

UIVERSIDAD DE MURCIA

DEPATAMENTO DE MEDICINA INTERNA

Moduladores Genéticos y Ambientales en la
MCH

Dña. Inmaculada Pérez Sánchez

2015

ÍNDICE	3
ABREVIATURAS	6
LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	11
1. Miocardiopatía Hipertrófica: Aspectos generales, diagnóstico y tratamiento	13
1.1 Introducción histórica	13
1.2. Definición de la enfermedad	14
1.3 Presentación clínica y diagnóstico de la MCH	15
○ 1.3.1. Clasificación morfológica	17
○ 1.3.2. Criterios diagnósticos	18
1.4 Evolución e la enfermedad: Pronóstico de la MCH	21
1.5. Tratamiento	22
2. Estructura y funcionamiento del sarcómero cardiaco	23
3. Histología de la MCH y significado clínico	26
4. Fisiopatología molecular de la MCH	27
5. Genética de la MCH	32
5.1. Tipos de mutaciones	36
5.2. Relación genotipo-fenotipo en la MCH	36
6. Efecto de los moduladores sobre el fenotipo de la MCH	38
6.1 Moduladores ambientales	38
6.2. Efecto del sexo, deporte e hipertensión arterial	38
6.3. Polimorfismos genéticos	39
6.3.1. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	40

6.3.2. ADN mitocondrial	43
o 6.3.2.1. Haplogrupos de ADN mitocondrial	45
CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	49
CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS	53
1. Población de estudio	55
1.1 Características clínicas	55
1.2 Diagnóstico genético	55
1.3. Evaluación clínica y principales variables estudiadas	58
1.4. Estudio de los moduladores ambientales: sexo, hipertensión y deporte	60
1.5. Moduladores genéticos. Diseño del estudio	61
o 1.5.1. Polimorfismos del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA)	61
o 1.5.2. ADN mitocondrial	63
2. Extracción de ADN genómico y mitocondrial	63
3. Determinación de pureza y concentración	64
4. Amplificación por PCR	65
5. Electroforesis en gel de agarosa	68
6. Técnica RFLP	69
6.1. Enzimas de restricción y patrones de corte	71
7. Secuenciación automática	71
7.1. Purificación de productos de PCR	72
7.2. Reacción de secuenciación	73
8. Determinación de haplogrupos mitocondriales	75
8.1. Frecuencia de los polimorfismos	77
9. Análisis estadístico	78
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	81
1. Características principales de la población de estudio	83
2. Moduladores ambientales	85
2.1. Descriptivos y asociaciones bivariadas	85
o 2.1.1. Características de los pacientes según sexo	85

o 2.1.2. Características según presencia de hipertensión	94
o 2.1.3. Características según la actividad física	96
2.2. Análisis multivariante	100
3. Moduladores genéticos	101
3.1. Descriptivos y asociaciones bivariadas	101
o 3.1.1. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	101
o 3.1.2. Haplogrupos mitocondriales	110
3.2. Análisis multivariado •	122
o 3.2.1. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	123
o 3.2.2. Haplogrupos mitocondriales	125
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	129
1. Discusión objetivo 1	131
2. Discusión objetivo 2	134
3. Discusión objetivo 3	139
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	145
Bibliografía	149

ABREVIATURAS

ATP	Adenosín trifosfato
ACV	Accidente cerebrovascular
C	Citosina
Ca ²⁺	Calcio
CMA1	Quimasa A cardiaca
CYP11B2	Aldolasa sintasa
DAI	Desfibrilador automático implantable
DE	Desviación estándar
DTDV	Diámetro teliastólico del ventrículo izquierdo
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
ECG	Electrocardiograma
EDTA	Sal disódica del ácido etileno-diaminotetracetato
FA	Fibrilación auricular
FAc	Fracción de acortamiento
FEVI	Fracción de eyección del VI
GRHVI	Grosor de la hipertrofia del ventrículo izquierdo
IGRHVI	Grosor indexado de la hipertrofia del ventrículo izquierdo
G	Guanina
HFMS	Historia Familiar de Muerte Súbita
HTA	Hipertensión arterial
HVI	Hipertrofia ventricular izquierda
M	Molar
MAV	Miocardopatía Arritmogénica del Ventrículo Derecho
MD	Miocardopatía Dilatada
MCH	Miocardopatía Hipertrofica
	Miocardopatía No Compactada del Ventrículo Izquierdo
MCNC	
MCR	Miocardopatía Restrictiva
MI	Mililitro
mm	Milímetro
MS	Muerte súbita
MYBPC3	Proteína C de unión a miosina
MYH7	Cadena pesada de la β -miosina cardiaca
MYL2	Cadena ligera reguladora de la miosina
MYL	Cadena ligera esencial de la miosina
NYHA	New York Heart Association
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
RPA	Respuesta presora anormal
RFLP	Polimorfismos de la longitud de los fragmentos de

	restricción
SN	Polimorfismo de un solo nucleótido
SRA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
T	Timina
TBE	Tris-bórico-EDTA
TNNT1	Troponina C cardiaca
TNNT2	Troponina T cardiaca
TNNT3	Troponina I cardiaca
TPM1	α -Tropomiosina
TTN	Titina
TVNS	Taquicardia ventricular no sostenida
VI	Ventrículo izquierdo
μ l	Microlitro
μ M	Micromolar

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Genes implicados en la miocardiopatía hipertrófica

Tabla 2. Causas de hipertrofia del VI que comparten aspectos clínicos con la MCH

Tabla 3. Frecuencia de las mutaciones en la población de estudio

Tabla 4. Resumen de los genes del SRAA estudiados

Tabla 5. Reacción de PCR

Tabla 6. Oligonucleótidos empleados para amplificar los polimorfismos del SRAA

Tabla 7. Oligonucleótidos empleados para amplificar los polimorfismos del ADNmt

Tabla 8. Resumen de los patrones de corte para la detección de cada polimorfismo puntual

Tabla 9. Reacción de secuenciación

Tabla 10. Principales características de la población de estudio

Tabla 11. Comparativa de variables clínicas según sexo

Tabla 12. Comparativa de variables clínicas según hipertensión

Tabla 13. Comparativa de variables clínicas según ejercicio físico

Tabla 14. Principales características clínicas de los pacientes que realizan ejercicio intenso

Tabla 15. Análisis de regresión de Cox

Tabla 16. Características clínicas de los pacientes comparando polimorfismos pro-HVI del SRAA

Tabla 17. Características clínicas de los pacientes comparando los distintos haplogrupos

Tabla 18. Distribución de los haplogrupos en controles y pacientes portadores afectados

Tabla 19. Estudios previos de correlación entre variables clínicas y polimorfismos del SRAA

Tabla 20. Estudios previos de correlación entre variables clínicas y haplogrupos mitocondriales

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación propuesta sobre Miocardiopatías y Enfermedades del Pericardio.

Figura 2. Representación esquemática de los patrones de distribución de la HVI más frecuentes.

Figura 3. Patrones de hipertrofia y la probabilidad pretest de estudio genético positivo según el subtipo anatómico.

Figura 4. Electrocardiograma e imagen ecocardiográfica en la MCH.

Figura 5. Organización del sarcómero cardiaco.

Figura 6. Interacción actina-miosina.

Figura 7. Muestras anatómo-patológicas de un paciente con MCH.

Figura 8. Modelo convencional para hipocontractilidad

Figura 9. Representación esquemática del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona intracelular cardíaco

Figura 10. Variantes usadas para la definición de los haplogrupos

Figura 11. Diagrama de flujo

Figura 12. Maxwell 16 System

Figura 13. Nano drop

Figura 14. Reacción enzimática para la purificación del producto de PCR.

Figura 15. ABI 3130. Detalle del circuito del polímero

Figura 16. Esquema de la estrategia de determinación del genotipo mitocondrial

Figura 17. Penetrancia de la enfermedad en portadores de mutaciones en MYBPC3 y MYH7.

Figura 18. Curvas de supervivencia hasta el evento.

Figura 19. Supervivencia hasta Muerte Súbita.

Figura 20. Resultados de digestión (SRAA).

Figura 21. Resultados de digestión (ADNmt).

Figura 22. Distribución de haplogrupos en controles y pacientes con MCH

Figura 23. Distribución de cluster de haplogrupos en controles y pacientes con MCH

INTRODUCCIÓN

1. Miocardiopatía Hipertrófica: Aspectos generales, diagnóstico y tratamiento

1.1. Introducción histórica

La Miocardiopatía Hipertrófica (MCH) fue inicialmente descrita por *Teare*, un anatomopatólogo del hospital St. George de Londres en 1958, que describió una hipertrofia asimétrica del tabique interventricular en ocho pacientes de entre 14 y 44 años de edad(1). Aunque es reconocida como una cita clásica, las observaciones de *Teare* no fueron la primera descripción histórica de la MCH. Las referencias a la MS cardíaca se encuentran ya en los *Aforismos de Hipócrates*, de 2400 años de antigüedad (1;2) y existen diversas descripciones previas de corazones dilatados, con aumento de la masa muscular, obstrucción del flujo sanguíneo del ventrículo izquierdo (VI) hacia la aorta, hipertrofia, alteraciones degenerativas y fibrosis (3). Sin embargo, el logro de *Teare* a diferencia de sus predecesores, fue mostrar en una sola comunicación la mayoría de las características clave de la enfermedad. Los síntomas ante-mortem en los casos descritos consistían en dolor torácico, palpitaciones, síncope y disnea de esfuerzo. Se documentaron los signos electrocardiográficos de inversión de la onda T y aparición de ondas Q patológicas. Siete de los ocho pacientes fallecieron de forma súbita. Tres de los pacientes presentaron fibrilación auricular (FA), uno de los cuales sufrió una embolia cerebral a la edad de 19 años. Así pues, en una serie de 8 casos, *Teare* pudo poner de relieve la mayor parte de las complicaciones clínicas principales de la enfermedad. Sin embargo, la mayor contribución a la posteridad fue la descripción unificada del perfil anatomopatológico de la MCH: hipertrofia inexplicada del VI, con afectación del ventrículo derecho (VD) en dos de los casos, y haces musculares en orientaciones diferentes “*disarray*”, separados por tejido conjuntivo en el examen histológico. La desorganización miocitaria, continúa siendo la característica con mayor valor patognomónico de la MCH. Con una perspectiva verdaderamente notable, *Teare* comentó que la fibrosis evidente en determinados casos era de tipo isquémico. Actualmente se reconoce que la isquemia desempeña un papel central en la patogenia de la MCH es una causa clave del dolor torácico característico y un probable desencadenante de la arritmia, en especial cuando se superpone a sustrato de desorganización miocitaria y fibrosis. En un anexo a su artículo, *Teare* describía la muerte súbita (MS) del hermano de uno de los casos de la serie. En el examen post-

mortem, el corazón de este tenía un aspecto casi idéntico al de su hermana, y ello estableció la base genética de la enfermedad. La familia fue descrita de forma detallada en un artículo posterior en el que se designó la entidad como Miocardiopatía Obstructiva (4).

1.2. Definición de la enfermedad y relevancia clínica

La hipertrofia del VI (HVI) es una adaptación fisiológica del corazón a un incremento de la carga. La HVI es normalmente secundaria a condiciones clínicas como la hipertensión arterial (HTA) o la enfermedad valvular (5;6). Sin embargo, algunos pacientes desarrollan la hipertrofia cardiaca en ausencia de estas condiciones que imponen una carga al corazón, esta forma primaria o esencial es frecuentemente familiar y está causada por mutaciones en genes sarcoméricos, designándose como miocardiopatía hipertrófica (MCH) (7;8).

Las miocardiopatías en general son un grupo heterogéneo de enfermedades del músculo cardiaco, definido por la estructura y función anormal de miocardio en ausencia de HTA, enfermedad valvular, enfermedad arterial, enfermedades cardíacas congénitas y otras causas secundarias suficientes para causar las anormalidades miocárdicas observadas(7).

La MCH es la enfermedad cardiovascular monogénica mas común, con una prevalencia estimada de 1:500 en la población general(9), los pocos estudios existentes sobre la prevalencia de la MCH han sido realizados en los EE.UU y en Japón(8;10-13). Es una enfermedad compleja con características fisiopatológicas únicas y una gran diversidad de características morfológicas, funcionales y clínicas. Aunque muchos pacientes con MCH experimentan un curso relativamente benigno de la enfermedad, hay riesgo de eventos cardíacos adversos, como fallo cardíaco o muerte súbita debido a la fibrilación ventricular, siendo la causa numero uno de muerte súbita cardiaca en atletas en algunos países desarrollados.

Tiene una herencia con patrón mendeliano autosómica dominante, la descendencia de un individuo afectado tiene una probabilidad de un 50% de heredar la mutación y riesgo de enfermedad. Alternativamente, hay pacientes con falta de historia familiar de MCH, son casos esporádicos que pueden ser debidos a mutaciones que, por su baja penetrancia, no llegan a causar síntomas en el resto de los portadores de la familia o más

probablemente por el análisis incompleto de todos los posibles portadores en la familia del paciente (12). A pesar de ello, existe la posibilidad de que haya una mutación de novo en el probando pero ausentes en los padres. Actualmente, se considera que menos del 50% de los portadores de mutaciones se manifiestan como casos esporádicos (12).

La penetrancia incompleta, junto con la expresión fenotípica variable, constituye un obstáculo para el completo entendimiento del espectro clínico y las consecuencias de la enfermedad.

Según la Sociedad Europea de Cardiología las miocardiopatías primarias o idiopáticas se clasifican, según criterios tanto morfológicos como funcionales en cuatro categorías: 1) MCH, 2) Miocardiopatía Dilatada (MCD), 3) Miocardiopatía restrictiva (MCR) y 4) Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (MAVD). Existe un grupo adicional de miocardiopatías no clasificadas que incluye la Miocardiopatía Espongiforme o no compactada (MCNC) (Figura 1).

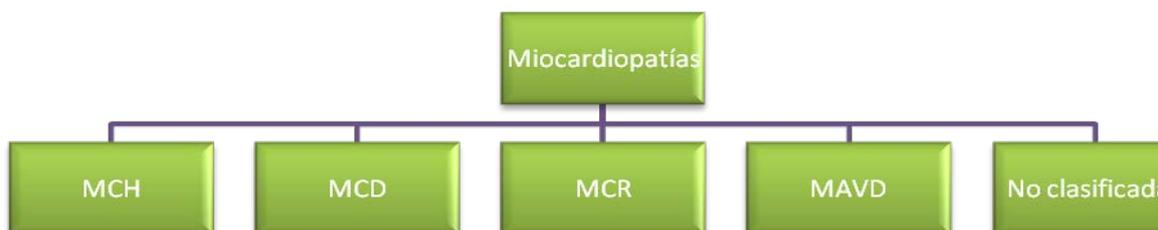


Figura 1. Clasificación propuesta por el Grupo de Trabajo de la Sociedad Europea de Cardiología sobre Miocardiopatías y Enfermedades del Pericardio.

1.3 Presentación clínica y diagnóstico de la MCH

La MCH se define como grosor de la pared mayor de 15mm. En ecocardiograma, el engrosamiento de la pared se sitúa entre 20-25mm, pero son frecuentes los casos entre 15 y 20mm e incluso de menor tamaño (14). Un grosor de la pared de 13-14 constituye una zona gris de diagnóstico clínico y debe evaluarse cuidadosamente en el contexto de la historia médica de cada individuo. En estos casos el ECG puede ser útil

para identificar la enfermedad, ya que un 50% de los adultos portadores con un grosor de pared normal en ecocardiograma tienen alteraciones electrocardiográficas (15)

El fenotipo de la MCH está representado por un espectro continuo que se extiende desde un corazón macroscópicamente normal hasta las formas severas, con una hipertrofia masiva del miocardio. Funcionalmente, la MCH se caracteriza por rigidez anormal del VI que conduce a un defecto de llenado ventricular. La anomalía más característica es una disfunción diastólica, más que sistólica. Las arritmias malignas e incluso la MS pueden aparecer en ausencia de signos ecocardiográficos previos al desarrollo de HVI o con hipertrofias muy ligeras (10).

Aunque en general, los pacientes tienen un deterioro gradual de clase funcional y función ventricular izquierda con la edad (16), la MCH tiene una expresividad y penetrancia variable en relación con la edad (13;17;18). La HVI severa del VI raramente se documenta en los primeros años de vida, se suelen observar los primeros hallazgos de la enfermedad durante la adolescencia (12-15 años), en la que el grosor puede incrementarse dramáticamente en pocos meses o años (13;19;20). La progresión de la hipertrofia se asocia solo con leves aumentos en las dimensiones de la cavidad, siendo el resultado morfológico final un VI típicamente pequeño con una hipertrofia muy llamativa (21).

La HVI es considerablemente más severa en los pacientes más jóvenes que en los de mayor edad. Existe una relación inversa evidente entre el grosor de la pared VI y la edad (22-24). Los grados más marcados de HVI (>30mm), se han observado principalmente en pacientes jóvenes (<40 años), mientras que a mayor edad (>55-60 años), por lo general, la HVI es más moderada, superando excepcionalmente grosores de pared de más de 25mm. No se conoce exactamente el por qué de esta relación edad e HVI, aunque bien podría explicarse con el mayor índice de muerte prematura en los pacientes jóvenes con HVI severa, o bien por un proceso de adelgazamiento parietal gradual, quizás producido por una fibrosis progresiva (16;24;25). Los síntomas de la MCH pueden incluir disnea, dolor de pecho atípico, síncope, presíncope o HTA. Los pacientes con obstrucción en el tracto de salida del VI suelen ser más sintomáticos.

1.3.1. Clasificación morfológica

La MCH tiene una expresión morfológica muy heterogénea como anteriormente se ha descrito. Existen varios tipos de anatomopatológicos de distribución de la hipertrofia: asimétrica (septal, apical o medio-ventricular) y la concéntrica. Figura 2.

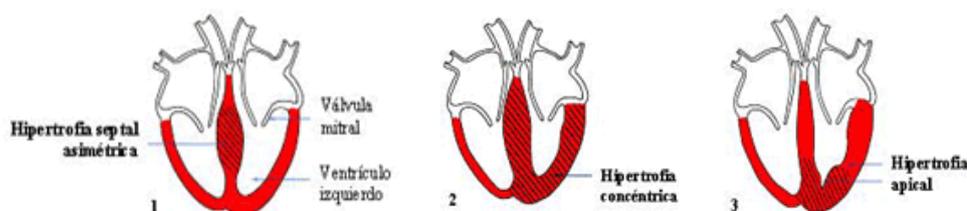


Figura 2. Representación esquemática de los patrones de distribución de la HVI más frecuentes

Según algunos autores, la forma de hipertrofia más común es la hipertrofia septal asimétrica (70%), donde el engrosamiento del músculo afecta predominantemente al tabique o pared que divide los lados derecho e izquierdo del corazón (Figura 2). En otros pacientes el engrosamiento del músculo se distribuye de forma homogénea a lo largo del ventrículo, lo que se conoce como HVI simétrica o concéntrica (20% de los casos). La hipertrofia apical es más rara, y en ella el engrosamiento afecta predominantemente a la punta (ápex) del VI, que aparece como una cavidad afilada en forma de “as de picas”(17). Las hipertrofias concéntricas y apical supondrían menos del 30% de los casos. Estas cifras varían entre los estudios y países, siendo particularmente frecuente la forma apical en Japón (26).

Lever et al (27) describió un predominio de MCH con septo sigmoideo entre la población de mayor edad y sugirió una asociación edad-dependiente con las distintas morfologías del septo. Esto le llevó a la clasificación de la MCH en función del contorno septal en cuatro subtipos anatómicos: septo sigmoideo, septo reverso, septo neutro y MCH apical, Figura 3.

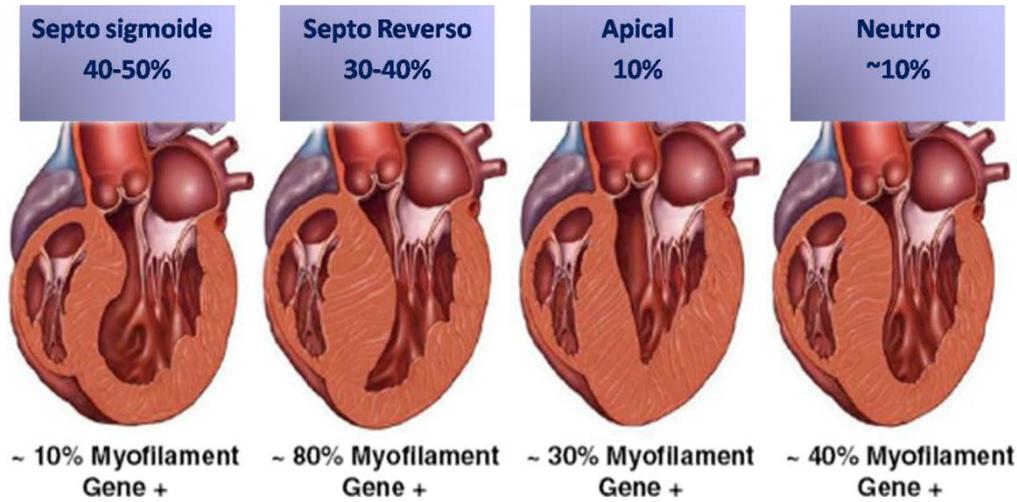


Figura 3. Patrones de hipertrofia según la clasificación de *Lever H.M et al* (Lever HM 1989) y la probabilidad pretest de estudio genético positivo según el subtipo anatómico (Binder J 2006)

Esta clasificación ha resultado de gran utilidad a la hora de valorar la probabilidad de presentar un estudio genético positivo basado en el fenotipo anatómico expresado por el paciente, en lo que se ha venido a llamar estudio genético guiado por ecocardiografía (28) (29).

1.3.2. Criterios diagnósticos

Buena parte de los afectados están asintomáticos en el momento del diagnóstico, y los diagnósticos se producen de forma casual o tras un estudio familiar (10;30-32). Además, la sintomatología es variable. Los síntomas más comunes son la disnea de esfuerzo, palpitaciones, dolor torácico, cuadros presincoales y síncope (33). En niños y adolescentes el presíncope y síncope de esfuerzo identifican a un subgrupo de pacientes con mayor riesgo de MS. En general, la MCH se manifiesta y diagnostica más a menudo en adultos a partir de la cuarta década de la vida (10;34) .

El ECG (Figura 4) constituye la primera prueba diagnóstica, por su disponibilidad y bajo coste.

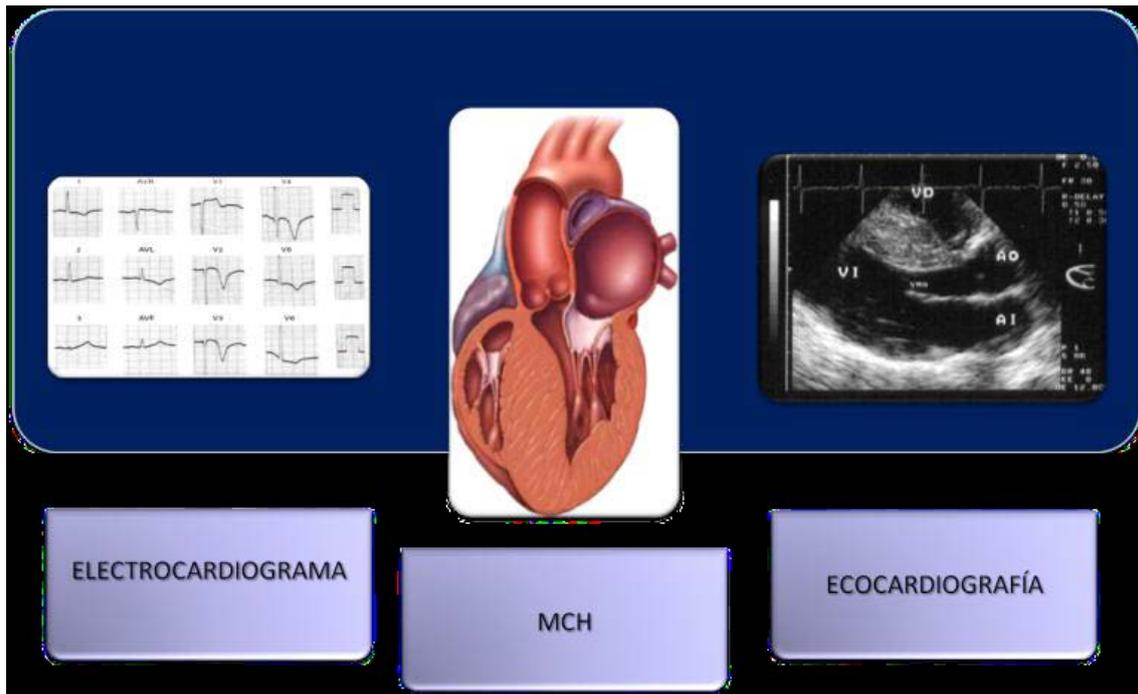


Figura 4. Electrocardiograma e imagen ecocardiográfica en la MCH.

El ECG con frecuencia sugiere el diagnóstico, aunque su normalidad no descarta la enfermedad (el 95% de los afectados tienen un ECG patológico).

La **ecocardiografía** es el método idóneo para confirmar o excluir el diagnóstico, ya que permite localizar y definir la severidad y extensión de la hipertrofia (Figura 4). Constituye una herramienta fundamental en los programas de cribado familiar. La presencia de HVI en la ecocardiografía es la característica diagnóstica fundamental (35), aunque para los patólogos es la presencia de fibrosis y la desestructuración del miocardio (“disarray”) en la muestra anatómica, el hallazgo definitorio de la enfermedad (1;35;36). Las técnicas de ecocardiografía-Doppler han permitido grandes avances en el conocimiento de la fisiopatología, seguimiento y en el pronóstico de la enfermedad.

La ecocardiografía permite además valorar la función sistólica biventricular, cuantificar los diámetros y volúmenes de las cavidades. El uso de la ecocardiografía también permite mediante técnicas de Doppler tisular el estudio de la función diastólica VI.

La **resonancia cardiaca** se ha convertido en una prueba obligada en todo paciente con MCH, tal y como se recoge en las guías de diagnóstico y tratamiento del grupo europeo (37). La resolución espacial de la resonancia es superior al ecocardiograma, y la reproducibilidad interobservador es muy elevada. Permite la valoración en detalle de la distribución y severidad de la hipertrofia en todos los segmentos del VI y la evaluación de la afectación del ventrículo derecho. Además, y a diferencia de la ecocardiografía, la resonancia permite una aproximación a la histología del miocardio VI. Las imágenes obtenidas tras la administración de contraste evidencian o descartan la presencia de fibrosis miocárdica. La fibrosis miocárdica se ha asociado a progresión a disfunción sistólica VI y a un mayor riesgo arrítmico (taquicardia ventricular no sostenida (TVNS) y FA) (38). La asociación entre la presencia de fibrosis y la MS es un tema de debate en la actualidad (39) (40).

La prueba de esfuerzo y el Holter son técnicas habituales, que si bien no suelen añadir información diagnóstica si permiten entender los síntomas. Son test importantes en la valoración pronóstica de los pacientes.

En la prueba de esfuerzo o **ergometría** un 24% de los pacientes con MCH presentan una respuesta tensional o presora anómala (RPA) (elevación de presión arterial sistólica menor de 20 mmHg con el esfuerzo o caída de 10 mmHg respecto a la máxima cifra de TA alcanzada durante el esfuerzo) (41). Esta respuesta anómala de la TA es más frecuente en historia familiar de MS y también se asocia con un VI pequeño.

El **Holter ECG de 24 horas** se considera una exploración obligada en estos pacientes, se realiza para detectar arritmias ventriculares y auriculares. Un 19% de los pacientes tienen (TVNS).

En los familiares de primer grado de pacientes con MCH, la probabilidad de ser portadores de la enfermedad es del 50%, y en este contexto, la presencia de anomalías menores en el ECG o en el ecocardiograma tiene una significación mucho mayor que en la población general. Se han propuesto unos nuevos criterios diagnósticos aplicables a familiares adultos de primer grado de pacientes con MCH que presentan alteraciones en el ECG no explicadas por otra patología (13;30).

1.4 Evolución de la enfermedad: Pronóstico en la MCH

Aunque la presencia de síntomas severos en individuos jóvenes (particularmente en niños) podría asociarse con un mayor riesgo de mortalidad, un número importante de muertes se producen en pacientes asintomáticos o con síntomas leves, en ocasiones incluso en deportistas de alta competición con una alta capacidad funcional.

Se han identificado muchos factores de riesgo asociados con un elevado riesgo de MS en pacientes con MCH (18). Clásicamente se ha propuesto que a aquellos pacientes con uno o más factores de riesgo de los siguientes (HVI > 30mm, obstrucción >90 mmHg, síncope inexplicado, antecedentes familiar de MS a edad joven, presencia de TVNS en holter o RPA en la prueba de esfuerzo) se le debería implantar un desfibrilador automático implantable (DAI)(18;42;43). Recientemente, en 2014 se publicó una nueva forma de estratificar el riesgo basada en una fórmula que incluye la mayoría de los factores clásicos (excepto la RPA) y en la que se ha incluido la edad y el tamaño auricular izquierdo (44;45).

A pesar de los continuos esfuerzos realizados en la investigación de esta enfermedad, existen algunos aspectos controvertidos relacionados con su manejo clínico, siendo el principal la identificación y tratamiento de los pacientes con alto riesgo de MS. Incluso con la nueva fórmula propuesta por O'Mahony el 30% de los pacientes que fallecerán de forma súbita no son clasificados como de alto riesgo. Es posible que la incorporación a la fórmula del riesgo de la información genética y los resultados de la caracterización tisular de la resonancia cardiaca permita una mejor identificación de estos sujetos en riesgo.

