; 8: Longeri et al., 2013; 9: Borgeat et al., 2014; 10: Longeri et al., 2013; 11: Meurs et al., 2007; 12: Schipper et al., 2019; 13: McNamara et al., 2020; 14: T et al., 2022; 15: Akiyama et al., 2023; 16: Meurs et al., 2021

Las primeras variantes, p.Ala31Pro y p.Arg820Trp, localizadas en el gen *MYBPC3*, han sido objeto de una amplia investigación por parte de diversos grupos de científicos, lo que nos permitió hacer una revisión sistemática de los artículos con información del genotipo de estas variantes en gatos con MCH.

En contraposición, las otras variantes, p.Glu1883Lys en *MYH7*, c.50-108G>A en *TNNT2* y p.Gly3367Arg en *ALMS1*, han sido descubiertas recientemente, y no existen tantos estudios publicados que ayuden a determinar su efecto patológico.

8.1 Gen *MYBPC3*: variante p.Ala31Pro

En el curso de nuestra investigación mediante NGS, no se identificó ningún espécimen portador de la variante p.Ala31Pro en el gen *MYBPC3*. Con el objetivo de esclarecer la implicación de dicha variante, hemos llevado a cabo una exhaustiva revisión sistemática de la literatura científica. En este proceso, recopilamos datos provenientes de una muestra considerable de gatos de la raza Maine Coon, abarcando un total de 7.051 individuos genotipados específicamente para esta variante. Dentro de esta población, 92 individuos fueron diagnosticados con MCH, 816 no presentaban la enfermedad, y el fenotipo de los restantes individuos permanecía desconocido.

Al realizar un análisis detallado de los portadores de la variante, observamos que los gatos heterocigotos portadores mostraban una frecuencia similar tanto en el grupo de afectados como en el grupo no afectado (30,4% vs 28,1%, $p=0,63$) (Figura 46). Sin embargo, se evidenció una proporción significativamente mayor de individuos homocigotos para la variante p.Ala31Pro en el grupo de gatos afectados en comparación con aquellos sin la enfermedad (34,8% vs 2,5%, $p<0,001$). La frecuencia alélica de esta variante en la población de control se estimó en un 16,5%, basándonos en su presencia en 249 individuos de control.

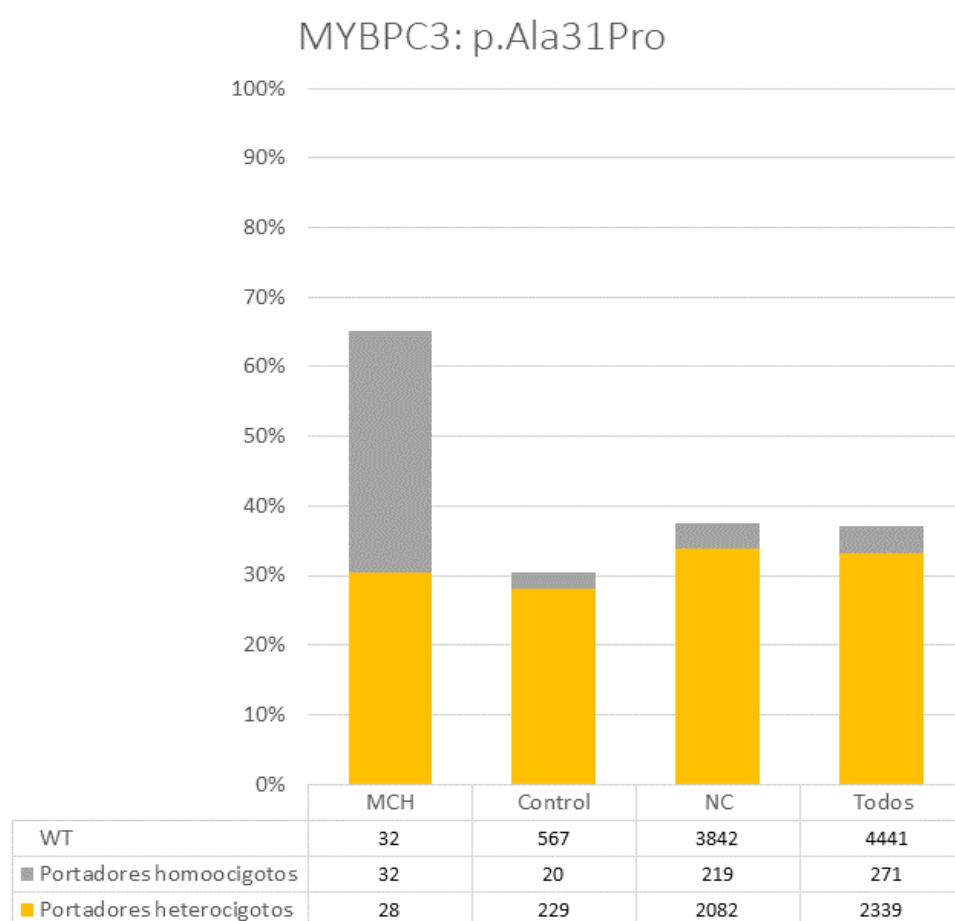


Figura 46. Portadores de la variante p.Ala31Pro en MYBPC3 según su fenotipo en 7.051 gatos Maine Coon.
NC: no conocido

El metaanálisis llevado a cabo en las cohortes que cumplían con los criterios establecidos evidenció una asociación entre los portadores homocigotos de la variante p.Ala31Pro y un riesgo mayor de desarrollar MCH. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el modelo recesivo (C/C vs G/C + GG). La representación de este modelo recesivo en las diversas cohortes revela una incidencia de riesgo de MCH en individuos portadores homocigotos de 3,12 (IC95%: 2,40-3,84, $p < 0,001$) (Figura 47).

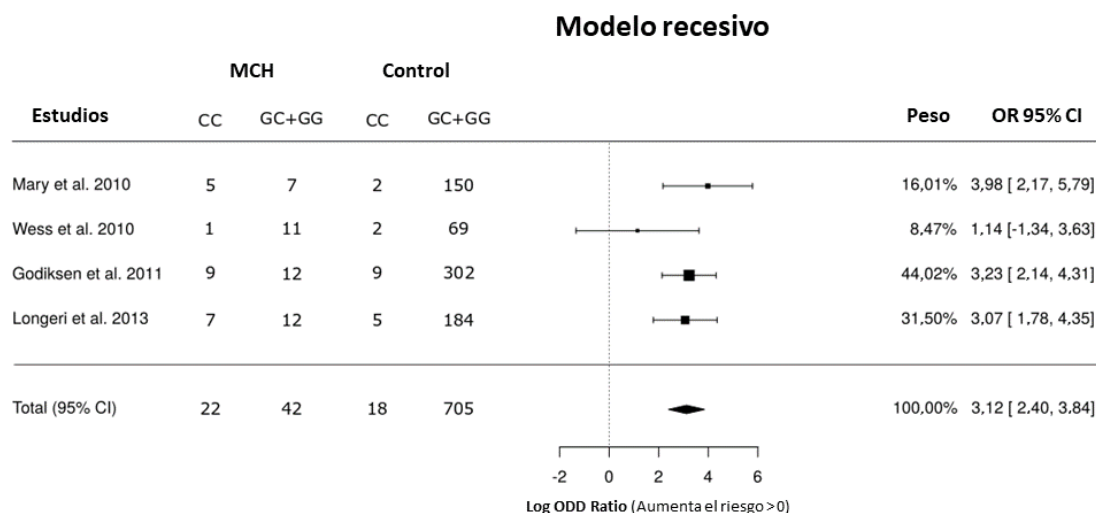


Figura 47. Meta-análisis de los estudios con portadores de la variante p.Ala31Pro en MYBPC3.

OR: odd ratio; IC95%: intervalo de confianza.

8.2 Gen MYBPC3: variante p.Arg820Trp

En relación con la variante p.Arg820Trp, únicamente se identificó un individuo portador de esta variante entre los gatos analizados mediante NGS, específicamente, un ejemplar sano perteneciente a la raza Ragdoll.

A pesar de que la variante p.Arg820Trp ha sido objeto de estudios extensos, la cantidad de datos disponibles es inferior en comparación con la variante p.Ala31Pro. Para realizar una evaluación integral de los datos, llevamos a cabo una revisión de la literatura, encontrando información relativa a 486 gatos Ragdoll genotipados, de los cuales 33 fueron diagnosticados con MCH y 52 sirvieron como controles. Desafortunadamente, una proporción elevada de los sujetos sometidos a estudio genético (401 individuos) carecían de un diagnóstico clínico definido, y la cantidad de casos en los análisis revisados resultó insuficiente para la conducción de un metaanálisis con respecto a la variante genética en cuestión.

La frecuencia de portadores heterocigotos resultó significativamente más elevada en los individuos afectados en comparación con los sanos (54,5% vs 28,8%, $p=0,018$). Esta disparidad se acentuó al considerar los individuos homocigotos (30,3% vs 1,9%, $p<0,001$) (Figura 48). Por otro lado, se observó que la variante estaba presente en 16 individuos sanos, generando una frecuencia alélica considerablemente elevada en los controles, alcanzando un 16,3%.

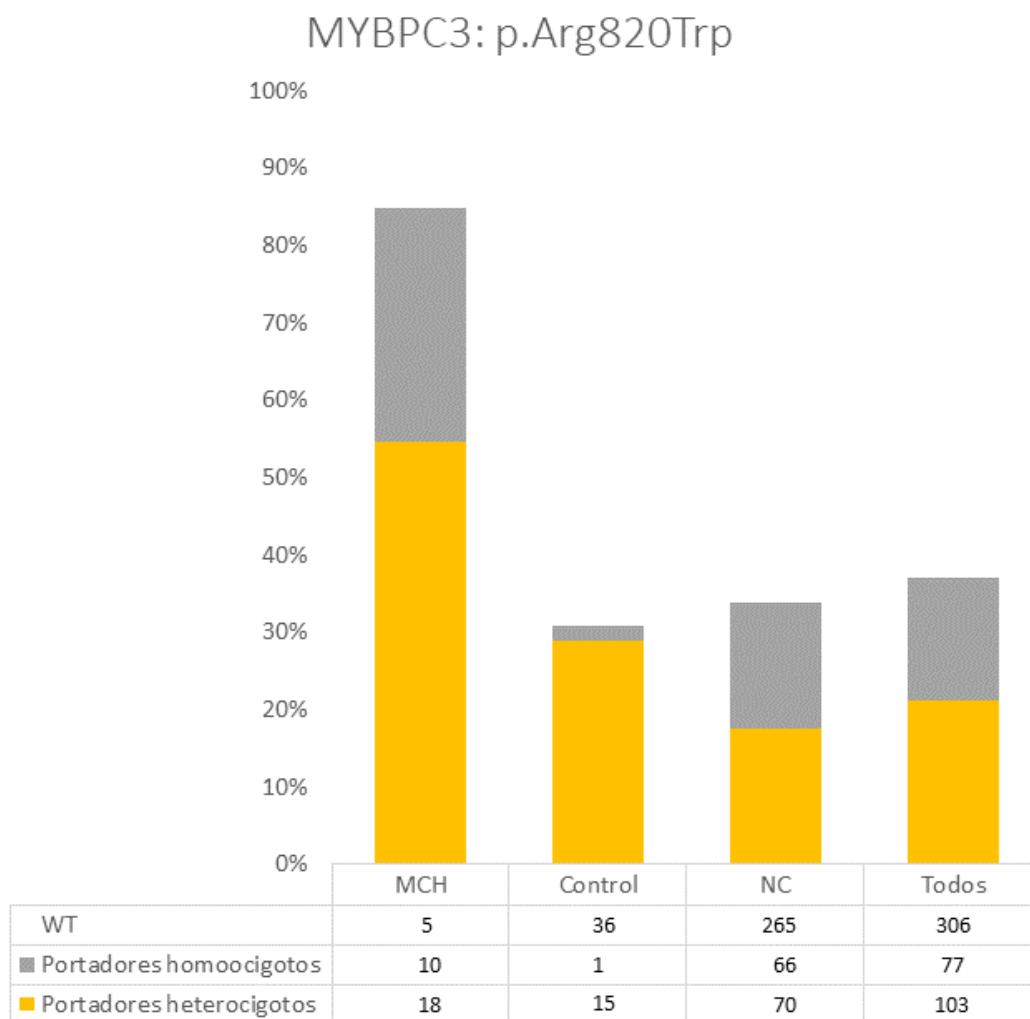


Figura 48. Portadores de la variante p.Arg820Trp en según su fenotipo en 486 gatos de la raza Ragdoll.
NC: no conocido

8.3 Gen MYH7: variante p.Glu1883Lys

La variante p.Glu1883Lys en el gen *MYH7* no ha sido identificada en ninguno de los 48 gatos sometidos a NGS en nuestro estudio. Hasta la fecha, únicamente se ha documentado un caso de un gato portador de esta variante, en concreto, se trata de un portador heterocigoto afectado por la enfermedad. Adicionalmente, se ha descartado su presencia en 103 gatos con MCH de diversas razas, tanto puras como mixtas (O'Donnell et al., 2021).

8.4 Gen *TNNT2*: variante c.50-108G>A

Nuestros hallazgos indicaron que la variante c.50-108G>A fue detectada en 3 gatos afectados secuenciados mediante NGS. La ausencia de esta variante en la población control de los 48 gatos analizados motivó la expansión del estudio a una cohorte total de 134 gatos utilizando secuenciación Sanger. En esta fase, comprobamos los resultados previos obtenidos mediante NGS y, además, identificamos otros gatos portadores de la variante. En total, esta variante se encontró en 12 gatos, de los cuales 7 eran controles (Tabla 17). Es destacable que un gato sano de 9 años era portador homocigoto de la variante. Observamos que esta variante está presente en diversas razas, incluyendo Persa, Maine Coon y gatos comunes europeos. En nuestra cohorte, la presencia de los portadores heterocigotos en el grupo afectado es menor que en la de los controles (4,0% vs 10,3%, $p=0,533$), mientras que, en el caso de los portadores homocigotos, los individuos con MCH sobresalen ligeramente al grupo control (2,6% vs 1,7%, $p=0,408$), sin embargo, ninguna de estas diferencias es significativa. Además, la variante no se ajusta al equilibrio de Hardy-Weinberg.

Otro estudio en la literatura documentó la presencia de esta variante en una muestra de 89 gatos analizados, de los cuales 31 presentaban MCH y 58 eran controles. En cuanto a las frecuencias, los portadores heterocigotos y homocigotos mostraron proporciones similares tanto en el grupo de individuos afectados como en el grupo de individuos sanos (45,2% vs 44,8%, $p=0,976$, en individuos heterocigotos; 16,1% vs 12,1%, $p=0,593$, en individuos homocigotos). Estos resultados sugieren que esta variante no parece ser la causa de la MCH.

Existen disparidades en la frecuencia de ocurrencia de la variante c.50-108G>A entre nuestro estudio y el de otros investigadores, siendo mucho más prevalente en la población analizada en la literatura. En ambos casos, la presencia de la variante c.50-108G>A en la población control es similar a la observada en los individuos afectados (Figura 49). De acuerdo con los datos en conjunto, la frecuencia alélica en la población control se estima en un 20,3%, y se ha observado la presencia de esta variante en hasta 8 razas distintas y en gatos de raza mixta.

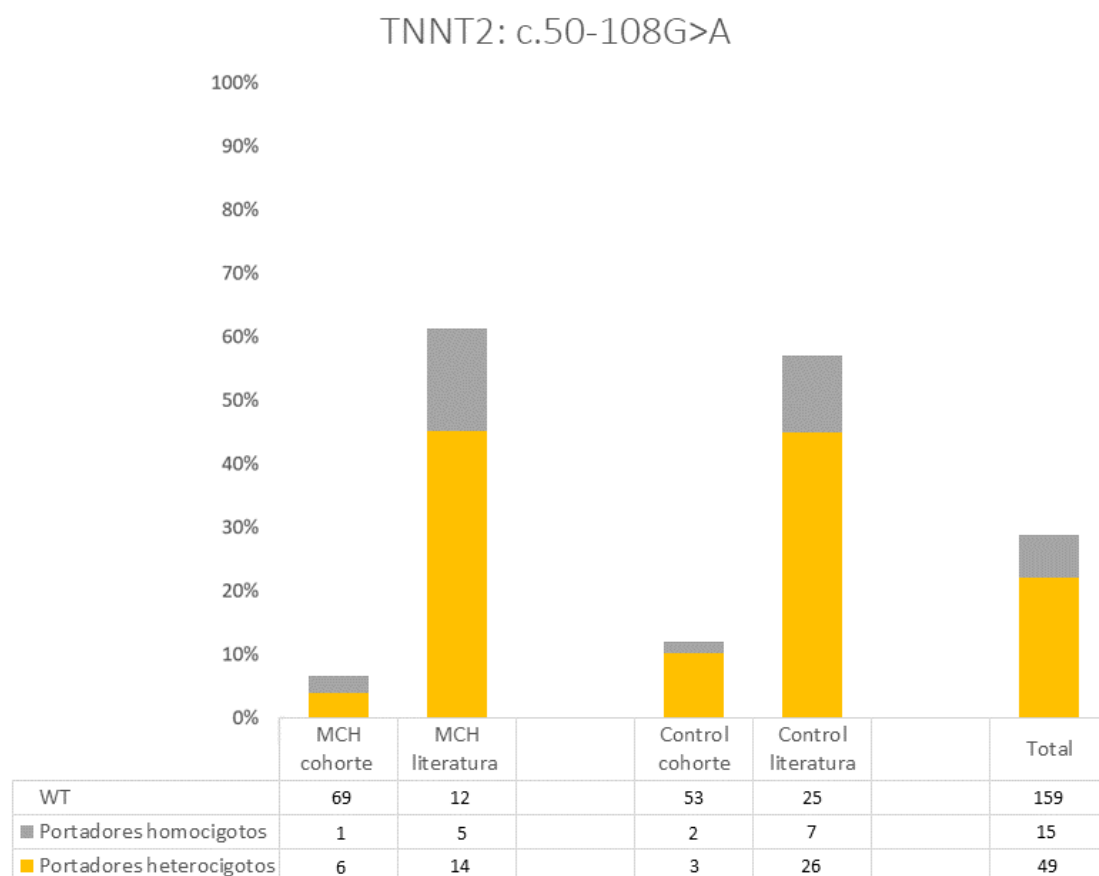


Figura 49. Portadores de la variante c.50-108G>A en TNNT2 según su fenotipo en 223 gatos, diferenciados según nuestra cohorte de gatos analizada y los datos publicados.

8.5 Gen ALMS1: variante p.Gly3367Arg

La variante p.Gly3367Arg identificada en el gen *ALMS1* ha sido recientemente asociada a la MCH en gatos de la raza Sphynx. Dada su relevancia, optamos por llevar a cabo la secuenciación de esta variante en una muestra de 134 gatos utilizando la técnica de secuenciación Sanger. Los resultados revelaron la presencia de la variante en 22 gatos, de los cuales 13 fueron diagnosticados con MCH. En cuanto a la influencia de esta variante en el fenotipo, hay que destacar su presencia en gatos sanos. Al comparar afectados y controles, no encontramos asociación estadísticamente significativa entre esta variante y la enfermedad. Aunque se observó un mayor número de homocigotos en la población afectada, esta diferencia no alcanzó significancia estadística (7,9% vs 3,5%, $p=0,282$). Curiosamente, se registró una frecuencia menor de la variante en heterocigosis en la población afectada (9,2% vs 12,1%, $p=0,592$). Los únicos individuos homocigotos para esta variante pertenecen a la raza Sphynx. A pesar de su amplia prevalencia en esta raza, alcanzando el 65,2% de la población total de gatos Sphynx estudiada, se ha observado que no es

exclusiva de esta raza, ya que identificamos 6 gatos portadores heterocigotos de otros pedigrees, incluyendo la raza Devon Rex, Persa y gatos de raza mixta.

En referencia a estudios recientes descritos en la literatura, realizados en los últimos dos años, se ha llevado a cabo el genotipado de hasta 497 individuos, de los cuales 133 tienen un fenotipo desconocido. Entre los restantes, se incluyen 128 gatos diagnosticados con MCH y 233 individuos sanos. La recopilación de estos datos sugiere una asociación de la variante con el fenotipo de MCH ya que ninguno de estos estudios documenta la presencia de individuos sanos homocigotos para la variante (27,3% vs 0,0% $p=0,000$). Asimismo, se observan datos estadísticamente significativos en el caso de los portadores heterocigotos (28,1% vs 1,7% $p=000$). Además de individuos de la raza Sphynx esta variante también se reporta en gatos de cinco razas distintas, a saber, American Shorthair, Exótico, Minuet, Munchkin y Scottish Fold (Akiyama et al., 2023).

Las disparidades entre los resultados obtenidos de nuestra cohorte y los datos documentados en la literatura se evidencian mediante las diferencias apreciadas en las frecuencias encontradas. En el grupo de individuos afectados, nuestros hallazgos revelan un número inferior de portadores de la variante p.Gly3367Arg en comparación con los datos previamente publicados. En contraste, en el grupo de individuos no afectados, observamos la situación opuesta, donde nuestra muestra de gatos sin afectación exhibe un mayor número de portadores en comparación con lo descrito en la literatura (Figura 50). Asimismo, se aprecia que la presencia de esta variante genética en el conjunto de gatos sin diagnóstico conocido es notablemente frecuente. Considerando estos datos, la frecuencia alélica en la población de control se estima en un 2,6%. Pese a que la raza Sphynx se encuentra más representada, también se han detectado casos en 6 razas y sin raza pura. Además, se observa que la presencia

de esta variante en el grupo de gatos sin diagnostico conocido es muy frecuente.