Hasta la fecha no se ha reconocido el valor de la información genética en el pronóstico de la MCH (46). A pesar de que existen mutaciones que implican un evidente mal pronóstico y que predicen el desarrollo de disfunción sistólica, evolución a trasplante cardiaco o una mayor probabilidad de muerte súbita, en las guías recientemente publicadas sobre la enfermedad, solo se le asigna un valor diagnóstico para descartar fenocopias (PRKAG2, LAMP2, GLA) y para la identificación de portadores en riesgo de desarrollar la enfermedad entre los familiares. Ejemplos recientes del valor pronóstico de la información genética en la MCH son una de las primeras mutaciones publicadas en la literatura (MYH7 p.R453C) descrita por el grupo

de Seidman y McKenna (47) y una revisión reciente sobre mutaciones en MYH7 que afectan a la región conversora de la MYH7 (48).

La MS puede producirse a cualquier edad, con una incidencia anual de un 2-4% en centros de referencia y de alrededor de un 1% en no seleccionados (18;42;49;50).

1.5 Tratamiento

A la hora de tomar decisiones terapéuticas es importante tener en cuenta la heterogeneidad de la enfermedad en sus características genéticas, morfológicas, funcionales y clínicas, así como su historia natural (50;51). El tratamiento de la MCH persigue unos objetivos básicos: mejorar la sintomatología y la capacidad funcional de los pacientes, controlar las arritmias, evitar las complicaciones al reducir el riesgo de MS y aumentar la supervivencia.

En los pacientes sin factores de riesgo de MS y sin disfunción sistólica, la presencia de síntomas como la disnea, el dolor torácico, las palpitaciones o el síncope afectan a su calidad de vida. Los β -bloqueantes son el tratamiento sintomático de primera elección, consiguen aliviar los síntomas en al menos en dos tercios de estos pacientes (52). Además poseen un efecto antiarrítmico lo que puede prevenir la MS, aunque este efecto no ha sido claramente demostrado. Los fármacos calcio-antagonistas no dihidropiridínicos tienen un efecto depresor sobre la contracción miocárdica y la frecuencia cardiaca, y sirven de alternativa a los pacientes que no toleran los β -bloqueantes. La Disopiramida es un agente inotrópico negativo y antiarrítmico tipo I-A que ha demostrado un beneficio sintomático en pacientes con MCHO al reducir el SAM mitral, la obstrucción y la IM asociada (52-56).

Se ha comprobado en pacientes de alto riesgo la eficacia de la amiodarona en la prevención de la MS. Éste es un fármaco antiarrítmico utilizado en el tratamiento de la FA debido a su efecto antiadrenérgico y bloqueante de los canales de calcio. El pronóstico también mejora con su empleo, con una reducción significativa de la incidencia de MS en pacientes con TVNS (57;58).

Cada vez es mayor el número de pacientes hipertróficos a los que se les coloca un desfibrilador automático implantable (DAI). El DAI tiene efectos secundarios importantes, un coste elevado e implicaciones socio-laborales, por lo que es necesario mejorar la identificación de los pacientes que realmente se beneficiarían de este

tratamiento y evitar su empleo inadecuado. El DAI es el tratamiento más efectivo para pacientes de alto riesgo. La implantación de un DAI podría prevenir la MS en estos pacientes y su eficacia ha sido documentada en aquellos con historia de parada cardio-respiratoria resucitada o TV (11% de descargas apropiadas/año) y también como tratamiento profiláctico en pacientes de alto riesgo (5% descargas apropiadas/año) (59;60).

Al menos un 10% de los pacientes desarrollan una fase dilatada de la enfermedad. Los pacientes que se encuentran en una fase final de la enfermedad que no responden al uso del tratamiento farmacológico, estaría indicado la realización de un trasplante cardiaco (61).

En algunos pacientes, el tratamiento médico no logra el control adecuado de los síntomas con empeoramiento de su calidad de vida, lo que lleva a plantear la necesidad de un actitud invasiva individualizada según las características del paciente y dirigidas principalmente a tratar la obstrucción como es la ablación septal alcohólica, la miectomía quirúrgica o el implante de un marcapasos bicameral tipo DDD (62).

Por último, para los pacientes asintomáticos sin factores de riesgo de MS y sin disfunción sistólica no existe evidencia de que el tratamiento profiláctico prevenga la MS o la progresión de la enfermedad, aunque se recomienda reducir la práctica deportiva y un control estricto de las cifras de tensión arterial (TA). La indicación del tratamiento en el paciente asintomático no está claramente definida y la decisión de tratarlo o no, debería basarse en la existencia de una historia familiar maligna, en la naturaleza del defecto genético y en la severidad de las alteraciones fisiopatológicas (10;63).

2. Estructura y funcionamiento del sarcómero cardiaco

El sarcómero cardiaco es la unidad básica de contracción del músculo cardiaco. Se trata de una estructura compleja con una estequiometría muy precisa y con múltiples zonas de interacción entre proteínas (64;65).

Las proteínas que forman el sarcómero se organizan en filamentos gruesos y finos que interaccionan entre sí para producir la contracción, que sucede por deslizamiento e interconexión de los filamentos finos y gruesos (Figura 5).

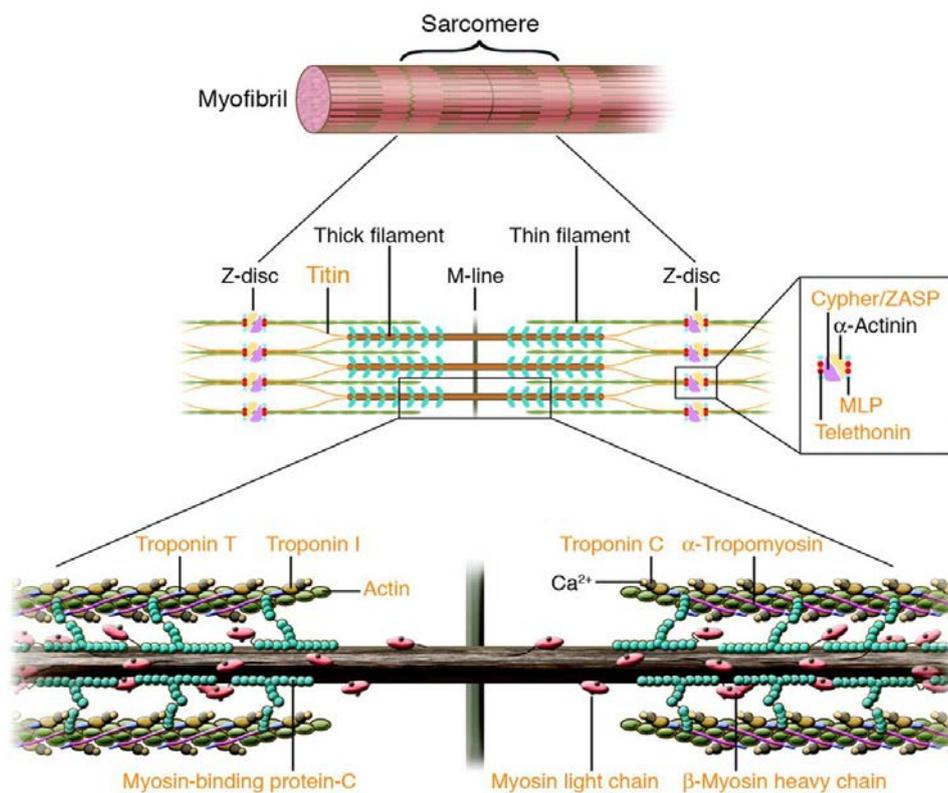


Figura 5. Organización del sarcómero cardíaco

Los componentes del sarcómero ejercen distintas funciones dentro de la maquinaria contráctil del miocito: unos realizan funciones enzimáticas y de desarrollo de fuerza (como la cadena pesada de la β -miosina), otros cumplen funciones estructurales (como la proteína C de unión a la miosina), y otros funciones reguladoras (como la Troponina T, la Troponina I y la α -Tropomiosina).

Los filamentos gruesos están formados por la proteína C de unión a la miosina (MYBPC3) y por la miosina cardíaca, que es el principal componente de los filamentos gruesos del sarcómero, formada a su vez por dos cadenas pesadas y dos pares de cadenas ligeras (la cadena esencial y reguladora de la miosina, CLE y CLR respectivamente) y el motor molecular que transforma la energía de la hidrólisis del adenosín trifosfato (ATP) en movimiento de desplazamiento de los filamentos. Estos filamentos gruesos se asocian a la titina, una proteína no contráctil que regula la rigidez miocárdica (66).

Los filamentos finos están formados por actina, la α -Tropomiosina y el complejo de Troponina (Troponina I, C y T). La Troponina actúa como un sensor de calcio,

regulando la concentración cardíaca en respuesta a las variaciones de la concentración de Ca^{2+} intracelular (Figura 6).

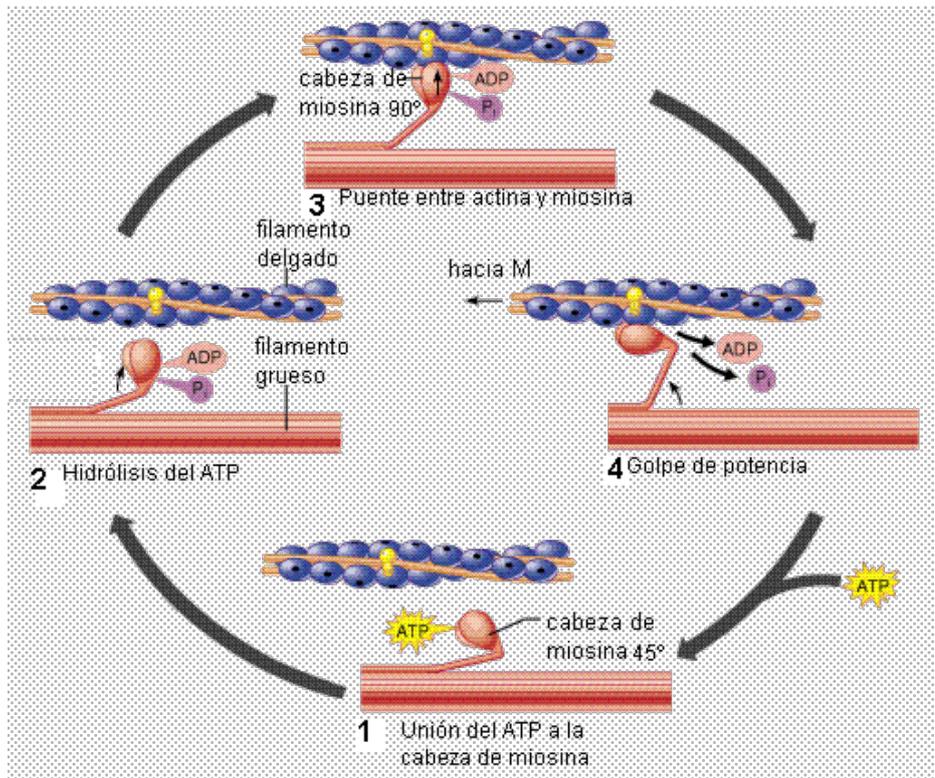


Figura 6. Interacción actina-miosina

Se considera por tanto que es el receptor específico del calcio en los filamentos delgados del músculo cardíaco, y funciona de forma muy sensible para regular los dos estados (tanto la concentración como la relajación). El complejo de Troponina está formado por tres cadenas polipeptídicas: la Troponina C (Tn C), que se une al Ca^{2+} ; la Troponina I (Tn I), que inhibe la concentración muscular impidiendo la unión entre la actina y la miosina; y la Troponina T (TnT), que permite la unión del complejo de Troponina a la α -Tropomiosina durante la contracción muscular

Al microscopio electrónico el sarcómero exhibe un patrón regular de bandas con áreas claras y oscuras, consecuencia del cruzamiento entre los filamentos finos de actina y los gruesos de miosina. La alineación de los filamentos del sarcómero es crítica para la interacción actina-miosina y su contracción. Las cadenas pesadas de miosina contienen los sitios de unión al ATP y la actina, y constituye el verdadero motor molecular de la contracción miocárdica (10).

El latido del músculo cardíaco es un mecanismo iniciado por impulsos nerviosos y que provoca la liberación de Ca^{2+} al citosol que baña las miofibrillas; por el contrario, la relajación tiene lugar tras la reabsorción del Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico. La contracción se produce por la interacción cíclica de la miosina y la actina en un proceso que consume ATP, gracias a la actividad ATPasa asociada con la cabeza de la cadena pesada de la miosina (Figura 6). La liberación de grandes cantidades de Ca^{2+} almacenadas en el lumen del retículo sarcoplásmico hacia el citoplasma y la respuesta a un potencial de acción en la membrana plasmática, se traduce en un cambio en la conformación de la cabeza de la miosina que le permite interactuar con la actina.

La unión del Ca^{2+} intracelular al complejo Troponina y la α -Tropomiosina hace posible la interacción actina-miosina. Las cabezas de miosina se unen con las moléculas de actina, con desplazamiento de la actina hacia el centro del sarcómero. El deslizamiento de los filamentos gruesos y finos permite el acortamiento del sarcómero y la contracción muscular. La función de la MYBPC3, situada en la banda A del sarcómero, todavía no ha sido definida por completo, pero se cree que participa en el ensamblaje de los filamentos gruesos por unión a la miosina y la titina, y que también desempeña una función reguladora dentro del sarcómero (Figura 6) (67).

3. Histología de la MCH y significado clínico

Macroscópicamente, la MCH se caracteriza por una hipertrofia ventricular en ausencia de aumento de la postcarga, que es usualmente asimétrica y afecta diferentes partes de los ventrículos, aunque normalmente predomina una hipertrofia del VI (16;25;65).

Desde el punto de vista anatomopatológico, la MCH se caracteriza por la presencia de desorganización de los miocitos (“disarray”), enfermedad de pequeño vaso e incremento de la fibrosis intersticial (1;65;68;69) (Figura 7) que contribuyen al desarrollo de un amplio espectro de anomalías funcionales, incluyendo isquemia miocárdica, disfunción diastólica, insuficiencia cardíaca congestiva, arritmias y muerte súbita.

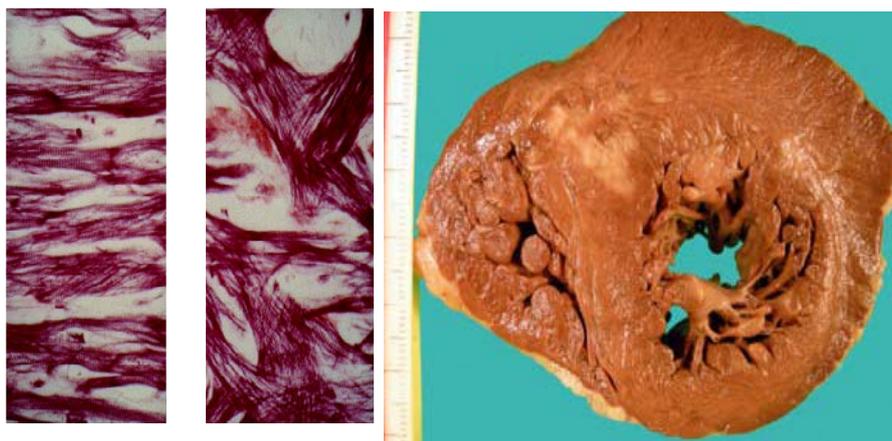


Figura 7. Muestras anatómo-patológicas de un paciente con MCH. A: Imagen microscópica de un corazón normal (izquierda) y con desorganización de los miocitos-MCH (derecha), B: Imagen macroscópica de un corazón con MCH.

4. Fisiopatología molecular de la MCH

La MCH es una enfermedad compleja con características fisiopatológicas únicas y una gran diversidad de características morfológicas, funcionales y clínicas. En estudios funcionales *in vitro* se ha demostrado que en portadores de mutaciones relacionadas con MCH, la función del sarcómero se altera primero por la disminución de la actividad del filamento translocado o la fuerza, que conduce a una reducción de la producción de energía. Por otra parte, puede aumentar la tasa de motilidad *in vitro* de deslizamiento de los filamentos o la fuerza (65).

Los cambios moleculares subyacentes a estas observaciones parecen variar e incluyen una reducción de la cinética de entrecruzamiento (70) menor actividad ATPasa, sensibilidad alterada del calcio (Ca^{2+}) (65;71-73), atrofia del miocito (71) y problemas del acoplamiento excitación–contracción (65;74). Estos puntos en común y la diversidad de los mecanismos moleculares y celulares podrían estar implicados en la patogenia de los fenotipos finales de MCH vistos clínicamente (75).

Se desconoce aún cómo una mutación de una proteína sarcomérica y el defecto funcional observado están vinculados al desarrollo de las características microscópicas de la MCH. Se han propuesto varias hipótesis (25;70;76) que sugieren el hecho de que mutaciones de la MCH inducen defectos funcionales en la contractilidad del miocito, así

como producir disfunción sistólica y diastólica que inducen un aumento del estrés parietal, una reducción del volumen de eyección y, en consecuencia, una activación de factores tróficos y mitóticos de estrés (tales como, angiotensina II, factor de crecimiento insulínico tipo 1; IGF-1, factor de crecimiento transformante beta 1; TGF- β , factor de Necrosis Tumoral alpha; TNF- α , Interleukina 6; IL-6 y endotelina) (77). Estas moléculas promueven la entrada de Ca^{2+} en las células y la activación de vías de transcripción que conducen a los diversos fenotipos histológicos y estructurales de MCH incluyendo hipertrofia cardíaca, fibrosis intersticial y *disarray* del miocito (78). Por tanto los primeros intentos para explicar la patogenia de MCH sugirieron que la incorporación de proteínas sarcoméricas mutantes deprimen la función contráctil, y producen la activación posterior de respuestas neuroendocrinas y mecánicas que llevan a una hipertrofia compensatoria (Figura 8) (25;75).

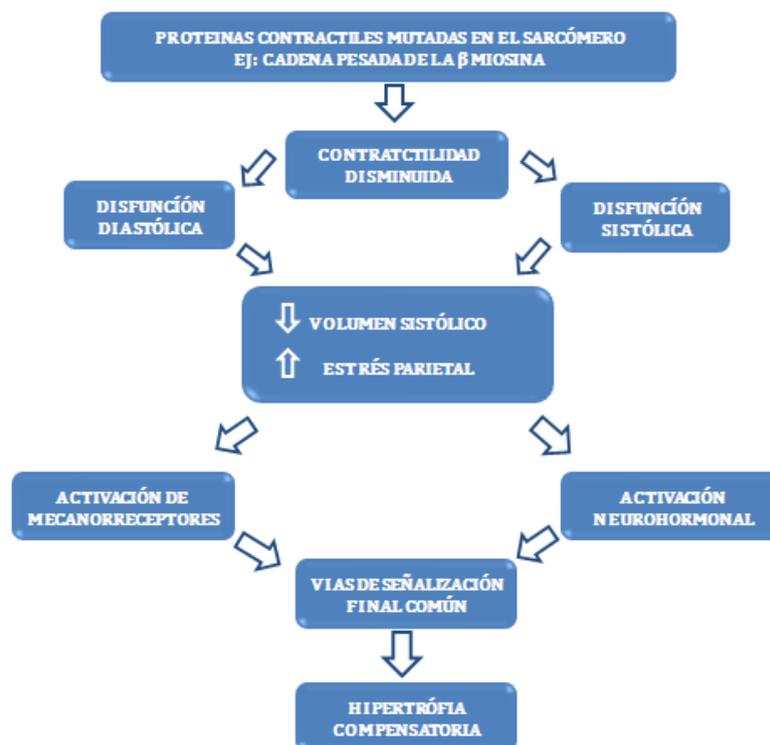


Figura 8. Modelo convencional mediante el cual mutaciones que conllevan hipocontractilidad podrían desencadenar una hipertrofia compensatoria en MCH. Adaptado de (Ashrafian H. y cols., Trends in Genetics. 2003).

El problema de esta hipótesis recae en el hecho de que no todas las mutaciones producen hipocontractilidad, como las mutaciones de MCH en algunas proteínas reguladoras de filamentos delgados (por ejemplo, TnI y tropomiosina) que aumentan realmente la fuerza de contracción (77;78). Por tanto, la disminución de la contractilidad per se no puede ser el único estímulo que derive en hipertrofia. En un modelo alternativo donde hay un aumento en la fuerza de la contracción, la hipertrofia inducida ocurre directamente como consecuencia de la hipercontractilidad (77;79).

Por otro lado, la hipertrofia de la MCH es característicamente asimétrica y tiende a ser mucho más severa que la hipertrofia concéntrica que aparece por el aumento de la carga en el corazón (por ejemplo, en la HTA). Corroborando los datos biofísicos e índices ecocardiográficos, el estudio de portadores de la mutación que todavía no tienen hipertrofia, revela un engrosamiento más que una contractilidad disminuida, argumentando en contra de la hipótesis compensatoria (79). Además se observa en MCH que normalmente sólo se vuelve aparente después de la pubertad y progresa lentamente, y con algunas mutaciones, la enfermedad sólo se manifiesta en edad adulta. Estos patrones no se explican fácilmente por la hipótesis de la hipertrofia compensatoria, cuando las proteínas mutantes están presentes desde el nacimiento (80).

El modelo final que puede explicar la hiper e hipocontractilidad observadas en ambos modelos anteriores es la hipótesis del "compromiso energético"(75) que propone para conciliar la falta de consistencia en las anomalías contráctiles en MCH, que la disfunción observada en MCH se debe al aumento de la demanda de energía debido a la ineficiente utilización de ATP en el sarcómero. El aumento de la demanda pone en peligro la capacidad de los miocardiocitos para mantener los niveles de energía en compartimentos subcelulares responsables de la contracción y funciones hemostáticas críticas, tales como la reabsorción de calcio. Esta disfunción del miocito facilita la hipertrofia.

Diversos estudios fundamentan que como consecuencia de la disminución de ATP disponible para mantener la recaptación normal de calcio, se produce un aumento del Ca^{2+} citosólico, activando señales de transcripción dependientes de Ca^{2+} la más importante parece ser calcineurina y los factores de transcripción NFAT (factor nuclear de linfocitos T activados) y MEF-2 (factor potenciador de miocito) produciendo hipertrofia y fibrosis (80-82).

Para explicar la naturaleza asimétrica de la hipertrofia, que es uno de los rasgos más característicos de MCH, varios modelos teóricos que asumen una tensión de la pared miocárdica uniforme, muestran mayores demandas de energía en el septo ventricular (83). Un déficit severo de energía también pondrá en peligro la función del transportador de iones, necesaria para la actividad electrofisiológica normal. Esto proporcionaría una heterogeneidad de los potenciales de membrana y dejar al miocardio vulnerable a arritmias que conducen a muerte súbita en MCH. Además, la elevación citosólica del calcio es un potente estímulo para estas arritmias ventriculares. Por tanto, este compromiso energético sería más marcado en momentos de mayor carga de trabajo en el corazón y esto podría explicar el aumento del riesgo de MS observado durante el esfuerzo, especialmente en deportistas de competición (75).

Como los defectos de las proteínas contráctiles están presentes desde el nacimiento en pacientes con MCH, es difícil explicar porqué la hipertrofia generalmente no aparece hasta bien entrada la adolescencia o, en algunas mutaciones, hasta en una edad adulta tardía. Sin embargo, el rápido crecimiento que tiene lugar en la pubertad aumenta el tamaño cardíaco y las demandas metabólicas, mientras que los niveles de fosfocreatina y ATP miocárdicos declinan con la edad debido principalmente a la disfunción mitocondrial (84).

Por tanto, a nivel biofísico, las mutaciones de los miofilamentos (sarcómero) generalmente aumentan la sensibilidad al Ca^{2+} , la fuerza máxima de producción y la actividad ATPasa. Estos defectos, en última instancia, parecen converger en una deficiencia de energía y alteran el manejo del Ca^{2+} como principales rutas comunes hacia los rasgos anatómicos (hipertrofia, “*disarray*” y fibrosis) y características funcionales (señalización patológica y disfunción diastólica) característicos de la MCH (85).

Estudios funcionales con algunas mutaciones sarcoméricas han permitido demostrar varios de los defectos a nivel molecular, como el aumento de la sensibilidad al Ca^{2+} y la reducción de la actividad ATPasa de la miosina, llegando a observarse las alteraciones en la interacción actina-miosina y la reducción de la capacidad contráctil del miocito (86;87). Otros estudios demostraron que la disfunción ventricular izquierda precede a los cambios morfológicos, por lo que el deterioro de la capacidad contráctil sería anterior a la aparición de cualquier desorganización evidente del sarcómero (88); (89). Esta disfunción contráctil podría servir de estímulo para la liberación de varios

factores de crecimiento, que a su vez favorecerían la hipertrofia del miocito y el aumento del colágeno intersticial, lo que contribuye a desarrollar la hipertrofia. En todos los modelos animales se ha observado una desorganización sarcomérica y un aumento del tejido fibroso secundarios a la expresión de la proteína mutada, características éstas que no se observaron en ausencia de proteínas anómalas (90;91) (71). Algunas mutaciones en los genes TNNT2 y TPM1 incrementan la fuerza contráctil del cardiomiocito en lugar de reducirla. Este aumento estaría asociado con una alteración en la relación ATP/ADP, lo que ha llevado a algunos autores a sugerir que la alteración en el uso del ATP podría ser la vía final común del proceso patológico (92).

El estudio de animales con hipertrofia cardíaca que expresan proteínas sarcoméricas mutadas en el corazón (transgénicos, *Knock-out* y *Knock-in*), ha permitido aclarar algunos de los mecanismos fisiopatológicos de esta enfermedad. Entre otros, la hipertrofia cardíaca ha sido investigada en ratones homocigotos para mutaciones en proteínas sarcoméricas, en un modelo de rata que expresaba una troponina T truncada y en la que la hipertrofia solo se observaba después del ejercicio, y en un conejo que expresaba MYH7-Q⁴⁰³ (93-95).

Uno de los mejor caracterizados es un ratón portador del alelo mutado con Gln⁴⁰³ (Knock-in) en la cadena pesada de la α -miosina, que equivaldría al genotipo de pacientes con MCH por mutaciones en el gen MYH7. Aunque estos animales manifestaban el fenotipo característico de la enfermedad, con desorganización miocítica y fibrosis intersticial, raramente padecían la marcada hipertrofia cardíaca presente en los humanos. La cadena pesada de la β -miosina es la principal isoforma de miosina expresada en el corazón humano y del conejo, pero en el corazón del ratón la isoforma predominante es la α -miosina, lo que podría explicar en parte las discrepancias entre los hallazgos en el hombre y en el ratón (96). Los modelos transgénicos de conejo “imitarían” mejor el fenotipo humano con una marcada hipertrofia, fibrosis intersticial, disfunción diastólica, conservación de la función sistólica, y un aumento en la incidencia de muerte prematura. Además, se ha constatado una reducción en las velocidades de contracción y relajación en los conejos transgénicos previa al desarrollo de la hipertrofia cardíaca (95).

En resumen, las mutaciones sarcoméricas se pueden traducir a nivel molecular de varias formas: las proteínas sarcoméricas mutadas pueden afectar a la actividad ATPasa

(97) (98), pueden ver afectada su sensibilidad al calcio (99-101); o puede alterarse el deslizamiento actina-miosina (97) (102;103).

5. Genética de la Miocardiopatía Hipertrófica

Desde hace más de 50 años, se reconoce que la MCH es una enfermedad cardiaca familiar con alto riesgo de muerte súbita (MS) y progresión de la enfermedad, caracterizada por una expresión heterogénea del fenotipo, historia natural y perfil genético (1;17;104).

Para la MCH, la era molecular emergió hace más de 20 años con la identificación de mutaciones causales de la enfermedad en genes que codifican para proteínas del sarcómero cardiaco. En 1990 en el laboratorio de Seidman en Boston, se identificó la primera alteración genética en una familia canadiense, una mutación causante de la enfermedad en el gen que codifica la cadena pesada de la β -miosina (β -MHC). La MCH se convirtió así en el primer trastorno cardiovascular hereditario en el que se había determinado el genotipo responsable (1;17;105-107). En las décadas siguientes, los progresos en el campo de la genómica han permitido la identificación de varios de los genes asociados a las miocardiopatías y por lo tanto se ha involucrado a otras proteínas sarcoméricas en la MCH, lo cual llevó al concepto de la MCH como una enfermedad primaria del miocardio producida por mutaciones en genes que en su mayoría codifican proteínas del sarcómero (1;104;108).

La observación de estos logros definiendo el sustrato de las bases genéticas estaban acompañadas por un optimismo y expectación considerables de que el análisis mutacional revolucionaría la MCH con respecto al diagnóstico y predicción del curso clínico (47;109;110).

Más recientemente, los avances científicos en genética molecular han hecho posibles la disponibilidad de test genéticos comerciales para la comunidad científica, al mismo tiempo que paradójicamente están creando algunas cuestiones por resolver.

Desde los primeros informes de mutaciones en el gen MYH7 (47;106;107), más de 900 mutaciones causales en más de 20 genes han sido identificadas en MCH y debido a que estos genes codifican proteínas sarcoméricas (33;47;111;112), la MCH es

considerada una enfermedad del sarcómero. De los genes donde en la actualidad se han identificado mutaciones relacionadas con el fenotipo de la MCH, 8 de ellos afectan a proteínas del sarcómero: Cadena pesada de la β -miosina (MYH7, cromosoma 14q11), troponina T (TNNT2, cromosoma 1q3), α -tropomiosina (TPM1, cromosoma 15q2, proteína C de unión a la miosina (MyBPC3, cromosoma 11q11.2), troponina I (TNNI3, cromosoma 19p13.2-q13.2), cadenas esencial y reguladora de la miosina beta (MYL3 y MYL2, cromosomas 3p21.2-3p21.3 y 12q23-q24 y α -actina cardíaca (cromosoma 15q14) (47;108;113). También se han descrito mutaciones en el gen de la titina (114), proteína relacionada con la α -actina, y en el gen de la PRKAG2 (subunidad reguladora γ 2 de la proteinquinasa activada por AMP) (115), esta última asociada a fenómenos de preexcitación (Wolff-Parkinson-White) y alteraciones de la conducción (bloqueo auriculoventricular) (Tabla 1).