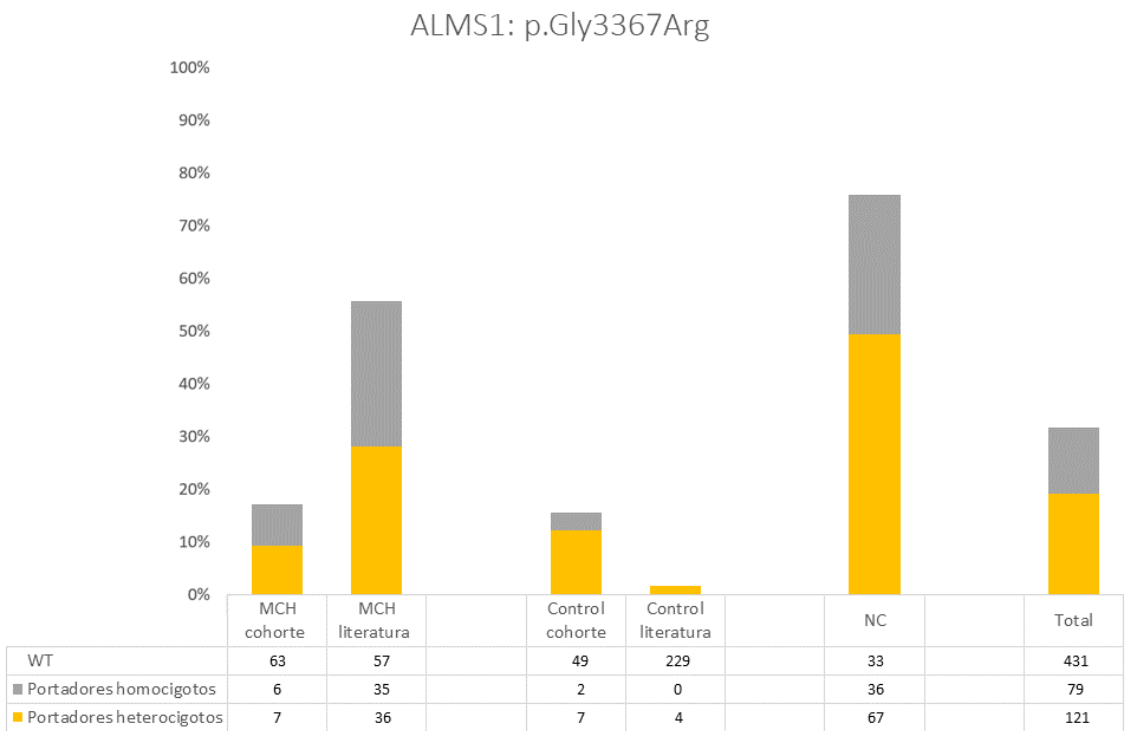


Figura 50. Portadores de la variante p.Gly3367Arg en ALMS1 según su fenotipo en 631 gatos, diferenciados según nuestra cohorte de gatos analizada y los datos publicados.

DISCUSIÓN

OBJETIVO 1. Secuenciación masiva en gatos usando un panel de genes: Explorando la variabilidad genética felina.

Desde el descubrimiento de la MCH felina en 1999, los investigadores se han enfocado en desentrañar su naturaleza genética y evaluar su similitud con la genética humana. Inicialmente, los estudios se centraron en el gen MYBPC3 y luego se expandieron a los principales genes sarcoméricos. Con el avance y la reducción de costos en la tecnología de secuenciación masiva, la secuenciación del genoma completo de los gatos con MCH ha sido posible en los últimos años (McNamara et al., 2020; Meurs et al., 2021; Stern et al., 2023). Hasta la fecha, los estudios científicos de NGS en gatos se han realizado en cohortes relativamente pequeñas. La más grande de ellas, está compuesta por un máximo de 27 gatos, 14 de ellos afectados por MCH. Fruto del uso de la secuenciación del genoma completo en estas muestras de gatos, se han reportado algunas variantes nuevas de interés, como *p.Gly3367Arg* en el gen *ALMS1* y *c.50-108G>A* en *TNNT2*.

En este estudio, se realizó la secuenciación masiva siguiendo una estrategia de secuenciación de un panel de genes selectivo compuesto de 27 genes asociados a cardiopatías hereditarias en 48 gatos, 35 de los cuales exhibían la enfermedad estudiada. Se diseñó y aplicó un panel personalizado adaptado para este propósito, seguido de una exhaustiva evaluación de calidad para validar el experimento. La inclusión de una población control diversa permitió comparar las variantes entre la población sana y la afectada, abarcando diferentes sexos, edades y razas. Entre las razas incluidas se encontraban gatos de las razas Bengalí, Bosques de Noruega, Bristish Shorthair, Cartujo, Común Europeo, Devon Rex, Maine Coon, Angora, Persa, Ragdoll, Scottish Fold y Sphynx, así como gatos sin raza pura.

Los resultados de este estudio revelan hallazgos novedosos en la caracterización genética felina, especialmente en la variabilidad de variantes genéticas observadas en gatos afectados por MCH. La diversidad genética identificada supera las variantes reportadas en bases de datos públicas, destacando genes como *PRKAG2*, *DSG2*, *TMEM43*, *DSC2*, *TNNI3*, *JUP*, *MYH6*, *DSP*, *FLNC*, *TNNT2* y *PKP2*, que exhiben una variabilidad considerable en relación con su tamaño. Las 564 variantes diferentes detectadas en nuestra cohorte, superaban con creces a las 104 variantes descritas que encontramos reportadas en la base de datos de Ensembl. Esto pone de manifiesto que los datos públicos no reflejan adecuadamente la variabilidad genética presente en la población de gatos, y aún menos la variación entre distintas razas felinas. Los individuos afectados reportaron más variantes diferentes que los controles en todos los genes estudiados.

La comparación de la frecuencia de variantes entre gatos afectados y sanos reveló un aumento significativo en variantes intrónicas en los gatos con la enfermedad. En estudios humanos se ha propuesto la hipótesis de que alguna de estas variantes en la zona del intrón tenga repercusión en la MCH, siendo una posible causa en una proporción de casos con estudio de exones negativo. Estas regiones intrónicas profundas suelen pasar desapercibidas en el estudio convencional centrado en exones y zonas adyacentes (Mendes de Almeida et al., 2017). Además, el estudio exhaustivo de genomas completos ha evidenciado que las variantes genéticas comunes contribuyen al riesgo de desarrollar MCH en la población (Biddinger et al., 2022). Este descubrimiento ha impulsado el desarrollo de predictores de riesgo para la enfermedad, los cuales están asociados a la presencia de un conjunto específico de variantes genéticas comunes en la sociedad (Harper et al., 2021). Esta puntuación de riesgo poligénico emerge como una posible explicación para la variabilidad observada en esta enfermedad (Tadros et al., 2021).

Adicionalmente, nuestro estudio revela que los gatos afectados exhiben un incremento en el número total de variantes en los genes *ACTC1*, *JUP*, *LAMP2*, *LMNA*, *PLN*, *PTPN11* y *TNNT2* en comparación con el grupo de control, considerando el tamaño del gen. Esto difiere con los patrones observados en humanos, donde los genes *TNNC1*, *TNNI3*, *MYH7*, *GLA*, *FLNC* y *MYBPC3* son los que exhiben un mayor número de variantes totales en relación con su tamaño (Sabater-Molina et al., 2018). Este contraste entre los resultados obtenidos en gatos y humanos plantea una perspectiva interesante para investigar si la acumulación de variantes en estos genes es causal en la MCH en gatos.

A pesar de los descubrimientos que emergen de esta investigación, se ha enfrentado a diversos desafíos. La limitada disponibilidad de información de acceso público sobre las frecuencias en la población felina, así como la ausencia de estudios comparativos, representaron obstáculos considerables. Además, la adaptación de programas informáticos a genomas de organismos no modelo y la carencia de bases de datos genéticas debidamente curadas demandaron un meticuloso proceso de selección y evaluación de los datos disponibles. Estos desafíos subrayan la necesidad de una colaboración más amplia y el desarrollo de recursos adicionales para avanzar de manera significativa en la comprensión de la genética de la MCH en felinos. Este estudio posee ciertas consideraciones que podrían ser optimizadas en investigaciones futuras. Por ejemplo, se observa una disparidad en la distribución de individuos tanto en el grupo de control como en el grupo afectado que fueron sometidos al análisis mediante NGS. Además, el tamaño total del conjunto de individuos en estudio podría considerarse moderado y el tipo de población muy heterogéneo.

OBJETIVO 2. Identificación de variantes nuevas en la miocardiopatía hipertrófica felina

La información sobre la frecuencia y la patogenicidad de las variantes en gatos asociadas a MCH es escasa, posiblemente por la secuenciación de un número pequeño de individuos y la falta de integración y publicación de resultados entre grupos de investigación.

La cohorte de gatos utilizada en este trabajo está compuesta por 48 individuos que fueron sometidos a secuenciación masiva de un panel de 27 genes, de los cuales 35 estaban afectados de MCH. La ampliación de 86 gatos adicionales, de los cuales 42 presentan la condición afectada, en el análisis de las variantes previamente identificadas como candidatas ha posibilitado una evaluación más sólida de la frecuencia y relevancia de estas variantes en relación con la expresión de la enfermedad. Este enfoque ha generado datos más representativos.

En humanos, se han identificado más de 1.500 mutaciones en 26 genes reportados, incluyendo los principales genes sarcoméricos (*ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNC1*, *TNNI3*, *TNNT2* y *TPM1*) (Marian & Braunwald, 2017). En este estudio, se ha llevado a cabo la identificación de nuevas variantes genéticas asociadas a la MCH en una cohorte de gatos afectados por esta condición. En el análisis de las 24 variantes inicialmente identificadas como sospechosas en los resultados de NGS, se ha observado la presencia de 10 variantes potencialmente patogénicas en 20 gatos, a saber: *MYBPC3* (n=1), *MYH6* (n=2), *DES* (n=2), *FHOD3* (n=2), *DSP* (n=2) y *PKP2* (n=1). Es destacable que ninguna de estas variantes haya sido previamente documentada en la literatura científica, y ninguno de los genes ha sido vinculado anteriormente con la MCH felina, a excepción del *MYBPC3*. Al explorar la relevancia humana de estos hallazgos, se observó que únicamente dos de las variantes homólogas a las identificadas en gatos han sido registradas en bases de datos poblacionales, presentando una frecuencia extremadamente baja y sin asociación conocida con la MCH. Este hallazgo resalta la singularidad de las variantes identificadas en el contexto de la MCH felina, subrayando la necesidad de una mayor investigación para comprender la implicación genética y las posibles implicaciones clínicas tanto en felinos como en humanos.

En humanos se ha demostrado que los pacientes portadores de variantes en los ocho genes principales del sarcómero (genes tradicionales) solían desarrollar MCH a edades más tempranas y presentaban un pronóstico desfavorable (Ho et al., 2018). Sin embargo, nuestros resultados indican que solo una variante en *MYBPC3* podría estar vinculada a la MCH en gatos. Inicialmente, identificamos seis variantes *missense* previamente reportadas por otros investigadores en gatos afectados por MCH. Estas variantes fueron

seleccionadas en el estudio de NGS; sin embargo, el análisis de las frecuencias poblacionales totales reveló que estas variantes son comunes en la población felina en general, sin mostrar una asociación clara con la enfermedad. El otro estudio que relacionó estas variantes con la enfermedad carecía de una comparación con una población control, lo que limita su validez. Otra variante en *MYBPC3* no registrada previamente fue seleccionada como posiblemente patogénica debido a su baja prevalencia en la población sana. Esta variante específica se localiza en el intrón, en una región de splicing, identificada como c.1921+4A>C. El gen *MYBPC3* presenta un patrón único en cuanto a la naturaleza de las mutaciones asociadas con la MCH. La mayoría de las mutaciones patogénicas descritas son de tipo *frameshift* y sin sentido, seguidas por mutaciones en el sitio de *splicing*. En contraste con otros genes, las variantes *missense* explican solo una minoría de los casos (Barbosa et al., 2022).

En el gen *MYH6*, responsable de codificar la cadena pesada de la α -miosina cardíaca, identificamos las variantes p.Ala1334Thr y p.Ala1442Thr. La primera de estas variantes no está presente en la población control, mientras que la segunda, aunque aparece en un par de individuos sanos, muestra una frecuencia mayor en gatos afectados. El gen *MYH6* no ha sido un gen tradicionalmente asociado a MCH, aunque en los últimos estudios han demostrado su asociación con la MCH, además de presentar un número de variantes raras mayor del esperado en los paneles clínicos de MCH (Lopes et al., 2013). La proteína de la cadena pesada de la α -miosina se encuentra expresada predominantemente en las aurículas cardíacas humanas, mientras que en los ventrículos predomina la isoforma β . La regulación de las proteínas α y β miosina es inversa, con la subunidad α disminuyendo gradualmente después del nacimiento, mientras que los niveles de la subunidad β aumentan con la maduración del corazón (Nakao et al., 1997). En los corazones humanos deficientes, la disminución de la expresión del ARN mensajero o de la proteína de α -miosina se ha correlacionado con la disfunción sistólica (Carniel et al., 2005; Lowes et al., 1997; Miyata et al., 2000) y con mayor eficacia diagnóstica en MCH (You & Dong, 2023). Sin embargo, la evidencia de que estas mutaciones causen MCH en humanos es escasa. En nuestro estudio, todos los portadores de la variante p.Ala1442Thr y p.Ala1334Thr son gatos maduros (> 7 años). Las mutaciones en el gen *MYH6* han sido relacionadas con MCH de inicio tardío, además de estar relacionadas con defectos congénitos en el corazón, síndrome del seno enfermo, y MCD (Anfinson et al., 2022; Holm et al., 2011; Posch et al., 2011). Los análisis mutacionales de *MYH6* en probandos humanos con cardiomiopatía encontraron que la mayoría de las mutaciones se encontraban en la zona final o en el cuello de la miosina, mientras solo unas cuantas fueron detectadas en la zona de la cabeza (Posch et al., 2011).

Dentro de los genes asociados a la MCH en humanos, está el gen *DES*, aunque su frecuencia es considerablemente menor. Las mutaciones en el gen

de la desmina han sido tradicionalmente asociadas con el desarrollo de MCD, desminopatías y distrofias musculares y, en algunos casos esporádicos, con MCH (Hong et al., 2011). La proteína desmina desempeña un papel crucial en la formación de filamentos intermedios específicos del músculo, esenciales para la estructura y función muscular (Hnia et al., 2015). Este componente conecta las miofibrillas entre sí y establece la unión entre la membrana plasmática y las estructuras periféricas de las líneas Z (Brodehl et al., 2013, 2016; Clemen et al., 2015). En cuanto al fenotipo de los gatos, hasta el momento no se ha registrado ningún caso en el que estos animales desarrollen otros síntomas característicos de las desminopatías. En humanos, se ha observado la posición de las mutaciones está relacionado con la variabilidad de fenotipos asociados. En nuestro estudio, se seleccionaron dos variantes que se encuentran al inicio de la proteína, en una de las zonas asociadas con mayor frecuencia a un fenotipo cardíaco (Harada et al., 2018; van Spaendonck-Zwarts et al., 2011). La variante p.Glu274Lys seleccionada presenta una excepcional rareza, al no detectarse en ninguno de los 57 individuos de control. Este hallazgo refuerza las sospechas sobre su relevancia clínica y sugiere una posible relación con la enfermedad. En cuanto a la otra variante de interés, c.-12C>T, localizada en la región 5'-UTR, se destaca su frecuencia en la población afectada relativamente jóvenes (de 1 a 7 años), aunque el único portador sano de esta variante tiene 15 años. El papel de las variantes no codificantes, como las variantes en la región UTR, aun es desconocido si bien un 5% de las variantes UTR son clasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas en humanos según ClinVar. Estas zonas UTR son clave para la regulación postranscripcional y se han descrito como zonas importantes por su unión a microARNs que modulen la regulación de la expresión génica (Htet et al., 2023).

Dentro de la reciente identificación de genes asociados a la MCH en humanos, destaca el gen *FHOD3* (Walsh et al., 2022). Su asociación ya había sido postulada por en un estudio de GWAS (Wooten et al., 2013) y la descripción de variantes patogénicas en individuos con MCH ha llevado a su inclusión en investigaciones rutinarias, estimándose que puede contribuir aproximadamente al 1% al 2% de los casos (Ochoa et al., 2018). Cabe destacar que este gen también presenta vínculos con la MCD (Pinto & Reckman, 2018). La proteína derivada desempeña un papel crucial en la organización del sarcómero, la miofibrillogénesis y el mantenimiento del aparato contráctil en cardiomiocitos. En este estudio se detectaron 3 variantes en el gen *FHOD3* que podrían estar relacionadas con la enfermedad, una de ellas fue descartada pese a su baja frecuencia por estar presente en más controles que afectados y por no encontrarse en una zona conservada. Las otras dos variantes, p.Ser1457Asn y p.Arg1489Pro, se encuentran sobrerrepresentadas en la población afecta, aunque aparecen en controles. Los gatos controles portadores de estas variantes son escasos y, en su mayoría, gatos muy jóvenes. En humanos los portadores de estas variantes se han relacionado con fenotipos leves (Ochoa et

al., 2018). Ambas variantes se encuentran en la zona final de la proteína, alejadas del punto caliente donde se han detectado la mayoría de las variantes asociadas a MCH, en el dominio en espiral específico (aminoácidos 623 a 655) (Ochoa et al., 2018).

El resto de las variantes candidatas seleccionadas, se encontraban en genes del desmosoma, los cuales están fuertemente relacionados con la MCA (Biernacka et al., 2021; Delmar & McKenna, 2010). De las 3 variantes en el gen *PKP2* seleccionadas con el estudio por NGS, dos de ellas se descartaron mientras que la variante p.Arg196His está asociada a la MCH felina de manera significativa, encontrándose en hasta 16 individuos afectados de diversas edades y un solo control. Esta variante está presente mayoritariamente en individuos de ascendencia común europea pero también hemos detectado casos aislados en gatos de la raza Persa y British Shorthair. Se trata pues de una variante frecuente en afectados y de interés en la investigación genética de la MCH en gatos, con una alta frecuencia en gatos afectados. Las variantes en el gen *PKP2* pueden afectar a la función de las uniones celulares en el músculo cardíaco, lo que conduce a la pérdida de la cohesión entre las células cardíacas y, finalmente, al deterioro de la estructura y la función del ventrículo (Zhang et al., 2021). Se han identificado puntos críticos en la mayoría de las repeticiones del armadillo, donde se han observado variantes *missense* patogénicas. No obstante, las variantes *frameshift*, que suelen estar más estrechamente asociadas con la MCA e incluso presentes en población control, se distribuyen a lo largo de todo el gen (Dries et al., 2021; Hyland et al., 2022). En humanos, los casos descritos en pacientes con evidencia clara de MCH y variantes en *PKP2* son inusuales y sugieren la posibilidad de la existencia de otras variantes no identificadas que podrían estar contribuyendo a la condición (Bainbridge et al., 2017).

Otro gen tradicionalmente relacionado con la MCA ha sido el gen *DSP* (Smith et al., 2020). En nuestro trabajo resaltamos la presencia de la variante p.Asn944Ser en este gen, identificada exclusivamente en dos gatos afectados. La desmoplaquina, proteína codificada por este gen, constituye un componente esencial de los desmosomas, anclando los filamentos intermedios a la placa (Di Lorenzo et al., 2023). El extremo N-terminal de la desmoplaquina interactúa con la placofilina y placoglobina, mientras que el extremo C-terminal se une a los filamentos intermedios. La inexistencia de esta variante en la población de control suscita sospechas de su asociación con la enfermedad, a pesar de ubicarse en una región genómica parcialmente conservada y las predicciones computacionales sugieren la posible tolerancia de esta variante. No podemos descartar su potencial impacto en el desarrollo de gatos con MCH. En el mismo gen *DSP*, identificamos la variante p.Glu2635Asp como una variante frecuente en la población felina (20,1%) que afecta a numerosas razas. El análisis de asociación de esta variante reveló una frecuencia notablemente mayor en gatos

afectados, siendo estadísticamente significativa. La mayoría de los portadores, tanto afectados como controles, son muy jóvenes. Aunque estas variantes no parecen ser la causa exclusiva de la enfermedad en estudio, podrían desempeñar un papel modulador en su manifestación clínica, similar a lo que se ha observado en seres humanos (Harper et al., 2021). Las variantes en el gen *DSP* han sido asociadas principalmente con MCA y MCD. En homocigosis o en heterocigosis compuesta, se han vinculado a casos de hiperqueratosis palmoplantar, epidermólisis bullosa y pelo lanoso. La conexión de estas variantes en *DSP* con la MCH es infrecuente y suele observarse en individuos que también presentan otras variantes sarcoméricas (Lopes et al., 2013).

Resulta llamativa la notable presencia de variantes en genes desmosómicos, siendo estas las variantes más recurrentes en la población felina. En el contexto de la genética humana, se ha observado la coherencia de la herencia de mutaciones de sarcoméricas y desmosómicas en familias que presentan un fenotipo mixto entre MCH y MCA (De Bortoli et al., 2017). Tanto *PKP2* como *DSP* se distinguen por su pleiotropía, ya que pueden estar asociados con diversos fenotipos (Campuzano et al., 2016; Novelli et al., 2018). Recientemente, se ha descubierto la presencia de variantes desmosómicas raras y perjudiciales en pacientes que padecen MCH, en comparación con grupos de control no afectados. Estas observaciones sugieren una posible conexión entre los genes relacionados con la adhesión celular y el desarrollo de la MCH, aunque aún tiene que ser corroborado por otros estudios (Wu et al., 2022).

En cuanto a la distribución de las variantes por raza, se han documentado variantes genéticas relacionadas con la MCH en gatos que son específicas de las razas Maine Coon y Ragdoll. En nuestro estudio, hemos observado que ciertas variantes estudiadas son exclusivas o prácticamente exclusivas en gatos de la raza Sphynx. Por ejemplo, la variante p.Leu42Val en el gen *MYL2* se encuentra en un 21,7% de los gatos Sphynx, y la variante p.Arg1489Pro en el gen *FHOD3* se encuentra en un 34,7%. Sin embargo, en ambos casos, hemos identificado un individuo portador de la variante que no pertenece a la raza Sphynx. Esto podría deberse a que la prevalencia de estas variantes en esta raza es muy baja o a la posibilidad de que haya ocurrido un cruzamiento entre razas en ese individuo en particular. Por otro lado, la variante p.Arg539Cys en el gen *JUP* aparece exclusivamente en individuos pertenecientes a la raza Sphynx. En esta raza en particular, la frecuencia de la variante p.Arg539Cys en *JUP* es notablemente alta, alcanzando el 47,8%. La proteína placoglobina, codificada por el gen *JUP*, se expresa predominantemente en la piel. Dado que los gatos de la raza Sphynx se caracterizan por carecer de pelo, la selección para mantener la pureza de esta raza a través del cruce entre gatos Sphynx podría haber contribuido a la mayor frecuencia observada de la variante p.Arg539Cys en esta población específica. De acuerdo con nuestro análisis, tanto la variante

p.Leu42Val en el gen *MYL2* como la variante p.Arg539Cys en el gen *JUP*, son clasificadas como variantes *VUS*.