Tabla 1. Genes implicados en la miocardiopatía hipertrófica

<i>Gen</i>	<i>Proteína codificada</i>	<i>Función en el sarcómero</i>	<i>Frecuencia en</i>
MYH7	Cadena pesada de la β miosina cardíaca	Motora (filamento grueso)	25%-35 %
MYBPC3	Proteína C de unión a la miosina	Estructural	25%-35 %
TNNT2	Troponina T cardíaca	Reguladora (filamento fino)	3%-5%
TNNI3	Troponina I cardíaca	Reguladora (filamento fino)	1%-5%
TPM1	α -tropomiosina	Reguladora (filamento fino)	1%-5%
MYL2	Cadena ligera de la miosina 2	Estructural	<5%
MYL3	Cadena ligera de la miosina 3	Estructural	rara
MYOZ2	myozenina 2	Estructural (disco Z)	rara
TCAP	teletonina	Estructural (disco Z)	rara
MuRF1	Muscle ring finger protein-1	Estructural	rara
CSRP3	Proteína LIM	Estructural (disco Z)	rara

ACTN2	α -actinin 2	Estructural (disco Z)	rara
ANKRD1	CARP	Regulador de la expresión	rara
JPH2	Junctophilina 2	Conducción del calcio	rara
TNNC1	Troponina C tipo 1	Reguladora (filamento fino)	rara
TTN	títina	Estructural	rara

La MCH se caracteriza por una gran heterogeneidad genética, ya que está causada en el 60% de los casos por mutaciones distribuidas en estos 20 genes que codifican principalmente para proteínas de los miofilamentos gruesos y delgados del sarcómero (104;105). Se considera que más del 80 % de todas las mutaciones causantes de MCH se dan en MYBPC3 y MYH7 (64;66), mientras que las mutaciones que tienen lugar en genes que codifican para la Troponina T (TNNT2), Troponina I (TNNI3) y α -Tropomiosina (TPM1), están presentes en un 10% de los casos de MCH y las mutaciones en genes que codifican para la cadena ligera de la miosina (MYL2) están presente en <5% de los casos (116). Las mutaciones en los genes restantes son infrecuentes (64;116-118). Recientemente el espectro de mutaciones causales se ha expandido, incluyendo el estudio de genes que codifican para el disco Z y línea M, tales como MYOZ2 que codifica para la myozenina 2, Tcap ó titin-cap (Teletonina) y MuRF1 (Muscle ring finger protein-1) (7;64;119;120) (Tabla 1). Las mutaciones en MYBPC3 suelen ser más frecuentemente truncamientos, que suelen repetirse. El hecho de desarrollarse a una edad más tardía implica que los síntomas y complicaciones no aparezcan durante la edad reproductora y se difundan con efecto fundador en múltiples ramas familiares (64;109;120). Tradicionalmente se aceptaba que los síntomas eran más leves y el riesgo de complicaciones y MS era menor que en las mutaciones en MYH7 (121). Datos de estudios más recientes indican que una vez la enfermedad se desarrolla, la limitación física y el pronóstico de las mutaciones en MYBPC3 es similar al de la MYH7.

Los portadores de mutaciones en MYH7 habitualmente presentan hipertrofia cardiaca a edades jóvenes (10-30 años) (121).

Por último debemos tener en cuenta la presencia de fenocopias de MCH, que se presentan con características cardíacas aparentemente similares cuando utilizamos criterios ecocardiográficos y que pueden llevar a un diagnóstico erróneo al confundir la MCH con otras enfermedades cardiovasculares. El diagnóstico sería especialmente incierto en los casos de hipertrofia no obstructiva (122). Hay varias enfermedades que pueden presentar un aumento importante de la masa ventricular izquierda (Tabla 2).

Tabla 2. Causas de hipertrofia del ventrículo izquierdo que comparten aspectos clínicos con la MCH

Enfermedades metabólicas	Enfermedades de origen genético
Mutaciones en PRKAG2 (WPW) Enfermedad de Fabry (GLA) Enfermedad de Danon (LAMP2) Enfermedad de Pompe Síndrome Hurler Síndrome Hunter Amiloidosis. Hemocromatosis	Síndrome de Noonan (PTPN11) Ataxia de Friedreich Amiloidosis familiar Síndrome de Leopard Mutaciones en promotor de Fosfolamban
Enfermedades mitocondriales	Misceláneas
Miopatías mitocondriales MELAS MERRF LEBER	Respuesta fisiológica exagerada Hipertensión arterial Estenosis de la válvula aortica Amiloidosis, hemocromatosis Corazón del atleta Niños de madres diabéticas Obesidad

Estas incluyen el fenotipo compuesto de MCH con el síndrome de Wolff-Parkinson-White y alteraciones de la conducción causadas por mutaciones en PRKAG2 (subunidad gamma de la proteína cinasa dependiente de AMPc), la enfermedad de Fabry causada por mutaciones en GLA (α -galactosidasa) y la enfermedad de Danon causada por mutaciones en LAMP2 (proteína de membrana asociada al lisosoma), también mutaciones del ADN mitocondrial y el síndrome de Noonan causado por mutaciones en PTPN11.

5.1. Tipos de mutaciones

Aunque las diferencias en las manifestaciones clínicas de la MCH pueden estar basadas en el gen implicado que codifica para una proteína concreta del sarcómero, distintas mutaciones dentro del gen dado pueden dar lugar a fenotipos muy distintos (112). La gran mayoría de las mutaciones (80%) son del tipo missense, que solo producen un cambio de aminoácido en la proteína y, aunque depende del lugar donde se produzca este cambio, generalmente la proteína podría seguir realizando su función. Otro tipo de mutaciones menos frecuentes (excepto para la MYBPC3) son las mutaciones nonsense provocan un truncamiento en la proteína (generalmente dando lugar a una más corta) y haciendo que ésta en la mayoría de los casos no sea funcional, que tendrían consecuencias clínicas sustanciales, por ejemplo las mutaciones frameshift, las cuales están causadas por la inserción o delección de 1 o más nucleótidos en región codificante. Por último están las mutaciones que producen un splicing anormal del ARNm. En base a esta clasificación y a la preponderancia de evidencia de una serie de criterios, podemos llevar una idea de que mutaciones podrían ser patogénicas, probablemente patogénicas o no patogénicas.

Muchas de estas mutaciones, se consideran “privadas” porque se han identificado en una sola persona o familia. El desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva ha permitido la identificación de nuevos genes candidatos y nuevas variantes. La proporción de pacientes que presentan variantes de significado incierto (por no estar previamente descritas) se ha multiplicado exponencialmente con la introducción de los denominados estudios por Next Generation Sequencing. Se han desarrollado diferentes softwares informáticos (“in silico”) que tratan de estimar la probabilidad de que la nueva variante sea o no patogénica.

5.2. Relación genotipo-fenotipo en la MCH

La heterogeneidad clínica característica de esta enfermedad está en parte condicionada por la gran heterogeneidad genética, pero no exclusivamente. La expresión fenotípica de la MCH puede ser diferente incluso entre portadores de una misma mutación (123-125) (17;18;33;123) (126).

Esta heterogeneidad tanto en las mutaciones causales de MCH como en la expresión del fenotipo hace que la predicción del pronóstico en individuos afectados sea compleja. El reto en el manejo del amplio espectro de la enfermedad es identificar el subconjunto de pacientes predispuestos a muerte súbita o que van a desarrollar fallo cardíaco a los que ofrecer un tratamiento preventivo (17;33;127).

Hasta la fecha, como se comentaba con anterioridad, la información genética no ha sido reconocida en las guías como de valor pronóstico (128). A pesar de que existen ejemplos de mutaciones concretas y dominios proteicos (como la región conversora de la miosina) asociadas a un fenotipo severo y a un pronóstico ominoso, la evidencia en la mayoría de las mutaciones es más limitada (47;129).

Todo lo comentado con anterioridad indica que las características de la MCH no están sólo determinadas por la naturaleza de la mutación patogénica y surge así la necesidad de implicar factores ambientales y probablemente otros factores genéticos para explicar esta diversidad (25;108) (130).

Los polimorfismos en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) que pueden afectar tanto a la hipertrofia del VI como al remodelado, parecen tener un papel en el fenotipo de la MCH, al menos a nivel experimental y en estudios con un reducido número de pacientes.

Otros factores exógenos, hormonales y otros determinados por el sexo o la edad, influyen en el desarrollo de la enfermedad. El desarrollo de la HVI suele coincidir con la fase de crecimiento y en estos pacientes adolescentes son en los que se observan los grados más floridos (131). A pesar de esta asunción ya clásica, esta asunción no explicaría las formas de desarrollo tardío más típicas de las mutaciones en MYBPC3 (108;132-134).

La presencia de “múltiples hits” también podría explicar que una parte de los fenotipos más severos se deban a la presencia de una segunda o tercera mutación o el efecto modulador de un polimorfismo (efecto o fenómeno de “dosis genética”).

Algunos factores medioambientales como el ejercicio físico de gran intensidad o la coexistencia de HTA podrían tener un papel en la diferente expresión clínica de la enfermedad en pacientes portadores de una misma mutación. La evidencia sobre el papel del deporte y la HTA sobre la magnitud de la HVI en la MCH no ha sido estudiada.

6. Efecto de los moduladores sobre el fenotipo de la MCH

6.1. Moduladores ambientales

A pesar de que hay mucha información en la literatura del papel que puedan tener las variables demográficas y aquellas relacionadas con la enfermedad en los síntomas y pronóstico en pacientes con MCH, hay pocos datos del efecto en la expresión clínica del género, HTA y el deporte en una cohorte de pacientes genotipados (135-137).

6.2. Efecto del sexo, deporte e hipertensión arterial

Sexo

Existen diferencias significativas en la presentación y curso clínico de diferentes enfermedades respecto al sexo. Se han evidenciado diferencias en la cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular, enfermedad arterial cerebrovascular, etc. (131;138-142).

Se ha hipotetizado que el sexo es uno de los factores modificadores importantes en la MCH(10). Aunque tanto varones y mujeres estén afectados con la misma frecuencia, las mujeres tienden a desarrollar la enfermedad a una edad más tardía que los hombres, pero cuando aparece, éstas son más sintomáticas y tienen peor pronóstico (138).

Actividad física

La apreciación de que la MCH es una “enfermedad del sarcómero”, sugiere mecanismos potenciales por los cuales el ejercicio podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de HVI en la MCH. Los deportistas de elite de ciertas disciplinas sufren adaptaciones en las dimensiones de las cámaras cardíacas, que habitualmente implican un aumento del volumen de los ventrículos y cierto grado de hipertrofia. El corazón de atleta se manifiesta como una hipertrofia simétrica fisiológica, en contraste con la hipertrofia asimétrica del VI de MCH.

A nivel experimental se ha demostrado el efecto perjudicial del ejercicio físico en modelos animales portadores de mutaciones causales de MAVD, concretamente en JUP/PKG (143). Este tipo de estudios no se han realizado en el ámbito de la MCH.

A pesar de la ausencia de evidencia de que el deporte conlleve el desarrollo de un mayor grado de hipertrofia en los pacientes con MCH y que tampoco existan estudios que demuestren un mayor riesgo arrítmico de la actividad física, tanto las guías de práctica clínica de las asociaciones de Medicina del Deporte como las asociaciones internacionales de Cardiología (AHA, ESC) desaconsejan la realización de ejercicio competitivo en pacientes con diagnóstico de MCH. La restricción del deporte se extiende incluso a los portadores genéticos sin enfermedad desarrollada (144).

Hipertensión arterial

La HTA, de la misma forma que el ejercicio físico regular intenso, se asume que es un activador del grado de HVI vía inducción de las rutas moleculares que llevan a la hipertrofia del cardiomiocito (145).

El grado de HVI justificable por la HTA es de grado leve en pacientes **de europeos**. De forma similar a como ocurre con los deportistas de élite, el grosor VI máximo rara vez supera los 15mm de grosor y excepcionalmente supera los 18mm. La HVI reactiva a la HTA severa, el corazón de atleta y la estenosis valvular aórtica severa es habitualmente de distribución concéntrica. Los grosores más severos se han observado en pacientes HTA, o en atletas de determinadas especialidades deportivas de origen africano o etnia afroamericana (37;144).

6.3. Polimorfismos genéticos

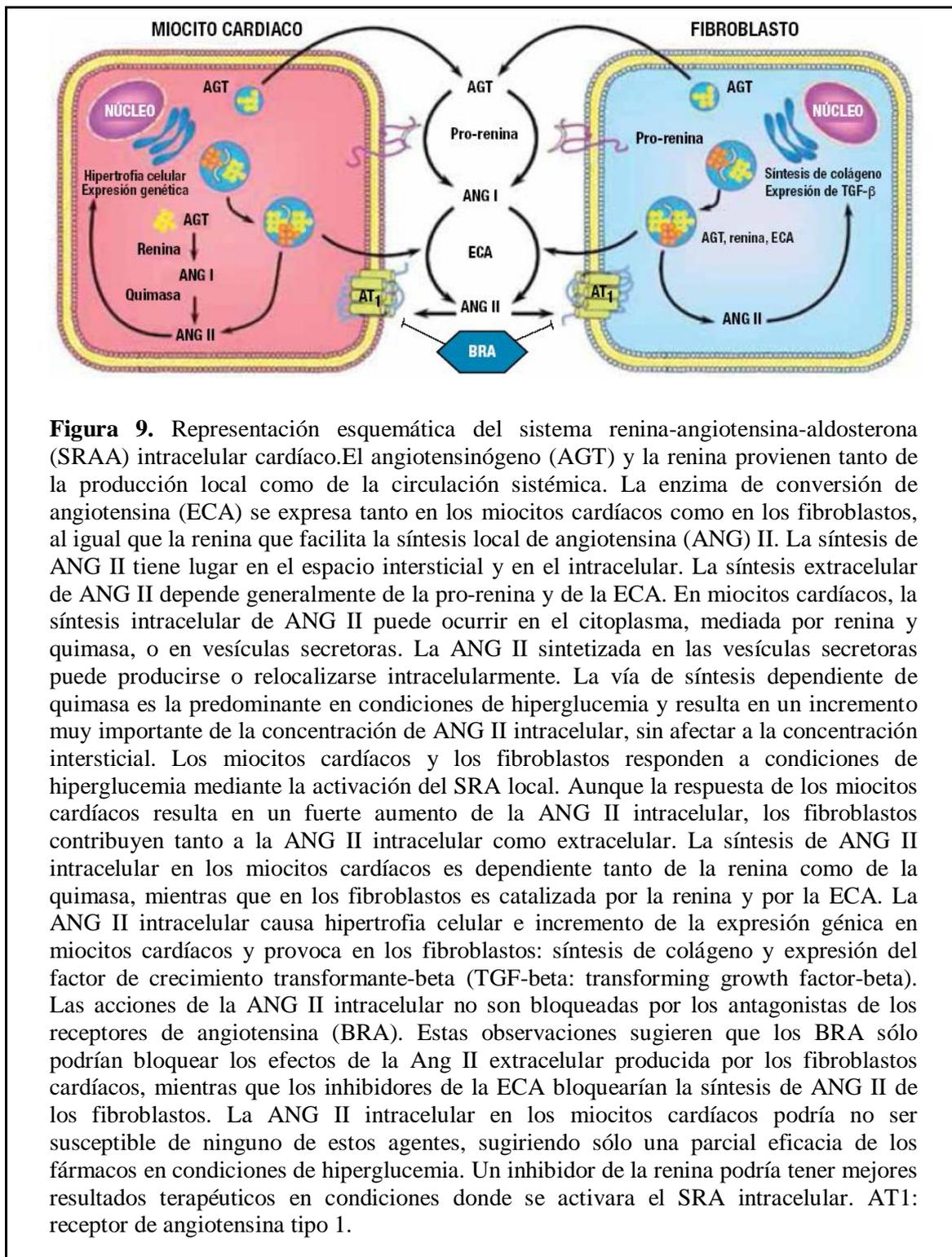
Muchas sustituciones de aminoácidos en la secuencia del ADN no causan enfermedad y son considerados como polimorfismos benignos. Son variantes de la secuencia que se encuentran en una proporción mayor al 1 o 2% en una población control normal, proporción que elimina la posibilidad de que se trate de una mutación reciente o propia de un individuo concreto.

6.3.1. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

Además de las mutaciones en las proteínas sarcoméricas que modifican la función del miocito asociadas con la hipertrofia, la desorganización de las fibras y la fibrosis intersticial, existen algunos polimorfismos en proteínas no sarcoméricas que facilitan el desarrollo de HVI y podrían también modificar el fenotipo en pacientes con MCH (8;116;146;147). Dentro de estos tienen especial interés los polimorfismos en los genes del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) (147-149) (123). El Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) tiene un papel importante en el remodelado cardiaco y la fibrosis. De demostrarse la asociación entre determinados polimorfismos y la expresión fenotípica de la MCH se justificaría el uso de agentes terapéuticos preventivos en portadores genéticos. Hasta la fecha los ensayos con fármacos en modelos animales han sido negativos.

Diversos trabajos han profundizado en este tema. Hay estudios en los que se relacionan determinados polimorfismos con el grosor de la pared del VI (148;150;151) y, por tanto, el estudio de polimorfismos en MCH podría aportar información sobre factores de modificación de la expresión fenotípica de la enfermedad.

El SRAA contribuye tanto a la HVI como al remodelado a través de efectos mediados por la angiotensina circulante como activador local de SRAA en el miocardio (124) (Figura 9).



La Angiotensina (Ang) I (un decapeptido), producida por el angiotensinógeno (AGT) por mediación de la renina, se convierte en Ang II (un octapeptido) predominantemente por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y posiblemente por la quimasa I cardíaca (CMAI) (152),. La Ang II, que además es un

potente vasoconstrictor, se une mayoritariamente al receptor tipo I de Ang II (AGTR1) de los fibroblastos cardiacos para modular el crecimiento celular e hipertrofia en el miocardiocito a través de la estimulación de factores de crecimiento y citokinas (153-155). Esto también estimula la producción e incremento de los niveles de aldosterona por la aldosterona sintasa (CYP11B2), lo cual promueve la retención de fluidos y fibrosis cardiaca (156). La producción de angiotensinógeno en el corazón depende de la renina producida por el riñón, la cual es liberada a la circulación, donde entrarán por difusión al intersticio cardiaco o se unirán a células cardiacas.

La presencia de polimorfismos en los genes que codifican para proteínas del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) podrían de este modo modificar la activación del RAAS y/o la función receptora (157) (146;158;159).

Uno de los polimorfismos más estudiados está el gen de la ECA (*polimorfismo DD-ECA*) (126;146;150;159;160). Este polimorfismo podría modificar el fenotipo de la enfermedad de manera gen-dependiente, es decir depende de la mutación génica que determina el defecto primario, tendría un efecto más marcado en portadores de mutaciones en un determinado gen y no en otro (126;156). Se ha descrito que los genotipos que producen una mayor actividad plasmática de la ECA tendrían un efecto perjudicial sobre el riesgo de MS o el grado de hipertrofia (151).

Los pacientes con el genotipo DD tienen aumentada la concentración de ECA en tejido y tienen valores aumentados de angiotensina (AGT) II, la cual se ha identificado como inductora de la hipertrofia cardiaca (147;148;161-163). El polimorfismo deleción/inserción (D/I) en la ECA ha sido asociado con varios desórdenes cardiovasculares, incluido la HVI en pacientes con MCH portadores de mutaciones en genes sarcoméricos (149;151).

Otros elementos del sistema SRAA sugeridos como posibles moduladores de la variabilidad en la expresión morfofuncional de la enfermedad afectan al gen de la aldosterona sintasa (CYP11B2), al del angiotensinógeno (AGT), y al del gen del receptor de la angiotensina (AGTR1) (149;156;164;165).

Con respecto a la síntesis de *aldosterona*, existen datos que podrían relacionar la enfermedad con modificaciones genéticas, aunque los estudios ofrecen resultados

contradictorios (126;149;165). La aldosterona actúa como un factor proinflamatorio, hipertrófico y profibrótico en el corazón (149;156).

El *polimorfismo -344C/T del gen CYP11B2 (aldosterona sintasa)* en el cromosoma 8q22 también se ha relacionado con el desarrollo de MCH (126;149).

Otro de los polimorfismos estudiados en el *gen del angiotensinógeno (AGT)* conocido como p.M235T (resultado de un intercambio T/C en exón 2), podría tener influencia en el remodelado cardiaco en pacientes con MCH, aunque no en todos los estudios se ven efectos del genotipo CC del gen AGT con la HVI (150)

Con respecto a los receptores del SRAA el más estudiado ha sido el *Receptor AT1*. El polimorfismo A/C en posición 1166 en el cromosoma 3q21 (AGTR1) se ha relacionado con el desarrollo de HVI (150;164), posiblemente por la acrecentada actividad del receptor. Debido a que este polimorfismo se encuentra en la región UTR no traducida del gen, estudios de alineamiento demostraron que el polimorfismo +1166 A/C ocurre en un sitio de regulación en cis, el cual es reconocido por un microRNA específico (miR-155). Este es un microRNA que silencia la expresión del gen por apareamiento de sus bases en la secuencia complementaria de la región 3'UTR. Así, cuando el alelo +1166C está presente se interrumpe el apareamiento de las bases y por lo tanto decrece la habilidad del microRNA por interactuar con el lugar de regulación en cis del gen (166).

6.3.2. ADN mitocondrial

Las mitocondrias son orgánulos celulares dinámicos responsables de una diversidad de funciones esenciales en los miocardiocitos, es el lugar de oxidación del piruvato y del ciclo del ácido cítrico. Estas, son reacciones metabólicas necesarias para generar energía y adenosín trifosfato (ATP) mediante la cadena de transporte de electrones y fosforilación oxidativa, muchas vías de señalización, control de apoptosis, así como control de la concentración de calcio citosólico(167).

Una sola célula contiene cientos de mitocondrias y cada mitocondria contiene su propio ADN (ADNmt). El genoma mitocondrial es heredado de la madre sin que por ello pueda tener lugar el fenómeno de la recombinación. Contiene entre 3-10 moléculas

de ADN circular con 16569 pares de bases, compuesto por una región control no codificante y una región de 37 genes codificantes libres de intrones. Estos 37 genes codifican para 13 de las proteínas mitocondriales (las involucradas en la fosforilación oxidativa, subunidades esenciales para la generación del ATP(168) como son los complejos I-IV y el complejo V (ATP-sintasa), mientras que otras 80 están codificadas en el núcleo y subsecuentemente importadas desde citoplasma a la mitocondria(169). El resto de los genes codifican para 2 especies de ARN ribosomal (ARNr) y para 22 especies de ARN transferente (ARNt) requerido para la translación intra-mitocondrial.

Las mutaciones en la línea germinal del ADNmt están asociadas frecuentemente con enfermedades multisistémicas y están implicadas en disfunción cardíaca y algunas de ellas se han asociado con MCH, o bien de forma aislada o como parte de un síndrome multiorgánico (170).

Herencia materna

El ADN mitocondrial tiene un patrón de herencia materna, es decir, lo transmite la madre a toda su descendencia (171). Se conoce que las mitocondrias de los espermatozoides son destruidas selectivamente en el oocito y se ha demostrado que el ADNmt paterno es marcado para su destrucción en el oocito por ubiquitinación. Además, por carecer de recombinación, el ADNmt se comporta como un bloque de genes ligado que se transmite a lo largo de las generaciones sucesivas, lo que ha facilitado a los investigadores estudiar los diferentes linajes a lo largo del tiempo, destacando el ancestro materno de una población sin los efectos de la herencia biparental y recombinación inherentes al ADN nuclear. En consecuencia, solo la aparición de mutaciones nuevas actuaría como fuente de variación entre el ancestro femenino y sus descendientes.

Tasa mutacional

El ADNmt ha ido acumulando variantes polimórficas o polimorfismos de un solo nucleótido (SNP's) a través de la historia(172) y esta variación queda acumulada secuencialmente durante la evolución a lo largo del linaje materno. Posee una tasa de mutación 10-20 veces mayor que la que tiene el ADN nuclear, con una frecuencia estimada de 0.017×10^{-6} sustituciones por sitio y año para el genoma completo (excluyendo la región de control donde la tasa mutacional es mayor).

Consecuentemente, se supone que los polimorfismos en el ADNmt contribuyen más extensamente a las diferencias funcionales entre individuos que aquellos que se den en el ADN nuclear (169).

6.3.2.1. Haplogrupos mitocondriales

La relativa alta tasa mutacional aparejada a una herencia estrictamente materna han convertido al ADNmt humano en un sistema genético adecuado para el estudio del origen y evolución de nuestra especie(173;174). Los estudios de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción de un rango amplio de poblaciones humanas han revelado que de entre todas las mutaciones que se han ido acumulando en el ADNmt humano, hay muchos polimorfismos de un solo nucleótido ancestrales, que son específicos de la etnia y que son capaces de definir una región específica y discreta en la que se subdivide la población humana y a la que se le llaman haplogrupos mitocondriales. Se entiende por linaje humano o haplogrupo a un grupo monofilético de genomas mitocondriales relacionados entre sí por mutaciones únicas compartidas y heredadas de un único ancestro materno (175). Desde el trabajo inicial de Brown (1980) hasta el presente, numerosos estudios han puesto en evidencia el alto grado de polimorfismos del ADNmt humano en varios miles de individuos de diferentes poblaciones (176-178) (179). Estas poblaciones de SNP's específicas han formando brazos en un árbol filogenético con genotipo de ADNmt relacionados. Las mayores subdivisiones de la filogenia del ADNmt glogal ocurrieron hace mas de 10.000 años (175;180). La función energética mitocondrial está influenciada por variantes funcionales del ADNmt que alteran la eficiencia mitocondrial y permite a los individuos adaptarse a los distintos ambientes energéticos (181).

Más del 95% del ADNmt de individuos de ancestro europeo pertenecen a uno de los 9 haplogrupos, H, J, T, U, K , V, I, W y X (175). Cada haplogrupo está definido por variantes que abarcan transiciones y transversiones en genes que codifican tanto para ARN como para proteínas específicas en la población (Figura 10).

Así que, los haplogrupos del ADNmt afectarían a la cadena respiratoria mitocondrial(182) y conferirían características funcionales diferentes en los individuos. En particular el haplotipo J se ha asociado con un incremento en la longevidad en

Europeos, pudiéndose especular que este haplogrupo mitocondrial incluye mutaciones que mejoran los niveles redox retrasando así la aparición de enfermedades dependientes de la edad (183).

Haplogrupo	Polimorfismo					
	C7028T	A4917G	G13708A	G9055A	A12308G	G4580A
H	C	A	G	G	A	G
T	T	G	G	G	A	G
J	T	A	A	G	A	G
U	T	A	G	G	G	G
K	T	A	G	A	G	G
V	T	A	G	G	A	A
HV	T	A	G	G	A	G

Figura 10. Variantes usadas para la definición de los haplogrupos

Además, algunos haplogrupos se han asociado con el riesgo de desarrollar enfermedades comunes como Parkinson y Alzheimer, accidente cardiovascular isquémico, enfermedades coronarias, hipertrofia cardíaca y muchos tipos de cáncer. Estos efectos en la susceptibilidad de la enfermedad se podrían explicar por las diferencias entre los haplogrupos en la eficiencia del consumo de oxígeno, producción de ATP y formación de radicales del oxígeno.

Con el desarrollo de las técnicas de diagnóstico genético y su implementación en la práctica clínica, el número de individuos genéticamente positivos y fenotípicamente negativos se ha incrementado de manera drástica en las unidades de miocardiopatías. El interés del estudio de los factores ambientales y genéticos que pudieran determinar el momento del desarrollo del fenotipo o la severidad de este, estriba no sólo en mejorar el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad sino también en conocer el papel de

fármacos que pudieran influenciar esta expresión, como los inhibidores del SRAA, los antialdosterónicos, los antioxidantes, los bloqueantes de los canales de calcio, las estatinas, etc. (184;185)

CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Estudiar la influencia de factores ambientales moduladores en el grado de hipertrofia de una población de pacientes con MCH y diagnóstico genético.
2. Estudiar el papel de los polimorfismos genéticos en el SRAA en el fenotipo de la MCH.
3. Determinar el papel de los haplogrupos mitocondriales en la expresión clínica de la MCH.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

1a. El estudio de aquellos factores ambientales (sexo, edad a la que se diagnóstica, HTA y deporte) que puedan estar relacionados con la MCH permitirá conocer su influencia sobre la severidad de la hipertrofia en los pacientes con MCH. El factor más importante relacionado con la MCH es la edad, se confirmara el efecto del sexo. En cambio, el efecto supuestamente perjudicial del deporte y la hipertensión no se traducen en cambios estructurales y/o morfológicos en nuestra población.

1b. El conocimiento de aquellos factores que estén modulando la enfermedad hará posible estratificar el riesgo de aquellos pacientes dentro de una misma familia portadores de una misma mutación.

2. Existen polimorfismos genéticos dentro del mismo gen portador de la mutación causal o en genes distintos que están modulando la severidad de la enfermedad. Existen polimorfismos del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona que de forma aislada no suponen nada en la hipertrofia pero en combinación tienen un efecto significativo y pueden comportarse de forma diferente.

3. El haplotipo mitocondrial es una condición individual que permitirá conocer otro factor modulador de la enfermedad en pacientes portadores de mutación asociada a MCH.

CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Población de estudio

1.1. Características clínicas

Los pacientes incluidos en el presente estudio se reclutaron durante un periodo de 13 años (2002-2015) en la consulta familiar de cardiopatías hereditarias en el que participaron varios cardiólogos del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) de Murcia.