En resumen, nuestros resultados amplían el espectro genético relacionado con esta enfermedad en gatos. Es fundamental destacar que los conocimientos previos sobre la MCH la describen como una condición compleja y multifactorial, caracterizada por la presencia de varios factores, una posible herencia oligogénica (Walsh et al., 2022) y niveles variables de penetrancia, lo cual ha añadido un nivel adicional de complejidad al análisis genético (Li et al., 2017). Abordar estas diversas dificultades ha sido un desafío, pero también una oportunidad para profundizar en nuestro conocimiento sobre la genética de la enfermedad y avanzar en la comprensión de sus mecanismos subyacentes.

OBJETIVO 3. Rendimiento genético en miocardiopatía hipertrofica felina

En humanos, el análisis genético de la MCH ha demostrado un rendimiento genético aproximado del 50% que incluye el análisis de los 20 principales genes que codifican proteínas del sarcómero cardíaco (Ingles et al., 2013). Sin embargo, las discrepancias en la interpretación de variantes entre diferentes centros especializados en cardiopatías han destacado la complejidad de este proceso. Estas diferencias en la interpretación se deben principalmente a la disponibilidad de datos privados, específicos de los registros de cada centro o laboratorio, así como a los datos de cosegregación recopilados de las familias analizadas por cada centro. La colaboración y el intercambio de datos en plataformas de acceso abierto, como ClinVar, junto con la implementación de guías estandarizadas para la interpretación de variantes, han sido fundamentales para mejorar la precisión y la clasificación de dichas variantes (Ingles et al., 2017). Además, las poblaciones menos representadas, tienden a recibir más resultados genéticos no concluyentes debido a la menor información disponible hace que se identifiquen más variantes categorizadas como VUS.

Sin embargo, para evaluar la patogenicidad de las variantes genéticas en gatos, hay limitaciones que deben abordarse mediante adaptaciones específicas al aplicar las guías de clasificación concebidas para humanos (Richards et al., 2015) (Anexo 1; Tabla 28).

En cuanto a las evidencias de las categorías PVS1, PM1 y PM4, se requiere prestar atención a las secuencias de transcritos que puedan no estar debidamente curadas en el genoma del gato, lo cual es crucial para una interpretación precisa.

La categoría PS1, subraya la escasez de datos genéticos en gatos y la necesidad de una investigación más exhaustiva ya que, hasta ahora, solo se han descrito cinco variantes como probablemente patogénicas en felinos.

Los criterios PS2, PM3, PP1 y BS4 requieren información sobre la relación familiar con los padres o descendientes, lo cual es un desafío cuando no se lleva a cabo una reproducción controlada o inducida en gatos. En nuestro trabajo nos enfrentamos a la limitación de no poder realizar dichos estudios en familias felinas, ya que los gatos de este estudio son afectados naturalmente y proceden de distintos propietarios. Además, los datos de seguimiento de los gatos no siempre están disponibles o pueden haberse interrumpido por algún motivo relacionado con el propietario.

Además de los criterios anteriores, el uso de la predicción computacional (criterio PP3 y BP4) y el estudio funcional (criterio PS3 y BS3) de las variantes genéticas también plantea retos. La mayoría de las herramientas de predicción y datos sobre estudios funcionales se enfocan en el contexto humano. Para

superar esta limitación, se procedió al estudio de variantes ortólogas en el genoma humano. Al explorar la versión homóloga de una variante en humanos, es posible obtener una mayor cantidad de información relevante sobre sus posibles implicaciones en la MCH y su relevancia clínica.

La aplicación del criterio PM2 se ve afectado por la falta de un consorcio de acceso libre que centralice la información sobre frecuencias genómicas en gatos, como ocurre con las bases de datos ExAC o gnomAD en humanos. Aunque se están realizando esfuerzos en la publicación de secuencias genómicas de gatos en repositorios públicos, en muchos casos, la información fenotípica asociada a estas secuencias aún es desconocida, lo que puede limitar el análisis y la interpretación completa de los datos genéticos en esta especie.

Además, las categorías adicionales (PP2, PP4, PP5) destacan la necesidad de adaptar la interpretación a las características de las enfermedades genéticas felinas, la disponibilidad de datos y evidencia relacionados con esta especie, y las diferencias en la clasificación de patogenicidad según investigadores.

La categoría BA1, plantea la necesidad de definir un umbral de frecuencia diferente en gatos, ya que, las mutaciones descritas como patogénicas p.Ala31Pro y p.Arg820Thr en el gen *MYBPC3*, muestran una frecuencia alélica del 16% en controles, superando con creces los límites utilizados en estudios humanos.

Las categorías BS1 y BS2 requieren considerar la posible penetrancia incompleta de la enfermedad en gatos. Además, las diferencias en la clasificación de patogenicidad entre diferentes investigadores (BP6) deben ser consideradas, ya que pueden surgir debido a las particularidades de las poblaciones de gatos y la disponibilidad de datos de cada centro.

Por lo tanto, debemos ser cautelosos en la interpretación y no es posible aplicar cortes tan rigurosos como los usados en humanos, los umbrales pueden cambiar.

En cuanto al rendimiento del estudio genético en gatos con MCH, existe una gran variabilidad en los resultados en la literatura, ya que este oscila entre 0 y 100% dependiendo del estudio. Esta diversidad en los resultados se atribuye a múltiples factores, entre ellos, las disparidades en el diseño de los estudios y la composición de las poblaciones de gatos analizadas.

Investigaciones que incorporan gatos emparentados tienden a demostrar un rendimiento excepcionalmente alto (Meurs et al., 2005), mientras que poblaciones de estudio más heterogéneas dificultan la identificación de variantes genéticas relevantes (Meurs et al., 2009; O'Donnell et al., 2021; Schipper et al.,

2019). La aplicación de secuenciación dirigida a variantes genéticas específicas en razas particulares ha evidenciado un rendimiento significativamente superior. Por ejemplo, en la detección de la variante p.Ala31Pro en el gen *MYBPC3*, el rendimiento promedio alcanza el 57,7% en gatos de la raza Maine Coon (Borgeat et al., 2015; Meurs et al., 2007; O'Donnell et al., 2021), mientras que la variante p.Arg820Trp en el mismo gen, examinada en individuos Ragdoll, presenta una media del 53,9% (Godiksen et al., 2011; Longeri et al., 2013; Mary et al., 2010; Meurs et al., 2005; O'Donnell et al., 2021; Sampedrano et al., 2009; Wess et al., 2010). Adicionalmente, la variante p.Gly3367Arg en el gen *ALMS1* exhibe un destacado rendimiento del 87,3% en gatos Sphynx (Meurs et al., 2021) (Tabla 22).

En nuestra muestra de gatos, hemos alcanzado un rendimiento genético del 57,1%, comparativo al nivel actual logrado en estudios genéticos en humanos. Un aspecto relevante de nuestros hallazgos es la identificación de variantes en genes desmosómicos que, hasta el momento, no han sido documentadas.

Tabla 22. Comparativa del rendimiento genético en diferentes estudios en población felina con miocardiopatía hipertrófica.

Estudio	Diagnósticos positivos/ casos afectados	Rendimiento %	Método diagnóstico genético	Tipo población
Tesis	20/35	57,1	Secuenciación masiva panel de 27 genes	Heterogénea
Meurs et al., 2005	16/16	100	SD p.Ala31Pro	Colonia emparentada Maine Coon
Meurs et al., 2007	20/21	95,2	SD p.Arg820Trp	Ragdoll
Meurs et al., 2009	0/14	0	SD a 8 genes sarcoméricos	Heterogénea
Sampedrano et al., 2009	8/10	80	SD p.Ala31Pro	Maine Coon
Mary et al., 2010	10/12	83,3	SD p.Ala31Pro	Maine Coon
Wess et al., 2010	3/12	25,0	SD p.Ala31Pro	Maine Coon
Godiksen et al., 2011	11/21	52,4	SD p.Ala31Pro	Maine Coon
Longeri et al., 2013	12/19	63,2	SD p.Ala31Pro	Heterogénea
Boregat et al., 2015	8/12	66,7	SD p.Arg820Trp	Ragdoll
Schipper et al., 2019	1/9	11,1	Secuenciación gen MYBPC3 y MYH7	Heterogénea
O'Donnell et al., 2021	0/103	0	SD p.Ala31Pro, p.Arg820Thr y p.Glu1883Lys	Heterogénea (no Maine Coon, no Ragdoll)
Meurs et al., 2021	62/71	87,3	WGS + dirigida a p.Gly3367Arg	Sphynx

SD: secuenciación dirigida

WGS: secuenciación del genoma completo.

Estos resultados señalan que la elección de una estrategia de secuenciación específica puede aumentar la capacidad de identificación de variantes genéticas relevantes en gatos con MCH, siendo además eficiente en términos de costos. Este hallazgo tiene importantes implicaciones para el diagnóstico y la gestión de esta afección. Hasta la fecha, no se tiene constancia de ninguna otra investigación que haya empleado la estrategia de secuenciar un panel de genes asociados con la enfermedad en cuestión. Las aproximaciones más exhaustivas y ambiciosas implementadas hasta ahora han involucrado la secuenciación completa del genoma de gatos afectados por esta patología.

Por otro lado, la distribución de las variantes llama la atención, ya que difiere de las expectativas basadas en lo observado y documentado en humanos. En la investigación humana, se ha establecido que aproximadamente el 70% de las variantes patogénicas se encuentran en los dos genes principales, *MYBPC3* y *MYH7* (Richard et al., 2003). Sin embargo, los resultados de este estudio en gatos revelan una disparidad notable, mostrando únicamente una variante posiblemente patogénica en el gen *MYBPC3* y ninguna en *MYH7*. Este hallazgo subraya la singularidad y complejidad de la genética asociada con la MCH en la población felina, planteando interrogantes sobre las diferencias sustanciales en la distribución de variantes entre especies y resaltando la necesidad de una comprensión más profunda de los mecanismos genéticos específicos en este contexto felino.

Además, observamos que el 31,4% de individuos del panel, eran portadores de múltiples variantes, lo que respalda la hipótesis de acumulación de variantes y podría ofrecer una explicación a la heterogeneidad clínica presente en la MCH. Aunque existen ejemplos evidentes de variantes únicas que provocan fenotipos severos, esta hipótesis apoya un escenario donde múltiples variantes identificadas en genes clave de la MCH contribuyen a una aparición más temprana de la enfermedad y a la gravedad de eventos cardiovasculares. Estas variantes, aunque no necesariamente se clasifican como patogénicas, podrían actuar como modificadores genéticos, ejerciendo un efecto de menor magnitud en combinación con otras variantes patogénicas o incluso con variantes de significado genético incierto (Burns et al., 2017).

OBJETIVO 4. Homocigosidad en gatos

La presencia de mutaciones en homocigosis o en heterocigosis compuesta han sido relacionadas con un fenotipo más grave (Mascarello et al., 2016; Serra et al., 2022; Zahka et al., 2008). Además, una alta homocigosidad ha sido asociada con un aumento en el riesgo de enfermedades genéticas raras. En el caso de los seres humanos, se han identificado trastornos autosómicos recesivos que se manifiestan en familias con un historial de consanguinidad. En estos casos, se espera encontrar grandes regiones genómicas que rodean a la variante causante de la enfermedad y que son idénticas por descendencia en los individuos afectados (Matalonga et al., 2020). Las variantes patogénicas homocigotas tienden a estar ubicadas predominantemente en las regiones de homocigosidad más extensas. Estas regiones, a su vez, pueden emplearse de manera predictiva para priorizar variantes candidatas (Wakeling et al., 2019).

Este aumento en la homocigosidad puede ser resultado del apareamiento consanguíneo. En el contexto de los gatos, varios factores pueden contribuir a la endogamia. Uno de ellos es la cría selectiva para mantener una raza pura, lo que a menudo implica la reproducción entre los mismos individuos. Otro factor menos controlado es la reproducción entre gatos de la misma zona, como en el caso de las colonias de gatos.

Por lo general, la homocigosidad se evalúa mediante la identificación de regiones de homocigosidad (ROH), que surgen cuando se heredan haplotipos idénticos por descendencia de ambos progenitores. Las poblaciones aisladas que tienen un conjunto limitado de fundadores comunes tienden a mostrar una mayor homocigosidad. Un ejemplo de esto es la población Amish, donde se ha observado que un individuo Amish presenta aproximadamente un 3,7% de su genoma en regiones de homocigosidad, en comparación con un individuo de ascendencia europea del biobanco del Reino Unido, que tiene aproximadamente un 0,4% de su genoma en regiones de homocigosidad (Lynch et al., 2022). Las investigaciones fundamentales en el mapeo de la homocigosidad han priorizado individuos endogámicos, donde se anticipa la presencia de extensas regiones homocigotas. Sin embargo, también se han identificado regiones homocigotas más pequeñas que albergan variantes perjudiciales en individuos no consanguíneos (Pemberton et al., 2012).

En el caso de los gatos, es importante mencionar que nuestra aproximación no incluye la identificación de grandes ROH, ya que nuestro enfoque de secuenciación masiva se centra en un panel de genes específicos. Nuestra estrategia se basa en la detección total de variantes en homocigosis en estos genes específicos.

A pesar de la ausencia de estudios anteriores para realizar comparaciones directas, hemos identificado observaciones relevantes en

relación con la homocigosidad y la MCH felina. Nuestra investigación revela una mayor prevalencia de variantes homocigotas totales en gatos con MCH en comparación con gatos control. Específicamente, en los genes *ACTC1*, *LAMP2*, *MYH6*, *TMEM43* y *TNNT2*, los gatos con MCH exhiben un aumento significativo de variantes en homocigosis en relación con su tamaño. Investigaciones recientes en humanos han identificado la prevalencia de variantes raras en homocigosis, especialmente en los genes *MYL2*, *MYL3* y *CSRP3*. El enriquecimiento de variantes homocigotas en estos genes menores sugiere que dichas variantes tienen una penetrancia menor en heterocigosis, pero contribuyen a la enfermedad bialélica (Allouba et al., 2023). Aunque nuestro estudio en gatos incluye variantes totales, ambas investigaciones indican que los genes principales asociados a MCH (*MYBPC3* y *MYH7*) muestran una menor frecuencia de variantes en homocigosis.

A pesar de la considerable variabilidad en el grado de homocigosidad que se observa entre los gatos, incluso entre individuos de la misma raza, los gatos afectados tienden a exhibir niveles más elevados de homocigosidad en comparación con los gatos de control de la misma raza. Esta tendencia se ha visto en las razas común europea, Persa y Ragdoll. Sin embargo, debido a la limitación en el número de individuos disponibles en otras razas, no podemos generalizar estos hallazgos a todas las razas. En consecuencia, nuestra interpretación apunta a una asociación entre la presencia de variantes en homocigosis y la MCH felina.

OBJETIVO 5. Análisis de variantes previamente descritas en la literatura

Variantes en *MYBPC3*

A pesar de tener conocimiento acerca de mutaciones específicas vinculadas a razas particulares, como el p.Ala31Pro en Maine Coon y el p.Arg820Trp en Ragdoll, la revisión sistemática sobre la relación de estas variantes con la MCH en gatos indica una presencia notable de dichas variantes en la población control. La frecuencia alélica de la variante p.Ala31Pro en controles es del 16,5%, mientras que para p.Arg820Trp es del 16,3%.

Siguiendo la práctica convencional en genética humana, la presencia de variantes en más del 5% de una cohorte de individuos sanos generalmente llevaría a descartar la patogenicidad de dichas variantes. En nuestro estudio de secuenciación masiva, aplicamos criterios de selección rigurosos y excluimos cualquier variante encontrada en tres o más gatos controles.

No identificamos ningún gato portador de la variante p.Ala31Pro, lo cual podría atribuirse, en parte, a la limitación en la inclusión de individuos, ya que solo pudimos incorporar dos gatos controles de la raza Maine Coon.

Identificamos la variante p.Arg820Trp en un gato de raza Ragdoll en heterocigosis, que no mostraba signos ni síntomas de anomalías cardíacas en el momento del estudio cardiológico. La falta de penetrancia completa de esta variante, está respaldada por investigaciones previas (Borgeat et al., 2015), además de una menor supervivencia cuando se presentan dos copias alélicas.

En el contexto humano, la mayoría de las variantes patogénicas en el gen *MYBPC3* se caracterizan por truncar la proteína o inducir haploinsuficiencia (Toepfer et al., 2019). No obstante, entre las variantes missense asociadas patogénicas, se encuentra la variante homóloga en humanos p.Arg820Trp (Ripoll Vera et al., 2010).

Variante en *MYH7*

La variante p.Glu1883Lys en *MYH7* se presenta de manera excepcionalmente poco común y ha sido registrada únicamente en heterocigosis en un gato doméstico de pelo largo con MCH, estando ausente en una población de 200 gatos. A pesar de ser objeto de estudio en investigaciones anteriores, que incluyeron la secuenciación completa del gen *MYH7* o de la variante específica en cuestión (Meurs et al., 2009; O'Donnell et al., 2021), no hay constancia de su presencia en otros gatos. En nuestro estudio mediante secuenciación masiva, no hemos identificado ningún portador de esta variante.

En el ámbito humano, se ha comprobado la existencia de variantes "privadas" que son exclusivas de una única familia (Alfares et al., 2015). Sin embargo, en el caso de los gatos, el análisis de la cosegregación entre familiares resulta sumamente complejo y, no se ha logrado demostrar que esta variante cosegregue con la enfermedad. La importancia de esta variante radica en su relación con una variante ortóloga presente en humanos, específicamente la p.Glu1883Lys (rs121913652), la cual ha sido descrita en una familia británica con consanguinidad y un fenotipo de mixto de MCH y miopatía, mostrando indicios de herencia recesiva. Actualmente, persisten las discrepancias en la interpretación de esta variante, debatiéndose su clasificación entre patogénica o VUS. El aminoácido 1883 está localizado al final de la proteína, en una zona de residuos que interactúan con otros dímeros de miosina o con proteínas de unión a miosina en el ensamblaje de filamentos del sarcómero (Tajsharghi et al., 2007).

Variante en *TNNT2*

En cuanto al gen *TNNT2*, las variantes en este gen poseen el potencial de alterar la función de la troponina T, provocando un desequilibrio en la contracción del músculo cardíaco y, en última instancia, favoreciendo el desarrollo de la MCH. En estudios con cohortes humanas, las mutaciones en *TNNT2* representan aproximadamente entre un 5-10% de los casos de MCH y tienden a asociarse con un fenotipo particularmente agresivo, caracterizado por una hipertrófica leve, pero con una mayor incidencia de arritmias malignas y una tasa de muerte súbita más elevada en comparación con las alteraciones genéticas en otros genes como *MYBPC3* (Shafaattalab et al., 2021). La mayoría de las mutaciones informadas en *TNNT2* son de tipo *missense*, y hasta el momento, se ha prestado escasa atención a las variantes presentes en los intrones.

En referencia a la variante específica c.50-108G>A, nos encontramos con una alteración profunda en el intrón que, según algunos programas *in silico*, podría afectar el proceso de *splicing* genético. No obstante, la secuenciación del ADN no ha corroborado la supuesta inserción de una secuencia intrónica en la región codificante (T et al., 2022). Además, tanto nuestros resultados como los de T et al., 2022 no indican ninguna asociación de esta variante con la enfermedad, y se observa en un porcentaje notable de controles.

En lo que respecta a la distribución por raza, tanto nuestro estudio como el de Schipper et al., 2019 coinciden en señalar que la variante es frecuente en la raza Maine Coon. Además, se ha observado su presencia en otras razas como British Shorthair, Devon Rex, Persa, Ragdoll, Siamés, Tennessee Rex y diversas razas tailandesas, así como en gatos sin raza (T et al., 2022).

Inicialmente postulada como una variante de herencia recesiva debido a que el análisis genealógico la vinculaba a un individuo homocigoto afectado con

dos progenitores heterocigotos sanos (McNamara et al., 2020), tanto nuestra investigación como el estudio de Schipper et al., 2019 identificaron la presencia de individuos sanos de edades avanzadas que portan ambas copias de la variante.

En resumen, la variante c.50-108G>A parece ser una variante genética que no está directamente relacionada con la enfermedad en cuestión y que se encuentra en una amplia variedad de razas de gatos.

Variante en *ALMS1*

El síndrome de Alström, una enfermedad rara de naturaleza multisistémica, se origina por mutaciones en el gen *ALMS1*, con herencia recesiva. Aproximadamente el 60% de los pacientes con este síndrome exhiben MCH, y se asocia con casos graves en la infancia (Nerakh & Ranganath, 2019). En humanos, las mutaciones patogénicas en el gen *ALMS1* son mayormente *frameshift* o de stop prematuro y los casos más severos tienden a manifestarse en familias consanguíneas, donde la probabilidad de heredar dos copias mutadas del gen es mayor (Dedeoglu et al., 2022). Sin embargo, también se ha identificado variantes *missense* que podrían tener efecto patogénico (Marshall et al., 2015).

La variante p.Gly3367Arg en el gen *ALMS1*, inicialmente detectada en gatos Sphynx, se ha reconocido como frecuente en esta raza (Meurs et al., 2021). En nuestra cohorte, identificamos la variante en el 65,2% de los gatos Sphynx, mientras otras investigaciones informan del 75,7% o incluso al 87,3% (Meurs et al., 2021; Turba et al., 2023). Investigaciones recientes han identificado esta variante de forma menos frecuente en diversas razas, como American Shorthair, Exótico, Minuet, Munchkin y Scottish Fold (Akiyama et al., 2023). Además, nuestro estudio expande su presencia a las razas Devon Rex, Persa y gatos sin una raza específica determinada.

En nuestra propia investigación, encontramos que entre los Sphynx portadores de la mutación en nuestra cohorte, 6 (40,0%) de ellos se clasifican como gatos sanos. La presencia de alelos mutados no necesariamente conduce a una enfermedad manifiesta en todos los casos, lo que podría indicar la existencia de factores adicionales o modificadores genéticos que influyen en la expresión fenotípica de la mutación en los gatos Sphynx. Nuestros datos no muestran diferencias estadísticamente significativas que respalden la asociación de la variante p.Gly3367Arg en el gen *ALMS1* con la MCH. La falta de asociación, junto con la alta prevalencia en el grupo de control, sugiere que esta variante no es la causa definitiva de la enfermedad. Las disparidades en la prevalencia en los controles entre nuestro trabajo y otras publicaciones (Akiyama et al., 2023;

Meurs et al., 2021) podrían atribuirse a la exclusión de gatos de la raza Sphynx entre los sujetos utilizados como controles en la literatura.

Desaconsejamos la utilización de pruebas de diagnóstico genético disponibles para la variante p.Gly3367Arg en *ALMS1*, dada su presencia tanto en gatos sanos de la raza Sphynx como en otras razas, hasta que se determine con certeza la relevancia clínica de esta variante.

Nuestra aportación al análisis de las variantes descritas sugiere una reinterpretación de su clasificación, al incorporar datos tanto de nuestra investigación como de otros grupos (Figura 51). A pesar de que la variante p.Ala31Pro ha sido tradicionalmente clasificada como probablemente patogénica con una herencia dominante, su presencia elevada en heterocigosis en una población sugiere que únicamente la herencia de ambas copias podría ser una causa más plausible de la MCH. Se ha observado una asociación significativa entre la presencia de la variante p.Arg820Trp en el gen *MYBPC3* y la enfermedad, siendo más pronunciada en individuos homocigotos. En contraste, la variante p.Glu1883Lys en *MYH7* no ha sido identificada en ningún otro animal, señalando su singularidad, característica común de las variantes patogénicas. Carece de una asociación clara con una raza específica, debido a la ausencia de portadores adicionales. Por otro lado, las variantes c.95-108G>A y p.Gly3379Arg en *TNNT2* y *ALMS1*, respectivamente, se descartan como posiblemente patogénicas, dado que aparecen en un número alto de controles en diversas razas.

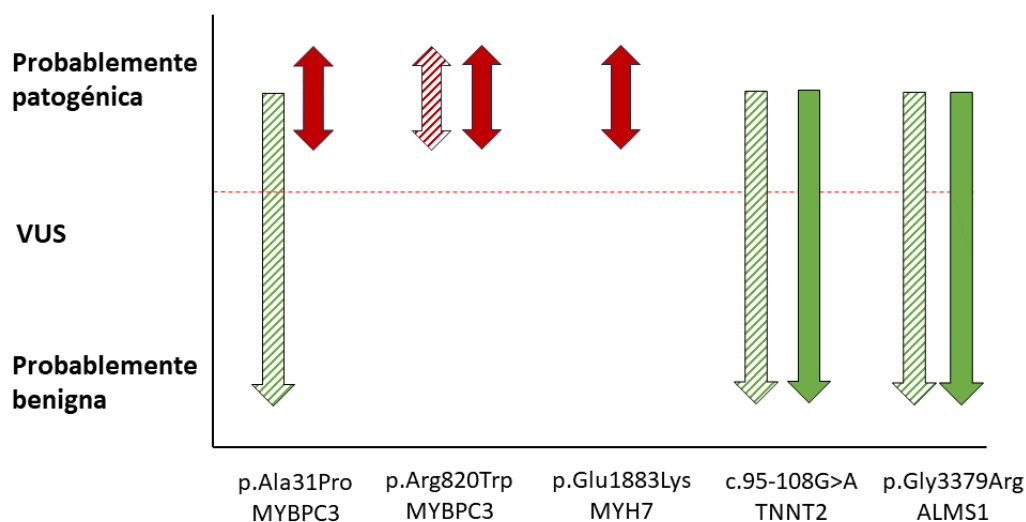


Figura 51. Reinterpretación de variantes descritas en la literatura. El eje Y muestra la clasificación según su patogenicidad, mientras que en el eje X se presentan las variantes analizadas. Las variantes que mantienen su categorización como probablemente patogénicas se destacan en rojo, mientras que aquellas que dejan de considerarse patogénicas se muestran en verde. Los portadores en heterocigosis están representados por líneas mientras que los portadores en homocigosis están representados por un color sólido. La línea roja punteada señala el momento de cambio en la clasificación de las variantes.

CONCLUSIONES

1. El diagnóstico genético mediante la secuenciación masiva de un panel de genes específicos para la investigación de la miocardiopatía hipertrófica Felina identificó variantes nuevas en genes vinculados a cardiomiopatías, evidenciando más diversidad que las bases de datos públicas.
2. El estudio a través de secuenciación masiva, mostró una frecuencia significativamente mayor de variantes genéticas en gatos afectados. Específicamente, se identificaron más variantes en genes como *ACTC1*, *JUP*, *LAMP2*, *LMNA*, *PLN*, *PTPN11* y *TNNT2*, principalmente ubicadas en regiones intrónicas.
3. Durante el análisis de frecuencia en casos afectados y controles, se identificaron 10 variantes inéditas candidatas como posiblemente patogénicas en genes no asociados previamente con la miocardiopatía hipertrófica felina, incluyendo *MYH6*, *DES*, *FHOD3*, *DSP* y *PKP2*, junto con una variante nueva en el gen *MYBPC3*.
4. Dentro de las variantes comunes en la población felina, la presencia significativa de la variante p.Glu2635Asp en el gen *DSP* se asocia con la miocardiopatía hipertrófica en gatos de diversas razas, convirtiéndola en un marcador relevante en la población felina.
5. Se identificaron variantes genéticas específicas, como p.Arg1489Pro en *FHOD3*, p.Arg539Cys en *JUP* y p.Leu42Val en *MYL2*, que son exclusivas o mayoritarias en gatos de la raza Sphynx. Estas variantes muestran una alta prevalencia dentro de esta población felina, destacando la relevancia de la genética distintiva de la raza.
6. Se mostró un aumento notable y significativo de variantes en homocigosis en gatos afectados con miocardiopatía hipertrófica, especialmente evidente en genes específicos como *ACTC1*, *LAMP2*, *MYH6*, *TMEM43* y *TNNT2*.
7. Se observó una amplia variabilidad en el número de variantes en homocigosis entre individuos, evidenciando una inclinación hacia niveles más altos de homocigosidad en gatos afectados de raza Persa, Ragdoll y común europeo.
8. La eficacia genética del estudio mediante secuenciación masiva alcanzó un 57,1%, al considerar variantes potencialmente patogénicas. Esto subraya la eficiencia y rentabilidad de esta estrategia para la identificación de variantes genéticas relevantes en la miocardiopatía hipertrófica felina.

9. Destaca de forma relevante la presencia de variantes en genes desmosómicos en gatos con miocardiopatía hipertrófica, a la vez que se ha identificado una escasa presencia de variantes relevantes en los genes sarcoméricos tradicionalmente asociados. Este descubrimiento, que presenta por primera vez variantes en los genes *PKP2* y *DSP* en gatos con MCH, sugiere una posible contribución significativa de estas variantes en la predisposición a la miocardiopatía hipertrófica.
10. La combinación de diversos estudios documentados y la inclusión de los resultados obtenidos internamente han generado una reconsideración en la clasificación de las variantes previamente identificadas como patogénicas en la miocardiopatía hipertrófica felina, específicamente c.50-108G>C en *TNNT2* y p.Gly3367Arg *ALMS1*.
11. Adicionalmente, la revisión de la variante p.Ala31Pro en *MYBPC3* sugirió que la relación de esta variante con la miocardiopatía hipertrófica felina es más plausible al considerar una herencia recesiva.

BIBLIOGRAFIA

Abbott, J.A. (2010). Feline Hypertrophic Cardiomyopathy: An Update. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 40(4), 685–700. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.04.004>.

Akhtar, M., & Elliott, P. (2018). The genetics of hypertrophic cardiomyopathy. *Global Cardiology Science & Practice*, 2018(3), 36. <https://doi.org/10.21542/gcsp.2018.36>

Akiyama, N., Suzuki, R., Saito, T., Yuchi, Y., Ukawa, H., & Matsumoto, Y. (2023). Presence of known feline ALMS1 and MYBPC3 variants in a diverse cohort of cats with hypertrophic cardiomyopathy in Japan. *PloS One*, 18(4), e0283433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283433>

Alfares, A. A., Kelly, M. A., McDermott, G., Funke, B. H., Lebo, M. S., Baxter, S. B., Shen, J., McLaughlin, H. M., Clark, E. H., Babb, L. J., Cox, S. W., DePalma, S. R., Ho, C. Y., Seidman, J. G., Seidman, C. E., & Rehm, H. L. (2015). Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: Expanded panels offer limited additional sensitivity. *Genetics in Medicine*, 17(11), 880–888. <https://doi.org/10.1038/gim.2014.205>

Allouba, M., Walsh, R., Afify, A., Hosny, M., Halawa, S., Galal, A., Fathy, M., Theotokis, P. I., Boraey, A., Ellithy, A., Buchan, R., Govind, R., Whiffin, N., Anwer, S., ElGuindy, A., Ware, J. S., Barton, P. J. R., Yacoub, M., & Aguib, Y. (2023). Ethnicity, consanguinity, and genetic architecture of hypertrophic cardiomyopathy. *European Heart Journal*, 44(48), 5146–5158. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad372>

Anfinson, M., Fitts, R. H., Lough, J. W., James, J. M., Simpson, P. M., Handler, S. S., Mitchell, M. E., & Tomita-Mitchell, A. (2022). Significance of α -Myosin Heavy Chain (MYH6) Variants in Hypoplastic Left Heart Syndrome and Related Cardiovascular Diseases. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 9(5), 144. <https://doi.org/10.3390/jcdd9050144>

Armel, T. Z., & Leinwand, L. A. (2009). Mutations in the β -myosin rod cause myosin storage myopathy via multiple mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(15), 6291–6296. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900107106>

Authors/Task Force members, Elliott, P. M., Anastasakis, A., Borger, M. A., Borggrefe, M., Cecchi, F., Charron, P., Hagege, A. A., Lafont, A., Limongelli, G., Mahrholdt, H., McKenna, W. J., Mogensen, J., Nihoyannopoulos, P., Nistri, S., Pieper, P. G., Pieske, B., Rapezzi, C., Rutten, F. H., ... Watkins, H. (2014). 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: The Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 35(39), 2733–2779. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu284>

Bainbridge, M. N., Li, L., Tan, Y., Cheong, B. Y., & Marian, A. J. (2017). Identification of established arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy mutation in a patient with the contrasting phenotype of hypertrophic cardiomyopathy. *BMC Medical Genetics*, 18, 24. <https://doi.org/10.1186/s12881-017-0385-8>

Barbosa, P., Ribeiro, M., Carmo-Fonseca, M., & Fonseca, A. (2022). Clinical significance of genetic variation in hypertrophic cardiomyopathy: Comparison of computational tools to prioritize missense variants. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 975478. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.975478>

Basit, H., Brito, D., & Sharma, S. (2022). Hypertrophic Cardiomyopathy. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430788/>

Bellumori, T. P., Famula, T. R., Bannasch, D. L., Belanger, J. M., & Oberbauer, A. M. (2013). Prevalence of inherited disorders among mixed-breed and purebred dogs: 27,254 cases (1995–2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(11), 1549–1555. <https://doi.org/10.2460/javma.242.11.1549>

Biddinger, K. J., Jurgens, S. J., Maamari, D., Gaziano, L., Choi, S. H., Morrill, V. N., Halford, J. L., Khera, A. V., Lubitz, S. A., Ellinor, P. T., & Aragam, K. G. (2022). Rare and Common Genetic Variation Underlying the Risk of Hypertrophic Cardiomyopathy in a National Biobank. *JAMA Cardiology*, 7(7), 715–722. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2022.1061>

Biernacka, E. K., Borowiec, K., Franaszczyk, M., Szperl, M., Rampazzo, A., Woźniak, O., Roszczyński, M., Śmigielski, W., Lutyńska, A., & Hoffman, P. (2021). Pathogenic variants in plakophilin-2 gene (PKP2) are associated with better survival in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Journal of Applied Genetics*, 62(4), 613–620. <https://doi.org/10.1007/s13353-021-00647-y>

Bonaventura, J., Polakova, E., Vejtasova, V., & Veselka, J. (2021). Genetic Testing in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/ijms221910401>

Borgeat, K., Casamian-Sorrosal, D., Helps, C., Luis Fuentes, V., & Connolly, D. J. (2014). Association of the myosin binding protein C3 mutation (MYBPC3 R820W) with cardiac death in a survey of 236 Ragdoll cats. *Journal of Veterinary Cardiology*, 16(2), 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2014.03.005>

Borgeat, K., Stern, J., Meurs, K. M., Fuentes, V. L., & Connolly, D. J. (2015). The influence of clinical and genetic factors on left ventricular wall thickness in Ragdoll cats. *Journal of Veterinary Cardiology*, 17, S258–S267. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.06.005>

Brodehl, A., Dieding, M., Biere, N., Unger, A., Klauke, B., Walhorn, V., Gummert, J., Schulz, U., Linke, W. A., Gerull, B., Vorgert, M., Anselmetti, D., & Milting, H. (2016). Functional characterization of the novel DES mutation p.L136P associated with dilated cardiomyopathy reveals a dominant filament assembly defect. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 91, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.12.015>

Brodehl, A., Dieding, M., Klauke, B., Dec, E., Madaan, S., Huang, T., Gargus, J., Fatima, A., Saric, T., Cakar, H., Walhorn, V., Tönsing, K., Skrzipczyk, T., Cebulla, R., Gerdes, D., Schulz, U., Gummert, J., Svendsen, J. H., Olesen, M. S., ... Milting, H. (2013). The novel desmin mutant p.A120D impairs filament formation, prevents intercalated disk localization, and causes sudden cardiac death. *Circulation. Cardiovascular Genetics*, 6(6), 615–623. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000103>

Burke, M. A., Cook, S. A., Seidman, J. G., & Seidman, C. E. (2016). Clinical and Mechanistic Insights into the Genetics of Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(25), 2871–2886. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.08.079>

Burns, C., Bagnall, R. D., Lam, L., Semsarian, C., & Ingles, J. (2017). Multiple Gene Variants in Hypertrophic Cardiomyopathy in the Era of Next-Generation Sequencing. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 10(4), e001666. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.116.001666>

Butters, A., Bagnall, R. D., & Ingles, J. (2020). Revisiting the Diagnostic Yield of Hypertrophic Cardiomyopathy Genetic Testing. *Circulation: Genomic and Precision Medicine*, 13(2), e002930. <https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.120.002930>

Campuzano, O., Fernández-Falgueras, A., Iglesias, A., & Brugada, R. (2016). Brugada Syndrome and *PKP2*: Evidences and uncertainties. *International Journal of Cardiology*, 214, 403–405. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.03.194>

Carniel, E., Taylor, M. R., Sinagra, G., Di Lenarda, A., Ku, L., Fain, P. R., Boucek, M. M., Cavanaugh, J., Miocic, S., Slavov, D., Graw, S. L., Feiger, J., Zhu, X. Z., Dao, D., Ferguson, D. A., Bristow, M. R., & Mestroni, L. (2005). α -Myosin Heavy Chain. *Circulation*, 112(1), 54–59. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.507699>

Cecconi, M., Parodi, M. I., Formisano, F., Spirito, P., Autore, C., Musumeci, M. B., Favale, S., Forleo, C., Rapezzi, C., Biagini, E., Davì, S., Canepa, E., Pennese, L., Castagnetta, M., Degiorgio, D., & Coviello, D. A. (2016). Targeted next-generation sequencing helps to decipher the genetic and phenotypic heterogeneity of hypertrophic cardiomyopathy. *International Journal of Molecular Medicine*, 38(4), 1111–1124.

Chetboul, V., Petit, A., Gouni, V., Trehieu-Sechi, E., Misbach, C., Balouka, D., Carlos Sampedrano, C., Pouchelon, J.-L., Tissier, R., & Abitbol, M. (2012). Prospective echocardiographic and tissue Doppler screening of a large Sphynx cat population: Reference ranges, heart disease prevalence and genetic aspects. *Journal of Veterinary Cardiology*, 14(4), 497–509. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2012.08.001>

Clemen, C. S., Stöckigt, F., Strucksberg, K.-H., Chevessier, F., Winter, L., Schütz, J., Bauer, R., Thorweihe, J.-M., Wenzel, D., Schlötzer-Schrehardt, U., Rasche, V., Krsmanovic, P., Katus, H. A., Rottbauer, W., Just, S., Müller, O. J., Friedrich, O., Meyer, R., Herrmann, H., ... Schröder, R. (2015). The toxic effect of R350P mutant desmin in striated muscle of man and mouse. *Acta Neuropathologica*, 129(2), 297–315. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1363-2>

Costain, G., Jobling, R., Walker, S., Reuter, M. S., Snell, M., Bowdin, S., Cohn, R. D., Dupuis, L., Hewson, S., Mercimek-Andrews, S., Shuman, C., Sondheimer, N., Weksberg, R., Yoon, G., Meyn, M. S., Stavropoulos, D. J., Scherer, S. W., Mendoza-

Londono, R., & Marshall, C. R. (2018). Periodic reanalysis of whole-genome sequencing data enhances the diagnostic advantage over standard clinical genetic testing. *European Journal of Human Genetics*, 26(5), 740–744. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0114-6>

Crocini, C., & Gotthardt, M. (2021). Cardiac sarcomere mechanics in health and disease. *Biophysical Reviews*, 13(5), 637–652. <https://doi.org/10.1007/s12551-021-00840-7>

Da'as, S. I., Yalcin, H. C., Nasrallah, G. K., Mohamed, I. A., Nomikos, M., Yacoub, M. H., & Fakhro, K. A. (2020). Functional characterization of human myosin-binding protein C3 variants associated with hypertrophic cardiomyopathy reveals exon-specific cardiac phenotypes in zebrafish model. *Journal of Cellular Physiology*, 235(11), 7870–7888. <https://doi.org/10.1002/jcp.29441>

Dai, K. S., Chen, S. P., Yang, P. C., Liu, C. Y., & Mao, S. J. (1996). Ultrastructural alterations in pigs with naturally occurring hypertrophic cardiomyopathy. *The British Veterinary Journal*, 152(3), 333–338.

De Bortoli, M., Calore, C., Lorenzon, A., Calore, M., Poloni, G., Mazzotti, E., Rigato, I., Marra, M. P., Melacini, P., Iliceto, S., Thiene, G., Basso, C., Daliento, L., Corrado, D., Rampazzo, A., & Bauce, B. (2017). Co-inheritance of mutations associated with arrhythmogenic cardiomyopathy and hypertrophic cardiomyopathy. *European Journal of Human Genetics*, 25(10), 1165–1169. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2017.109>

Dedeoglu, S., Dede, E., Oztunc, F., Gedikbasi, A., Yesil, G., & Dedeoglu, R. (2022). Mutation identification and prediction for severe cardiomyopathy in Alström syndrome, and review of the literature for cardiomyopathy. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 17(1), 359. <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02483-7>

Deignan, J. L., Chung, W. K., Kearney, H. M., Monaghan, K. G., Rehder, C. W., & Chao, E. C. (2019). Points to Consider in the Reevaluation and Reanalysis of Genomic Test Results: A Statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 21(6), 1267–1270. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0478-1>

Delmar, M., & McKenna, W. J. (2010). The cardiac desmosome and arrhythmogenic cardiomyopathies: From gene to disease. *Circulation Research*, 107(6), 700–714. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223412>

Di Lorenzo, F., Marchionni, E., Ferradini, V., Latini, A., Pezzoli, L., Martino, A., Romeo, F., Iorio, A., Bianchi, S., Iascone, M., Calò, L., Novelli, G., Mango, R., & Sangiuolo, F. (2023). DSP-Related Cardiomyopathy as a Distinct Clinical Entity? Emerging Evidence from an Italian Cohort. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2490. <https://doi.org/10.3390/ijms24032490>

Dries, A. M., Kirillova, A., Reuter, C. M., Garcia, J., Zouk, H., Hawley, M., Murray, B., Tichnell, C., Pilichou, K., Protonotarios, A., Medeiros-Domingo, A., Kelly, M. A., Baras, A., Ingles, J., Semsarian, C., Bauce, B., Celeghein, R., Basso, C., Jongbloed, J. D. H., ... Parikh, V. N. (2021). The genetic architecture of Plakophilin 2 cardiomyopathy. *Genetics in Medicine*, 23(10), Article 10. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01233-7>

- Duncker, D. J., Bakkers, J., Brundel, B. J., Robbins, J., Tardiff, J. C., & Carrier, L. (2015). Animal and in silico models for the study of sarcomeric cardiomyopathies. *Cardiovascular Research*, 105(4), 439–448. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv006>
- Elliott, P. M., Poloniecki, J., Dickie, S., Sharma, S., Monserrat, L., Varnava, A., Mahon, N. G., & McKenna, W. J. (2000). Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: Identification of high risk patients. *Journal of the American College of Cardiology*, 36(7), 2212–2218. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(00\)01003-2](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(00)01003-2)
- Figuerola A, L., Paz M, R., Díaz C, D., & Dávila F, R. (2014). Tromboembolismo aórtico felino: Relato de caso. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 25(3), 438–443.
- Fox, P. R., Keene, B. W., Lamb, K., Schober, K. A., Chetboul, V., Luis Fuentes, V., Wess, G., Payne, J. R., Hogan, D. F., Motsinger-Reif, A., Häggström, J., Trehou-Sechi, E., Fine-Ferreira, D. M., Nakamura, R. K., Lee, P. M., Singh, M. K., Ware, W. A., Abbott, J. A., Culshaw, G., ... Tachika Ohara, V. Y. (2018). International collaborative study to assess cardiovascular risk and evaluate long-term health in cats with preclinical hypertrophic cardiomyopathy and apparently healthy cats: The REVEAL Study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(3), 930–943. <https://doi.org/10.1111/jvim.15122>
- Freeman, L. M., Rush, J. E., Stern, J. A., Huggins, G. S., & Maron, M. S. (2017). Feline Hypertrophic Cardiomyopathy: A Spontaneous Large Animal Model of Human HCM. *Cardiology Research*, 8(4), 139–142. <https://doi.org/10.14740/cr578w>
- Friedrich, F. W., Wilding, B. R., Reischmann, S., Crocini, C., Lang, P., Charron, P., Müller, O. J., McGrath, M. J., Vollert, I., Hansen, A., Linke, W. A., Hengstenberg, C., Bonne, G., Morner, S., Wichter, T., Madeira, H., Arbustini, E., Eschenhagen, T., Mitchell, C. A., ... Carrier, L. (2012). Evidence for FHL1 as a novel disease gene for isolated hypertrophic cardiomyopathy. *Human Molecular Genetics*, 21(14), 3237–3254. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds157>
- Fries, R., Heaney, A. M., & Meurs, K. M. (2008). Prevalence of the Myosin-Binding Protein C Mutation in Maine Coon Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(4), 893–896. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0113.x>
- Fuentes, V. L., Abbott, J., Chetboul, V., Côté, E., Fox, P. R., Häggström, J., Kittleson, M. D., Schober, K., & Stern, J. A. (2020). ACVIM consensus statement guidelines for the classification, diagnosis, and management of cardiomyopathies in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(3), 1062–1077. <https://doi.org/10.1111/jvim.15745>
- Gil-Ortuño, C., Sebastián-Marcos, P., Sabater-Molina, M., Nicolas-Rocamora, E., Gimeno-Blanes, J. R., & Fernández Del Palacio, M. J. (2020). Genetics of feline hypertrophic cardiomyopathy. *Clinical Genetics*, 98(3), 203–214. <https://doi.org/10.1111/cge.13743>
- Girolami, F., Ho, C. Y., Semsarian, C., Baldi, M., Will, M. L., Baldini, K., Torricelli, F., Yeates, L., Cecchi, F., Ackerman, M. J., & Olivetto, I. (2010). Clinical features and outcome of hypertrophic cardiomyopathy associated with triple sarcomere protein gene mutations. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(14), 1444–1453. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.11.062>