La población de estudio está compuesta por un total de 272 individuos genotipados de 72 familias, con una edad media al diagnóstico de 49.0 ± 17.5 años, de los cuales 155 (57%) eran varones. Todos ellos cumplían con los criterios de diagnóstico clásicos para la MCH familiar: un septo interventricular ≥ 15 mm para los probandos o ≥ 13 mm para los familiares, y siempre la hipertrofia no fuera secundaria a otra enfermedad cardíaca o sistémica capaz de producir HVI (como hipertensión, enfermedad valvular e insuficiencia cardíaca)(62;186;187)

1.2. Diagnóstico genético

Para poder estudiar la influencia de los factores moduladores, partimos de una población de pacientes con MCH genotipados. Todos ellos eran portadores de una mutación causal, algunas de las cuales estaban ya descritas en la bibliografía y a otras se les había hecho estudios de cosegregación para asegurar su patogenicidad.

Se secuenciaron los genes sarcoméricos donde se encuentran las mutaciones causales de MCH con más prevalencia (MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNI y TPM).

Aunque la población de estudio está compuesta por 272 individuos, no en todos se habían analizado todos los genes sarcoméricos. En principio, el diagnóstico genético se realizó en 36 (50%) de los probandos, en los cuales se secuenciaron los genes sarcoméricos MYBPC3 (NM_000256.3, OMIM: 600958) y MYH7

(NM_000257, OMIM: 160760). En 23 (31.9%) de estos, se hizo un estudio genético más completo incluyendo la secuenciación de los genes TNNT2, TNNT3 y TPM1. En 36 (50%) únicamente se secuenciaron los fragmentos de muestras donde se encontraron mutaciones fundadoras de la Región de Murcia (en MYBPC3 y MYH7). Finalmente, se les hizo un test predictivo a todos los familiares, de primer grado en principio y extensivo al resto de los familiares, para la búsqueda de la mutación identificada en el probando.

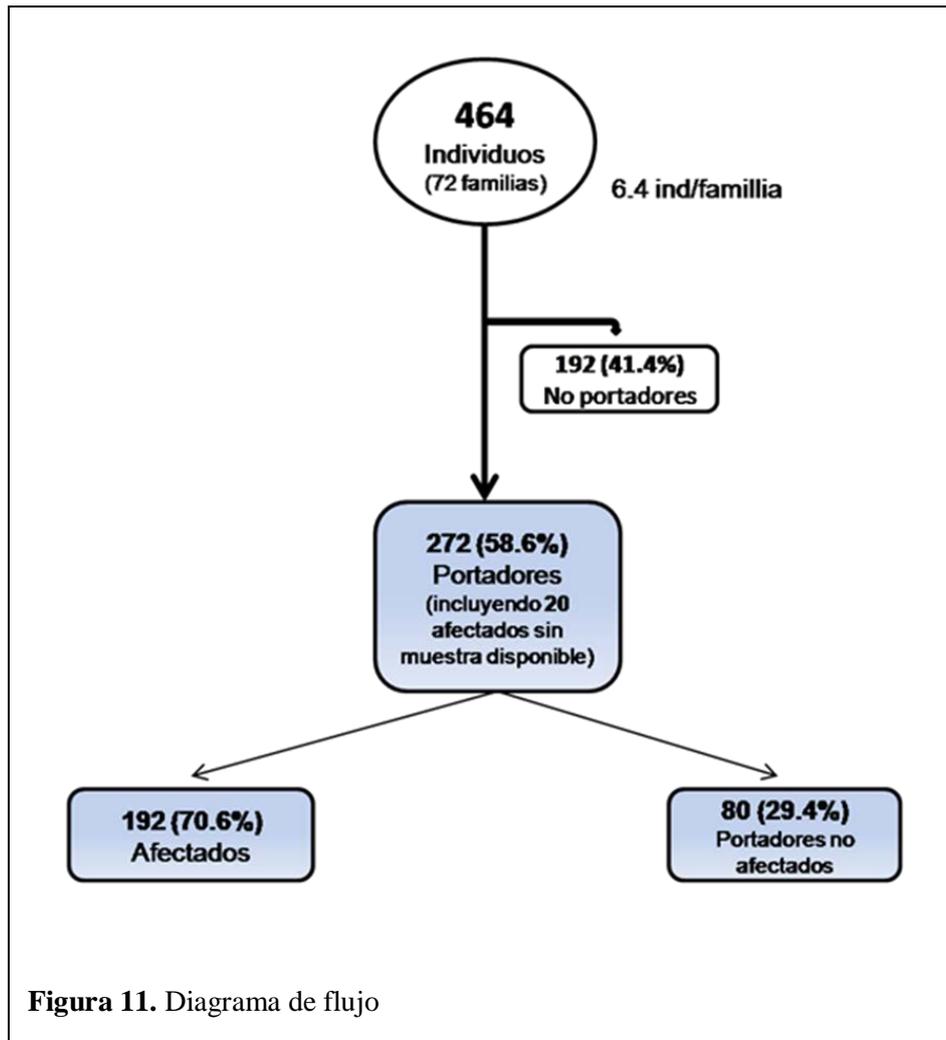
De todos los pacientes, 221 (81%) eran portadores de una mutación en el gen MYBPC3: c.2308+1G>A (n=85 (31,7%)), p.R891Afs*160 (n=65 (13,8%)), p.P108Afs*9 (n=49 (18,0%)), p.E258K (n=22 (8,1%)); y 51 eran portadores de una mutación en el gen MYH7: p.T1377M (n=22 (8,2%)), p.D928N (n=13 (4,9%)), p.E1348Q (n=4 (1,5%)), p.E1356Q (n=4 (1,5%)), p.E1387Q (n=4 (1,5%)), p.R1079Q (n=2 (0,7%)), p.R1382Q (n=2 (0,7%)). En la Tabla 3 detallamos el porcentaje de pacientes con cada una de las mutaciones en MYBPC3 y MYH7.

Dado el elevado número de familias portadoras de las variantes c.2308+1G>A y p.P108Afs*9 en el gen MYBPC3, se realizó un estudio de microsatélites previo a esta tesis doctoral, en el que se pudo demostrar en ambas un efecto fundador y en el que se identificó un ancestro común a todas las familias portadoras de cada variante.

Tabla 3. Frecuencia de las mutaciones en la población de estudio

Mutación	Nº Familias	Nº Portadores
MYBPC3		
IVS23+1G>A c.2308+1G>A	21 (29.6%)	85 (31.7%)
R891Afs*160 c.2670-267ins G	19 (26.8%)	65 (24.3%)
P108Afs*9 c.321-322ins GCTGGCCCCTGCC	13 (18.3%)	49 (18.3%)
p.E258K c.772 G>A	5 (7%)	22 (6.7%)
MYH7		
p.T1377M c.4130 C>T	5 (7%)	22 (8.2%)
p.R1382Q c.4145 G>A	2 (2.8%)	2 (0.7%)
p.D928N c.2782 G>A	3 (4.2%)	13 (4.9%)
p.E1348Q c.4042 G>C	1 (1.4%)	4 (1.5%)
p.E1356Q c.4066 G>C	1 (1.4%)	4 (1.5%)
p.E1387Q c.4159 G>C	1 (1.4%)	4 (1.5%)
p.R1079Q c.3236 G>A	1 (1.4%)	2 (0.7%)

Ocho individuos (2,9%) eran portadores además de una mutación adicional, en el mismo gen donde se identificó la primera o en otro gen. Además, se incluyó en nuestro estudio una cohorte identificada como portadores obligados, 20 individuos afectados de los que no se tenía muestra. De los 464 individuos de los que partimos (72 familias), excluimos 192 (41,4%) individuos debido a que no eran portadores de la mutación familiar (Figura 11).



1.3. Evaluación clínica y principales variables estudiadas

En todos los probandos, la revisión clínica consistió en la realización de una historia completa (preguntas sobre sus síntomas, antecedentes clínicos, historia de hipertensión) y un examen clínico que incluía electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones, ecocardiograma bidimensional, prueba de esfuerzo para hacer la estratificación de riesgo de muerte súbita (MS) y un Holter-ECG de 24 horas.

Se clasificó la disnea o capacidad funcional por medio del sistema propuesto por la “New York Heart Association” (clase NYHA), y se les interrogó acerca de las causas de los fallecimientos de los familiares, si los había, y por la práctica/intensidad del ejercicio físico realizado por cada individuo.

En todos los pacientes se recogieron una serie de variables en relación a la caracterización del fenotipo, que incluyeron: edad al diagnóstico, edad del último seguimiento, sexo, consanguinidad, forma de presentación (casual, gracias al “*screening*” familiar o presencia de síntomas) y antecedentes familiares de MS no explicada.

En el estudio ecocardiográfico, las variables que se midieron fueron: severidad de la hipertrofia del VI (GRHVI), grosor del VI indexado a la superficie corporal (IGRHVI), calculado dividiendo la masa del VI entre el área de la superficie corporal), masa del VI, calculada por el método de Devereaux y Penn, distribución de la hipertrofia (septal asimétrica, concéntrica y apical), morfología del septo del VI (reverso, sigmoide, apical, neutro), situación clínica al final del seguimiento (síncope, clase funcional NYHA) función sistólica, (FEVI) y diastólica, diámetro telediastólico del VI (DTDVI) (mm), diámetro auricular izquierdo (AI)(mm) y presencia/ausencia de obstrucción, la obstrucción (LVOT) se definió como LVOTG >30 mmHg. También se evaluó la presencia/ausencia de taquicardia ventricular no sostenida (TVNS) en Holter ECG de 24 horas y presencia/ausencia de RPA al esfuerzo, al igual que eventos arrítmicos y complicaciones durante el seguimiento como FA (si/no), ACV, MS resucitada y NYHA III-IV.

Se definieron como eventos finales para el análisis de supervivencia, la MS, presencia de FA, ACV y NYHA III-IV, por separado y combinados. La muerte súbita cardíaca se define como la MS presenciada, con o sin documentación de fibrilación ventricular, dentro de la primera hora del inicio de los síntomas, o muerte nocturna sin el antecedente de empeoramiento de la sintomatología. La estimación del riesgo de muerte súbita en los siguientes 5 años se calculó mediante la fórmula provista por O'Mahoney (44).

Se consideró la fecha de la primera valoración en nuestro centro como fecha de inicio del seguimiento para el análisis de supervivencia. Todos los pacientes tuvieron un seguimiento durante una media de $5,5 \pm 3,3$ años.

Después del examen cardiaco, 192 (70,6%) individuos (edad $52,5 \pm 16,6$ años, 127 (66,1%) hombres) presentaron los criterios diagnósticos y se consideraron como clínicamente afectados (pacientes), mientras que 80 (29,4%) se consideraron normales.

Todos los pacientes y controles utilizados para el estudio eran de raza caucásica y tanto pacientes como familiares recibieron información detallada de su patología y dieron su consentimiento por escrito para la participación en el estudio genético (**anexo 1**). Los datos clínicos fueron recogidos de forma protocolizada y almacenados en una base de datos diseñada para el estudio de las cardiopatías hereditarias.

1.4. Estudio de los moduladores ambientales: sexo, deporte e hipertensión

Para el estudio de la actividad física como posible modulador del fenotipo de la MCH, los individuos se clasificaron en 3 grupos según la frecuencia e intensidad del ejercicio en sus últimos dos años.

Grupo 1 [156 (84,9%)]. Sedentarios: incluye 137 individuos sedentarios (74,5%), y 19 individuos que realizan ejercicio menos de 2 horas/semana (10,3%).

Grupo 2 [17 (9,3%)]. Moderado: incluye 13 individuos que realizan ejercicio entre 2 y 5 horas/semana (7,1%). Además, se incluyeron en este grupo 4 individuos que realizan un trabajo con demanda física (2,2%).

Grupo 3 [11 (6,0%)]. Intenso: incluye 6 atletas amateur, profesionales (3,3%) y 5 atletas ex-profesionales (2,7%) que realizan ejercicio durante más de 5 horas/semana.

En cuanto al factor hipertensión, clasificamos a los pacientes como hipertensos o normotensos. Según las últimas guías de la ESC de 2013 se considera HTA si la tensión arterial sistólica es mayor o igual de 140 y/o una tensión diastólica mayor o igual de 90 mmHg.

Sesenta y tres (24,2%) de los 260 individuos evaluados tenían HTA y de entre los 192 pacientes afectados, hubo un grupo de 58 (31,7%) con HTN y un segundo grupo de 125 (68,3%) normotensos.

La influencia de la HTA en la MS no fue posible evaluarla por no disponer de este antecedente de forma fiable en los casos de pacientes fallecidos de forma súbita.

Finalmente, para el estudio del sexo como factor modulador del fenotipo, partimos de una población de 127 (66,1%) varones y 65 (33,9%) mujeres.

1.5. Moduladores genéticos. Diseño del estudio.

De los 192 pacientes portadores clínicamente afectados que participaron en el primer objetivo, no de todos se disponía de muestra sanguínea o de ADN para realizar el estudio genético, se trata de aquellos pacientes que se consideraban portadores obligados o que habían fallecido por MS. Así, el estudio de los polimorfismos se hizo en una población de 156 (91%) pacientes consecutivos (67% varones, 54 ± 15 años, rango de 7-86 años).

Para el análisis de los polimorfismos, se partió de un producto amplificado de PCR, el cual se analizó por RFLP o secuenciación. Las técnicas citadas se detallan en los puntos posteriores.

1.5.1. Polimorfismos del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA)

Todos los pacientes se genotiparon mediante RFLP y secuenciación automática para seis polimorfismos de los genes del eje neuro-hormonal del (SRAA) que seleccionamos como candidatos según estudios de asociación previos, efectos funcionales conocidos de estos polimorfismos y prevalencia en la literatura médica publicada (62;148;188-190).

Así, los genes que se incluyeron en el estudio fueron la enzima convertidora de angiotensina (ECA) (NC_000017.11), el angiotensinógeno (AGT) (NM_000029.3), el

receptor tipo I de angiotensina II (AGTR1) (NM_009585.3), la aldosterona sintasa (CYP11B2) (NM_000498.3) y la quimasa A cardiaca (CMA1) (NC_000014.9). Los alelos en la región codificante se numeraron siguiendo la nomenclatura estandar (191) (Tabla 4) (mirar la base de datos *Ensembl* para la definición de estas variantes génicas; <http://www.ensembl.org>).

Tabla 4. Resumen de los genes del SRAA estudiados

Gen	Localización	Polimorfismo	Referencia
ECA	Intrón 16	I/D de 288 pb	rs4646994
AGT	Exón 2	c.803 T>C	rs699
AGT	Exón 2	c.620 C>T	rs4762
AGTR1	3'UTR	c.1166 A>C	rs5186
CYP11B2	Promotor	-344 C>T	rs1799998
CMA1	Promotor	-1903 G>A	rs1800875

El polimorfismo del SRAA que se sabía estar asociado con un efecto pro-hipertrofia se definió como polimorfismo pro-HVI. La homocigosidad para el alelo pro-HVI constituía el genotipo pro-HVI, y se definieron como estaban previamente descritos, nombrándose como DD-ECA, CC-AGT para el caso de p.M235T, TT-AGT para el caso de p.T174M, CC-AGTR1, AA-CMA y CC-CYP11B2. Para cada paciente se calculó un score pro-HVI sumando el número de genotipos pro-HVI presentes en cada uno.

Para el análisis de estos polimorfismos, usamos en primer lugar un modelo recesivo y posteriormente un modelo dominante. En el estudio, analizamos si existía una relación entre cada uno de los seis polimorfismos pro-HVI separadamente y severidad de

la enfermedad, también analizamos la combinación de ellos y su relación con el fenotipo (151;164) (Lechin M 1995, Doolan G 2004, Osterop AP 1998) (192).

1.5.2. ADN mitochondrial

Para el estudio de la relación entre el haplogrupo de cada paciente con la expresión fenotípica de la enfermedad, se han estudiado polimorfismos ancestrales que se usan actualmente para estudios de evolución humana y que son marcadores de la variabilidad del ADNmt heredado.

Para cada individuo se amplificó por PCR una serie de fragmentos que correspondían con cada sitio polimórfico de estudio y que nos iba a permitir realizar la tipificación del haplogrupo al que pertenecía cada paciente.

Se estudiaron los siete haplogrupos europeos más comunes. Para ello, analizamos seis polimorfismos del ADNmt: m.4917A>G, m.4580G>A, m.7028C>T, m.9055G>A, m.12308A>G y m.13708G>A de acuerdo con la secuencia de referencia NCBIgi: 251831106.

Al igual que con los polimorfismos del SRAA, los polimorfismos mitocondriales se detectaron tanto por RFLP (m.7028C>T, m.9055G>A y m.13708G>A) como por secuenciación (m.4917A>G, m.4580G>A y m.12308A>G)

2. Extracción de ADN genómico y mitochondrial

Tanto para el estudio de los polimorfismos del SRAA como para el estudio de los haplotipos mitocondriales, se extrajo el ADN (ácido desoxirribonucleico) genómico de todos aquellos casos en los que no se disponía de ADN mediante el sistema automático de Promega (Maxwell 16 Blood DNA Purification Kit) (Figura 12) a partir de 400µL de sangre periférica, extraída en tubo con anticoagulante EDTA.

La técnica se basa en la actuación de unas partículas paramagnéticas que funcionan como una fase sólida móvil que optimiza la captación, lavado y elución de la muestra. Las muestras de ADN se llevaron a una concentración de 20 ng/ μ

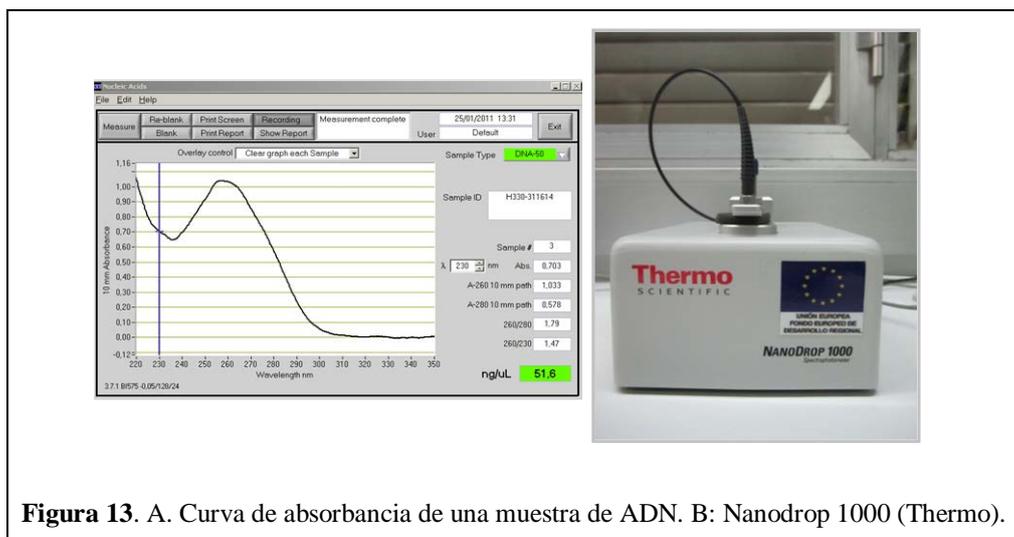


Figura 12. A. Maxwell 16 System. B. Guía de utilización del Maxwell 16. C Esquema detalle de la extracción de ADN.

1

3. Determinación de pureza y concentración

Se midió la concentración y pureza del ADN mediante espectrofotometría utilizando el equipo de Thermo Scientific, Nanodrop 1000 (Figura13).



Las medidas se realizaron a una absorbancia (A) de 260 nm, a la que absorben los ácidos nucleicos, para la concentración y la obtenida de la relación entre A_{260}/A_{280} nm para determinar la calidad del ADN extraído, considerándose un ratio entre 1,5-1,8 como aceptable.

4. Amplificación por PCR

Mediante la técnica de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) se amplificaron cada una de las regiones del ADN susceptibles de portar el polimorfismo de interés en cada uno de los genes de estudio.

La reacción se llevó a cabo con kit de Promega Go Taq Hot Start polymerase, siguiendo las recomendaciones del fabricante de la enzima *Taq DNA Polimerasa*. La enzima de Promega necesita un tiempo de activación menor que otras de las que están disponibles en el mercado, además reduce la formación de productos inespecíficos y la formación de dímeros de cebadores. La reacción se llevo a cabo en un volumen final de 25 μ l, conteniendo para cada reactivo la siguiente concentración 0.2 mM de cada dNTP (desoxinucleótido trifosfato: ATP, GTP, CTP, TTP), 2 mM de $MgCl_2$, 0.4 μ M de cada cebador (sentido y antisentido), 0,625 U de Taq y 50ng de ADN (Tabla 5).

Tabla 5. Reacción de PCR

PCR	V (μL)	[Final]
H ₂ O	10,87	-
Buffer (5X)	5,0	1x
Cl ₂ Mg (25mM)	2,0*	2mM
dNTP's (2mM)	2,5	0,2mM
Primer F + R (10mM)	1+1	0,4 μM
Taq (0,5 U/ μL)	0,125	0,625U
DNA (20ng/ μL)	2,5	50ng
<u>Vol. Total</u>	<u>25 μL.</u>	

* En las reacciones de PCR de los polimorfismos de los genes CYP11B2 y CMA1 la cantidad de MgCl₂ fue de 1.5 μL

Las condiciones generales de amplificación consistieron primeramente en una fase de reactivación de la polimerasa a 94 °C durante 2', seguido de un programa de 35-40 ciclos que incluye tres temperaturas: 94 °C 1' (desnaturalización de hebra molde), una temperatura de anillamiento que en función del cebador podía variar desde 53°C a 65 °C durante 45'' y 72 °C 1' (tiempo de extensión); por último una fase de extensión final 72 °C 10' y 4 °C indefinidamente.

Las condiciones de la PCR variaron en función de las características de la región de DNA que se deseaba amplificar. En concreto, la concentración de Cl₂Mg se disminuyó a 1.5mM para algunas amplificaciones del SRAA (en los polimorfismos estudiados en los genes CYP11B2 y CMA).

Para comprobar la ausencia de contaminación durante la preparación de los reactivos, en cada experimento se utilizó además de las muestra un control negativo.

Los cebadores que se utilizaron para las amplificaciones de los polimorfismos del SRAA son de acuerdo a la publicación de Ortlepp et al (2002) y Perkins et al (2005) y se describen en la Tabla 6, mientras que los que se utilizan para la amplificación de los polimorfismos del ADNmt fueron de acuerdo al trabajo realizado por M Esther Gallardo y colaboradores (2012)., Mónica G. Castro (2006) y Christian M. Hagen (2013) (Tabla 7). Los cebadores de esta última referencia (los utilizados para la amplificación de 4580G>A y 12308A<G) tenían la particularidad de llevar una cola M13 en el extremo 5' que les confería la característica de tener unas condiciones

estándar para la PCR (T^a anillamiento de 60°C) y el poder usar cebadores estándar para la reacción de secuenciación.

Tabla 6. Oligonucleótidos empleados para amplificar los polimorfismos del SRAA.

SRAA		
Polimorfismo	T^a hibridación	Oligonucleótidos forward y reverse
ECA	64°C	F-5´-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3´ R-5´-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3
AGT (M235T)	59°C	F-5´-TCTGGACTTCACAGAACTGGAT-3´ R-5´-CTTGGAAGTGGACGTAGGTGT-3
AGT (T174M)	65°C	F-5´-GATGCGCACAAGGTCCTGTC-3´ R-5´-CAGGGTGCTGTCCACACAGGCTCCCAT-3
AGTR1	53°C	F-5´-ATAATGTAAGCTCATCCACC-3´ R-5´-GAGATTGCATTTCTGTTCAGT-3
CYP11B2	63°C	F-5´-CAGGAGGAGACCCCATGTGAC-3´ R-5´-CCTCCACCCTGTTCAGCCC-3
CMA1	64°C	F-5´-GGAAATGTGAGCAGATAGTGCAGTC-3´ R-5´-AATCCGGAGCTGGAGAACTCTTGTC-3

La amplificación se llevo a cabo en distintos modelos de termocicladores: 2720 Thermal Cycler de Applied Biosystems, GeneAmp PCR System 9700 y modelo Veriti de la misma casa.

Tabla 7. Oligonucleótidos empleados para amplificar los polimorfismos del ADNmt

MITOCONDRIA		
Polimorfismo	T ^a hibridación	Oligonucleótidos sentido y antisentido
C7028T	65°C	F 5'-TCGCCCACTCCACGGAAG-3' R 5'-TGGCGTAGGTTTGGTCTAGG-3'
A12308G*	60°C	F 5'-GGGCTCACTCACCCACCACAT-3' R 5'-AGCCACAACCCAAACAACCCA-3'
G9055A	56°C	F 5'-CCTTCTCTTCTTTCTCTCCTGGG-3' R 5'-GCACAGGATGCTCTCGTGG-3'
G13708A	58°C	F 5'-CCTCACAGGTTTCTACTCCAAA-3' R 5'-AAGTCCTAGGAAAGTGACAGC-3'
A4917G	63°C	F 5'-AGGCCAGGCATTCTCTCC-3' R 5'-TGCCCTGCAGAGGCCAA-3'
G4580A*	60°C	F 5'-CCTTTTGCTTGCTACATTTATCAT-3' R 5'-GCCACAAGCAGAGGGGACCAG-3'

*Oligonucleótidos sentido y antisentido diseñados con una cola M-13 (F 5'-TGTAACGACGGCCAGT-3' y R 5'-CAGGAAACAGCTATGACC-3')

5. Electroforesis en gel de agarosa

Para comprobar la amplificación del material genético mediante PCR se utilizó la técnica de electroforesis en geles de agarosa al 2% para separar los ácidos nucleicos y al 3% para comprobar inserción/delección del alelo de la ECA. La agarosa se fundió en un horno microondas en el tampón TBE 1X (Tris 89mM –ácido bórico 89 mM–EDTA (2mM) a pH8, 4. Bio-Rad (161-0770), después se añadió el reactivo GelRed (0,1 µL GelRed/1µL gel) (GelRed Nucleic Acid Gel Satín, 10000X in Water. Catalog number: 41003. Biotium), una solución de tinción fluorescente de ácido nucléico y se dejó que el gel polimerizara en las cubetas de electroforesis pequeñas de la marca BIORAD. Las

muestras se mezclaron con 1 μ l de tampón de carga (0,25% (W/V) azul de bromofenol, 0,25% (W/V) cianol xileno, 30% (V/V) de glicerol en agua) y la electroforesis se desarrolló a 80 voltios durante media hora en el caso de la comprobación de la amplificación por PCR. Para la detección de la inserción/delección de la ECA, se le disminuyó el voltaje a 60 V durante 1 hora.

El tamaño de las muestras se compara con un marcador de tamaño de peso molecular (pGEM DNA Markers. Promega). Se utilizaron para el revelado el trasiluminador Alpha Innotech y la cámara PowerShot A640 AiAF de Canon.

6. Técnica RFLP

En todos los polimorfismos estudiados, excepto para la detección del polimorfismo p.M235T del gen AGT y para tres polimorfismos mitocondriales (12308A>G, 4580G>A y 4917A>G) se llevó a cabo una amplificación por PCR y una digestión con la apropiada endonucleasa de restricción como se muestra en la Tabla 8.

La técnica de RFLP es una técnica muy rápida y económica para la determinación de la presencia o ausencia de polimorfismos o mutaciones puntuales. Para ello, se utilizan enzimas de restricción y se basa en la comparación de la longitud de los fragmentos de ADN resultantes de digestiones enzimáticas. Las enzimas utilizadas son de origen bacteriano y digieren el ADN dentro o cerca de una secuencia específica de reconocimiento que normalmente está constituida por 4 a 6 pares de bases. Cada una de ellas reconoce un determinado sitio de corte. Las mutaciones o polimorfismos que alteran una zona de reconocimiento por sustituciones de bases impiden la actividad enzimática en esa área y generan fragmentos de ADN de tamaño variable que son fácilmente puestos en evidencia mediante electroforesis

Tabla 8. Resumen de los patrones de corte para la detección de cada polimorfismo puntual

Polimorfismo	Endonucleasa	T° Incubación	Tamaño de los fragmentos (pb)
c. 620C>T	<i>NcoI</i>	5 minutos	WT: 303 Het: 303+211+92 Hom:211+92
c.1166A>C	<i>DdeI</i>	10 minutos	WT: 350 Het:350+211+139 Hom: 211+139
-344T>C	<i>HaeIII</i>	5 minutos	WT: 274+138+126 Het: 274+203+138+126+71 Hom: 203+138+126+71
-1903G>A	<i>BstXI</i>	5 minutos	WT: 192+93 Het: 285+192+93 Hom: 285
m.7028C>T	<i>AluI</i>	5 minutos	C: 183 +77 T: 153+ 77+30
m.9055G>A	<i>HhaI</i>	5 minutos	G: 185+115 A: 300
m.13708G>A	<i>MvaI</i>	5 minutos	G: 215+125 A: 340

WT: genotipo normal (wild type); Het: Heterocigoto; Hom: Homocigoto

Antes de preparar la reacción de digestión, hacemos una medida de la concentración del producto de PCR por espectrofotometría utilizando el equipo de Thermo Scientific, Nanodrop 1000 (Figura 13). Para cuantificar la concentración, las medidas se realizan a una absorbancia (A) de 260 nm, a la que absorben los ácidos

nucléicos. El producto de PCR previo a la digestión debía estar a una concentración de 20ng/μl.

El producto de PCR (fragmentos que contenían los SNP's analizados) se digirió en una mezcla que contenía un volumen total de 30 μl, la cual contenía por cada reacción 10 μl del producto de PCR no purificado a una concentración de 20ng/μl, 2 μl del buffer, 1 μl de la enzima de restricción (Biolabs) correspondiente para el lugar polimórfico y el resto de agua hasta completar los 30 μl,. a continuación se incubó a 37°C durante 5, 10 o 15 minutos según recomendación del fabricante de la enzima.

6.1 Enzimas de restricción y patrones de corte

Tras la digestión, los productos se cargaron en geles de agarosa al 3% para la correcta visualización de los fragmentos más pequeños. Para la total separación de los fragmentos de corte, la electroforesis se desarrolló a 60 voltios durante una hora. El resultado se visualizó tras la exposición del gel en la fuente de radiación ultravioleta.

Para los polimorfismos del SRAA, los patrones de bandas obtenidos tras la digestión se comparaban con patrones de bandas de controles conocidos (WT, heterocigoto y homocigoto) que previamente se habían secuenciado.

En cuanto a los polimorfismos mitocondriales, en la electroforesis, además de nuestro producto de la digestión, se cargaron un control positivo y negativo para poder comparar el patrón de bandas obtenido en nuestras muestras con el de estos controles.

7. Secuenciación automática

Para asegurarnos de que los patrones de bandas obtenidos por RFLP en cada polimorfismo equivalían a un determinado genotipo, se seleccionó el producto de PCR de dos pacientes de cada genotipo en base a los patrones de restricción obtenidos en la digestión descritos anteriormente y de forma paralela a la digestión enzimática se realizó la secuenciación directa mediante electroforesis capilar en doble dirección. De esta manera se confirmó por secuenciación el genotipo que se predecía del análisis con

las enzimas de restricción. Estas muestras sirvieron como control para los análisis posteriores. Además, se optó por esta técnica en aquellos polimorfismos en los que no se pudo conseguir enzima de restricción.

La secuenciación es la técnica por excelencia para la detección de alteraciones en la secuencia. Es una adaptación de la reacción enzimática dideoxi de *Sanger* (1977), y es la técnica con la que se estudio el polimorfismo p.M235T del AGT, el 12308A>G, el 4580G>A y el 4917A>G del ADNmt.

7.1. Purificación de productos de PCR (exosap)

El producto de PCR se purificó mediante un método enzimático, con el kit Exosap-It (Figura 14).

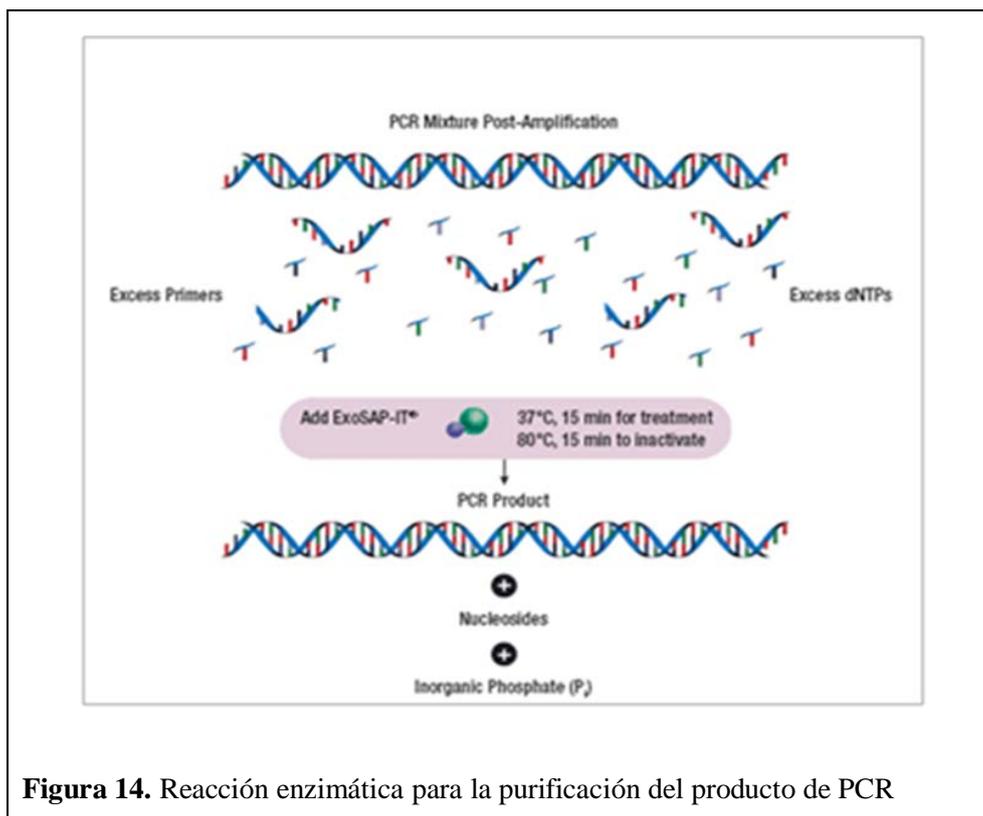


Figura 14. Reacción enzimática para la purificación del producto de PCR

Este kit incluye dos enzimas, la exonucleasa I, que elimina las cadenas simples de ADN residuales que se puedan formar en la PCR o restos de cebadores y una

fosfatasa alcalina que elimina los restos de dNTP's. Se mezclaron 5µL del producto de reacción de PCR con 2µL de Exosap-It, se incubó 15' a 37°C y seguidamente 15' a 80°C para su inactivación. Tras la purificación del amplicón, se utilizó una alícuota de 1.5µl de este producto de PCR purificado y utilizando los mismos cebadores que para la PCR, se realizó la reacción de secuenciación.

7.2 Reacción de secuenciación

La reacción de secuenciación se realizó siguiendo el procedimiento del proveedor (Applied Biosystems, Foster City, CA; USA). Se empleó el *Kit BigDye Terminator (BDt) v1.1*. Se trabajó con un volumen final de 5 µL, conteniendo 1,75 µL de "Buffer enhancer sequencing" (10X) para BigDye, 1,5 µL de agua miliQ, 0,25 µL de BigDye v1.1 (que contiene los dideoxinucleótidos marcados, la polimerasa de secuenciación AmpliTaq® y los dNTPs), 0,5 µL del cebador ("Forward" o "Reverse" 3,2 µM) y por último 1 µL del producto de PCR purificado (Tabla 9)..

Tabla 9. Reacción de secuenciación

Reacción de secuenciación	V (µL)
H ₂ O	1.5
Buffer enhancer sequencing	1.75
Primer F ó R (3,2 mM)	0.5
BigDye	0.25
Producto PCR	1.0
<u>Vol. total</u>	<u>5 µL.</u>

Cada reacción de secuenciación consistió en una desnaturalización a 96°C 1', seguido de un programa de 25 ciclos de tres temperaturas, 96°C-10'' de desnaturalización, 50°C-5'' de anillamiento y 60°C-4' de extensión.

Tras la reacción de secuenciación se eliminaron los restos de dNTP's sobrantes y posibles impurezas, mediante purificación en placa de columnas de Quiagen [DyeEx® (96 pocillos)]. Se centrifugaron las placas a 1000 g durante 1', después se añadió 300 µL de agua desionizada a cada una de las columnas y se volvió a centrifugar a 1000 g durante 3'. Al mismo tiempo se llevó el volumen de reacción de secuenciación hasta 15µl. Una vez descartado el filtrado de las columnas se aplicó el volumen de reacción a cada uno de los 96 pocillos de la placa y se volvió a centrifugar a 1000 g durante 3', en esta última centrifugación se utilizó una placa de 96 pocillos (MicroAmp™. Optical 96-Well Reaction Plate. AppliedBiosystems) adaptada para el secuenciador, para recoger el eluido con las muestras ya purificadas. Se añadieron 10 µL de formamida Hi-Di (Applied Biosystems) a cada pocillo, con el objetivo de desnaturalizar la doble hebra del ADN.

Cuando el número de muestras no era elevado se utilizaron las columnas de centrifugación de EdgeBio [Performa DTR (Dye Terminator Removal)]. Gel Filtration Cartridges. Se centrifugaron las columnas a 3000 rpm durante 2 minutos. Se retiró el agua restante y se colocó la columna en un vial de 1,5ml nuevo. Se añadieron a los 5µL de la reacción de secuenciación 10µL de agua miliQ, el volumen final (15µL) lo depositamos en el centro de la columna. Volvemos a centrifugar a 3000 rpm durante 2 minutos. Se añadieron 10 µL de Formamida Hi-Di (Applied Biosystems), seguidamente se traspasan las muestras purificadas a una placa de 96 pocillos (*MicroAmp™. Optical 96-Well Reaction Plate. AppliedBiosystems*).

Ambos kits se basan en la descripción de Sambrook et al. (1989) de filtración de ADN en gel para separar fragmentos de más de 16 pares de bases (pb) de restos de dideoxinucleótidos marcados, dNTP's y otras sales o compuestos de bajo peso molecular (elimina hasta el 98% de sales presentes).

Las muestras fueron analizadas por electroforesis capilar en el equipo ABI3130 (Applied Biosystems), de cuatro capilares de 50 cm y polímero POP7 (Applied

Biosystems) (Figura 15). Las condiciones electroforéticas fueron las siguientes: tiempo de carrera 45 minutos y temperatura de electroforesis de 60°C. El programa utilizado en secuenciador para elaborar la lista de muestras y las condiciones de inyección fue el Foundation Data Collection v. 3.0. de la misma casa comercial. Los análisis de las secuencias se realizaron con los soportes informáticos suministrados por la casa Applied Biosystems: Sequencing Analysis v. 5.2 y Seqscape v. 2.5.

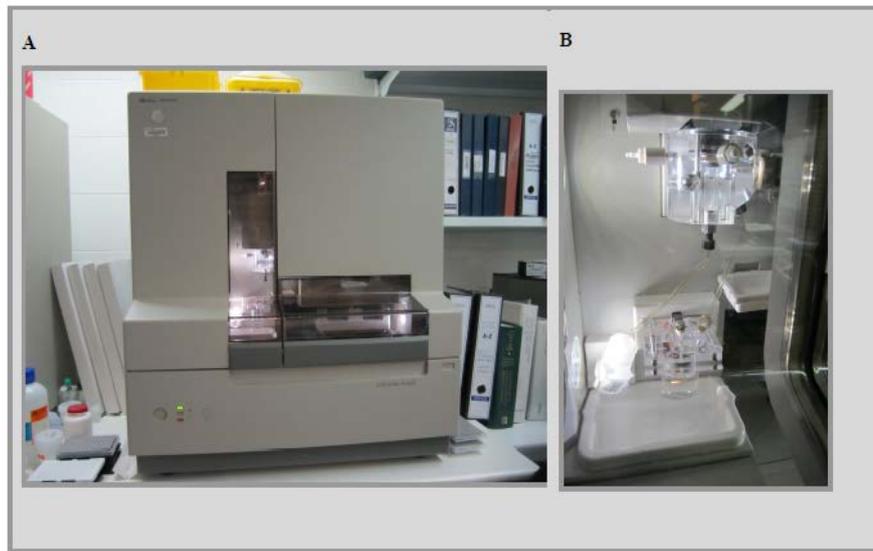


Figura 15. A) Analizador ABI 3130. B) Detalle del circuito del polímero

8. Determinación de haplogrupos mitocondriales

En cuanto a la determinación del haplogrupo mitocondrial, debido a la baja frecuencia de algunos haplogrupos en nuestro país, hemos llevado a cabo el estudio de los siete haplogrupos más frecuentes de acuerdo con su proximidad evolutiva (193).

A su vez, no todos los pacientes de la población de estudio se le estudiaron todos los polimorfismos mitocondriales ya que al ser polimorfismos que se han ido acumulando a lo largo de la evolución, han ido generando las ramas de un árbol filogenético, lo que significa que el poseer una determinada variante descarta que el

paciente pertenezca o se pueda agrupar en un determinado haplogrupo. Igualmente puede ocurrir que un determinado polimorfismo nos indique el haplogrupo del paciente independientemente de la variante que posea en los demás sitios polimórficos para el ADNmt.

El resultado de las secuencias obtenido en cada lugar polimórfico se comparó con la secuencia del ADNmt en GenBank ID:NC_012920. De esta manera, el genotipo o haplogrupo mitocondrial se determinó dilucidando la presencia o ausencia de determinados polimorfismos en el mtDNA como lo hicieron en trabajos descritos previamente (Macaulay) con algunas pequeñas modificaciones(194)

Se siguió un esquema preestablecido de búsqueda de las variantes presentadas en la Figura 16 y que estaba además basado en la abundancia de los mismos dentro de la población, como se había mostrado en estudios previamente publicados. A continuación se muestra el esquema de trabajo utilizado (Figura. 15):

La nomenclatura utilizada para los haplogrupos es la que se está utilizando en la bibliografía. Richards et al. 1998 propusieron una nomenclatura flexible y consistente para estos grupos que muestran un ancestro común. De esta manera, el *set* de todos los ADNmt derivados por descendencia de un ancestro maternal se podrían distinguir en principio por el nombre. En la práctica, solo se necesita nombrar aquellos grupos o cluster que resultan interesantes por su distribución geográfica o aquellos derivados de una rama muy temprana en la filogenia.

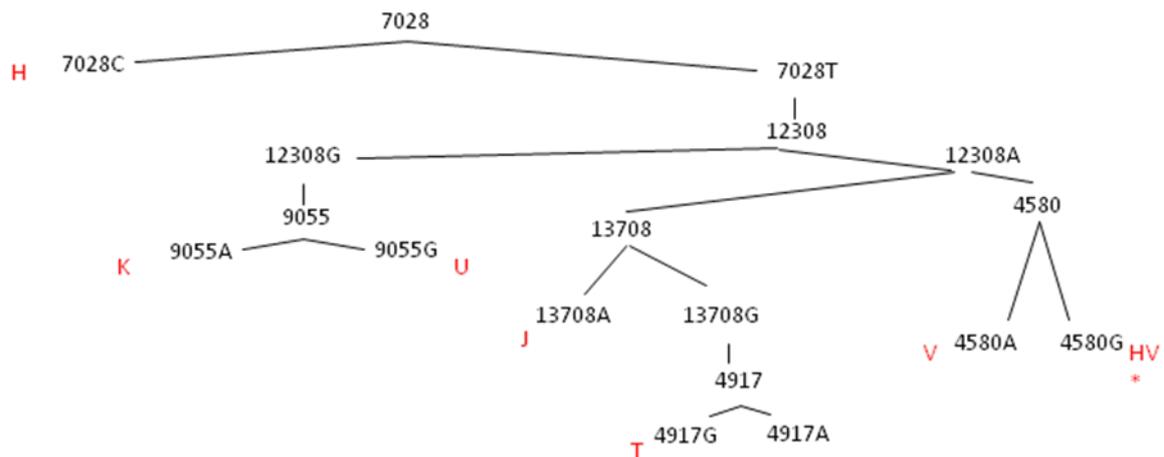


Figura.16. Esquema de la estrategia de determinación del genotipo mitocondrial. En negro se muestra los polimorfismos y en rojos los genotipos mitocondriales que definen.

En el esquema de trabajo de la figura 16 podemos observar que determinados polimorfismos nos están definiendo haplogrupos directamente porque son cluster monofiléticos, como es el caso del 7028C, que nos indica que aquellos pacientes con esta variante van a pertenecer al haplogrupo H, el caso del polimorfismo 13708A que nos indicaba haplogrupo J o el caso del 4917G que nos indicaba haplogrupo T.

Hay otros polimorfismos como el 12308A>G, que nos sirvió para discernir entre dos cluster (T, J, HV) o (U, K) dependiendo de si el alelo en este lugar era A o G respectivamente. Otros polimorfismos como el 4580G>A y el 905A>G nos sirvieron para discernir entre dos cluster secundarios dentro de un cluster mayor, es el caso por ejemplo del cluster HV, que incluye el H y el V y el UK que incluyen el U y K respectivamente. En el estudio se compararon haplogrupos y clusters (H+V, T+J, U+K).

8.1. Frecuencia de los polimorfismos

Para evaluar la potencial asociación genética entre los polimorfismos del SRAA y de los haplogrupos mitocondriales con la severidad de la enfermedad en pacientes genotipados se comparó la frecuencia de los alelos pro-HVI, (que en todos los casos

coincide con MAF, menos en el caso del alelo D de la ECA) de nuestra población con la frecuencia en la población CEU de la base de datos de 1000 genomas en el caso del SRAA y con dos grupos control españoles para el caso del haplogrupo mitocondrial (195;196), se tratan de un grupo del norte de España y otro de Madrid. Ambos, eran donantes de sangre caucásicos, en el primer caso, tenían un total de 300 individuos sanos con una edad de entre 20-75 años y en el segundo, la edad media, 37.7+11,5 años; rango, 18–63; 110 hombres. No habían recibido tratamiento farmacológico, no mostraban evidencia de enfermedad cardíaca de acuerdo a su historia clínica y no tenían historia de MCH. Sin embargo a estos controles no se les había hecho examen clínico (incluyendo ecocardiografía) para excluir la presencia de MCH asintomática.

En el caso de la ECA para la cual no encontramos frecuencias alélicas descritas se incluyeron en el estudio una serie de 100 individuos control (de raza caucásica, 33% varones) reclutados en nuestro laboratorio sin antecedentes de muerte súbita en la familia ni síntomas de enfermedades cardiovasculares, pero ninguno fue ecocardiográficamente evaluado para excluir la presencia de HVI asintomática.

9. Análisis estadísticos

El análisis estadístico se realizó por medio del paquete informático SPSS (versiones 15.0) statistical software (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). La población total de estudio se describió mediante el cálculo de estadísticos descriptivos básicos.

Los datos se expresan como media \pm desviación estándar de la media (DE), rango o frecuencia (porcentaje). Se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para valorar la normalidad de la distribución de variables cuantitativas continuas con menos de 30 casos. La prueba t de Student, se empleó para comparaciones entre dos grupos respecto a variables cuantitativas continuas en caso de cumplirse la normalidad o presentar más de 30 casos. En su defecto, se recurrió a una prueba no paramétrica (U de Mann-Whitney). Se empleó ANOVA de un factor para comparaciones entre más de dos grupos respecto a variables cuantitativas continuas.

Se empleó regresión lineal para estudiar la relación entre una variable grupo ordinal y variables cuantitativas continuas. Se empleó la prueba chi-cuadrado de Pearson para comparaciones entre dos variables dicotómicas si el número de observaciones esperadas en todas las casillas era superior a 5, o prueba exacta de Fisher para observaciones esperadas entre 2 y 5. Cuando la variable grupo era ordinal, se recurrió a la prueba chi-cuadrado de Mantel-Haenszel, cuando las observaciones esperadas eran mayor de 2 en todas las casillas.

Las diferencias entre la frecuencia de cada haplogrupo entre controles y pacientes también se analizó mediante la Chi-cuadrado. Nosotros asumimos que la relación polimorfismo-fenotipo seguía un modelo genético recesivo como se describió previamente (147;197), aunque extendimos el estudio también a un modelo dominante.

En el método de Kaplan-Meier Las pruebas de Log-Rango y Log-Rango para tendencias, se emplearon para comparar las probabilidades de supervivencia en relación a los factores ambientales (genero, hipertensión (HTA) y ejercicio) como edad hasta el evento (fibrilación auricular (FA), NYHA III-IV y ACV) y evento combinado (fallo cardiaco, FA y ACV). Se calcularon los valores de supervivencia libre de eventos a los 5 años con su intervalo de confianza del 95% según la fórmula: $SA \pm 1,96 \times DE$ (donde SA: probabilidad de supervivencia acumulada). Un total de 215 (edad $52,4 \pm 16,4$ años, 147 (68,3%) varones) individuos se incluyeron para el estudio del análisis de la supervivencia a MS, incluyendo los 192 pacientes con MCH de la cohorte y 23 casos históricos de MS; en 7 casos de estos últimos se había demostrado MCH y en 16 familiares cercanos (n=7 1st grado, n=8 2nd grado, n=1 3rd grado) no se había hecho (la MS sucedió antes de la fecha de inclusión y no hubo información clínica postmortem disponible). La edad de los casos con demostración de MCH y aquellos en los que no había información disponible fue similar ($45,3 \pm 14,9$ vs. $49,7 \pm 14,4$ años, $p=0,2$). En la cohorte había 3 muertes súbitas (MS) resucitadas y en los pacientes con DAI se produjeron 6 descargas apropiadas de desfibrilador automático implantable (DAI), las cuales fueron computadas como equivalentes a MS para la estimación de la supervivencia. Para el análisis de la supervivencia se utilizó la edad de cada evento o edad de la última revisión. La prueba de regresión de Cox se empleó para evaluar la relación entre las variables significativas y la supervivencia

Los predictores de hipertrofia ventricular izquierda (HVI) se evaluaron usando análisis de regresión múltiple.

En todos los estudios, las diferencias fueron consideradas significativas cuando el valor de p asociado a la prueba estadística de contraste era menor de 0,05.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

1. Características principales de la población de estudio

Los parámetros demográficos y clínicos basales de los 192 pacientes iniciales con MCH con los que se realizó el estudio de los factores ambientales (género, HTA y deporte) se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Principales características de la población de estudio

Variables demográficas		HFMS, n(%)	72 (37,5%)
Edad diagnóstico (años ,DE)	41,0± 16,0	Función diastólica	
Edad última evaluación (años, DE)	53,2 ±16,3	Normal	14 (10,4%)
Motivo de diagnóstico, n (%)		Relajación alterada	25 (18,7%)
Casual	29 (15,4%)	Pseudonormal	35 (26,1%)
Screening familiar	84 (44,7%)	Restrictiva	3 (3%)
Síntomas	75 (39,9%)	Presencia de síntomas o complicaciones, n (%)	
Características ecocardiográficas		Síncope	28 (14,9%)
GRVI (mm)	20,3 ±6,0	TVNS	49 (34,8%)
GRVI indexado	10,9±4,5	FA	53 (27,6%)
HVI severa	14 (7,5%)	Clase funcional NYHA, n (%)	
Masa VI, Deveraux	295,4±107,7	I	116 (60,4%)
Masa VI, Penn	355,0±134,7	II	48 (25,0%)
Obstrucción	54(28,4%)	III-IV	24 (12,5%)
Disfunción sistólica VI	38 (21,1%)	Eventos	
Diámetro de la AI (mm)	43,9 ±7,9	Muerte súbita	12 (6,3%)
FEVI (%)	58,4±13,2	Paro cardíaco resucitado**	9 (4,7%)
DTDVI (mm)	43,9±7,1	5 años MS-MCH score	3,59 ±3,1
Patrón de hipertrofia		4≤Score<6	55 (30,4%)

Septal asimétrica	97 (60,6%)	Score\geq6	23 (12,7%)
Concéntrica	27 (16,9%)	Género, n (%)	
Apical	4 (2,6%)	Hombres	127 (66,1%)
Tipo morfológico septal		Mujeres	65 (33,9)
Reverso	57 (36,8%)	HTA, n(%)	58 (31,7%)
Neutro	52 (33,5%)	Práctica deportiva	
Apical	4 (2,6%)	Nula	156 (84,9%)
Sigmoideo	5 (3,2%)	Moderada	17 (9,3%)
RPA en ergometría	30(27,5%)	Competitiva	11 (6%)

(*) Incluye 3 muertes súbitas no resucitadas, 3 paros cardiacos y 6 descargas apropiadas de desfibrilador automático implantable (DAI); (**) Incluye 3 paros cardiacos resucitados, y 6 descargas apropiadas de DAI;

El diagnóstico se hizo a una edad media de 41.0 ± 16.0 años (rango 5—86). Hubo predominancia del género masculino (127 (66,1%) varones vs. 65 (33,9%) mujeres, $p < 0.01$). El motivo más frecuente del diagnóstico fue en 84 pacientes (44,7%) el *screening* familiar, seguido de la presencia de síntomas relacionados con la enfermedad en 75 pacientes (39,9%), el hallazgo casual en 29 pacientes (15,4%) y la MS en 12 pacientes (6,3%). El estudio ecocardiográfico mostró un grosor miocárdico máximo (mm) de $20,5 \pm 6,0$ mm. 54 (28,4%) tenían obstrucción dinámica intraventricular (>30 mmHg). 38 pacientes (21,1%) tenían disfunción sistólica del VI (FEVI $<$ 50%). 28 (14,9%) habían presentado al menos un cuadro sincopal, 24 pacientes (12,5%) habían desarrollado una clase funcional NYHA III-IV previa o en el momento de la primera evaluación. 49 (34,8%) tuvieron taquicardia ventricular (TVNS) en Holter. 53 pacientes (27,6%) habían presentado al menos un episodio de FA durante el seguimiento clínico y 27 (27,6%) de los que se les realizó la prueba de esfuerzo presentaron una RPA en la prueba de esfuerzo.

Cincuenta y cinco pacientes (30,4%) tuvieron un score de estimación de MS con un ratio de entre un 4% y un 6%, and 23 (12,7%) tuvieron un score de la estimación de MS de más de un 6% en los próximos 5 años. La media estimada del ratio de mortalidad por MS en los próximos 5 años dentro de nuestra población fue $3,6\% \pm 3,1\%$.

Hubo un total de 12 casos de MS (9 resucitadas) en 7 (9,7%) de las 72 familias evaluadas (7 probandos, 5 familiares con MCH). Hubo 6 pacientes que tuvieron una descarga apropiada del DAI (de 31 (19,3%) DAI implantados). 6 pacientes trasplantados y 6 muertes de fallo cardiaco. Seis tuvieron ACV (en 3 el ACV fué la causa de la muerte). En 59 casos (37,8%) había al menos un familiar que había sufrido MS.

2. Moduladores ambientales

2.1. Descriptivos y asociaciones bivariadas

2.1.1. Características de los pacientes según sexo

Las características clínicas de las mujeres en comparación con los hombres se resumen en la Tabla 11.

Tabla 11. Comparativa de variables clínicas según sexo

TOTALES	MUJERES	HOMBRES	p	
Variables demográficas				
Número de pacientes (%)	192	65 (33,9)	127 (66,1)	-
Edad al diagnóstico (años)	41.0± 16.0	46.8 ±18.6	37.3 ±16.0	0.001
Edad última evaluación (años, DE)	53.2 ±16.3	59.3 ±15.6	50.1 ±15.8	<0.001
Motivo de diagnóstico, n (%)				
Casual	29 (15.4%)	5 (7,2%)	24 (18,6%)	0,03
Screening familiar	84 (44.7%)	30 (44.1%)	62 (41.8%)	NS
Síntomas	75 (39.9%)	33 (47.8%)	43 (33.3%)	0.04
Características ecocardiográficas				
GRVI (mm)	20.3 ±6.0	18.1 ±5.8	20.2 ±6.5	0.03
GRVI indexado	10.9±4.5	10.8±3.2	11.0±5.0	NS

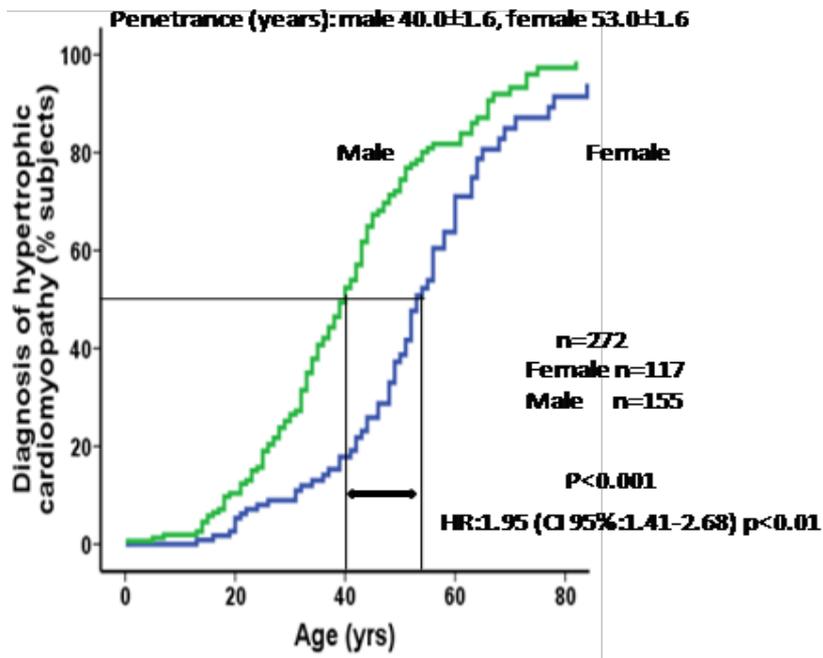
HVI severa	14 (7.5%)	3 (4,8%)	11 (8,9%)	NS
Masa VI, Deveraux	295.4±107.7	259.6±93.6	306.5±116.2	0.01
Masa VI, Penn	355.0±134.7	310.4±117.0	369.0±145.3	0.01
Obstrucción	54(28.4%)	20 (31.3%)	34 (27%)	NS
Disfunción sistólica VI	38 (21.1%)	12 (19.4%)	26 (22.0%)	NS
Diámetro de la AI (mm)	43.9 ±7.9	43.3 ±9.5	44.2±7.9	NS
FEVI (%)	58.4±13.2	57.9±13.9	58.1±13.6	NS
DTDVI (mm)	43.9±7.1	43.6±7.1	43.8±9.3	NS
Patrón de hipertrofia				
Septal asimétrica	97 (60.6%)	31,8 (58,5%)	66 (61,7%)	NS
Concéntrica	27 (16.9%)	8 (15,1%)	19 (17,8%)	NS
Apical	4 (2.6%)	1 (2.0%)	3 (2.9%)	NS
Tipo morfológico septal				
Reverso	57 (36.8%)	17 (32.7%)	40 (38.8%)	NS
Neutro	52 (33.5%)	20 (38.5%)	32 (31.1%)	NS
Apical	4 (2.6%)	1 (1.9%)	3 (2.9%)	NS
Sigmoideo	5 (3.2%)	1 (1.9%)	4 (3.9%)	NS
RPA	30(27.5%)	9 (29.0%)	21 (26.9%)	NS
HFMS, n(%)	72 (37.5%)	27 (41.5%)	45 (35.4%)	NS
Función diastólica				
Normal	14 (10.4%)	6 (13.0%)	8 (9.1%)	NS
Relajación alterada	25 (18.7%)	11 (23.9%)	14 (15.9%)	NS
Pseudonormal	35 (26.1%)	6 (13.0%)	29 (33.0%)	0.013
Restrictiva	3 (3%)	3 (6.5%)	1 (1.1%)	0.082
Presencia de síntomas o complicaciones, n (%)				
Síncope	28 (14.9%)	10 (15.9%)	18 (14.4%)	NS
TVNS	49 (34.8%)	18 (40.0%)	31 (32.3%)	NS
FA	53 (27.6%)	19 (29.2%)	34 (26.8%)	NS

NYHA, n (%)				
I	116 (60.4%)	28 (43.1%)	88 (69.3%)	<0.001
II	48 (25.0%)	20 (30.8%)	28 (22.0%)	NS
III-IV	24 (12.5%)	15 (23.1%)	9 (7.1%)	0.002
Eventos				
Muerte súbita	12 (6.3%)	1 (1.5%)	11 (8.7%)	0.054
Paro cardíaco resucitado**	9 (4.7%)	1 (1.5%)	9 (4.7%)	NS
5 años MS-MCH score	3.59 ±3.1	3.1 ±2.4	3.8 ±3.4	0.08
4≤Score<6	55 (30.4%)	18 (29.5%)	37 (30.8%)	NS
Score≥6	23 (12.7%)	17 (14,2%)	6 (9,8%)	NS

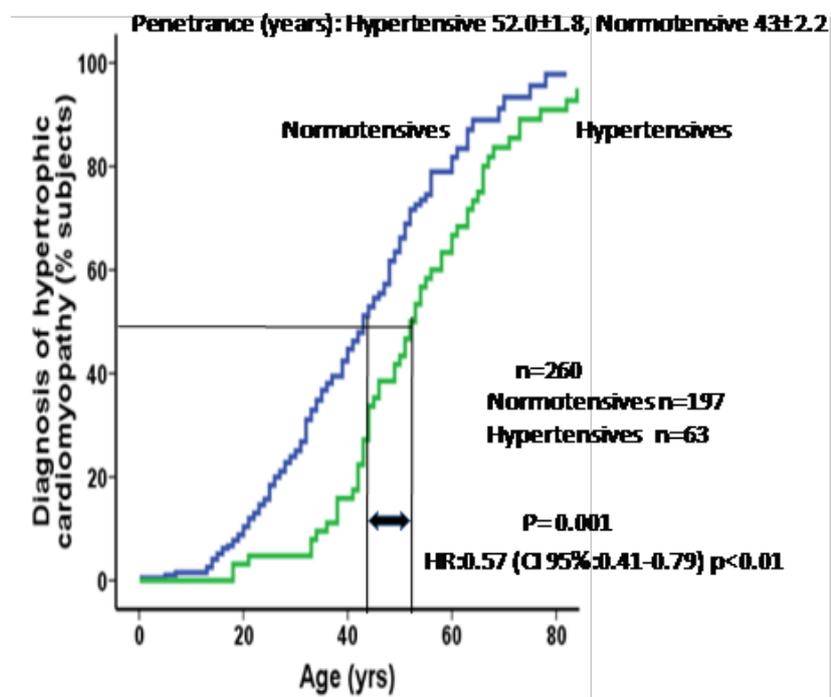
La edad al diagnóstico fué significativamente menor en los hombres (37±16 vs 47±19), además, los varones afectados tenían el grosor máximo de la pared del VI (20,2 ± 6,5 mm vs. 18,1 ± 5,8 mm, p=0,03) y la masa del VI incrementada en comparación con las mujeres afectadas (306,5 ± 116,0 g. vs. 259,6 ± 93,6 g., p=0.01 y 369,0 ± 145,3 g. vs. 310,4 ± 117,0 g. p=0.01, para masa Deveraux y Penn del VI respectivamente). Sin embargo, las diferencias en el grosor de la pared del VI con respecto al género desaparecieron cuando se indexó la HVI (IGRHVI) y tampoco existían diferencias entre hombres y mujeres con respecto al tipo de hipertrofia (Tabla 11).