Glinge, C., Sattler, S., Jabbari, R., & Tfelt-Hansen, J. (2016). Epidemiology and genetics of ventricular fibrillation during acute myocardial infarction. *Journal of Geriatric Cardiology*, 13(9), 789–797. <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2016.09.006>

Godiksen, M. T., Granstrøm, S., Koch, J., & Christiansen, M. (2011). Hypertrophic cardiomyopathy in young Maine Coon cats caused by the p.A31P cMyBP-C mutation—The clinical significance of having the mutation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1), 7. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-7>

Granström, S., Godiksen, M. T. N., Christiansen, M., Pipper, C. B., Martinussen, T., Møgelvang, R., Søgaard, P., Willesen, J. L., & Koch, J. (2015). Genotype–phenotype correlation between the cardiac myosin binding protein C mutation A31P and hypertrophic cardiomyopathy in a cohort of Maine Coon cats: A longitudinal study. *Journal of Veterinary Cardiology*, 17, S268–S281. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.10.005>

Granström, S., Godiksen, M. T. N., Christiansen, M., Pipper, C. B., Willesen, J. L., Willesen, J. T., & Koch, J. (2011). Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a cohort of British Shorthair cats in Denmark. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), 866–871. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0751.x>

Granström, S., Godiksen, M. T. N., Christiansen, M., Pipper, C. B., Willesen, J. T., & Koch, J. (2011). Prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy in a Cohort of British Shorthair Cats in Denmark. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), 866–871. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0751.x>

Gundler, S., Tidholm, A., & Häggström, J. (2008). Prevalence of myocardial hypertrophy in a population of asymptomatic Swedish Maine coon cats. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-22>

Gutierrez, C., Montoya, J. A., Herraiz, P., Corbera, J. A., Belloli, A., & Morales, M. (2000). Syncope associated with hypertrophic cardiomyopathy in a dromedary camel. *Australian Veterinary Journal*, 78(8), 543–544. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2000.tb11897.x>

Häggström, J., Andersson, Å. O., Falk, T., Nilsfors, L., Olsson, U., Kresken, J. G., Höglund, K., Rishniw, M., Tidholm, A., & Ljungvall, I. (2016). Effect of Body Weight on Echocardiographic Measurements in 19,866 Pure-Bred Cats with or without Heart Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(5), 1601–1611. <https://doi.org/10.1111/jvim.14569>

Harada, H., Hayashi, T., Nishi, H., Kusaba, K., Koga, Y., Koga, Y., Nonaka, I., & Kimura, A. (2018). Phenotypic expression of a novel desmin gene mutation: Hypertrophic cardiomyopathy followed by systemic myopathy. *Journal of Human Genetics*, 63(2), 249–254. <https://doi.org/10.1038/s10038-017-0383-x>

Harper, A. R., Goel, A., Grace, C., Thomson, K. L., Petersen, S. E., Xu, X., Waring, A., Ormondroyd, E., Kramer, C. M., Ho, C. Y., Neubauer, S., Tadros, R., Ware, J. S., Bezzina, C. R., Farrall, M., & Watkins, H. (2021). Common genetic variants and modifiable risk factors underpin hypertrophic cardiomyopathy susceptibility and

expressivity. *Nature Genetics*, 53(2), 135–142. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-00764-0>

Hathaway, J., Heliö, K., Saarinen, I., Tallila, J., Seppälä, E. H., Tuupainen, S., Turpeinen, H., Kangas-Kontio, T., Schleit, J., Tommiska, J., Kytölä, V., Valori, M., Muona, M., Sistonen, J., Gentile, M., Salmenperä, P., Myllykangas, S., Paananen, J., Alastalo, T.-P., ... Koskenvuo, J. (2021). Diagnostic yield of genetic testing in a heterogeneous cohort of 1376 HCM patients. *BMC Cardiovascular Disorders*, 21(1), 126. <https://doi.org/10.1186/s12872-021-01927-5>

Hershberger, R. E., & Jordan, E. (1993). Dilated Cardiomyopathy Overview. In M. P. Adam, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, L. J. Bean, K. W. Gripp, & A. Amemiya (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1309/>

Hnia, K., Ramsbacher, C., Vermot, J., & Laporte, J. (2015). Desmin in muscle and associated diseases: Beyond the structural function. *Cell and Tissue Research*, 360(3), 591–608. <https://doi.org/10.1007/s00441-014-2016-4>

Ho, C. Y., Day, S. M., Ashley, E. A., Michels, M., Pereira, A. C., Jacoby, D., Cirino, A. L., Fox, J. C., Lakdawala, N. K., Ware, J. S., Caleshu, C. A., Helms, A. S., Colan, S. D., Girolami, F., Cecchi, F., Seidman, C. E., Sajeev, G., Signorovitch, J., Green, E. M., ... null, null. (2018). Genotype and Lifetime Burden of Disease in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation*, 138(14), 1387–1398. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.033200>

Ho, C. Y., Mealiffe, M. E., Bach, R. G., Bhattacharya, M., Choudhury, L., Edelberg, J. M., Hegde, S. M., Jacoby, D., Lakdawala, N. K., Lester, S. J., Ma, Y., Marian, A. J., Nagueh, S. F., Owens, A., Rader, F., Saberi, S., Sehnert, A. J., Sherrid, M. V., Solomon, S. D., ... Heitner, S. B. (2020). Evaluation of Mavacamten in Symptomatic Patients With Nonobstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 75(21), 2649–2660. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.03.064>

Holm, H., Gudbjartsson, D. F., Sulem, P., Masson, G., Helgadottir, H. T., Zanon, C., Magnusson, O. T., Helgason, A., Saemundsdottir, J., Gylfason, A., Stefansdottir, H., Gretarsdottir, S., Matthiasson, S. E., Thorgeirsson, G., Jonasdottir, A., Sigurdsson, A., Stefansson, H., Werge, T., Rafnar, T., ... Stefansson, K. (2011). A rare variant in MYH6 is associated with high risk of sick sinus syndrome. *Nature Genetics*, 43(4), 316–320. <https://doi.org/10.1038/ng.781>

Hong, D., Wang, Z., Zhang, W., Xi, J., Lu, J., Luan, X., & Yuan, Y. (2011). A series of Chinese patients with desminopathy associated with six novel and one reported mutations in the desmin gene. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 37(3), 257–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2010.01112.x>

Hong, Y., Su, W. W., & Li, X. (2022). Risk factors of sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. *Current Opinion in Cardiology*, 37(1), 15–21. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000939>

- Htet, M., Lei, S., Bajpayi, S., Zoitou, A., Chamakioti, M., & Tampakakis, E. (2023). The role of noncoding genetic variants in cardiomyopathy. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10, 1116925. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1116925>
- Huang, S. Y., Tsou, H. L., Chiu, Y. T., Shyu, J. J., Wu, J. J., Lin, J. H., & Liu, S. K. (1996). Heritability estimate of hypertrophic cardiomyopathy in pigs (*Sus scrofa domestica*). *Laboratory Animal Science*, 46(3), 310–314.
- Hyland, R. J., Pereira, A. C., Quiat, D., Chandler, S. F., Roston, T. M., Pu, W. T., Bezzerides, V. J., Seidman, J. G., Seidman, C. E., & Abrams, D. J. (2022). Population Prevalence of Premature Truncating Variants in Plakophilin-2 and Association With Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy: A UK Biobank Analysis. *Circulation: Genomic and Precision Medicine*, 15(3), e003507. <https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.121.003507>
- Inagaki, N., Hayashi, T., Takei, Y., Tanimoto, K., Chikamori, T., & Kimura, A. (2018). Clinical and genetic backgrounds of hypertrophic cardiomyopathy with mid-ventricular obstruction. *Journal of Human Genetics*, 63(12), 1273–1276. <https://doi.org/10.1038/s10038-018-0509-9>
- Ingles, J., Burns, C., Barratt, A., & Semsarian, C. (2015). Application of Genetic Testing in Hypertrophic Cardiomyopathy for Preclinical Disease Detection. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 8(6), 852–859. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.115.001093>
- Ingles, J., Burns, C., & Funke, B. (2017). Pathogenicity of Hypertrophic Cardiomyopathy Variants. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 10(5), e001916. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.117.001916>
- Ingles, J., Goldstein, J., Thaxton, C., Caleshu, C., Corty, E. W., Crowley, S. B., Dougherty, K., Harrison, S. M., McGlaughon, J., Milko, L. V., Morales, A., Seifert, B. A., Strande, N., Thomson, K., Peter van Tintelen, J., Wallace, K., Walsh, R., Wells, Q., Whiffin, N., ... Funke, B. (2019). Evaluating the Clinical Validity of Hypertrophic Cardiomyopathy Genes. *Circulation. Genomic and Precision Medicine*, 12(2), e002460. <https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.119.002460>
- Ingles, J., Sarina, T., Yeates, L., Hunt, L., Macciocca, I., McCormack, L., Winship, I., McGaughan, J., Atherton, J., & Semsarian, C. (2013). Clinical predictors of genetic testing outcomes in hypertrophic cardiomyopathy. *Genetics in Medicine*, 15(12), 972–977. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.44>
- Jacoby, D., & McKenna, W. J. (2012). Genetics of inherited cardiomyopathy. *European Heart Journal*, 33(3), 296. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr260>
- Kampourakis, T., Ponnamp, S., & Irving, M. (2018). Hypertrophic cardiomyopathy mutation R58Q in the myosin regulatory light chain perturbs thick filament-based regulation in cardiac muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 117, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.02.009>

- Kittleson, M. D., & Côté, E. (2021a). The Feline Cardiomyopathies: 1. General concepts. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(11), 1009–1027. <https://doi.org/10.1177/1098612X211021819>
- Kittleson, M. D., & Côté, E. (2021b). The Feline Cardiomyopathies: 2. Hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(11), 1028–1051. <https://doi.org/10.1177/1098612X211020162>
- Kittleson, M. D., Meurs, K. M., & Harris, S. P. (2015a). The genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy in cats and humans. *Journal of Veterinary Cardiology*, 17, Supplement 1, S53–S73. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.03.001>
- Kittleson, M. D., Meurs, K. M., & Harris, S. P. (2015b). The Genetic Basis of Hypertrophic Cardiomyopathy in Cats and Humans. *Journal of Veterinary Cardiology: The Official Journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 17(Suppl 1), S53–S73. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.03.001>
- Kittleson, M. D., Meurs, K. M., Munro, M. J., Kittleson, J. A., Liu, S.-K., Pion, P. D., & Towbin, J. A. (1999). Familial Hypertrophic Cardiomyopathy in Maine Coon Cats. *Circulation*, 99(24), 3172–3180. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.99.24.3172>
- Knowlen, G. G., Weller, R. E., Perry, R. L., Baer, J. F., & Gozalo, A. S. (2013). Hypertrophic Cardiomyopathy in Owl Monkeys (*Aotus* spp.). *Comparative Medicine*, 63(3), 279–287.
- Kuster, D. W. D., & Sadayappan, S. (2014). MYBPC3's alternate ending: Consequences and therapeutic implications of a highly prevalent 25 bp deletion mutation. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 466(2), 207–213. <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1417-7>
- Kwon, D. H., Setser, R. M., Thamilarasan, M., Popovic, Z. V., Smedira, N. G., Schoenhagen, P., Garcia, M. J., Lever, H. M., & Desai, M. Y. (2008). Abnormal papillary muscle morphology is independently associated with increased left ventricular outflow tract obstruction in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart (British Cardiac Society)*, 94(10), 1295–1301. <https://doi.org/10.1136/hrt.2007.118018>
- Lee, T. M., Hsu, D. T., Kantor, P., Towbin, J. A., Ware, S. M., Colan, S. D., Chung, W. K., Jefferies, J. L., Rossano, J. W., Castleberry, C. D., Addonizio, L. J., Lal, A. K., Lamour, J. M., Miller, E. M., Thrush, P. T., Czachor, J. D., Razoky, H., Hill, A., & Lipshultz, S. E. (2017). Pediatric Cardiomyopathies. *Circulation Research*, 121(7), 855–873. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309386>
- Li, L., Bainbridge, M. N., Tan, Y., Willerson, J. T., & Marian, A. J. (2017). A Potential Oligogenic Etiology of Hypertrophic Cardiomyopathy: A Classic Single-Gene Disorder. *Circulation Research*, 120(7), 1084–1090. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.310559>
- Lin, J.-H., Huang, S.-Y., Lee, W.-C., Liu, S.-K., & Chu, R.-M. (2002). Echocardiographic features of pigs with spontaneous hypertrophic cardiomyopathy. *Comparative Medicine*, 52(3), 238–242.

- Lipinski, M. J., Froenicke, L., Baysac, K. C., Billings, N. C., Leutenegger, C. M., Levy, A. M., Longeri, M., Niini, T., Ozpinar, H., Slater, M. R., Pedersen, N. C., & Lyons, L. A. (2008). The Ascent of Cat Breeds: Genetic Evaluations of Breeds and Worldwide Random Bred Populations. *Genomics*, 91(1), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2007.10.009>
- Liu, S. K., Maron, B. J., & Tilley, L. P. (1979). Hypertrophic cardiomyopathy in the dog. *The American Journal of Pathology*, 94(3), 497–507.
- Longeri, M., Ferrari, P., Knafelz, P., Mezzelani, A., Marabotti, A., Milanese, L., Pertica, G., Polli, M., Brambilla, P. G., Kittleson, M., Lyons, L. A., & Porciello, F. (2013). Myosin-binding protein C DNA variants in domestic cats (A31P, A74T, R820W) and their association with Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 27(2), 275–285. <https://doi.org/10.1111/jvim.12031>
- Lopes, L. R., Zekavati, A., Syrris, P., Hubank, M., Giambartolomei, C., Dalageorgou, C., Jenkins, S., McKenna, W., Plagnol, V., & Elliott, P. M. (2013). Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high-throughput sequencing. *Journal of Medical Genetics*, 50(4), 228–239. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101270>
- Lowes, B. D., Minobe, W., Abraham, W. T., Rizeq, M. N., Bohlmeier, T. J., Quaife, R. A., Roden, R. L., Dutcher, D. L., Robertson, A. D., Voelkel, N. F., Badesch, D. B., Groves, B. M., Gilbert, E. M., & Bristow, M. R. (1997). Changes in gene expression in the intact human heart. Downregulation of alpha-myosin heavy chain in hypertrophied, failing ventricular myocardium. *The Journal of Clinical Investigation*, 100(9), 2315–2324. <https://doi.org/10.1172/JCI119770>
- Lowey, S., Bretton, V., Joel, P. B., Trybus, K. M., Gulick, J., Robbins, J., Kalganov, A., Cornachione, A. S., & Rassier, D. E. (2018). Hypertrophic cardiomyopathy R403Q mutation in rabbit β -myosin reduces contractile function at the molecular and myofibrillar levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(44), 11238–11243. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802967115>
- Lynch, M. T., Maloney, K. A., Xu, H., Perry, J. A., Shuldiner, A. R., & Mitchell, B. D. (2022). *Assessing the Impact of Individual Autozygosity on Complex Traits*. <https://www.researchsquare.com/article/rs-2022836/v1>
- Machida, N., Kiryu, K., Nakamura, T., Tachibana, M., Nagahama, M., & Asayama, S. (1996). Two necropsy cases of hypertrophic cardiomyopathy in Holstein cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 58(9), 929–932. <https://doi.org/10.1292/jvms.58.929>
- Manh, T. P. V., Mokrane, M., Georgenthum, E., Flavigny, J., Carrier, L., Sémériva, M., Piovant, M., & Röder, L. (2005). Expression of cardiac myosin-binding protein-C (cMyBP-C) in *Drosophila* as a model for the study of human cardiomyopathies. *Human Molecular Genetics*, 14(1), 7–17. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi002>
- Marian, A. J., & Braunwald, E. (2017). Hypertrophic Cardiomyopathy: Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy. *Circulation Research*, 121(7), 749–770. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311059>

- Maron, B. J. (2010). Sudden Cardiac Death in Genetic Heart Diseases and the Promise of Prevention. *Revista Española de Cardiología*, 63(3), 257–260. [https://doi.org/10.1016/S1885-5857\(10\)70056-6](https://doi.org/10.1016/S1885-5857(10)70056-6)
- Maron, B. J., Desai, M. Y., Nishimura, R. A., Spirito, P., Rakowski, H., Towbin, J. A., Rowin, E. J., Maron, M. S., & Sherrid, M. V. (2022). Diagnosis and Evaluation of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 79(4), 372–389. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.12.002>
- Maron, B. J., & Fox, P. R. (2015). Hypertrophic cardiomyopathy in man and cats. *Journal of Veterinary Cardiology*, 17, Supplement 1, S6–S9. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.03.007>
- Maron, B. J., & Maron, M. S. (2013). Hypertrophic cardiomyopathy. *The Lancet*, 381(9862), 242–255. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60397-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60397-3)
- Maron, B. J., Maron, M. S., & Semsarian, C. (2012). Genetics of hypertrophic cardiomyopathy after 20 years: Clinical perspectives. *Journal of the American College of Cardiology*, 60(8), 705–715. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.02.068>
- Maron Barry J. (2002). Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation*, 106(19), 2419–2421. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000034170.83171.0B>
- Marshall, J. D., Muller, J., Collin, G. B., Milan, G., Kingsmore, S. F., Dinwiddie, D., Farrow, E. G., Miller, N. A., Favaretto, F., Maffei, P., Dollfus, H., Vettor, R., & Naggert, J. K. (2015). Alström Syndrome: Mutation spectrum of ALMS1. *Human Mutation*, 36(7), 660–668. <https://doi.org/10.1002/humu.22796>
- Mary, J., Chetboul, V., Sampedrano, C. C., Abitbol, M., Gouni, V., Trehieu-Sechi, E., Tissier, R., Queney, G., Pouchelon, J.-L., & Thomas, A. (2010). Prevalence of the MYBPC3-A31P mutation in a large European feline population and association with hypertrophic cardiomyopathy in the Maine Coon breed. *Journal of Veterinary Cardiology: The Official Journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 12(3), 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2010.06.004>
- März, I., Wilkie, L. J., Harrington, N., Payne, J. R., Muzzi, R. A. L., Häggström, J., Smith, K., & Luis Fuentes, V. (2015). Familial cardiomyopathy in Norwegian Forest cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(8), 681–691. <https://doi.org/10.1177/1098612X14553686>
- Mascarello, F., Toniolo, L., Cancellara, P., Reggiani, C., & Maccatrozzo, L. (2016). Expression and identification of 10 sarcomeric MyHC isoforms in human skeletal muscles of different embryological origin. Diversity and similarity in mammalian species. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, 207, 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2016.02.007>
- Matalonga, L., Laurie, S., Papakonstantinou, A., Piscia, D., Mereu, E., Bullich, G., Thompson, R., Horvath, R., Pérez-Jurado, L., Riess, O., Gut, I., van Ommen, G.-J., Lochmüller, H., & Beltran, S. (2020). Improved Diagnosis of Rare Disease Patients through Systematic Detection of Runs of Homozygosity. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 22(9), 1205–1215. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.06.008>

- McKenna, W. J., Maron, B. J., & Thiene, G. (2017). Classification, Epidemiology, and Global Burden of Cardiomyopathies. *Circulation Research*, 121(7), 722–730. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309711>
- McNamara, J. W., Schuckman, M., Becker, R. C., & Sadayappan, S. (2020). A Novel Homozygous Intronic Variant in TNNT2 Associates With Feline Cardiomyopathy. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.608473>
- Mendes de Almeida, R., Tavares, J., Martins, S., Carvalho, T., Enguita, F. J., Brito, D., Carmo-Fonseca, M., & Lopes, L. R. (2017). Whole gene sequencing identifies deep-intronic variants with potential functional impact in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *PloS One*, 12(8), e0182946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182946>
- Meurs, K. M., Norgard, M. M., Ederer, M. M., Hendrix, K. P., & Kittleson, M. D. (2007). A substitution mutation in the myosin binding protein C gene in ragdoll hypertrophic cardiomyopathy. *Genomics*, 90(2), 261–264. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2007.04.007>
- Meurs, K. M., Norgard, M. M., Kuan, M., Haggstrom, J., & Kittleson, M. (2009). Analysis of 8 Sarcomeric Candidate Genes for Feline Hypertrophic Cardiomyopathy Mutations in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(4), 840–843. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0341.x>
- Meurs, K. M., Sanchez, X., David, R. M., Bowles, N. E., Towbin, J. A., Reiser, P. J., Kittleson, J. A., Munro, M. J., Dryburgh, K., MacDonald, K. A., & Kittleson, M. D. (2005). A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Human Molecular Genetics*, 14(23), 3587–3593. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi386>
- Meurs, K. M., Williams, B. G., DeProspero, D., Friedenberg, S. G., Malarkey, D. E., Ezzell, J. A., Keene, B. W., Adin, D. B., DeFrancesco, T. C., & Tou, S. (2021). A deleterious mutation in the ALMS1 gene in a naturally occurring model of hypertrophic cardiomyopathy in the Sphynx cat. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 16. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01740-5>
- Miller, M., Amsel, S., & Slusser, P. (1995). Treatment of Systemic Hypertension and Hypertrophic Cardiomyopathy in a Woolly Monkey (*Lagothrix lagotricha*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 26(4), 583–589. JSTOR.
- Miyata, S., Minobe, W., Bristow, M. R., & Leinwand, L. A. (2000). Myosin heavy chain isoform expression in the failing and nonfailing human heart. *Circulation Research*, 86(4), 386–390.
- Montag, J., Petersen, B., Flögel, A. K., Becker, E., Lucas-Hahn, A., Cost, G. J., Mühlfeld, C., Kraft, T., Niemann, H., & Brenner, B. (2018). Successful knock-in of Hypertrophic Cardiomyopathy-mutation R723G into the MYH7 gene mimics HCM pathology in pigs. *Scientific Reports*, 8(1), 4786. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22936-z>

Nakao, K., Minobe, W., Roden, R., Bristow, M. R., & Leinwand, L. A. (1997). Myosin heavy chain gene expression in human heart failure. *Journal of Clinical Investigation*, 100(9), 2362–2370.