La edad en la que la probabilidad de que el 50% de los portadores lleguen a ser diagnosticados era 13 años más precoz en hombres que en mujeres [40,0 (95%CI: 36,7-43,2) vs. 53,0 (95%CI: 49,9-56,0), (HR: 1,95 (CI 95%:1,41-2,68) p<0.01)] (Figura 17).

A



B



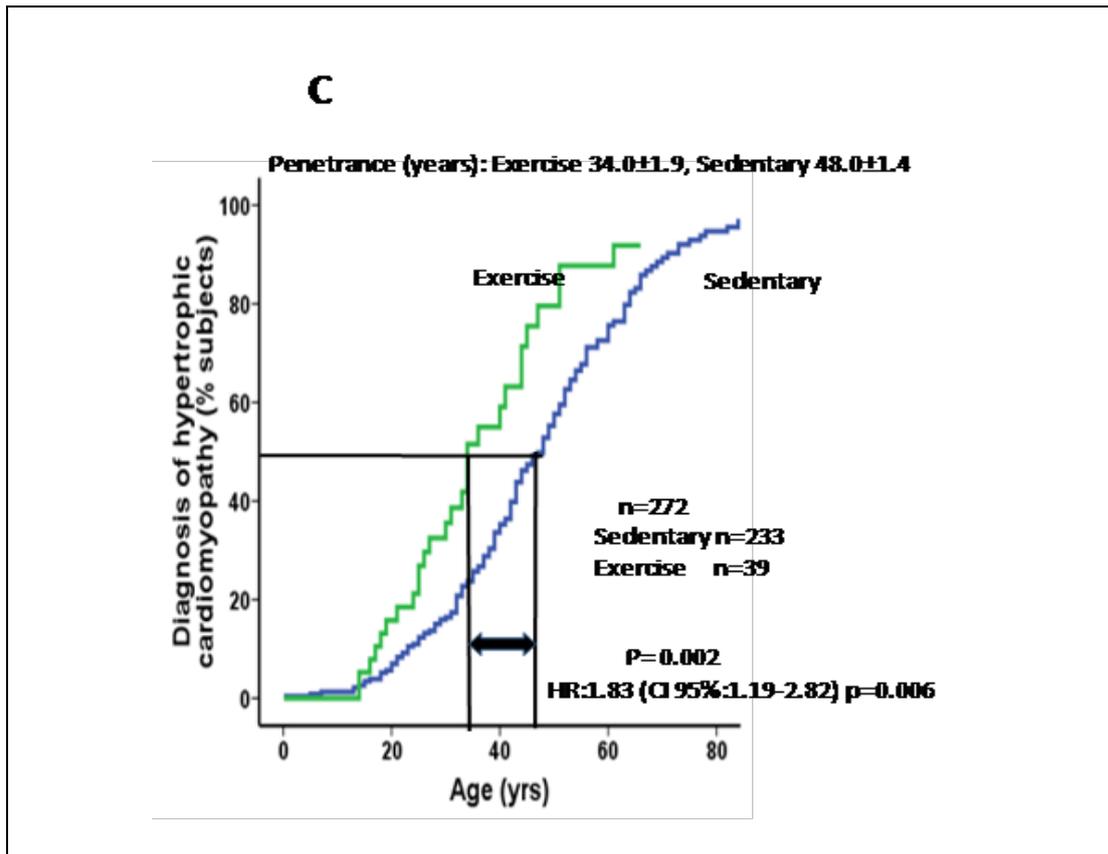
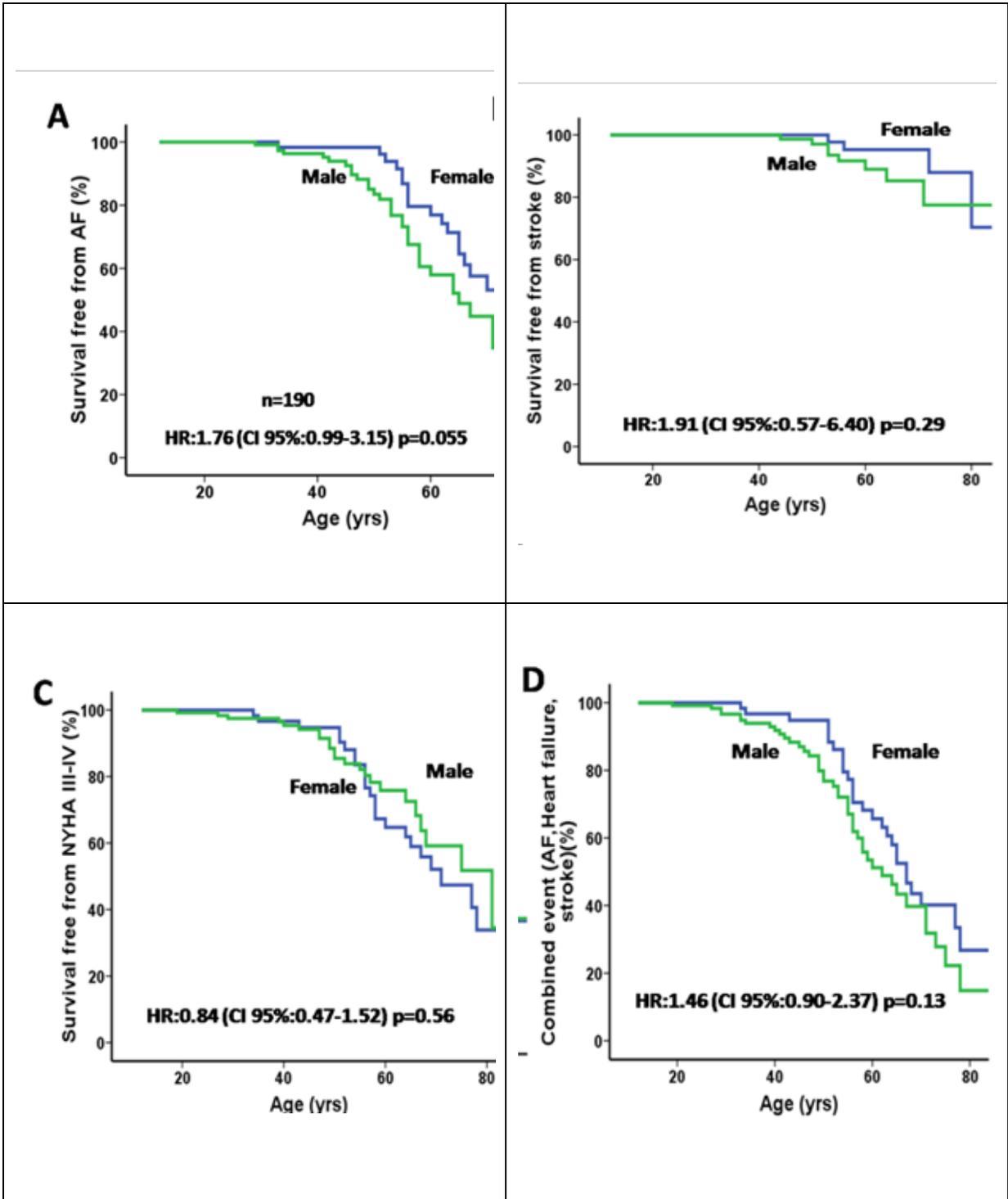
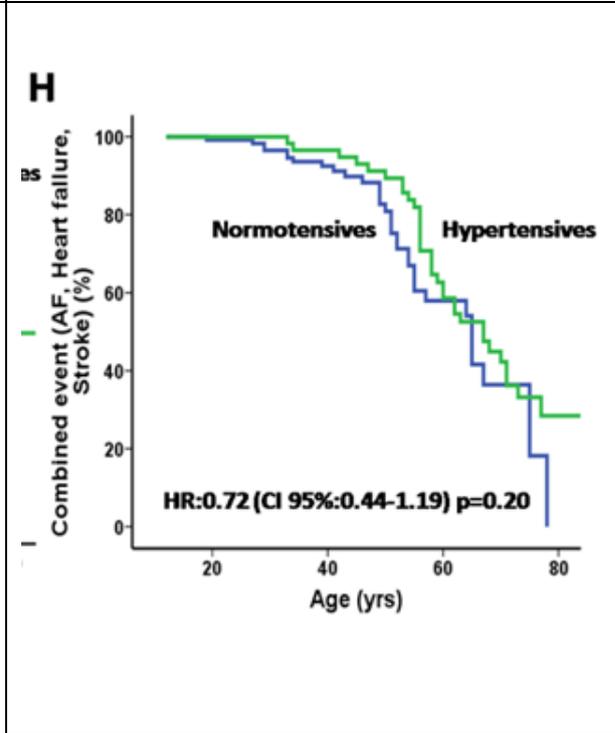
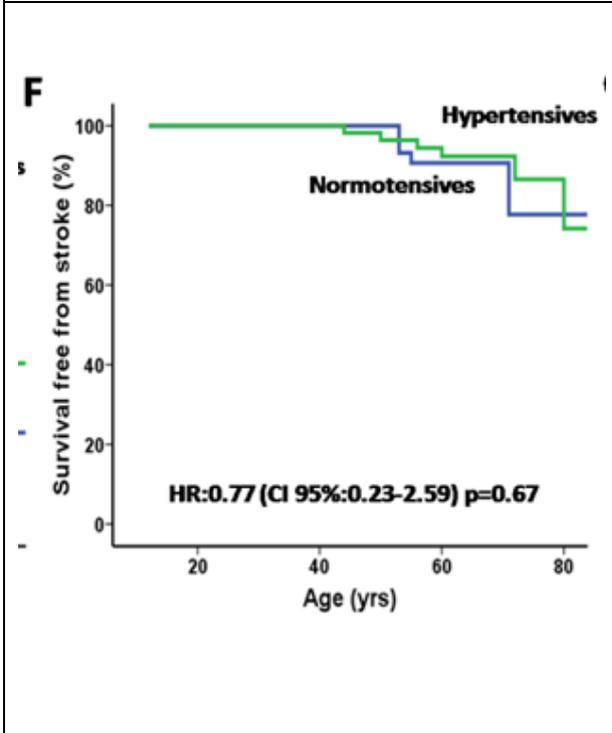
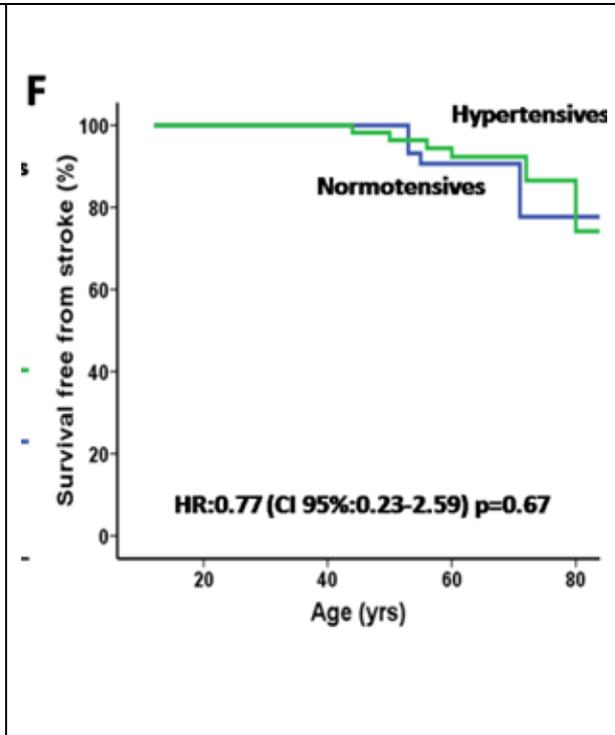
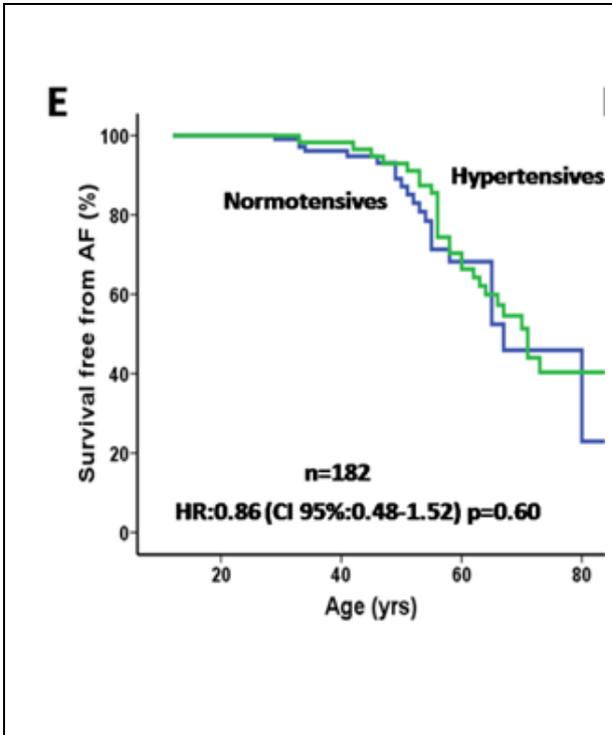


Figura 17. Penetrancia de la enfermedad (MCH) en portadores de mutaciones en MYBPC3 y MYH7. A.: según sexo. B: A: según hipertensión C: según actividad física

Tener síntomas de la enfermedad fue la principal razón para el diagnóstico en mujeres comparado con los varones (33, 47,8% vs 43, 33,3%, $p=0.04$). Las mujeres mostraron mayor grado de NYHA inicial y durante el seguimiento. 24 (36,9%) mujeres vs. 23 (18,3%) hombres alcanzaron la clase funcional NYHA III-IV ($p=0.005$). El IGRVI, el porcentaje de obstrucción, las variables de la función sistólica y diastólica y la proporción de TVNS en Holter fueron similares en mujeres y varones. (Tabla 11). Las mujeres parecían desarrollar FA más tarde en sus vidas (figura 18, $p=0.055$).

No hubo diferencias en la supervivencia libre de ACV, NYHA III-IV y de estos eventos combinados (FA, ACV y NYHA III-IV) en relación al sexo (Figure 18B, 18C, 18D).





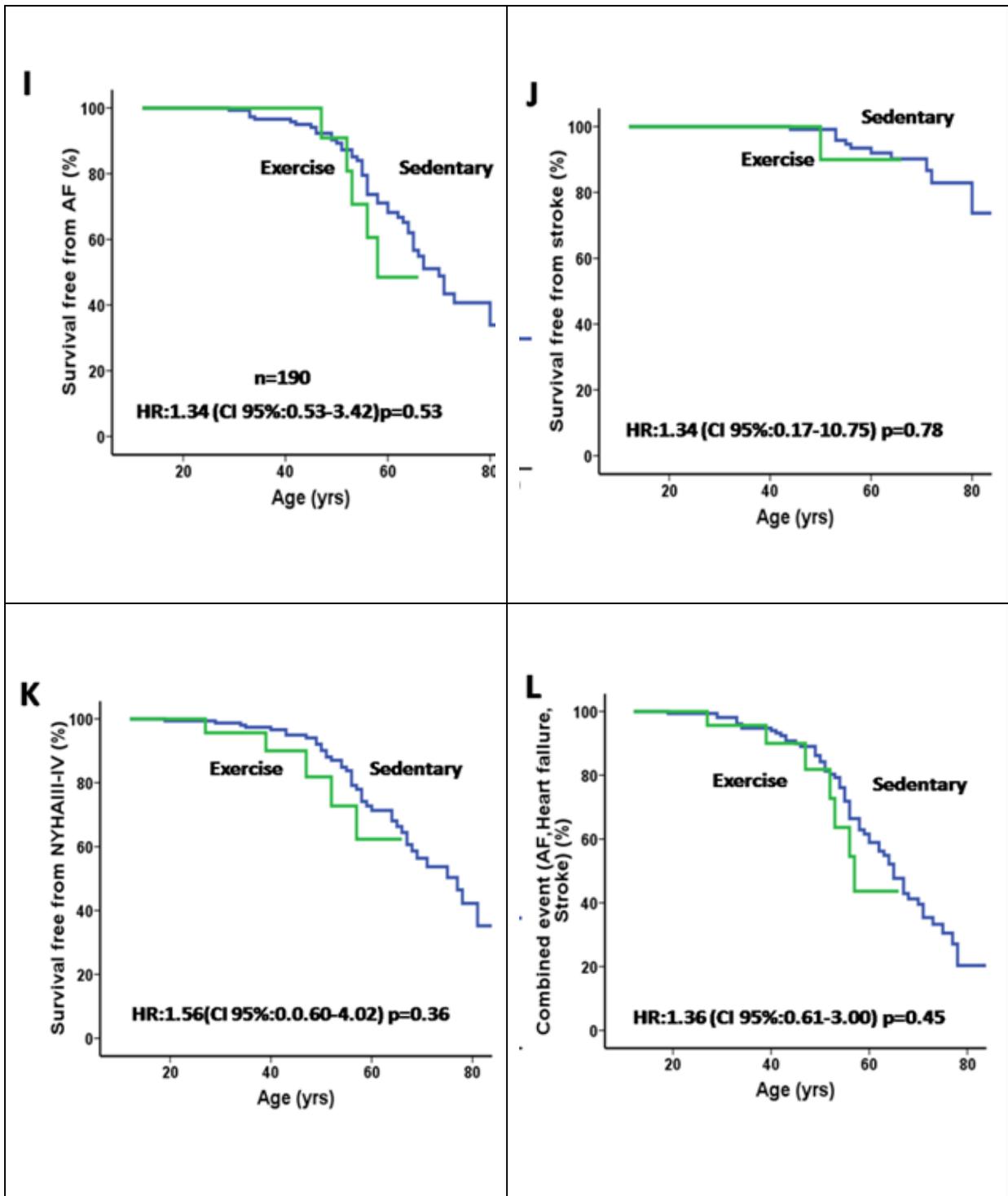
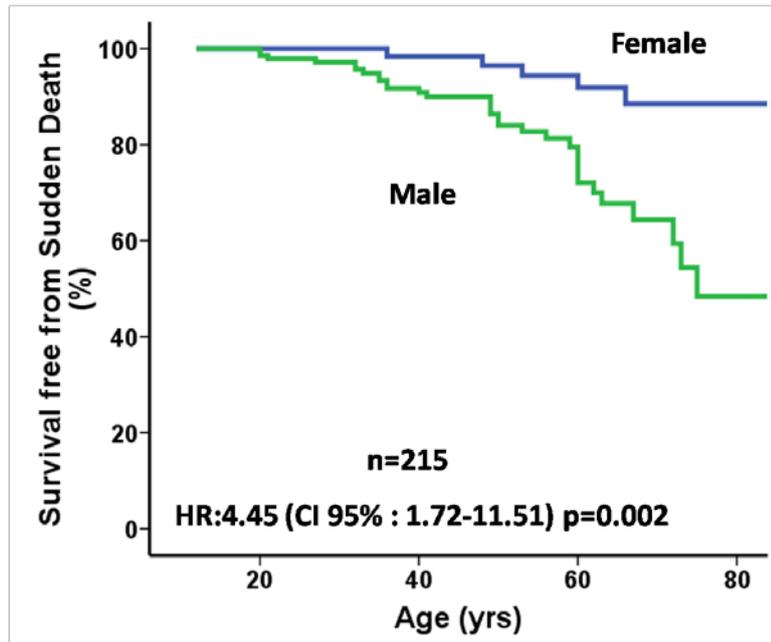


Figura 18. Curvas de supervivencia hasta el evento

A



B

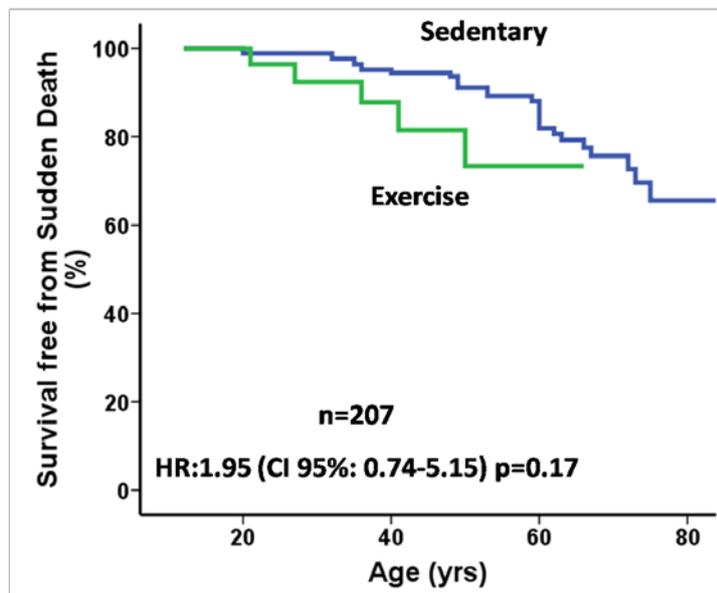


Figura 19. Supervivencia hasta MS

Los varones tenían menor supervivencia libre de MS o descarga del DAI (HR: 4,45 (CI 95%: 1,72-11,51), p=0.002), (Figura19).

2.1.2. Características según presencia de hipertensión

De los 183 pacientes de los que se tenía medida de la presión sanguínea, 58 (31,7%) tenían HTA y 125 eran normotensos (Tabla 12).

Tabla 12. Comparativa de variables clínicas según hipertensión

TOTALES		Normotensos	Hipertensos	p
VARIABLES DEMOGRÁFICAS				
N	183	125 (68,3%)	58 (31,7%)	-
Edad al diagnóstico (años)	41,0± 16,0	35,9 ±15,5	52,1 ±15,1	<0,001
Edad última evaluación (años, DE)	53,2 ±16,3	46,9 ±14,7	66,9 ±10,8	<0,001
Motivo de diagnóstico, n (%)				
Casual	29 (15,4%)	22 (16,9%)	7 (12,1%)	NS
Screening familiar	84 (44,7%)	67 (51,9%)	18 (31%)	0,008
Síntomas	75 (39,9%)	40 (30,8%)	33 (56,9%)	0,001
Características ecocardiográficas				
GRVI (mm, DE)	20,3 ±6,0	19,3 ±6,8	20,3 ±5,3	0,3
Grosor de la pared VI indexado	10,9±4,5	11,0±5,1	11,0±2,6	NS
HVI severa	14 (7,5%)	11 (8,9%)	3 (5,3%)	NS
Masa VI, Deveraux	295,4±107,7	283,4±122,2	306,7±85,9	0,01
Masa VI, Penn	355,0±134,7	341,0±152,8	369,1±107,4	0,01
Obstrucción	54(28,4%)	38 (30,4%)	15 (25,9%)	NS
Disfunción sistólica VI	38 (21,1%)	20 (20,0%)	12 (23,5%)	NS
Diámetro de la AI (mm)	43,9 ±7,9	42,6 ±8,0	47,3 ±8,6	0,001
FEVI (%)	58,4±13,2	57,2±14,7	59,6±11,8	NS

DTDVI (mm)	43,9±7,1	42,8±9,7	45,1±5,8	NS
Patrón de hipertrofia				
Septal asimétrica	97 (60,6%)	65 (63,1%)	32 (64%)	NS
Concéntrica	27 (16,9%)	18 (17,5%)	8 (16,0)	NS
Apical	4 (2,6%)	1 (1,0%)	3 (6,3%)	0,07
Tipo morfológico septal				
Reverso	57 (36,8%)	42 (41,2%)	15 (32,6%)	NS
Neutro	52 (33,5%)	32 (31,4%)	19 (41,3%)	NS
Apical	4 (2,6%)	1 (1,0%)	3 (6,5%)	0,05
Sigmoideo	5 (3,2%)	4 (3,9%)	1 (2,2%)	NS
RPA	30(27,5%)	28 (37,3%)	2 (6,5%)	0,001
HFMS, n(%)	72 (37,5%)	42 (33,6%)	25 (43,1%)	NS
Función diastólica				
Normal	14 (10,4%)	14 (16,5%)	0 (0%)	0,005
Relajación alterada	25 (18,7%)	12 (14,1%)	13 (30,2%)	0,03
Pseudonormal	35 (26,1%)	21 (24,7%)	14 (32,6%)	NS
Restrictiva	3 (3%)	2 (2,4%)	2 (4,7%)	NS
Presencia de síntomas o complicaciones, n (%)				
Síncope	28 (14,9%)	12 (9,8%)	13 (22,8%)	0,01
TVNS	49 (34,8%)	22 (24,2%)	25 (56,8%)	<0,001
FA	53 (27,6%)	20 (18,5%)	24 (47,1%)	<0,001
NYHA, n (%)				
I	116 (60,4%)	83 (66,4%)	28 (48,3%)	0,02
II	48 (25,0%)	30 (24,0%)	17 (29,3%)	NS
III-IV	24 (12,5%)	10 (8,0%)	12 (20,7%)	0,01
Eventos				
Muerte súbita	12 (6,3%)	8 (6,4%)	3 (5,2%)	NS
Paro cardíaco resucitado**	9 (4,7%)	6 (4,8%)	3 (5,2%)	NS
5 años MS-MCH score	3,59 ±3,1	4,3 ±3,3	3,4 ±3,1	NS
4≤Score<6	55 (30,4%)	30 (25,0%)	25 (45,5%)	0,007
Score≥6	23 (12,7%)	13 (10,8%)	10 (18,2%)	NS

La presencia de síntomas fue la principal razón por la que se diagnóstico MCH en pacientes con HTA vs, Normotensos (33 (56,9%) vs 40(30,8%) $p=0,001$). Los pacientes con MCH hipertensos tenían una clase NYHA peor que los pacientes con MCH normotensos (12 (20,7%) HTA vs, 10 (8,0%), $p=0,01$) y tenían un mayor número de sincopes (13 (22,8%) vs, 12 (9,8%), $p=0,01$), No había diferencias en la HVI (masa del VI, GRHVI o IGRHVI) u obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo. Los pacientes hipertensos con MCH tenían con más frecuencia HVI apical, La AI y el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DTDVI) fueron significativamente mayores en pacientes hipertensos con MCH comparado con pacientes normotensos ($p=0,001$ y $p=0,05$ respectivamente). Los pacientes con HTA tenían más arritmias auriculares y ventriculares, Veinticuatro (47,1%) pacientes hipertensos con MCH tuvieron FA vs, 20 (18,5%) del grupo de normotensos ($p<0,001$), La TVNS en Holter fue también más frecuente entre los pacientes hipertensos con MCH (25 (56,8%) vs, 22(24,2%), $p<0,001$). Hubo diferencias también en el porcentaje de pacientes con respuesta anormal de la presión arterial con el ejercicio (28 (37,3%) vs, 2(6,5%), $p=0,001$).