Nerakh, G., & Ranganath, P. (2019). Alström Syndrome Presenting as Isolated Dilated Cardiomyopathy. *The Indian Journal of Pediatrics*, 86(3), 296–298. <https://doi.org/10.1007/s12098-018-2807-9>

Ng, D., Johnston, J. J., Teer, J. K., Singh, L. N., Peller, L. C., Wynter, J. S., Lewis, K. L., Cooper, D. N., Stenson, P. D., Mullikin, J. C., Biesecker, L. G., & NIH Intramural Sequencing Center (NISC) Comparative Sequencing Program. (2013). Interpreting secondary cardiac disease variants in an exome cohort. *Circulation. Cardiovascular Genetics*, 6(4), 337–346. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000039>

Niehaus, A., Azzariti, D. R., Harrison, S. M., DiStefano, M. T., Hemphill, S. E., Senol-Cosar, O., & Rehm, H. L. (2019). A survey assessing adoption of the ACMG-AMP guidelines for interpreting sequence variants and identification of areas for continued improvement. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 21(8), 1699–1701. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0432-7>

Nigro, V., Okazaki, Y., Belsito, A., Piluso, G., Matsuda, Y., Politano, L., Nigro, G., Ventura, C., Abbondanza, C., Molinari, A. M., Acampora, D., Nishimura, M., Hayashizaki, Y., & Puca, G. A. (1997). Identification of the Syrian hamster cardiomyopathy gene. *Human Molecular Genetics*, 6(4), 601–607.

Niimura, H., Patton, K. K., McKenna, W. J., Soultis, J., Maron, B. J., Seidman, J. G., & Seidman, C. E. (2002). Sarcomere protein gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy of the elderly. *Circulation*, 105(4), 446–451. <https://doi.org/10.1161/hc0402.102990>

Novelli, V., Malkani, K., & Cerrone, M. (2018). Pleiotropic Phenotypes Associated With PKP2 Variants. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5, 184. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00184>

Nykamp, K., Anderson, M., Powers, M., Garcia, J., Herrera, B., Ho, Y.-Y., Kobayashi, Y., Patil, N., Thusberg, J., Westbrook, M., Invitae Clinical Genomics Group, & Topper, S. (2017). Sherlock: A comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 19(10), 1105–1117. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.37>

Ochoa, J. P., Sabater-Molina, M., García-Pinilla, J. M., Mogensen, J., Restrepo-Córdoba, A., Palomino-Doza, J., Villacorta, E., Martinez-Moreno, M., Ramos-Maqueda, J., Zorio, E., Peña-Peña, M. L., García-Granja, P. E., Rodríguez-Palomares, J. F., Cárdenas-Reyes, I. J., de la Torre-Carpente, M. M., Bautista-Pavés, A., Akhtar, M. M., Cicerchia, M. N., Bilbao-Quesada, R., ... Monserrat, L. (2018). Formin Homology 2 Domain Containing 3 (FHOD3) Is a Genetic Basis for Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(20), 2457–2467. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.10.001>

O'Donnell, K., Adin, D., Atkins, C. E., DeFrancesco, T., Keene, B. W., Tou, S., & Meurs, K. M. (2021). Absence of known feline MYH7 and MYBPC3 variants in a diverse cohort

of cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Animal Genetics*.
<https://doi.org/10.1111/age.13074>

Ommen, S. R., & Semsarian, C. (2021). Hypertrophic cardiomyopathy: A practical approach to guideline directed management. *Lancet*, 398(10316), 2102–2108.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01205-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01205-8)

Paige, C. F., Abbott, J. A., Elvinger, F., & Pyle, R. L. (2009). Prevalence of cardiomyopathy in apparently healthy cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(11), 1398–1403. <https://doi.org/10.2460/javma.234.11.1398>

Pandey, R. V., Pabinger, S., Kriegner, A., & Weinhäusel, A. (2016). MutAid: Sanger and NGS Based Integrated Pipeline for Mutation Identification, Validation and Annotation in Human Molecular Genetics. *PLOS ONE*, 11(2), e0147697.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147697>

Parrott, A., Khoury, P. R., Shikany, A. R., Lorts, A., Villa, C. R., & Miller, E. M. (2020). Investigation of de novo variation in pediatric cardiomyopathy. *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*, 184(1), 116–123.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31764>

Pasipoularides, A. (2018). Retos y controversias en miocardiopatía hipertrófica: Visión integral desde la investigación básica, clínica y genética. *Revista Española de Cardiología*, 71(3), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2017.06.034>

Payne, J. R., Brodbelt, D. C., & Luis Fuentes, V. (2015). Cardiomyopathy prevalence in 780 apparently healthy cats in rehoming centres (the CatScan study). *Journal of Veterinary Cardiology*, 17 Suppl 1, S244–257. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.03.008>

Pemberton, T. J., Absher, D., Feldman, M. W., Myers, R. M., Rosenberg, N. A., & Li, J. Z. (2012). Genomic patterns of homozygosity in worldwide human populations. *American Journal of Human Genetics*, 91(2), 275–292. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.06.014>

Pinto, Y. M., & Reckman, Y. J. (2018). Formins Emerge as a Cause of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(20), 2468–2470.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.09.026>

Posch, M. G., Waldmuller, S., Müller, M., Scheffold, T., Fournier, D., Andrade-Navarro, M. A., De Geeter, B., Guillaumont, S., Dauphin, C., Yousseff, D., Schmitt, K. R., Perrot, A., Berger, F., Hetzer, R., Bouvagnet, P., & Özcelik, C. (2011). Cardiac Alpha-Myosin (MYH6) Is the Predominant Sarcomeric Disease Gene for Familial Atrial Septal Defects. *PLoS ONE*, 6(12), e28872. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028872>

Purevjav, E. (2019). Animal Models of Cardiomyopathies. In *Animal Models in Medicine and Biology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.89033>

Rafael, J. F., Cruz Filho, F. E. dos S., de Carvalho, A. C. C., Gottlieb, I., Cazelli, J. G., Siciliano, A. P., & Dias, G. M. (2017). Myosin-binding Protein C Compound Heterozygous Variant Effect on the Phenotypic Expression of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 108(4), 354–360. <https://doi.org/10.5935/abc.20170045>

- Ramírez, C. D., & Padrón, R. (2004). Cardiomiopatía Hipertrófica familiar: Genes, mutaciones y modelos animales. Revisión. *Investigación Clínica*, 45(1), 69–100.
- Ribeiro, M., Furtado, M., Martins, S., Carvalho, T., & Carmo-Fonseca, M. (2020). RNA Splicing Defects in Hypertrophic Cardiomyopathy: Implications for Diagnosis and Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1329. <https://doi.org/10.3390/ijms21041329>
- Richard, P., Charron, P., Carrier, L., Ledeuil, C., Cheav, T., Pichereau, C., Benaiche, A., Isnard, R., Dubourg, O., Burban, M., Gueffet, J.-P., Millaire, A., Desnos, M., Schwartz, K., Hainque, B., Komajda, M., & EUROGENE Heart Failure Project. (2003). Hypertrophic cardiomyopathy: Distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation*, 107(17), 2227–2232. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000066323.15244.54>
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., & Rehm, H. L. (2015). Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 17(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Riou, B., Lejay, M., Lecarpentier, Y., & Viars, P. (1995). Myocardial Effects of Propofol in Hamsters with Hypertrophic Cardiomyopathy. *Anesthesiology*, 82(2), 566–573. <https://doi.org/10.1097/00000542-199502000-00027>
- Ripoll Vera, T., Monserrat Iglesias, L., Hermida Prieto, M., Ortiz, M., Rodríguez García, I., Govea Callizo, N., Gómez Navarro, C., Rosell Andreo, J., Gámez Martínez, J. M., Pons Lladó, G., Cremer Luengos, D., & Torres Marqués, J. (2010). The R820W mutation in the MYBPC3 gene, associated with hypertrophic cardiomyopathy in cats, causes hypertrophic cardiomyopathy and left ventricular non-compaction in humans. *International Journal of Cardiology*, 145(2), 405–407. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.04.032>
- Rizzo, S., Carturan, E., De Gaspari, M., Pilichou, K., Thiene, G., & Basso, C. (2019). Update on cardiomyopathies and sudden cardiac death. *Forensic Sciences Research*, 4(3), 202–210. <https://doi.org/10.1080/20961790.2019.1631957>
- Rochelson, E., Nappo, L., & Pass, R. H. (2018). Hypertrophic cardiomyopathy: Ischemia progressing to ventricular fibrillation. *HeartRhythm Case Reports*, 4(9), 386–388. <https://doi.org/10.1016/j.hrcr.2018.03.004>
- Rodríguez-Capitán, J., Fernández-Meseguer, A., Márquez-Camas, P., García-Pinilla, J. M., Calvo-Bonacho, E., García-Margallo, T., Cabrera-Bueno, F., Gómez-Doblas, J. J., Jiménez-Navarro, M. F., & de Teresa-Galván, E. (2021). Prevalencia de la miocardiopatía hipertrófica en una amplia muestra de la población laboral española. *Revista Clínica Española*, 221(6), 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2020.01.014>

Rowin, E. J., Maron, B. J., Olivotto, I., & Maron, M. S. (2017). Role of Exercise Testing in Hypertrophic Cardiomyopathy. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 10(11), 1374–1386. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2017.07.016>

Ruel, P., Hanouz, J. L., Riou, B., Lecarpentier, Y., & Coriat, P. (1996). Myocardial effects of eltanolone in hamsters with hypertrophic cardiomyopathy. *British Journal of Anaesthesia*, 77(5), 653–657. <https://doi.org/10.1093/bja/77.5.653>

Sabater-Molina, M., Pérez-Sánchez, I., Rincón, J. P. H. del, & Gimeno, J. R. (2018). Genetics of hypertrophic cardiomyopathy: A review of current state. *Clinical Genetics*, 93(1), 3–14. <https://doi.org/10.1111/cge.13027>

Sakamoto, A., Ono, K., Abe, M., Jasmin, G., Eki, T., Murakami, Y., Masaki, T., Toyooka, T., & Hanaoka, F. (1997). Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation of the same gene, delta-sarcoglycan, in hamster: An animal model of disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(25), 13873–13878.

Sampedrano, C. C., Chetboul, V., Mary, J., Tissier, R., Abitbol, M., Serres, F., Gouni, V., Thomas, A., & Pouchelon, J.-L. (2009). Prospective Echocardiographic and Tissue Doppler Imaging Screening of a Population of Maine Coon Cats Tested for the A31P Mutation in the Myosin-Binding Protein C Gene: A Specific Analysis of the Heterozygous Status. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(1), 91–99. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0218.x>

Sanbe, A., James, J., Tuzcu, V., Nas, S., Martin, L., Gulick, J., Osinska, H., Sakthivel, S., Klevitsky, R., Ginsburg, K. S., Bers, D. M., Zinman, B., Lakatta, E. G., & Robbins, J. (2005). Transgenic rabbit model for human troponin I-based hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 111(18), 2330–2338. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000164234.24957.75>

Sánchez-Molero Núñez, O. E. (2017). *Muerte súbita natural inexplicada: el valor de la investigación genética post mortem*. [Tesis de Doctorado, Universitat de Girona]. <http://hdl.handle.net/10803/666973>

Santini, L., Palandri, C., Nediani, C., Cerbai, E., & Coppini, R. (2020). Modelling genetic diseases for drug development: Hypertrophic cardiomyopathy. *Pharmacological Research*, 160, 105176. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105176>

Schipper, T., Ohlsson, Å., Longeri, M., Hayward, J. J., Mouttham, M., Ferrari, P., Smets, P., Ljungvall, I., Häggström, J., Stern, J. A., Lyons, L. A., Peelman, L. J., & Broeckx, B. J. G. (2022). The TNNT2:c.95-108G>A variant is common in Maine Coons and shows no association with hypertrophic cardiomyopathy. *Animal Genetics*, 53(4), 526–529. <https://doi.org/10.1111/age.13223>

Schipper, T., Van Poucke, M., Sonck, L., Smets, P., Ducatelle, R., Broeckx, B. J. G., & Peelman, L. J. (2019). A feline orthologue of the human MYH7 c.5647G>A (p.(Glu1883Lys)) variant causes hypertrophic cardiomyopathy in a Domestic Shorthair cat. *European Journal of Human Genetics*. <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0431-4>

Schober, K. E., Fox, P. R., Abbott, J., Côté, E., Luis-Fuentes, V., Matos, J. N., Stern, J. A., Visser, L., Scollan, K. F., Chetboul, V., Schroppe, D., Glaus, T., Santilli, R., Pariaut, R., Stepien, R., Arqued-Soubeyran, V., Toaldo, M. B., Estrada, A., MacDonald, K., ... Rush, J. (2022). Retrospective evaluation of hypertrophic cardiomyopathy in 68 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 36(3), 865–876. <https://doi.org/10.1111/jvim.16402>

Semsarian, C., & Semsarian, C. R. (2020). Variable Penetrance in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(5), 560–562. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.06.023>

Sen-Chowdhry, S., Syrris, P., Ward, D., Asimaki, A., Sevdalis, E., & McKenna, W. J. (2007). Clinical and genetic characterization of families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy provides novel insights into patterns of disease expression. *Circulation*, 115(13), 1710–1720. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.660241>

Serra, W., Vitetta, G., Uliana, V., Barocelli, F., Barili, V., Allegri, I., Ardissino, D., Gualandi, F., & Percesepe, A. (2022). Severe hypertrophic cardiomyopathy in a patient with a homozygous MYH7 gene variant. *Heliyon*, 8(12), e12373. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12373>

Shafaattalab, S., Li, A. Y., Gunawan, M. G., Kim, B., Jayousi, F., Maaref, Y., Song, Z., Weiss, J. N., Solaro, R. J., Qu, Z., & Tibbits, G. F. (2021). Mechanisms of Arrhythmogenicity of Hypertrophic Cardiomyopathy-Associated Troponin T (TNNT2) Variant I79N. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 787581. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.787581>

Sharpe, A. N., Oldach, M. S., Kaplan, J. L., Rivas, V., Kovacs, S. L., Hwee, D. T., Morgan, B. P., Malik, F. I., Harris, S. P., & Stern, J. A. (2023). Pharmacokinetics of a single dose of Aficamten (CK-274) on cardiac contractility in a A31P MYBPC3 hypertrophic cardiomyopathy cat model. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 46(1), 52–61. <https://doi.org/10.1111/jvp.13103>

Sharpe, A. N., Oldach, M. S., Rivas, V. N., Kaplan, J. L., Walker, A. L., Kovacs, S. L., Hwee, D. T., Cremin, P., Morgan, B. P., Malik, F. I., Harris, S. P., & Stern, J. A. (2023). Effects of Aficamten on cardiac contractility in a feline translational model of hypertrophic cardiomyopathy. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26630-z>

Shephard, R., & Semsarian, C. (2009). Role of Animal Models in HCM Research. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 2(4), 471–482. <https://doi.org/10.1007/s12265-009-9120-y>

Sherrid, M. V., Balaram, S., Kim, B., Axel, L., & Swistel, D. G. (2016). The Mitral Valve in Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy: A Test in Context. *Journal of the American College of Cardiology*, 67(15), 1846–1858. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.01.071>

Silverman, S. J., Stern, J. A., & Meurs, K. M. (2012). Hypertrophic cardiomyopathy in the Sphynx cat: A retrospective evaluation of clinical presentation and heritable etiology.

Journal of Feline Medicine and Surgery, 14(4), 246–249.
<https://doi.org/10.1177/1098612X11435040>

Simpson, S., Rutland, P., & Rutland, C. S. (2017). Genomic Insights into Cardiomyopathies: A Comparative Cross-Species Review. *Veterinary Sciences*, 4(1), 19. <https://doi.org/10.3390/vetsci4010019>

Singh, D. P., & Patel, H. (2022). Left Ventricular Non-compaction Cardiomyopathy. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537025/>

Smith, E. D., Lakdawala, N. K., Papoutsidakis, N., Aubert, G., Mazzanti, A., McCanta, A. C., Agarwal, P. P., Arscott, P., Dellefave-Castillo, L. M., Vorovich, E. E., Nutakki, K., Wilsbacher, L. D., Priori, S. G., Jacoby, D. L., McNally, E. M., & Helms, A. S. (2020). Desmoplakin Cardiomyopathy, a Fibrotic and Inflammatory Form of Cardiomyopathy Distinct From Typical Dilated or Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Circulation*, 141(23), 1872–1884.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044934>

Stafford, F., Thomson, K., Butters, A., & Ingles, J. (2021). Hypertrophic Cardiomyopathy: Genetic Testing and Risk Stratification. *Current Cardiology Reports*, 23(2), 9. <https://doi.org/10.1007/s11886-020-01437-4>

Stern, J. A., Markova, S., Ueda, Y., Kim, J. B., Pascoe, P. J., Evanchik, M. J., Green, E. M., & Harris, S. P. (2016). A Small Molecule Inhibitor of Sarcomere Contractility Acutely Relieves Left Ventricular Outflow Tract Obstruction in Feline Hypertrophic Cardiomyopathy. *PLOS ONE*, 11(12), e0168407.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168407>

Stern, J. A., Rivas, V. N., Kaplan, J. L., Ueda, Y., Oldach, M. S., Ontiveros, E. S., Kooiker, K. B., van Dijk, S. J., & Harris, S. P. (2023). Hypertrophic cardiomyopathy in purpose-bred cats with the A31P mutation in cardiac myosin binding protein-C. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36932-5>

Stern, J. A., & Ueda, Y. (2018). Inherited cardiomyopathies in veterinary medicine. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 471(5), 745–753.
<https://doi.org/10.1007/s00424-018-2209-x>

Tadros, R., Francis, C., Xu, X., Vermeer, A. M. C., Harper, A. R., Huurman, R., Kelu Bisabu, K., Walsh, R., Hoorntje, E. T., Te Rijdt, W. P., Buchan, R. J., van Velzen, H. G., van Slegtenhorst, M. A., Vermeulen, J. M., Offerhaus, J. A., Bai, W., de Marvao, A., Lahrouchi, N., Beekman, L., ... Bezzina, C. R. (2021). Shared genetic pathways contribute to risk of hypertrophic and dilated cardiomyopathies with opposite directions of effect. *Nature Genetics*, 53(2), 128–134. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-00762-2>

Tajsharghi, H., Oldfors, A., Macleod, D. P., & Swash, M. (2007). Homozygous mutation in MYH7 in myosin storage myopathy and cardiomyopathy. *Neurology*, 68(12), 962–962.
<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000257131.13438.2c>

Teare, D. (1958). Asymmetrical hipertrophy of the heart in young adults. *British Heart Journal*, 20(1), 1–8.