El diagnóstico de MCH se retrasó en los pacientes con HTA. La edad en la que la probabilidad de que el 50% de los portadores lleguen a ser diagnosticados fue 9 años más tardía en hipertensos comparado con normotensos [HR 0,57 (0,41-0,79, $p<0,001$)] [52,0 (95%CI: 48,2-55,7) vs, 43,0 (95%CI: 38,5-47,4)], (Figura 17).

No hubo diferencias entre pacientes con HTA y normotensos en relaciona a la supervivencia libre de FA y ACV (Figura 18). Paradójicamente, la supervivencia libre de NYHA III-IV fue más baja en normotensos vs, pacientes con HTA ($p=0,02$) (Figura 18). No hubo diferencias significativas cuando se analizó la supervivencia hasta el evento combinado (FA, ACV, NYHA III-IV) (Figura 18).

2.1.3. Características según la actividad física

Los varones realizaban ejercicio moderado o intenso (grupo 2+3) más frecuentemente que las mujeres [(26, (92,9%) vs, 2, (7,1%), $p=0,001$]. La mayoría de los pacientes con MCH pertenecientes al grupo con nivel de ejercicio más alto fueron diagnosticados mediante *screening* familiar (19 (63,3%), vs, 73 (43,7%), $p=0,04$)

(Tabla 13). Los pacientes con MCH que realizaban ejercicio moderado o intenso fueron significativamente más jóvenes en su diagnóstico comparado con los grupos más sedentarios ($43,1 \pm 15,2$ vs, $55,0 \pm 15,9$ años). No hubo asociación entre intensidad del ejercicio y la HVI (masa del VI, GRHVI o IGRHVI), Así mismo, no hubo diferencia en la obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo (TSVI). Es de resaltar que la dimensión del VI y DTDVI fueron similares en ambos grupos. Hubo una tendencia hacia una mejor función diastólica en el grupo de pacientes con MCH que realizaban ejercicio más intenso (flujo mitral normal 5 (20,8%) vs, 9 (8,2%), $p=0,06$).

Tabla 13. Comparativa de variables clínicas según ejercicio físico

TOTALES	Sedentarios	Ejercicio Moderado-intenso	p	
Variables demográficas				
N	127	101(61,6%)	26(92,9%)	0,001
Edad al diagnóstico (años)	$41,0 \pm 16,0$	$42,8 \pm 17,0$	$32,2 \pm 12,5$	0,001
Edad última evaluación (años, DE)	$53,2 \pm 16,3$	$55,0 \pm 15,9$	$43,1 \pm 15,2$	0,001
Motivo de diagnóstico, n (%)				
Casual	29 (15,4%)	27 (16,1%)	2 (6,7%)	NS
Screening familiar	84 (44,7%)	73 (43,7%)	19 (63,3%)	0,04
Síntomas	75 (39,9%)	67 (39,9%)	9 (30,0%)	NS
Características ecocardiográficas				
GRVI(mm, DE)	$20,3 \pm 6,0$	$19,6 \pm 6,5$	$19,1 \pm 5,2$	NS
Grosor de la pared VI indexado	$10,9 \pm 4,5$	$11,1 \pm 4,7$	$9,9 \pm 2,8$	0,07
HVI severa	14 (7,5%)	13 (8,2%)	1 (3,6%)	NS
Masa VI, Deveraux	$295,4 \pm 107,7$	$290,3 \pm 110,9$	$292,7 \pm 114,2$	NS
Masa VI, Penn	$355,0 \pm 134,7$	$348,7 \pm 138,6$	$351,7 \pm 142,8$	NS
Obstrucción	54(28,4%)	49 (30,2%)	5 (17,9%)	NS
Disfunción sistólica VI	38 (21,1%)	34 (22,4%)	4 (14,3%)	NS

Diámetro de la AI (mm)	43,9 ±7,9	44,2 ±8,8	42,1 ±6,2	NS
FEVI (%)	58,4±13,2	57,5±13,4	60,6±14,8	NS
DTDVI (mm)	43,9±7,1	44,0±7,4	42,5±13,4	NS
Patrón de hipertrofia				NS
Septal asimétrica	97 (60,6%)	78 (58,2%)	19 (73,1%)	NS
Concéntrica	27 (16,9%)	22 (16,4%)	5 (19,2%)	NS
Apical	4 (2,6%)	4 (3,2%)	0 (0%)	NS
Tipo morfológico septal				
Reverso	57 (36,8%)	46 (35,4%)	11 (44,0%)	NS
Neutro	52 (33,5%)	40 (30,8%)	12 (48,0%)	0,09
Apical	4 (2,6%)	4 (3,1%)	0 (0%)	NS
Sigmoideo	5 (3,2%)	5 (3,8%)	0 (0%)	NS
RPA	30(27,5%)	26 (29,5%)	4 (19,0%)	NS
HFMS	72 (37,5%)	62 (37,8%)	10 (35,7%)	NS
Función diastólica				
Normal	14 (10,4%)	9 (8,2%)	5 (20,8%)	0,06
Relajación alterada	25 (18,7%)	21 (19,1%)	4 (16,7%)	NS
Pseudonormal	35 (26,1%)	29 (26,4%)	6 (25,0%)	NS
Restrictiva	3 (3%)	3 (2,7%)	1 (4,2%)	NS
Presencia de síntomas o complicaciones, n (%)				
Síncope	28 (14,9%)	21 (13,1%)	7 (25,0%)	NS
TVNS	49 (34,8%)	42 (35,9%)	7 (29,2%)	NS
FA	53 (27,6%)	44,2 ±8,8	42,1 ±6,2	NS
NYHA, n (%)				
I	116 (60,4%)	95 (57,9%)	21 (75,0%)	0,08
II	48 (25,0%)	43 (26,2%)	5 (17,9%)	NS
III-IV	24 (12,5%)	22 (13,4%)	2 (7,1%)	NS
Eventos				
Muerte súbita	12 (6,3%)	9 (5,4%)	3 (10,7%)	NS
Paro cardíaco resucitado**	9 (4,7%)	6 (4,6%)	3 (10,7%)	NS
5 años MS-MCH score	3,59 ±3,1	3,4 ±3,0	4,5±3,6	NS
4≤Score<6	55 (30,4%)	45 (29,4%)	10 (35,7%)	NS
Score≥6	23 (12,7%)	16 (10,5%)	7 (25,0%)	0,034

No hubo diferencias significativas en los síntomas respecto a la intensidad del ejercicio. La proporción de pacientes con TVNS en Holter y FA fue similar en ambos grupos.

A pesar de que la penetrancia de la enfermedad fue similar respecto a la intensidad del ejercicio (70,4% vs, 71,8%, $p=0,9$), los pacientes que realizaban ejercicio más intenso tuvieron un diagnóstico más temprano de la MCH comparado con el grupo de sedentarios, La edad en la que existe una probabilidad del 50% de que los portadores sean diagnosticados fue 14 años menor en aquellos que realizaban ejercicio vs, Individuos sedentarios (34,0 (95% CI: 30,1-37,8), vs, 48,0 (95% CI: 44,2-51,7), HR 1,83 (95% CI: 1,19-2,82, $p=0,006$), (Figura 17),

No hubo diferencias entre los pacientes con MCH que realizaban ejercicio más intenso vs, el grupo de sedentarios en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, NYHA III-IV o el evento combinado (FA, ACV, NYHA III-IV) (Figura 18),

La supervivencia libre de MS fue similar en el grupo que realizaban ejercicio y en el de sedentarios (Figura 19),

La Tabla 14 resume las características clínicas más relevantes de los pacientes que realizaban ejercicio intenso o de competición,

Tabla 14. Principales características clínicas de los pacientes que realizan ejercicio intenso

Edad	Sexo	Edad dco	Razón diagnóstico	Tipo deporte	Duración ejercicio	HVI Max.	Obstrucción	DTDVI	AI	Sincope	NYHA III-IV	FA	Eventos	
1	26	Varón	16	Symptoms	Cycling and weight lifting (>14 hours/week)	Continues to practice sports to date	25	No	45	39	No	No	No	ICD implanted. Device complications related to weight lifting, (last FU 27 years old)
2	63	Varón	51	Family screening	Tennis competitive (>10 hours/week)	Stopped tennis at 55 years old	22	Yes	44	34	No	No	No	no events (last FU 65 years old)
3	29	Varón	27	Family screening	Running, swimming and cycling, training for military inclusion (>14 years/week)	Reduced intensity at diagnosis, died 2 years later	22	No	65	55	No	Yes	No	Progressive dyspnea, dilatation, heart failure death at 29 years old

4	14	Varón	14	Family screening	Football (>14 hours/week)	Continues to practice sports to date	13	No	46	43	No	No	No	no events (last FU 15 years old)
5	17	Varón	14	Incidental	Football competitive and running (>10 hours/week)	Reduced intensity	27	No	45	39	No	No	No	no events (last FU 17 years old)
6	39	Varón	31	Symptoms	Football (>10 hours/week)	Reduced intensity	14	No	44	45	No	No	No	no events (last FU 41 years old)
7	60	Varón	47	Symptoms	Highly physical work + running (>14 hours/week)	Stopped sports at diagnosis (aged 47)	21	Yes	44	48	No	Yes	Yes	ICD implanted 49 (last FU 61 years old)
8	62	Varón	44	Family screening	Tennis and cycling (>10 hours/week)	Reduced intensity (aged 52 years)	22	No	42	48	Yes	No	Yes	ICD implanted 52 (last FU 63 years old)
9	56	Varón	45	Symptoms	Professional boxing, running and cycling (>10 hours/week)	Reduced intensity before diagnosis (aged 49 years)	18	No	48	42	Yes	No	No	no events (last FU 59 years old)
10	41	Varón	25	Family screening	Football and running (>10 hours/week)	Stopped sports at diagnosis (aged 25 years old)	28	No	45	30	Yes	No	No	ICD recommended (last FU 42 years old)
11	66	Varón	61	Symptoms	Cycling and running (> 10 hours/week)	Stopped sports before diagnosis (aged 35 years)	16	Yes	47	50	Yes	Yes	No	no events (last FU 67 years old)
12	24	Varón	non-affected	non-affected	Professional athlete (>14 hours/week)	Continues to practice sports to date	10	No	44	35	No	No	No	no events (last FU 26 years old)
13	22	Varón	non-affected	non-affected	Professional football (>14 hours/week)	Continues to practice sports to date	11	No	49	31	No	No	No	no events (last FU 22 years old)
14	66	Varón	non-affected	non-affected	Professional football + running and cycling (>14 hours/week)	Reduced intensity before diagnosis (aged 34 years)	10	No	42	36	No	No	No	no events (last FU 67 years old)

2.2. Análisis multivariable

Ni el sexo, ni la HTA ni el ejercicio fueron predictores de la HVI (masa del VI, GRHVI o IGRHVI) en el análisis univariable o multivariable. Las tres variables estaban independientemente asociadas con la edad del diagnóstico en el análisis de regresión de Cox (Tabla 15). Mientras que el género masculino y el ejercicio intenso fueron

predictores de un diagnóstico más temprano, la HTA se asoció con un diagnóstico más retrasado.

Tabla 15. Análisis de regresión de Cox

	Sig.	Exp(B)	95% CI	
			Inferior	Superior
HTN	<0.001	0.6	0.4	0.8
EXERCISE	=0.006	1.8	1.2	2.8
MALE GENDER	<0.001	1.9	1.4	2.7

El sexo masculino pero no el ejercicio intenso se asoció con una supervivencia libre de MS reducida en el análisis bivariado.

La influencia de la HTA en la MS no fue posible evaluar por no disponer de este antecedente de forma fiable en los casos de pacientes fallecidos de forma súbita.

3. Moduladores genéticos

3.1. Descriptivos y asociaciones bivariadas

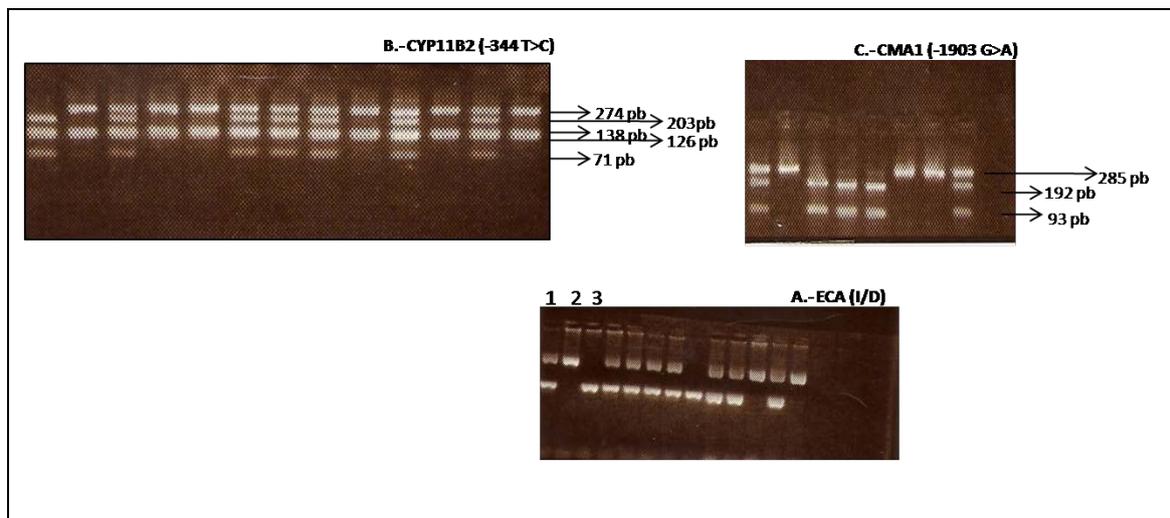
3.1.1. Sistema Renina-Angiotensina Aldosterona

La frecuencia del alelo pro-HVI para los seis polimorfismos del SRAA analizados mostró que no había diferencias significativas ($p > 0,05$) con las encontradas en la población CEU de la base de datos de 1000 genomas excepto para el polimorfismo p, M235T (rs699) del AGT cuyo alelo pro-HVI tendía a estar más representado en nuestra población de pacientes con MCH (MAF=0,45/0,36 $p=0,060$) y el polimorfismo -1903 A>G del CMA1 (rs1800875), cuyo alelo pro-HVI era menos frecuente en nuestra

población de pacientes que en la control (MAF=0,45/0,54 p=0,07). En el resto de polimorfismos no hubo diferencias (rs4646994, MAF de este estudio=0,60/ MAF de nuestros controles=0,59; rs5186, MAF=0,29/0,28 ; rs4762, MAF=0,08/0,13; rs1799998, MAF=0,41/0,43).

En la Figura 20 se muestran resultados gráficos obtenidos para algunos polimorfismos del SRAA.

Figura 20. Imágenes gels de agarosa tras digestión enzimática



A) Gen de la ECA, calle1:I/D, calle2: II, calle3: DD, B) Gen de la aldolasa sintasa, calle1: homocigoto, calle2: Wilde type, calle3: heterocigoto, C) Gen de la quimasa A cardiaca, calle1: heterocigoto, calle2: homocigoto, calle3: Wilde type.

ECA (Inserción/Delección)

Se presentó el polimorfismo de la ECA en homocigosis en 63 (40,6%) de los pacientes con MCH evaluados (63 (40,6%) fueron heterocigotos y 30 (19,2%) WT). Las características demográficas y clínicas de los portadores en homocigosis fueron similares a las de los heterocigotos y WT (Tabla 16). En particular no hubo diferencias en las medidas morfológicas y funcionales del ventrículo izquierdo por ecocardiografía. Hubo una mayor prevalencia de antecedentes familiares de muerte súbita en el grupo de homocigotos (312 (49,2%) vs 29 (30,1%), p=0,016), que implicaba una tendencia a un mayor score de riesgo de MS según la fórmula de O'Mahony con un porcentaje superior

de pacientes de riesgo intermedio o alto (>4%, 55,2% vs 39,2%, p=0,056). El porcentaje de hipertensos y deportistas fue similar en ambos grupos.

Tabla 16. Características clínicas de los pacientes comparando polimorfismos pro-HVI del SRAA

VARIABLES CLÍNICAS	Total	ECA		AGT(M235T)		AGTRI	
		WT/Hetero	Pro-HVI	WT/Hetero	Pro-HVI	WT/Hetero	Pro-HVI
Demográficas							
N	156	93	63	124	32	143	13
Edad diagnóstico (años, DE)	41,2± 16,2	41,1±17,1	41,3±14,8	40,95±16,0	42,1±17,2	40,4±15,7	50,4±19,0 (**)
Edad última evaluación (años,DE)	53,6 ± 15,4	54,0±16,1	53,0±14,3	53,0±15,4	55,8±15,4	52,9±15,1	61,0±16,9 (*)
Motivo diagnóstico, n (%)							
Casual	27 (17,4%)	18(19,4%)	9 (14,5%)	22(17,9%)	5(15,6%)	27(19,0%)	0 (*)
Screening familiar	66 (42,3%)	41(44,1%)	25(40,3%)	54(843,9%)	12(37,5%)	60(42,3%)	6(46,2%)
Síntomas	62 (40,0%)	34(36,6%)	28(45,2%)	47(38,2%)	15(46,9%)	55((38,7%)	7(53,8%)
Sexo, n (%)							
Hombres	105 (67,3%)	63(67,7%)	42(66,7%)	80(64,5%)	25(78,1%)	96(67,1%)	9(69,2%)
Mujeres?	51 (33,1%)	30(32,3%)	21(33,3%)	44(35,5%)	7(21,9%)	47(32,9%)	4(30,8%)
Hipertensión, n(%)	51 (33,1)	32(35,2%)	19(30,2%)	39(31,7%)	12(38,7%)	44(31,2%)	7(53,8%) (*)
Práctica deportiva							
Nula	131 (84%)	81(87,1%)	50(79,4%)	103(83,1%)	28(87,5%)	123(86,0%)	8(61,5%)
Moderada	15 (9,6%)	7(7,5%)	8(12,7%)	14(11,3%)	1(3,1%)	12(8,4%)	3(23,1%)
Ecocardiográficas							
Masa VI, Deveraux	297,8±105,9	293,0±107,4	304,6±104,2	301,39±111,0	283±83,2	298,0±106,6	295,0±102,8
Masa VI, Penn	358,0±132,4	352,0±134,3	366,6±130,3	362,5±138,8	340,7±104,0	358,3±133,2	355,2±128,5
GRVI indexado	11,0±3,4	11,0±3,3	11,1±3,4	11,0±3,4	11,4±3,3	11,0±3,4	11,6±3,6
Obstrucción	52 (33,5%)	32(34,8%)	20(31,7%)	41(33,3%)	11(34,4%)	45(45,7%)	7(53,8%)
GRVI máximo(mm)	20,5 ± 6,0	20,5±6,1	20,4±5,8	20,5±6,0	20,5±5,8	20,4±6,0	21,3±6,0
HVI severa	14 (9,0%)	9(9,8%)	5(7,9%)	11(8,9%)	3(9,4%)	12(8,5%)	2(15,4%)
Diametro de la AI (mm)	43,9 ±7,8	44,0±8,1	43,9±7,4	44,3±7,5	42,6±8,6		
FEVI (%)	58,6± 12,7	58,7±13,3	58,6±12,1	58,7±13,1	58,3±11,3	44,1±7,8	42,4±7,5
DTDVI (mm)	43,9± 6,7	44,2±7,0	43,5±6,4	44,2±7,0	42,9±5,4	44,0±7,8	43,1±3,4
Patrón de hipertrofia							
Septal asimétrica	87 (68,5%)	51(70,8%)	36(65,5%)	71(71%)	16(59,3%)	81(68,6%)	6(66,7%)
Concéntrica	26 (20,5%)	13(18,1%)	13(23,6%)	20(20%)	6(22,2%)	23(19,5%)	3(33,3%)
Apical	4 (3,3%)	3(4,3%)	1(1,9%)	3(3,1%)	1(4,0%)	4(3,6%)	0
Tipo morfológico septal							
Reverso	47 (38,5%)	22(32,4%)	25(46,3%)	40(41,7%)	7(26,9%)	44(38,3%)	3(42,9%)
Neutro	51 (41,8%)	33(48,5%)	18(33,3%)	38(39,6%)	13(50,0%)	47(40,9%)	4(57,1%)
Apical	4 (3,3%)	4(5,9%)	0	3(3,1%)	1(3,8%)	4(3,5%)	0

Sigmoideo	5 (4,1%)	1(1,5%)	4(7,4%)	5(5,2%)	0	5(4,3%)	0
Disfunción sistólica VI	30 (20,0%)	19(21,3%)	11(18,0%)	25(21,0%)	5(16,1%)	27(19,7%)	3(23,1%)
Función diastólica							
Normal	13 (12,9%)	7(13,5%)	6(12,2%)	11(13,9%)	2(9,1%)	13(13,5%)	0
Alterada	23 (22,8%)	16(30,8%)	7(14,3%)	14(17,7%)	9(40,9%) (**)	21(21,9%)	2(40,0%)
Pseudonormal	35 (34,7%)	15(28,8%)	20(40,8%)	29(36,7%)	6(27,3%)	32(33,3%)	3(60,0%)
Restrictivo	3 (3,0%)	1(1,9%)	2(4,1%)	3(3,8%)	0	3(3,1%)	0
Pronóstico							
FA	43 (27,6%)	21(22,6%)	22(34,9)	35(28,2%)	8(25%)	41(28,7%)	2(15,4%)
NYHA, n (%)							
I	96 (61,5%)	60(64,5%)	36(57,1%)	74(59,7%)	22(68,8%)	89(62,2%)	7(53,8%)
II	41 (26,3%)	22(23,7%)	19(30,2%)	36(29,0%)	5(15,6%)	37(25,9%)	4(30,8%)
III-IV	17 (10,9%)	11(11,8%)	6(9,5%)	13(10,5%)	4(12,5%)	15(10,5%)	2(15,4%)
Síncope	24 (15,4%)	13(14,0%)	11(17,5%)	21(16,9%)	3(9,4%)	19(13,3%)	5(38,5%) (**)
TVNS	44 (35,8%)	25(33,3%)	19(39,6%)	36(36,4%)	8(33,3%)	40(35,7%)	4(36,4%)
RPA	27 (27,6%)	16(27,6%)	11(27,5%)	22(27,8%)	5(26,3%)	23(26,4%)	4(36,4%)
HFMS, n(%)	59 (37,8%)	28(30,1%)	31(49,2%) (**)	51(41,1%)	8(25,0%)	53(37,1%)	6(46,2%)
Eventos							
Muerte súbita	10 (6,4%)	4(4,3%)	6(9,5%)	8(6,5%)	2(6,3%)	9(6,3%)	1(7,7%)
Paro cardíaco resucitado**	9 (5,7%)	3(7,5%)	6(100%)	8(100%)	1(50%)	9(100%)	0
5 años MS-MCH score	3,8 ±3,3	3,6±3,2	4,1±3,3	3,9±3,3	3,3±3,1	3,6±2,8	5,5±6,2
4≤Score<6	51 (33,1%)	25(27,2%)	26(49,1%) (*)	44(36,1%)	7(21,9%)	47(33,3%)	4(30,8%)
Score≥6	21 (13,6%)	11(12,0%)	10(16,1%)	17(13,9%)	4(12,5%)	18(12,8%)	3(23,1%)

Continuación Tabla 16

VARIABLES CLÍNICAS	Total	CYP11B2		CMA1	
		WT/Hetero	Pro-HVI	WT/Hetero	Pro-HVI
Demográficas					
N	156	129	27	126	30
Edad media del diagnóstico (años, DE)	41,2± 16,2	41,2±15,9	41,3±17,8	41,9±15,9	38,4±17,4
Rango	7-86				
Edad última evaluación (años,DE)	53,6 ± 15,4	53,9±15,3	52,0±16,0	53,8±15,6	52,7±14,5
Motivo del diagnóstico, n (%)					
Casual	27 (17,4%)	18(14,0%)	9(34,6%)	21(16,8%)	6(20,0%)
Screening familiar	66 (42,3%)	57(44,2%)	9(34,6%)	51(40,8%)	15(50%)
Síntomas	62 (40,0%)	54(41,9%)	8(30,8%)	53(42,4%)	9(30,0%)
Sexo, n (%)					
Hombres	105 (67,3%)	86(66,7%)	19(70,4%)	83(65,9%)	22(73,3%)
Mujeres?	51 (33,1%)	43(33,3%)	8(29,6%)	43(34,1%)	8(26,7%)

Hipertensión, n(%)	51 (33,1)	42(32,8%)	9(34,6%)	44(35,5%)	7(23,3%)
Práctica deportiva					
Nula	131 (84%)	107(82,9%)	24(88,9%)	105(83,3%)	26(86,7%)
Moderada	15 (9,6%)	14(10,9%)	1(3,7%)	12(9,5%)	3(10,0%)
Ecocardiográficas					
Masa VI, Deveraux	297,8±105,9	300,5±109,9	284,7±84,6	293,07±102,4	319,8±120,5
Masa VI, Penn	358,0±132,4	361,4±137,3	341,7±105,7	352,1±128,0	385,5±150,6
GRVI indexado	11,0±3,4	10,9±3,3	77,7±3,6	11,0±3,2	11,2±4,0
Obstrucción	52 (33,5%)	44(34,1%)	8(30,8%)	46(36,8%)	6(20%)
GRVI máximo(mm)	20,5 ± 6,0	20,2±5,8	21,7±6,5	20,5±5,6	20,4±7,3
HVI severa	14 (9,0%)	11(8,5%)	3(11,5%)	9(7,2%)	5(16,7%)
Diametro de la AI (mm)	43,9 ±7,8	44,1±8,1	43,1±6,2	43,9±7,6	44,1±8,6
FEVI (%)	58,6± 12,7	58,2±13,6	60,8±7,9	60,7±11,2	50,7±15,1 (***)
DTDVI (mm)	43,9± 6,7	44,2±7,0	42,5±4,9	43,3±6,3	46,8±8,1 (**)
Patrón de hipertrofia					
Septal asimétrica	87 (68,5%)	69(65,7%)	18(81,8%)	73(70,9%)	14(8,3%)
Concéntrica	26 (20,5%)	24(22,9%)	2(9,1%)	20(19,4%)	6(25,0%)
Apical	4 (3,3%)	4(4,0%)	0	2(2,0%)	2(8,7%)
Tipo morfológico septal					
Reverso	47 (38,5%)	37(36,6%)	10(47,6%)	43(43,9%)	4(16,7%)
Neutro	51 (41,8%)	46(45,5%)	5(23,8%)	37(37,8%)	14(58,3%)
Apical	4 (3,3%)	4(4,0%)	0	1(1,0%)	3(12,5%) (***)
Sigmoideo	5 (4,1%)	4(4,0%)	1(4,8%)	5(5,1%)	0
Disfunción sistólica VI	30 (20,0%)	27(22,0%)	3(11,1%)	17(13,9%)	13(46,4%) (***)
Función diastólica					
Normal	13 (12,9%)	11(13,1%)	2(11,8%)	10(12,0%)	3(16,7%)
Alterada	23 (22,8%)	22(26,2%)	1(5,9%)	18(21,7%)	5(27,8%)
Pseudonormal	35 (34,7%)	27(32,1%)	8(47,1%)	30(36,1%)	5(27,8%)
Restrictivo	3 (3,0%)	2(2,4%)	1(5,9%)	1(1,2%)	2(11,1%) (**)
Pronóstico					
FA	43 (27,6%)	35(28,2%)	8(25%)	41(28,7%)	2(15,4%)
NYHA, n (%)					
I	96 (61,5%)	75(58,1%)	21(77,8%)	65(51,6%)	15(50%)
II	41 (26,3%)	36(27,9%)	5(18,5%)	35(27,8%)	6(20%)
III-IV	17 (10,9%)	16(12,4%)	1(3,7%)	11(8,7%)	6(20,0%) (*)
Síncope	24 (15,4%)	18(14,0%)	6(22,2%)	22(17,5%)	2(6,7%)
TVNS	44 (35,8%)	34(34,0%)	10(43,5%)	36(36,4%)	8(33,3%)
RPA	27 (27,6%)	22(27,5%)	5(27,8%)	8(6,3%)	2(6,7%)
HFMS, n(%)	59 (37,8%)	47(36,4%)	12(44,4%)	50(39,7%)	9(30,0%)

Eventos					
Muerte súbita	10 (6,4%)	9(7,0%)	1(3,7%)	8(6,3%)	2(6,7%)
Paro cardiaco resucitado**	9 (5,7%)	8(88,9%)	1(100%)	8(100%)	1(50%) (**)
5 años MS-MCH score	3,8 ±3,3	3,7±3,2	4,2±3,7	3,9±3,3	3,3±3,0
4≤Score<6	51 (33,1%)	43(33,3%)	8(32,0%)	44(35,5%)	7(23,3%)
Score≥6	21 (13,6%)	18(14,0%)	3(12,0%)	19(15,3%)	2(6,7%)

* <0,05<p<0,1

**0,001<p<0,05

*** p<0,001

Cuando se agrupaba conjuntamente los pacientes homocigotos y heterocigotos (análisis de tipo dominante) para el polimorfismo de la ECA y se comparaban con los WT, se observó que la edad media al diagnóstico era menor en el grupo de heterocigotos y homocigotos con respecto a WT ($40,0 \pm 15,8$ vs, $46,5 \pm 17,1$ $p=0,044$) pero no se observaban diferencias significativas en las demás variables analizadas.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto a la presencia del polimorfismo en la ECA.