- Trehieu-Sechi, E., Tissier, R., Gouni, V., Misbach, C., Petit, A. M., Balouka, D., Sampedrano, C. C., Castaignet, M., Pouchelon, J., & Chetboul, V. (2012). Comparative echocardiographic and clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in 5 breeds of cats: A retrospective analysis of 344 cases (2001-2011). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(3), 532–541. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00906.x>
- Turba, M. E., Ferrari, P., Milanesi, R., Gentilini, F., & Longeri, M. (2023). HCM-associated ALMS1 variant: Allele drop-out and frequency in Italian Sphynx cats. *Animal Genetics*. <https://doi.org/10.1111/age.13340>
- Ueda, Y., & Stern, J. A. (2017). A One Health Approach to Hypertrophic Cardiomyopathy. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 90(3), 433–448.
- van Dijk, S. J., Bezold Kooiker, K., Mazzalupo, S., Yang, Y., Kostyukova, A. S., Mustacich, D. J., Hoyer, E. R., Stern, J. A., Kittleson, M. D., & Harris, S. P. (2016). The A31P missense mutation in cardiac myosin binding protein C alters protein structure but does not cause haploinsufficiency. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 601, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.01.006>
- Van Driest, S. L., Ommen, S. R., Tajik, A. J., Gersh, B. J., & Ackerman, M. J. (2005). Yield of Genetic Testing in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Mayo Clinic Proceedings*, 80(6), 739–744. <https://doi.org/10.4065/80.6.739>
- van Spaendonck-Zwarts, K., van Hessem, L., Jongbloed, J., de Walle, H., Capetanaki, Y., van der Kooi, A., van Langen, I., van den Berg, M., & van Tintelen, J. (2011). Desmin-related myopathy. *Clinical Genetics*, 80(4), 354–366. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2010.01512.x>
- Veselka, J., Anavekar, N. S., & Charron, P. (2017). Hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *The Lancet*, 389(10075), 1253–1267. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31321-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31321-6)
- Vikstrom, K. L., Factor, S. M., & Leinwand, L. A. (1996). Mice expressing mutant myosin heavy chains are a model for familial hypertrophic cardiomyopathy. *Molecular Medicine*, 2(5), 556–567.
- Wakeling, M. N., Laver, T. W., Wright, C. F., De Franco, E., Stals, K. L., Patch, A.-M., Hattersley, A. T., Flanagan, S. E., Ellard, S., & DDD Study. (2019). Homozygosity mapping provides supporting evidence of pathogenicity in recessive Mendelian disease. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 21(4), 982–986. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0281-4>
- Walsh, R., Offerhaus, J. A., Tadros, R., & Bezzina, C. R. (2022). Minor hypertrophic cardiomyopathy genes, major insights into the genetics of cardiomyopathies. *Nature Reviews. Cardiology*, 19(3), 151–167. <https://doi.org/10.1038/s41569-021-00608-2>
- Washizu, M., Takemura, N., Machida, N., Nawa, H., Yamamoto, T., Mitake, H., & Washizu, T. (2003). Hypertrophic cardiomyopathy in an aged dog. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 65(6), 753–756. <https://doi.org/10.1292/jvms.65.753>

Wess, G., Schinner, C., Weber, K., Küchenhoff, H., & Hartmann, K. (2010). Association of A31P and A74T polymorphisms in the myosin binding protein C3 gene and hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon and other breed cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(3), 527–532. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0514.x>

Wessels, M. W., Herkert, J. C., Frohn-Mulder, I. M., Dalinghaus, M., van den Wijngaard, A., de Krijger, R. R., Michels, M., de Coo, I. F., Hoedemaekers, Y. M., & Dooijes, D. (2015). Compound heterozygous or homozygous truncating MYBPC3 mutations cause lethal cardiomyopathy with features of noncompaction and septal defects. *European Journal of Human Genetics*, 23(7), 922–928. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.211>

Wilkie, L. J., Smith, K., & Luis Fuentes, V. (2015). Cardiac pathology findings in 252 cats presented for necropsy; a comparison of cats with unexpected death versus other deaths. *Journal of Veterinary Cardiology*, 17, S329–S340. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2015.09.006>

Wooten, E. C., Hebl, V. B., Wolf, M. J., Greytak, S. R., Orr, N. M., Draper, I., Calvino, J. E., Kapur, N. K., Maron, M. S., Kullo, I. J., Ommen, S. R., Bos, J. M., Ackerman, M. J., & Huggins, G. S. (2013). Formin homology 2 domain containing 3 variants associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation. Cardiovascular Genetics*, 6(1), 10–18. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.112.965277>

Wu, G., Liu, J., Ruan, J., Yu, S., Wang, L., Zhao, S., Wang, S., Kang, L., Wang, J., & Song, L. (2022). Deleterious Rare Desmosomal Variants Contribute to Hypertrophic Cardiomyopathy and Are Associated With Distinctive Clinical Features. *The Canadian Journal of Cardiology*, 38(1), 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2021.08.022>

Xue, Y., Ankala, A., Wilcox, W. R., & Hegde, M. R. (2015). Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: Single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genetics in Medicine*, 17(6), 444–451. <https://doi.org/10.1038/gim.2014.122>

Yamada, T., & Nomura, S. (2021). Recent Findings Related to Cardiomyopathy and Genetics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12522. <https://doi.org/10.3390/ijms222212522>

You, H., & Dong, M. (2023). Prediction of diagnostic gene biomarkers for hypertrophic cardiomyopathy by integrated machine learning. *The Journal of International Medical Research*, 51(11), 3000605231213781. <https://doi.org/10.1177/03000605231213781>

Zahka, K., Kalidas, K., Simpson, M. A., Cross, H., Keller, B. B., Galambos, C., Gurtz, K., Patton, M. A., & Crosby, A. H. (2008). Homozygous mutation of MYBPC3 associated with severe infantile hypertrophic cardiomyopathy at high frequency among the Amish. *Heart (British Cardiac Society)*, 94(10), 1326–1330. <https://doi.org/10.1136/hrt.2007.127241>

Zhang, K., Cloonan, P. E., Sundaram, S., Liu, F., Das, S. L., Ewoldt, J. K., Bays, J. L., Tomp, S., Toepfer, C. N., Marsiglia, J. D. C., Gorham, J., Reichart, D., Eyckmans, J., Seidman, J. G., Seidman, C. E., & Chen, C. S. (2021). Plakophilin-2 truncating variants impair cardiac contractility by disrupting sarcomere stability and organization. *Science Advances*, 7(42), eabh3995. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abh3995>

ANEXO

Tabla 23. Listado de gatos seleccionados para la secuenciación masiva del panel de genes. NC: no conocido

ID	Fenotipo	Raza	Sexo	Edad diagnóstico
C1	Control	Persa	Hembra	5
C2	Control	Persa	Macho	7
C3	Control	Común Europeo	Hembra	4
C4	Control	Devon Rex	Hembra	2
C5	Control	Maine Coon	Hembra	3
C6	MCH	Persa	Hembra	8
C7	Control	Maine Coon	Hembra	3
C8	Control	Común Europeo	Macho	1
C9	Control	Bosques de Noruega	Macho	2
C12	MCH	NC	NC	NC
C13	MCH	Persa	Macho	7
C14	MCH	Común Europeo	Macho	4
C15	MCH	Mezcla de Angora	Hembra	14
C19	MCH	Común Europeo	Macho	1
C20	MCH	Sphynx	Macho	1
C21	MCH	Persa	Macho	9
C23	Control	Bengalí	Macho	2
C24	Control	Común Europeo	Macho	1
C25	MCH	Cartujo	Macho	6
C26	MCH	Común Europeo	Hembra	12
C27	MCH	Sphynx	Macho	NC
C30	Control	Común Europeo	Hembra	3
C32	MCH	Común Europeo	Macho	1
C34	MCH	Persa	Macho	4
C37	MCH	Sphynx	Hembra	4
C40	MCH	Sphynx	Hembra	6
C48	Control	Ragdoll	Macho	4
C51	MCH	Común Europeo	Macho	12
C52	MCH	Persa	Macho	2
C53	MCH	Común Europeo	Macho	6
C55	Control	Ragdoll	Hembra	1
C58	MCH	Común Europeo	Macho	5
C60	MCH	Persa	Macho	4
C61	MCH	Ragdoll	Hembra	8
C62	MCH	Común Europeo	Macho	3
C65	MCH	Scottish Fold	Macho	2
C66	MCH	British Sorthair	Macho	2
C67	MCH	Común Europeo	Macho	11
C72	MCH	Común Europeo	Macho	5
C73	MCH	Persa	Hembra	14
C76	MCH	Común Europeo	Macho	14
C78	MCH	Persa	Hembra	14
C83	MCH	Común Europeo	Hembra	9
C84	MCH	Común Europeo	Macho	5
C89	MCH	Común Europeo	Hembra	7
C90	MCH	Persa	Macho	2,5
C91	MCH	Persa	Macho	11
C94	MCH	Ragdoll	Hembra	5

Tabla 24. Número variantes identificadas en cada individuo en el análisis a través de NGS.

ID	Variantes				Sin		Frameshift
	Totales	Intrónicas	Sinónimas	Missense	Splicing	sentido	
C1	496	395	60	4	20	0	0
C12	563	429	76	12	19	0	1
C13	456	365	50	6	14	0	1
C14	507	409	64	14	22	0	1
C15	3638	3441	65	11	17	0	1
C19	477	381	60	11	22	0	1
C2	792	645	62	16	27	0	0
C20	354	271	57	15	17	0	0
C21	524	391	66	15	20	0	1
C23	3326	3145	47	8	18	0	1
C24	580	458	67	10	20	0	0
C25	670	552	66	6	20	0	0
C26	355	271	62	13	21	0	1
C27	3481	3282	63	10	14	0	1
C3	490	391	53	12	17	0	1
C30	3048	2876	52	7	17	0	0
C32	3895	3637	69	19	20	0	5
C34	3469	3249	63	9	20	0	5
C37	3357	3117	68	11	18	0	3
C4	2389	2214	64	13	19	0	1
C40	2892	2687	62	15	13	0	0
C48	3450	3245	67	17	20	0	3
C5	591	466	62	9	25	0	1
C51	3618	3418	55	9	18	0	1
C52	3262	3048	64	11	22	0	0
C53	4566	4317	77	14	23	0	1
C55	2709	2511	65	14	18	0	5
C58	4535	4267	75	21	26	0	1
C6	561	452	62	10	20	0	1
C60	3133	2938	63	8	19	0	1
C61	3320	3129	55	8	17	0	1
C62	2690	2474	57	9	18	0	0
C65	3646	3463	57	12	18	0	5
C66	3981	3736	70	17	23	0	1
C67	3945	3740	64	13	15	0	1
C7	586	466	62	10	20	0	1
C72	4074	3817	72	11	20	0	1
C73	3397	3168	70	13	20	0	0
C76	4147	3921	60	18	20	0	1
C78	2464	2317	57	6	18	0	1
C8	3095	2903	59	11	13	0	1
C83	3605	3378	62	13	19	0	0
C84	3609	3378	80	15	21	0	1
C89	3740	3513	74	11	22	0	5
C9	562	436	65	9	21	0	1
C90	3417	3199	64	14	20	0	1
C91	3664	3426	71	13	19	0	5
C94	4553	4265	79	17	27	0	5

Tabla 25. Selección de gatos para ampliar el estudio usando secuenciación Sanger.
NC: no conocido.

ID	Fenotipo	Raza	Sexo	Edad diagnóstico
C10	MCH	Persa	Macho	7
C11	Control	Común Europeo	Hembra	4
C16	Control	Persa	Macho	1
C17	MCH	Sphynx	Macho	1
C18	MCH	Persa	Hembra	6
C22	Control	Bengalí	Macho	4
C28	MCH	Común Europeo	Macho	4
C29	Control	Común Europeo	Macho	3
C31	Control	Común Europeo	Macho	3
C33	Control	Persa	Macho	12
C35	Control	Común Europeo	Hembra	7
C36	Control	Persa	Hembra	4
C38	Control	Sphynx	Hembra	3
C39	Control	Sphynx	Macho	3
C41	MCH	Común Europeo	Macho	11
C42	MCH	Común Europeo	Hembra	1
C43	Control	Devon Rex	Hembra	2
C44	Control	Común Europeo	Hembra	2
C45	MCH	Común Europeo	Macho	2,5
C46	MCH	Sphynx	Macho	2
C47	Control	Sphynx	Macho	2
C49	Control	Persa	Hembra	4
C50	Control	Persa	Macho	3
C54	Control	Persa	Hembra	9
C56	MCH	NC	NC	NC
C57	MCH	NC	NC	NC
C59	MCH	Común Europeo	Macho	4
C63	Control	Bengalí	Macho	2
C64	MCH	Sphynx	Macho	7
C68	Control	Maine Coon	Macho	5
C69	MCH	Ragdoll	Hembra	4
C70	MCH	Sphynx	Macho	3
C71	MCH	Persa	Hembra	5
C74	MCH	Común Europeo	Macho	13
C75	MCH	Bosques de Noruega	Macho	14
C77	MCH	Común Europeo	Hembra	5
C79	MCH	Maine Coon	Macho	4
C80	MCH	Maine Coon	Hembra	4
C81	Control	Común Europeo	Macho	15
C82	Control	Común Europeo	Hembra	14
C85	Control	Común Europep	Macho	9
C86	Control	Común Europeo	Macho	5
C87	MCH	Común Europeo	Macho	9

C88	Control	Maine Coon	Macho	7
C92	MCH	Sphynx	Hembra	3
C93	MCH	Persa	Hembra	15
C95	MCH	Sphynx	Macho	7
C96	Control	Común Europeo	Macho	8
C97	Control	Común Europeo	Macho	8
C98	Control	Persa	Hembra	9
C99	MCH	Común Europeo	Macho	5
C100	MCH	Persa	Macho	14
C101	Control	Común Europeo	Hembra	14
C102	Control	Común Europeo	Macho	4
C103	Control	Común Europeo	Macho	15
C104	Control	Común Europeo	Macho	6
C105	Control	Común Europeo	Hembra	9
C106	MCH	British Sorthair	Macho	9
C107	MCH	Común Europeo	Hembra	5
C108	MCH	Sphynx	Hembra	9
C109	MCH	Común Europeo	Macho	14
C110	MCH	Persa	Macho	10
C111	MCH	Sphynx	Hembra	6
C112	Control	Sphynx	Hembra	3
C113	MCH	Sphynx	Macho	2
C114	Control	Sphynx	Hembra	2
C115	MCH	Persa	Hembra	1
C116	Control	Asiático	Macho	2
C117	Control	Exótico	Hembra	1
C118	MCH	Sphynx	Hembra	3
C119	Control	Sphynx	Hembra	2
C120	Control	Exótico	Hembra	2
C121	Control	Exótico	Macho	1
C122	Control	Exótico	Hembra	1
C123	Control	Exótico	Hembra	2
C124	MCH	Común Europeo	Hembra	8
C125	MCH	Exótico	Macho	3
C126	MCH	Sphynx	Macho	4
C127	NC	Sphynx	Macho	2
C128	Control	British Sorthair	Macho	3
C129	MCH	Común Europeo	Hembra	11
C130	MCH	Común Europeo	Macho	12
C131	Control	Bengalí	Macho	3
C132	Control	Sphynx	Hembra	2
C133	MCH	Común Europeo	Macho	11
C134	Control	Persa	Hembra	3

Tabla 26. Variantes en MYBPC3 y en MYH7 no seleccionadas y su aparición en la población genotipada por NGS.

Gen	Posición	Variante	Descrita	MAF *	Controles (n=13)	Afectados (n=35)
MYBPC3	D1:101326660	p.Ala1037Thr	rs3166775115	0.420	12	33
MYBPC3	D1:101327831	p.Pro922Leu	rs3166774572	0.329	11	33
MYBPC3	D1:101338030	p.Val258Ile	rs3166773945	0.230	7	28
MYBPC3	D1:101340643	p.Ala74Thr	rs3166774253	0.230	8	28
MYBPC3	D1:101331511	c.1922-3dup	-	-	11	28
MYBPC3	D1:101334568	c.1618+2_1618+10del	-	-	1	0
MYH7	B3:76181018	c.1408-4A>G	-	-	3	21

*Frecuencia alélica menor calculada en una población de 26 gatos con MCH de diferentes razas (proyecto PRJEB30318)

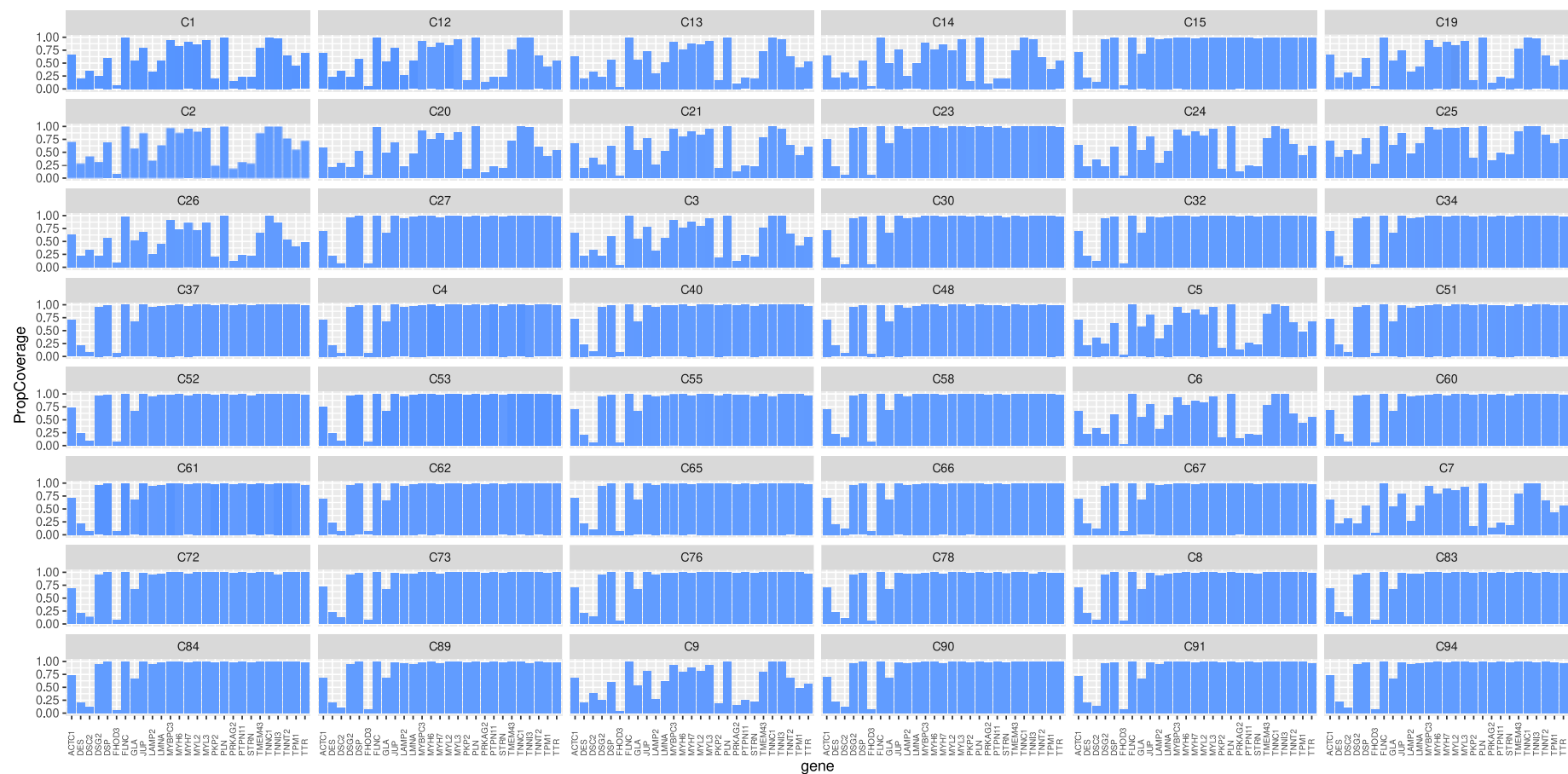


Figura 52. Amplitud de cobertura por gen y muestra.

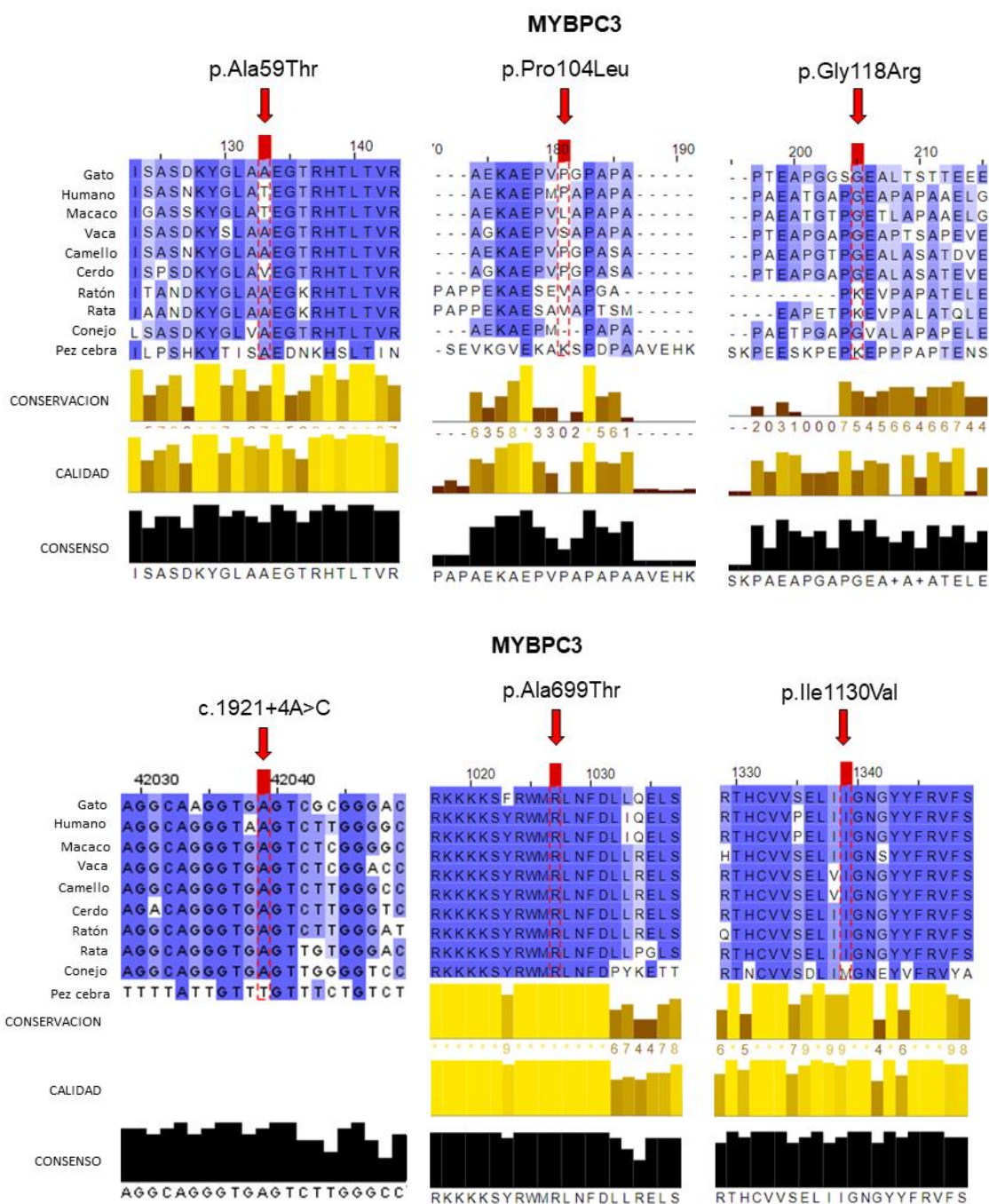


Figura 53. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del nucleótido alterado por la variante c.1921A>C.

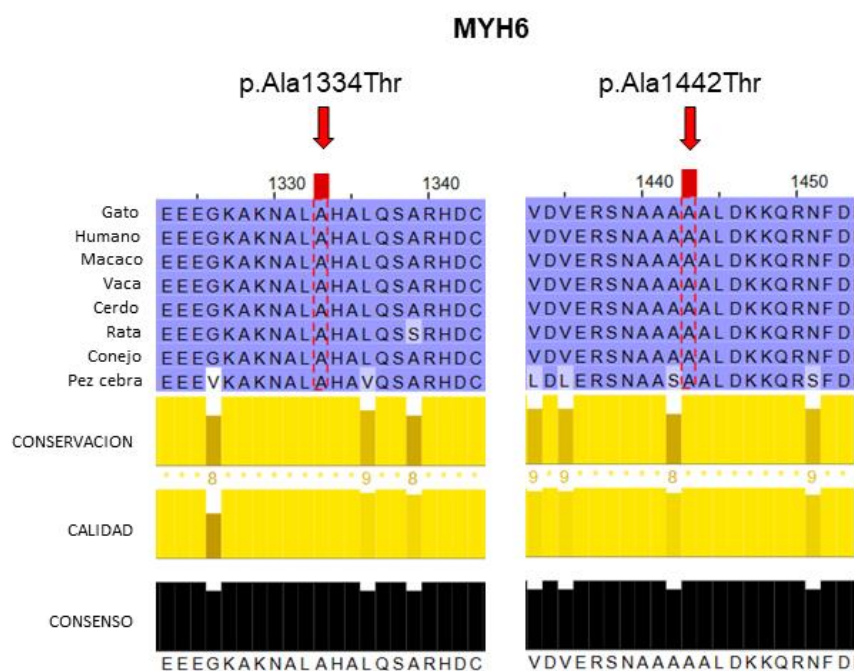


Figura 54. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Ala1334Thr y p.Ala1442Thr.

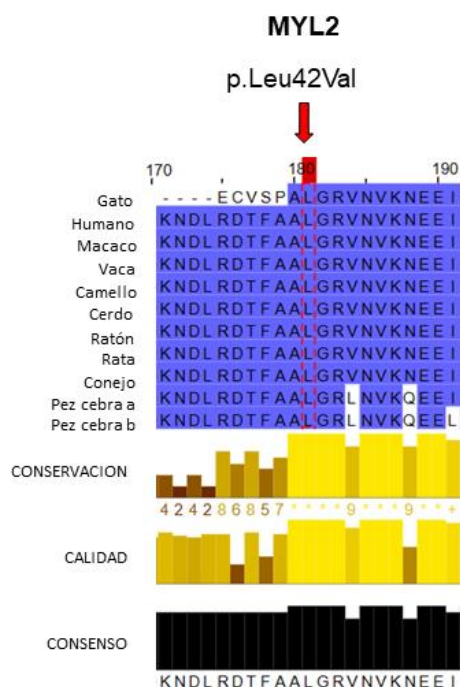


Figura 55. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Leu42Val.

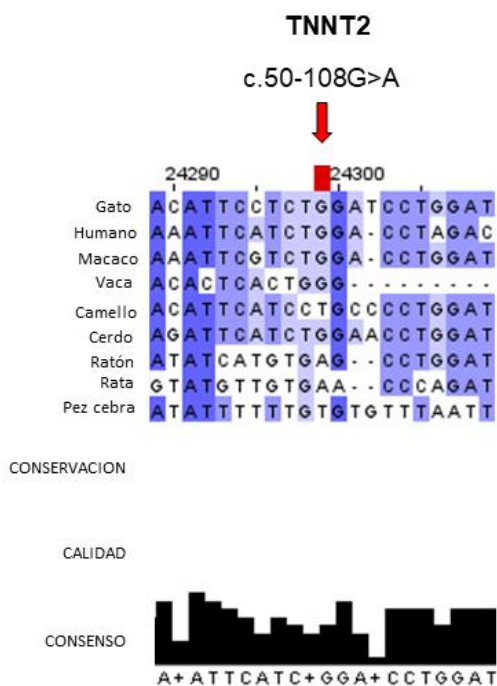


Figura 56. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de la base alterada en la variante c.50-108G>A.

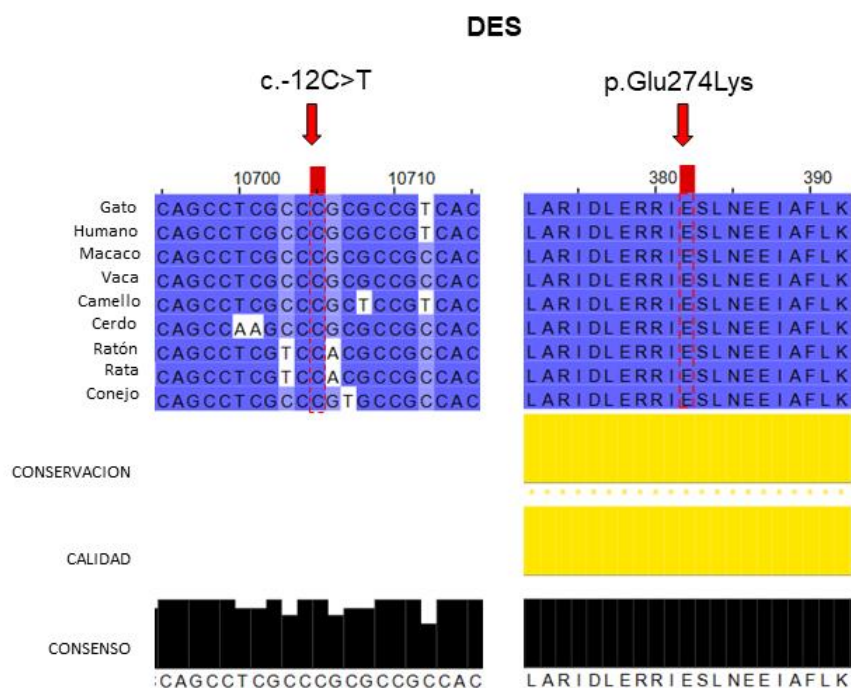


Figura 57. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de la base y el aminoácido alterado en las variantes c.-12C>T y p.Glu274Lys.

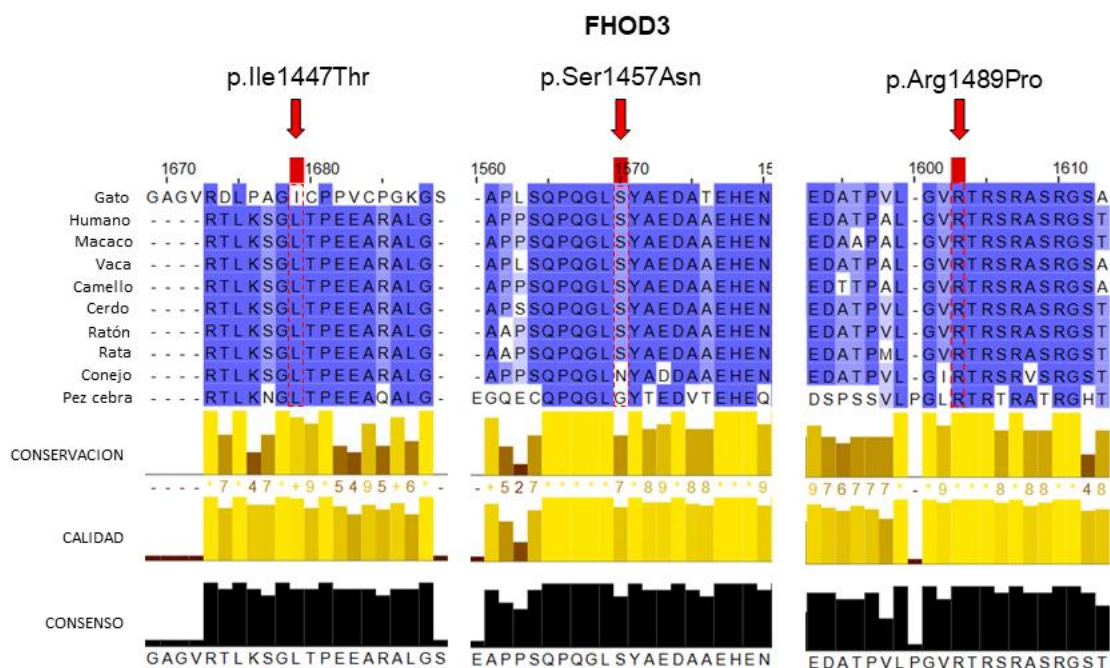


Figura 58. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Ile1447Thr, p.Ser1457Asn y p.Arg1489Pro.

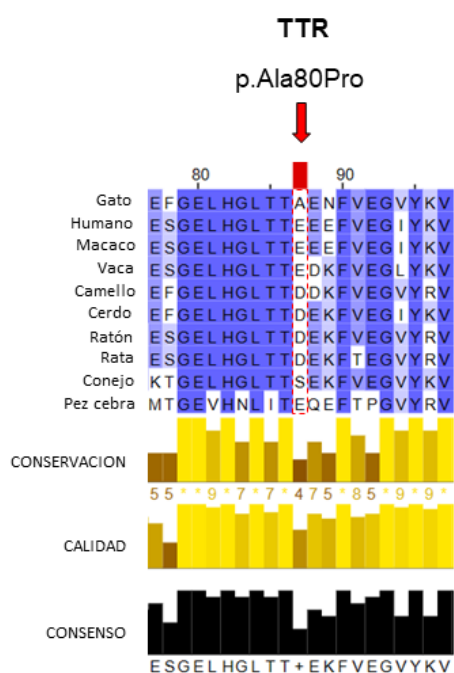


Figura 59. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Ala80Pro.

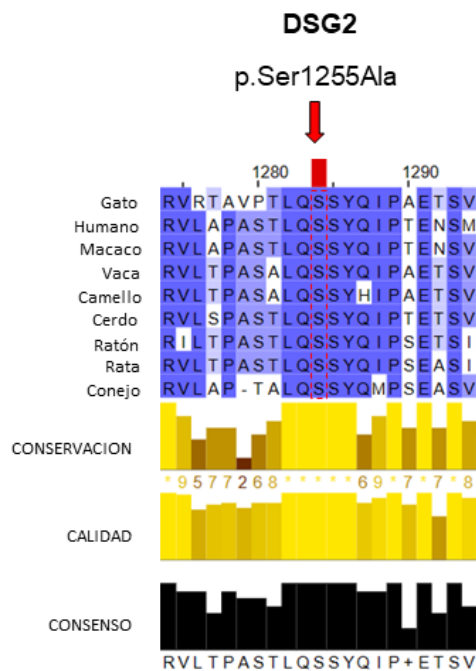


Figura 60. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Ser1255Ala.

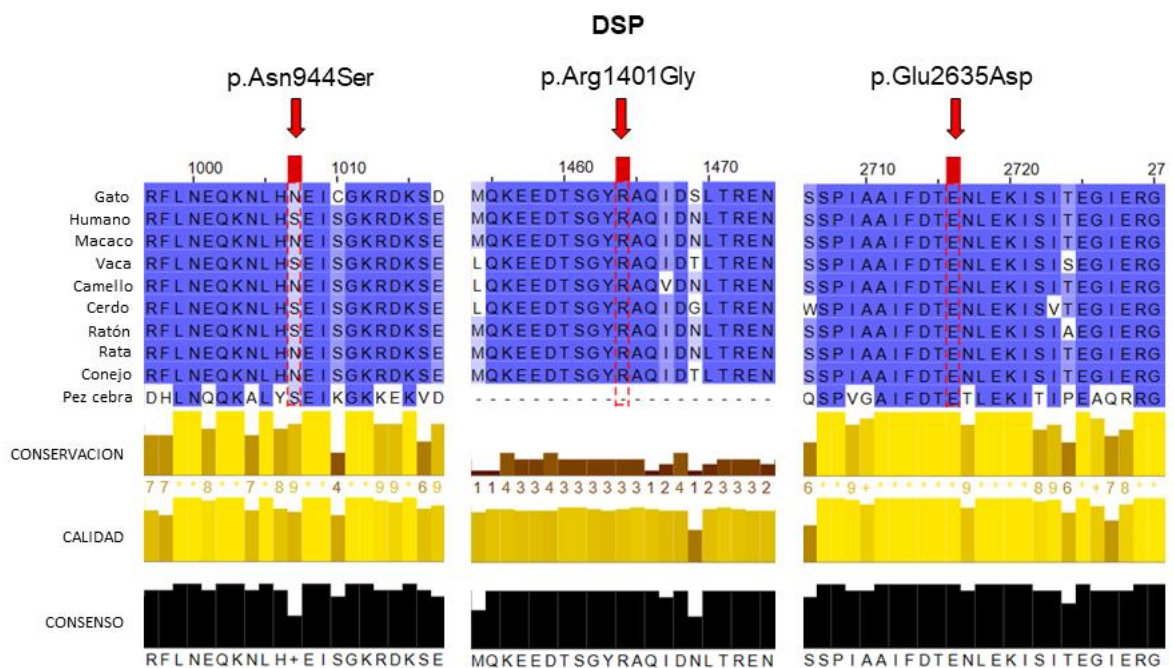


Figura 61. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Asn944Ser, p.Arg1401Gly y p.Glu2635Asp.

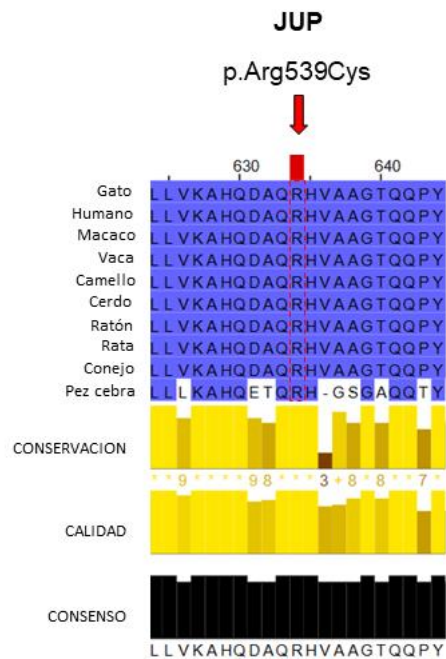


Figura 62. Alineamiento que muestra la conservación entre especies del aminoácido alterado por la variante p.Arg539Cys.

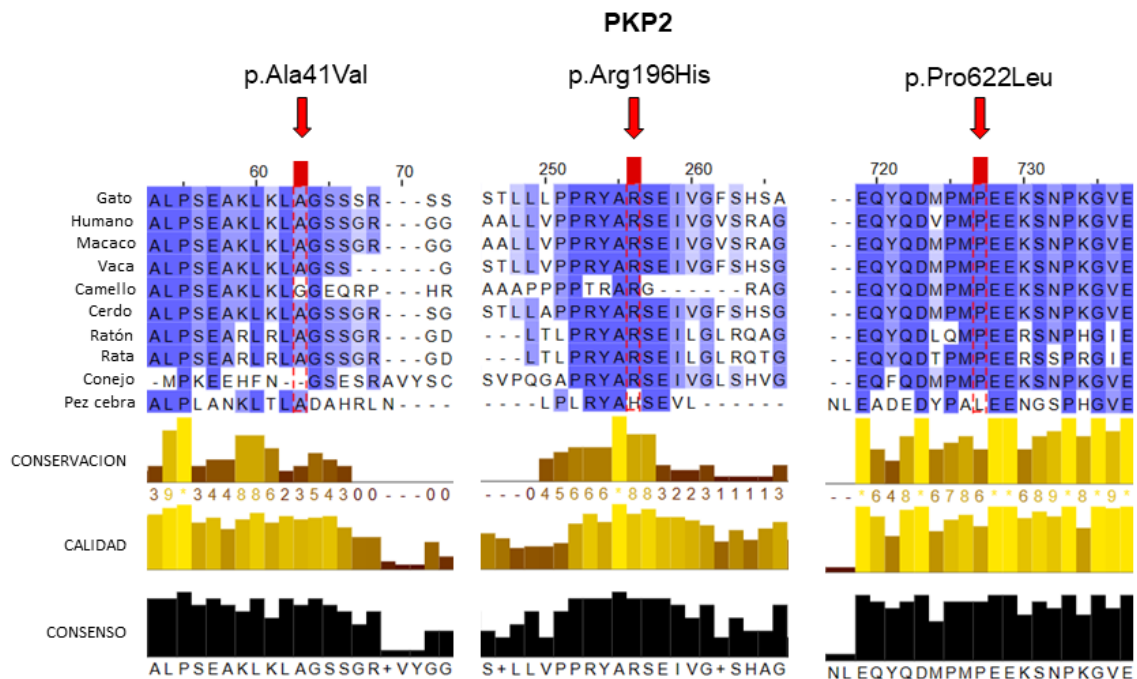


Figura 63. Alineamiento que muestra la conservación entre especies de los aminoácidos alterados por los cambios provocados por las variantes p.Ala41Val, p.Arg196His y p.Pro622Leu.

Tabla 27. Variantes en homocigosis de los gatos evaluados por secuenciación masiva.

ID	Fenotipo	Raza	Sexo	Nº Variantes		Homocigosis (%)
				Totales	Totales en homocigosis	
C23	Control	Bengalí	Macho	964	226	0.02
C9	Control	B. Noruega	Macho	3835	1242	0.30
C66	MCH	British Shorthair	Macho	3385	974	0.10
C25	MCH	Cartujo	Macho	755	220	0.03
C14	MCH	C. Europeo	Macho	2516	1301	0.36
C19	MCH	C. Europeo	Macho	1057	262	0.07
C26	MCH	C. Europeo	Hembra	3779	1529	0.39
C32	MCH	C. Europeo	Macho	3436	1154	0.12
C51	MCH	C. Europeo	Macho	3599	869	0.09
C72	MCH	C. Europeo	Macho	4130	1648	0.17
C24	Control	C. Europeo	Macho	763	186	0.05
C76	MCH	C. Europeo	Macho	4203	942	0.10
C83	MCH	C. Europeo	Hembra	2546	2116	0.22
C84	MCH	C. Europeo	Macho	3728	1647	0.17
C3	Control	C. Europeo	Hembra	458	207	0.06
C30	Control	C. Europeo	Hembra	856	290	0.03
C89	MCH	C. Europeo	Macho	3700	1155	0.12
C94	MCH	C. Europeo	Hembra	4694	1248	0.13
C8	Control	C. Europeo	Macho	4261	1312	0.14
C53	MCH	C. europeo	Macho	3032	1072	0.11
C58	MCH	C. europeo	Macho	3736	1115	0.11
C62	MCH	C. europeo	Macho	4680	1611	0.17
C67	MCH	C. europeo	Macho	2782	1463	0.15
C4	Control	Devon Rex	Hembra	490	115	0.01
C5	Control	Maine Coon	Hembra	4056	1274	0.32
C7	Control	Maine Coon	Hembra	3766	1250	0.35
C15	MCH	M. Angora	Hembra	1042	308	0.03
C1	Control	Persa	Hembra	844	282	0.07
C2	Control	Persa	Macho	924	257	0.03
C13	MCH	Persa	Macho	790	297	0.08
C21	MCH	Persa	Macho	1018	198	0.05
C34	MCH	Persa	Macho	917	224	0.02
C52	MCH	Persa	Macho	3487	759	0.08
C6	MCH	Persa	Hembra	3418	1096	0.28
C60	MCH	Persa	Macho	4743	1393	0.15
C73	MCH	Persa	Hembra	4072	1141	0.12
C78	MCH	Persa	Hembra	3532	1910	0.20
C90	MCH	Persa	Macho	3575	1099	0.11
C91	MCH	Persa	Macho	3783	1161	0.12
C48	Control	Ragdoll	Macho	3134	571	0.06
C55	Control	Ragdoll	Hembra	3537	943	0.10
C61	MCH	Ragdoll	Hembra	2800	1074	0.11
C65	MCH	Scottish Fold	Macho	3267	1278	0.13
C20	MCH	Sphynx	Macho	3172	1120	0.30
C27	MCH	Sphynx	Macho	716	208	0.02
C37	MCH	Sphynx	Hembra	3199	1068	0.11
C40	MCH	Sphynx	Hembra	3619	1078	0.11
C12	MCH	NC	NC	1525	469	0.12

Tabla 28. Criterios para la clasificación habitual de las variantes genómicas según su patogenicidad siguiendo las guías de interpretación de variantes.

Criterios para ser patogénica		
Evidencia	Categoría	
Muy grave	PVS1	Variantes “nulas”: (<i>nonsense</i> , <i>frameshift</i> , regiones canónicas +/- 1-2 sitios de <i>splicing</i> , codones de iniciación, deleciones) en un gen donde se conoce que existe pérdida de función como mecanismo patogénico
Grave	PS1	Cambio de aminoácido igual que una variante patógena previamente establecida
	PS2	Aparición <i>de novo</i> en un paciente con la enfermedad sin antecedentes familiares
	PS3	Evidencia bien establecida mediante estudios funcionales (<i>in vitro</i> o <i>in vivo</i>) de un efecto perjudicial en el producto del gen
	PS4	La prevalencia de la variante en los individuos afectados es significativamente mayor en comparación con la prevalencia en los controles (OR > 5)
Moderada	PM1	Situado en un punto caliente (hot spot) mutacional y/o dominio funcional crítico y bien establecido sin variación benigna
	PM2	Ausente en controles (o una frecuencia extremadamente baja si es recesivo) en Exome Variant Server, 1000 Genomes o EXAC.
	PM3	Para los trastornos recesivos, detectados en trans con una variante patógena
	PM4	Cambios en la longitud de proteínas a causa de deleciones/inserciones en el marco de lectura en una región sin repeticiones o variantes “ <i>stop-loss</i> ”
	PM5	Nuevo cambio <i>missense</i> en un aminoácido, donde se ha descrito otro cambio <i>missense</i> patogénico
	PM6	Asumido como <i>de novo</i> , pero sin confirmación de la paternidad y maternidad
Adicional	PP1	Cosegregación de la variante con la enfermedad en varios miembros de la familia afectados en un gen conocido que definitivamente causa la enfermedad
	PP2	<i>Missense</i> en un gen que tiene una baja tasa de variación <i>missense</i> benigna y en el que las variantes <i>missense</i> son un mecanismo común de la enfermedad
	PP3	Múltiples líneas de evidencias bioinformáticas apoyan un efecto perjudicial sobre el gen o el producto génico
	PP4	El fenotipo es altamente específico para una enfermedad con una única etiología genética
	PP5	Una publicación u otra fuente de confianza informa recientemente que la variante es patogénica
Criterios para ser benigna		
Definitiva	BA1	La frecuencia alélica es > 5% en bases de datos poblacionales
Fuerte	BS1	La frecuencia del alelo es mayor de lo esperado para la enfermedad
	BS2	Observado en individuos adultos sanos para un trastorno recesivo (homocigotos), dominante (heterocigoto), o trastorno ligado al cromosoma X (hemocigoto) con penetrancia completa esperada a una edad temprana
	BS3	Estudios funcionales bien establecidos <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i> no muestran ningún efecto perjudicial
	BS4	Falta de cosegregación en los miembros afectados de una familia
Adicional	BP1	Variante <i>missense</i> en un gen para el que se conocen variantes que principalmente truncan la proteína
	BP2	Observado en trans con una variante patógena de un gen dominante/trastorno totalmente penetrante u observado en cis con una variante patógena en cualquier patrón de herencia

BP3	Deleciones o inserciones que rompen el marco de lectura en una región repetitiva sin una función conocida
BP4	Múltiples líneas de evidencia bioinformáticas sugieren que la variante no tiene ningún impacto en el gen o producto génico
BP5	Variante encontrada en un caso con una base molecular alternativa para la enfermedad
BP6	Una publicación fiable o una fuente de confianza informa recientemente de que se trata de una variante benigna, pero la evidencia no está disponible para el laboratorio para llevar a cabo una evaluación independiente
BP7	Una variante sinónima para la que los algoritmos de predicción de <i>splicing</i> no predicen ningún impacto ni la creación de un nuevo sitio de <i>splicing</i> y el nucleótido no conservado