AGT (p,M235T)

Se presentó el polimorfismo del AGT M235T en homocigosis en 32 (20,5%) de los pacientes con MCH evaluados (78 (50,0%) fueron heterocigotos y 46 (29,5%) WT). Las características demográficas y clínicas de los portadores en homocigosis fueron similares a las de los heterocigotos y WT (Tabla 16). En particular no hubo diferencias en las medidas morfológicas y funcionales del ventrículo izquierdo por Ecocardiografía. Hubo únicamente un mayor porcentaje de pacientes homocigotos con patrón de flujo mitral sugestivo de alteración de la relajación (Tipo I) (9 (40,9%) vs 14 (17,7%), $p=0,022$). No hubo diferencias en cuanto al score de riesgo de MS, El porcentaje de hipertensos y deportistas fue similar en ambos grupos.

Cuando se agrupaba conjuntamente los pacientes homocigotos y heterocigotos para el polimorfismo del AGT M235T y se comparaban con los WT se observaba la misma diferencia en patrón de flujo mitral sugestivo de alteración de la relajación (Tipo

I) (7(41,2%) vs, 16(19,0%), $p= 0,047$) pero no hubo otras diferencias significativas en las variables analizadas.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto a la presencia del polimorfismo AGT M235T,

AGTR1 (c,1166A>C)

Se presentó el polimorfismo del receptor de la angiotensina tipo I (AGTR1) en homocigosis en 13 (8,3%) de los pacientes con MCH evaluados (10 (6,4%) fueron heterocigotos y 133 (85,3%) WT). Las características demográficas y clínicas de los portadores en homocigosis fueron similares a las de los heterocigotos y WT (Tabla16). En particular no hubo diferencias en las medidas morfológicas y funcionales del ventrículo izquierdo por ecocardiografía. Hubo únicamente un mayor porcentaje de pacientes homocigotos para el polimorfismo con antecedente de síncope (5 (38,5%) vs 19 (13,3%), $p=0,016$). El porcentaje de hipertensos y deportistas fue similar en ambos grupos,

Cuando se agrupaba conjuntamente los pacientes homocigotos y heterocigotos para el polimorfismo de la AGTR1 y se comparaban con los WT se observó que el grupo de pacientes heterocigotos y homocigotos tenía un mayor diámetro telediastólico del VI ($45,1\pm 7,5$ vs, $42,6\pm 5,6$, $p=0,019$), pero ya no hubo otras diferencias significativas en las variables analizadas.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto a la presencia del polimorfismo AGTR1.

CYP11B2 (-344 C>T)

Se presentó el polimorfismo -344 C>T del CYP11B2 en homocigosis en 27 (17,3%) de los pacientes con MCH evaluados (79 (50,6%) fueron heterocigotos y 52 (33,3%) WT). Las características demográficas y clínicas de los portadores en homocigosis fueron similares a las de los heterocigotos y WT (Tabla16). En particular

no hubo diferencias en las medidas morfológicas y funcionales del ventrículo izquierdo por ecocardiografía. El porcentaje de hipertensos y deportistas fue similar en ambos grupos.

Cuando se agrupaba conjuntamente los pacientes homocigotos y heterocigotos para el polimorfismo CYP11B2 y se comparaban con los WT, se observaron ligeras diferencias en la masa ventricular izquierda, que era mayor en los pacientes WT respecto a los portadores del polimorfismo ($323,5 \pm 111,6$ vs $285,0 \pm 101,1$, $p=0,04$), sin efecto sobre el cálculo global del score de riesgo.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto a la presencia del polimorfismo en la CYP11B2.

CMA1 (-1903 A>C)

Se presentó el polimorfismo -1903 A>C de la quimasa A cardíaca (CMA1) en homocigosis en 30 (19,2%) de los pacientes con MCH evaluados (81 (51,9%) fueron heterocigotos y 45 (28,8%) WT). Las características demográficas y clínicas de los portadores en homocigosis fueron similares a las de los heterocigotos y WT (Tabla 16). En este caso si se observaron diferencias significativas en la morfología y función del ventrículo izquierdo. Los portadores del polimorfismo CMA1 en homocigosis tenían un porcentaje superior de hipertrofia de distribución apical (3 (12,5%, vs 1 (1,0%), $p=0,005$), lo que se reflejaba en un diámetro telediastólico tomado a nivel basal mayor ($46,8 \pm 8,1$ vs $43,3 \pm 6,3$ mm, $p=0,02$) a pesar de tener un grosor máximo similar. Había un porcentaje superior tanto de pacientes con disfunción sistólica (13 (46,4%) vs 17 (13,9%), $p<0,001$) como signos de afectación diastólica (patrón restrictivo: 2 (11,1%) vs 1 (1,2%), $p=0,025$). A pesar de las alteraciones ecocardiográficas, no hubo diferencias significativas en cuanto a los síntomas ni en relación con el riesgo de MS. El porcentaje de hipertensos y deportistas fue similar en ambos grupos.

Cuando se agrupaba conjuntamente los pacientes homocigotos y heterocigotos para el polimorfismo CMA1 y se comparaban con los WT, únicamente se observó una tendencia a un menor porcentaje de TVNS en holter en los homocigotos (26 (30,2%) vs 18 (48,6%), $p=0,051$), sin efecto sobre el cálculo global del score de riesgo.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto a la presencia del polimorfismo en la CMA1.

AGT (p,T174M)

Se presentó el polimorfismo T174M en homocigosis en un solo paciente (0,7%) de los pacientes con MCH evaluados (22 (14,1%) fueron heterocigotos y 133 (85,3%) WT). El paciente con el polimorfismo T174M en homocigosis presentaba una forma de hipertrofia particularmente severa con obstrucción y síntomas limitantes de forma precoz y acumulación de factores de alto riesgo por lo que se indicó implantación de desfibrilador y realización de miectomía a edad joven.

Las características demográficas y clínicas de los portadores en homocigosis fueron similares a las de los heterocigotos y WT (Tabla 16). No se observaron diferencias significativas en la morfología y función del ventrículo izquierdo. No hubo diferencias significativas en cuanto a los síntomas ni en relación con el riesgo de MS.

Los portadores del polimorfismo T174M en heterocigosis fueron mas frecuentemente hipertensos (12 (54,5%, vs 39 (29,5%), $p= 0,021$). El porcentaje de deportistas fue similar en ambos grupos.

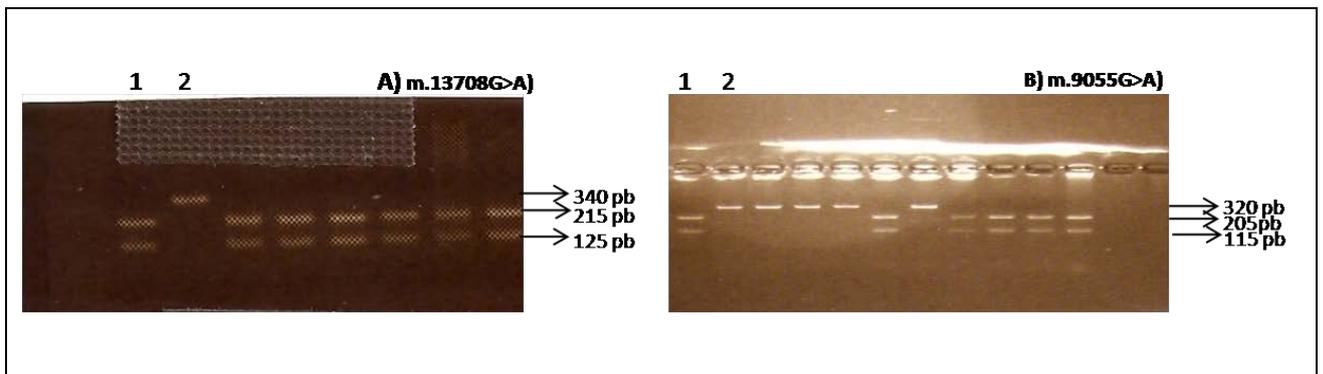
En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto a la presencia del polimorfismo T174M en el AGT.

Finalmente, el sumatorio de la puntuación que se le dio a cada polimorfismo del SRAA según su genotipo en cada paciente no resultó estar asociado al fenotipo ecocardiográfico.

3.1.2. Haplogrupos mitocondriales

En la Figura 21 se muestran resultados gráficos obtenidos para algunos polimorfismos del ADNmt.

Figura 21. Imágenes de geles de agarosa tras digestión enzimática



A) Polimorfismo m.13708G>A, calle1:13708G, calle2: 13708A. B) Polimorfismo m.9055G>A, calle1: 9055G, calle2: 9055A

Se llevó a cabo la clasificación de los pacientes en haplogrupos según la combinación de polimorfismos que mostraba en su ADNmt (Figura 10).

En la siguiente Tabla 17 se presentan las características clínicas de los pacientes según el haplotipo al que pertenezcan.

Tabla 17. Características clínicas de los pacientes comparando los distintos haplogrupos

Variables demográficas		Haplogrupos mitocondriales			
Totales		H	V	HV	U
N	127	81 (51,9%)	6 (3,8%)	29(18,6%)	19 12,2%)
Edad al diagnóstico (años)	41.0± 16.0	43.2±16.9	36.0±15.7	40.4±15.8	42.5±13.4
Edad última evaluación (años, DE)	53.2 ±16.3	54.5±15.9	54.2±15.5	53.7±15.4	53.3±11.2
Motivo de diagnóstico, n (%)					
Casual	29 (15.4%)	12 (15%)	1 (16.7%)	4(13.8%)	5 (26.3%)
Screening familiar	84 (44.7%)	38 (47.5%)	2 (33.3%)	1137.9%)	6 (31.6%)
Síntomas	75 (39.9%)	30(37.5%)	3 (50.0%)	14(48.3%)	8 (42.1%)
Características ecocardiográficas					
GRVI (mm, DE)	20.3 ±6.0	19.6±5.3 (**)	20.3±5.8	21.1±5.5	21.8±6.5
GRVI indexado	10.9±4.5	10.5±3.1 (**)	11.3±3.4	11.3±3.3	11.8±3.6
HVI severa	14 (7.5%)	5 (6.2%)		12(6.9%)	
Masa VI, Deveraux	295.4±107.7	291.7±94.3	276.5±128.3	305.2±125.7	290.9±87.5
Masa VI, Penn	355.0±134.7	350.4±117.9	331.5±160.4	367.4±157.2	349.4±109.4
Obstrucción	54(28.4%)	27 (33.3%)	0	9 (31.0%)	
Disfunción sistólica VI	38 (21.1%)	12 (15.8%)	2 (33.3%)	4 (14.3%)	4 (21.1%)
Diámetro de la AI (mm)	43.9 ±7.9	43.7±6.1	42.7±4.9	44.0±8.0	44.1±7.4
FEVI (%)	58.4±13.2	60.6±12.6 (*)	51.6±11.8	59.0±12.1	59.4±10.6
DTDVI (mm)	43.9±7.1				
Patrón de hipertrofia		43.7±6.1	42.7±4.9	44.0±8.0	44.1±7.4
Septal asimétrica	97 (60.6%)				
Concéntrica	27 (16.9%)	45 (66.2%)	3 (100%)	18 (69.2%)	7 (63.6%)
Apical	4 (2.6%)	14 (20.6%)	0	6 (23.1%)	4 (36.4%)
Tipo morfológico septal		2 (3.2%)	0	1 (3.8%)	0
Reverso	57 (36.8%)				
Neutro	52 (33.5%)	20 (30.8%) (*)	1 (33.3%)	13 (50.0%)	5 (50%)
Apical	4 (2.6%)	27 (41.5%)	2 (66.7%)	10 (38.5%)	5 (50.0%)
Sigmoideo	5 (3.2%)	2 (3.1%)	0	1 (3.8%)	0

RPA en ergometría	30(27.5%)	5 (7.7%) (**)	0	0	0
HFMS, n(%)	72 (37.5%)	60.6±12.6 (*)	51.6±11.8	59.0±12.1	59.4±10.6
Función diastólica					
Normal	14 (10.4%)	43.7±6.1	42.7±4.9	44.0±8.0	44.1±7.4
Relajación alterada	25 (18.7%)				
Pseudonormal	35 (26.1%)	45 (66.2%)	3 (100%)	18 (69.2%)	7 (63.6%)
Restrictiva	3 (3%)	14 (20.6%)	0	6 (23.1%)	4 (36.4%)
Presencia de síntomas o complicaciones, n (%)					
Síncope	28 (14.9%)	12 (14.8%)	0	6 (20.7%)	5 (26.3%)
TVNS	49 (34.8%)	17 (27.4%) (*)	2 (100%) (**)	13 (50,0%) (*)	5 (36.7%)
FA	53 (27.6%)	19 (23.5%)	4 (66.7%) (**)	9 (31.0%)	6 (31.6%)
Clase funcional NYHA, n (%)					
I	116 (60.4%)	5 (62.5%)	4 (57.1%)	5 (83.3%)	15 (55.6%)
II	48 (25.0%)	3 (37.5%)	1 (14.3%)	1 (16.7%)	8 (29.6%)
III-IV	24 (12.5%)	0	2 (28.6%)	0	3 (11.1%)
Eventos					
Muerte súbita	12 (6.3%)	0	0	1 (100%)	0
Paro cardíaco resucitado**	9 (4.7%)	0	0	1 (100%)	0
5 años MS-MCH score	3.59 ±3.1	3.1±1.4	4.3±1.7	2.1±0.6	4.7±4.9
4≤Score<6	55 (30.4%)	2 (25.0%)	4 (57.1%)	0	9 (34.6%)
Score≥6	23 (12.7%)	0	2 (28.6%)	0	5 (19.2%)

Continuación Tabla 17

TOTALES	K	J	T	UK	
Variables demográficas					
N	127	8 (5,1%)	7 4,5%)	6 (3,8%)	27 (30,8%)
Edad al diagnóstico (años)	41,0± 16,0	31,5±11,3 (*)	40,0±20,5	33,5±17,1	39,2±13,6
Edad última evaluación (años, DE)	53,2 ±16,3	48,6±12,4	57,1±22,7	43,2±15,9 (*)	51,9±11,5
Motivo de diagnóstico, n (%)					
Casual	29 (15,4%)	1 (12,5%)	3 (42,9%) (*)	1 (16,7%)	6 (22,2%)
Screening familiar	84 (44,7%)	5 (62,5%)	1 (14,3%)	3 (50,0%)	11 (40,7%)
Síntomas	75 (39,9%)	2 (25,0%)	3 (42,9%)	2 (33,3%)	10 (37,0%)

Características ecocardiográficas					
GRVI (mm, DE)	20,3 ±6,0	24,1±11,3	22,0±6,0	19,2V4,2	22,5±8,1
GRVI indexado	10,9±4,5	13,09±5,9	11,5±3,5	11,6±1,4	12,2±4,4
HVI severa	14 (7,5%)	2 (25,0%)			
Masa VI, Deveraux	295,4±107,7	367,1±182,2	339,0±88,0	250,9±92,0	312,2±122,2
Masa VI, Penn	355,0±134,7	444,7±227,8	409,5±110,0	299,4±114,9	376,1±152,8
Obstrucción	54(28,4%)	1 (12,5%)			
Disfunción sistólica VI	38 (21,1%)	3 (37,5%)	4 (57,1%) (**)	1 (16,7%)	7 (25,9%)
Diámetro de la AI (mm)	43,9 ±7,9	41,5±10,3	46,6±8,0	40,2±3,4	44,17,6
FEVI (%)	58,4±13,2	50,5±9,2 (*)	47,4±18,0 (**)	61,0±15,0	56,2±10,8
		0,87±0,1 (**)			
DTDVI (mm)	43,9±7,1	47,7±9,6	46,0±5,9	40,0±2,5	45,1±8,1
Patrón de hipertrofia					
Septal asimétrica	97 (60,6%)	5 (71,4%)	6 (87,5%)	3 (60,0%)	12 (66,7%)
Concéntrica	27 (16,9%)	1 (14,3%)	1 (14,3%)	0	5 (27,8%)
Apical	4 (2,6%)	1 (14,3%) (*)	0	0	1 (5,6%)
Tipo morfológico septal					
Reverso	57 (36,8%)	2 (33,3%)	4 (57,1%)	2 (40,0%)	7 (43,8%)
Neutro	52 (33,5%)	3 (50,0%)	3 (42,9%)	1 (20,0%)	8 (50,0%)
Apical	4 (2,6%)	1 (16,7%) (*)	0	0	1 (6,3%)
Sigmoideo	5 (3,2%)	0	0	0	0
RPA en ergometría	30(27,5%)	4 (57,1%) (*)	1 (33,3%)	1(33,3%)	8 (40,0%)
HFMS, n(%)	72 (37,5%)	2 (25,0%)	2 (28,6%)	1(16,7%)	13 (48,1%)
Función diastólica					
Normal	14 (10,4%)	0	0	1 (20,0%)	0
Relajación alterada	25 (18,7%)	1 (25,0%)	1 (20,0%)	1 (20,0%)	2 (16,7%)
Pseudonormal	35 (26,1%)	2 (50,0%)	2 (40,0%)	1 (20,0%)	5 (41,7%)
Restrictiva	3 (3%)	0	1 (20,0%) (**)	0	1 (8,3%)
Presencia de síntomas o complicaciones, n (%)					
Síncope	28 (14,9%)	1 (12,5%)	0	0	6 (22,2%)
TVNS	49 (34,8%)	3 (37,5%)	4 (57,1%)	0	8 (36,4%)
FA	53 (27,6%)	1 (12,5%)	3 (42,9%)	1 (16,7%)	7 (25,9%)

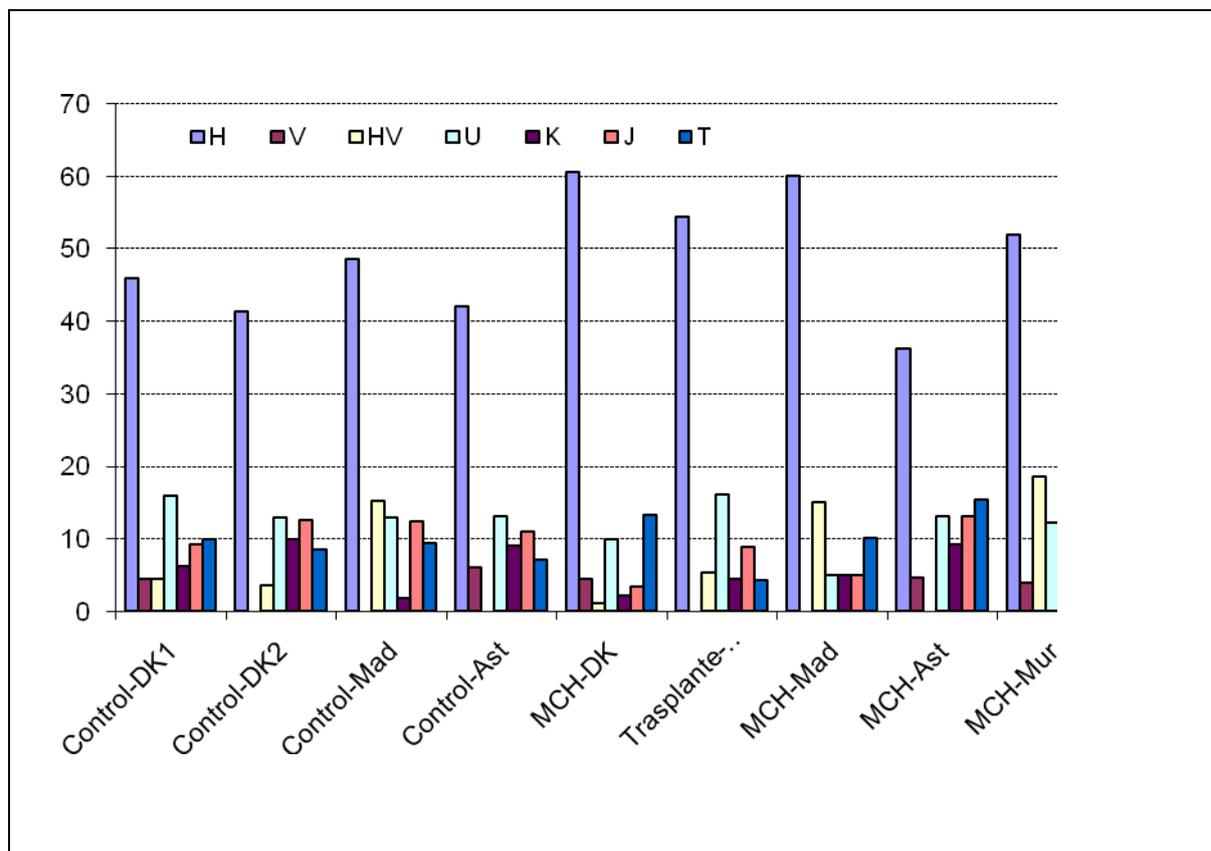
NYHA, n (%)					
I	116 (60,4%)	51 (63,0%)	2 (33,3%)	19 (65,5%)	10 (52,6%)
II	48 (25,0%)	21 (25,9%)	1 (16,7%)	9 (31%)	5 (26,3%)
III-IV	24 (12,5%)	8 (9,9%)	3 (50,0%) (**)	1 (3,4%)	3 (15,8%)
Eventos					
Muerte súbita	12 (6,3%)	7 (100%)	0	2 (100%)	0
Paro cardíaco resucitado**	9 (4,7%)	6 (85,7%)	0	2 (100%)	0
5 años MS-MCH score	3,59 ±3,1	3,2±2,1(**)	2,96±1,8	5,0±4,2 (*)	5,4±5,7
4≤Score<6	55 (30,4%)	24 (30%)	2 (33,3%)	12 (41,4-%)	7 (38,9%)
Score≥6	23 (12,7%)	6 (7,5%) (**)	0	8 (27,8%) (**)	5 (27,8%) (*)

* <0,05<p<0,1

**0,001<p<0,05

*** p<0,001

Figura 22. Distribución de haplogrupos en controles y pacientes con MCH



DK1: Dinamarca (Benn et al. 2008); DK2: Dinamarca (Mikkelsen et al. 2010); Mad: Madrid;Ast: Asturias

Haplogrupo H

El haplogrupo H estaba representado con más frecuencia en la población con MCH si lo comparábamos con el grupo control de Asturias (52% vs, 42%, $p=0,045$) pero sin diferencias significativas con respecto al grupo control de Madrid (Figura 22).

Los pacientes con haplogrupo H no tenían diferencias apreciables con respecto a las variables demográficas. En cuanto a las variables clínicas, los pacientes que pertenecían a este haplogrupo tenían medidas morfológicas y funcionales diferentes significativamente con respecto a los pacientes que pertenecían a otros haplogrupos: el grosor máximo de la pared del ventrículo izquierdo fue significativamente menor en este grupo ($19,6\pm 5,3$ vs, $21,5\pm 6,4$ mm $p=0,046$), al igual que el grosor indexado ($10,5 \pm 3,1$ vs, $11,7$, $p=0,030$) y solo cinco pacientes (6,2%) tenían hipertrofia severa. Doce (15,8%) presentaban disfunción sistólica y la FEVI tendía a ser mayor que en otros grupos ($60,6 \pm 12,6$ vs, $56,3\pm 12,6$ $p=0,079$). En concreto, la FEVI fue mayor significativamente cuando se comparaba específicamente con la de los pacientes del haplogrupo J ($60,6\pm 12,6$ vs, $47,4\pm 18,0$ $p=0,045$).

En este grupo hubo un mayor porcentaje de morfología septal de tipo sigmoideo (5 (7,7%) vs, 0, $p=0,032$) y una tendencia a tener menor porcentaje de morfología septal tipo reverso (20 (30,8%) vs, 45 (69,2%) $p=0,060$). En cuanto a la presencia de síntomas, se observó una tendencia a un menor porcentaje de pacientes con TVNS en holter (17 (27,4%) vs. 27 (44,3%), $p=0,051$), con efecto sobre el cálculo global del score de riesgo de MS en los próximos 5 años ($3,2\pm 2,2$ vs, $4,42\pm 4,1$ $p=0,023$), siendo además la frecuencia de pacientes con score de riesgo mayor de 6 significativamente menor (6 (7,5%) vs, 15 (20,3%) $p=0,02$).

En este grupo el 22,4% presentaba RPA con el esfuerzo. Finalmente, en este grupo se había producido 7 muertes súbitas, de las cuales 6 fueron resucitadas.

En el estudio de Kaplan Meier se observaron diferencias no significativas pero si una tendencia a una mayor supervivencia libre de FA con respecto a otros grupos (73,2 años vs, 65,6, $p=0,076$). No hubo diferencias en la edad de supervivencia para el resto de los eventos estudiados así como para la supervivencia libre de MS.

Haplogrupo V

El haplogrupo V se presentó en 6 (3,8%) de los pacientes con MCH. La frecuencia del haplogrupo V de nuestra población fue similar al grupo control de Asturias.

En cuanto a las características demográficas, hubo una tendencia a que este grupo esté representado por una mayoría de mujeres (4 (66,7%) vs, 47 (31,3%) $p=0,070$) en comparación con otros haplogrupos. En este caso tampoco se observaron diferencias significativas en la morfología del ventrículo izquierdo, el GRPVI era de $20,3\pm 5,8$ y ningún paciente presentaba obstrucción. La presencia de disfunción sistólica del VI era frecuente (33,3%), La FEVI media fue de $51,6\pm 11,8\%$. El tamaño de la AI fue de $47,6\pm 12,8$ y la fracción de acortamiento del ventrículo izquierdo resultó significativamente menor ($30,0\pm 9,4$ vs, $39,0\pm 10,5$ $p=0,042$). Hubo una mayor frecuencia de pacientes que había presentado casos de FA (4 (66,7%) vs, 39 (26,0%) $p=0,029$) y con clase funcional NYHA III-IV (3 (50,0%) vs, 14 (9,3%) $p=0,002$). Por último, se observó una tendencia a un mayor porcentaje de TVNS en holter en los pacientes de este grupo (2 (100%) vs 42 (34,7%), $p=0,056$), sin efecto sobre el cálculo global del score de riesgo (ningún paciente presentaba un score de riesgo de MS superior a 6). Ningún paciente de este grupo exhibió una RPA, ni tampoco fue documentada ninguna MS,

En el estudio de Kaplan Meier, se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, con una supervivencia media más corta que para el resto de los haplogrupos (55,0 años $\pm 6,8$ vs, 70,7 años $\pm 2,0$ $p=0,032$), al igual que una supervivencia media más corta para disnea limitante (NYHA III-IV) (56,4 años $\pm 5,4$ vs, 70,7 años $\pm 2,0$ $p=0,007$) respecto a otros grupos.

Haplogrupo HV

La prevalencia del cluster HV (HV+H+V) fue superior comparada con los grupos control de Madrid y Asturias (116 (74,4%) vs, 109 (63,7%) $p=0,026$) y (116 (74,4%) vs, 144 (48%) $p<0,001$) respectivamente.

En cuanto al haplogrupo HV propiamente dicho, se presentó con una frecuencia de 29 (18,6%) y no hubo diferencias clínicas en las medidas morfológicas ni en las funcionales del ventrículo izquierdo por ecocardiografía, Hubo una mayor prevalencia de antecedentes familiares de muerte súbita (17 (58,6%) vs 42 (33,1%), $p=0,010$), y una tendencia a mayor TVNS (13 (50,0%) vs, 31 (32,0%) $p=0,088$) que implicaba una tendencia a un mayor score de riesgo de MS según la fórmula de Mahoney con un porcentaje superior de pacientes de riesgo alto ($>6\%$) (27,6% vs 10,4%, $p=0,015$) y con un score medio de riesgo de MS que tendía a ser mayor ($5,0\pm 4,2$ vs, $3,5\pm 2,9$ $p=0,091$).

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto al haplogrupo HV.

Haplogrupo U

El haplogrupo U se presentó en 19 (12,2%) de los pacientes con MCH, La frecuencia de nuestra población con MCH fue similar a la de las poblaciones control españolas.

Las características demográficas y clínicas de los pacientes que pertenecían al haplogrupo U fueron similares a las de los otros grupos (Tabla 17). En este caso si se observaron diferencias significativas en la función del ventrículo izquierdo, Había una tendencia a un porcentaje superior de pacientes con afectación diastólica (patrón restrictivo: 1 (12,5%) vs. 2 (2,0%), $p=0,098$). Además, hubo tendencia a un mayor porcentaje de pacientes con riesgo alto de MS ($>6\%$) en los próximos 5 años (5 (27,8% vs. 16,0 (11,8%) $p=0,063$).

En el estudio de Kaplan Meier se observaron diferencias significativas mediante los tests log-rank en cuanto a la supervivencia libre de ACV (63,2 vs,83,9 $p=0,034$) y disnea limitante (NYHA III-IV) (60,5 vs, 74,2 $p=0,033$) cuando se comparó este grupo con el resto. En cuanto a la supervivencia libre hasta el evento combinado, hubo una tendencia a que los pacientes de este grupo también la presentaran menor (55,2 vs. 66,9 $p=0,064$) con respecto a los demás grupos.

Haplogrupo K

Este haplogrupo se presentó en 8 (5,1%) de los pacientes del estudio, no hubo diferencia con la frecuencia con la que se presentaba en Asturias pero sí fue mayor en comparación con el grupo control de Madrid, ((5,1%) vs, (1,8%), $p=0,013$) (Tabla 18), con lo que al igual que el haplotipo H este podría ser un factor de susceptibilidad para padecer la enfermedad.

Los pacientes que pertenecían a este haplogrupo tenían una edad media al diagnóstico menor con respecto al resto de los grupos ($31,5\pm 11,3$ vs, $41,7\pm 16,3$, $p=0,039$) donde la mayoría son varones (87,5%).

Se encontraron diferencias clínicas tanto morfológicas como funcionales. Un 25% de los pacientes tenían hipertrofia severa, y sólo 12,0% presentaban obstrucción. Esta hipertrofia tenía mayoritariamente un patrón apical (1 (16,7%) vs, 3 (2,6%) $p=0,059$). El ratio AI/DTD fue significativamente menor en los pacientes de este grupo ($0,87\pm 0,1$ vs, $1,03\pm 0,2$ $p=0,035$). Se encontró también en este grupo una tendencia a mayor frecuencia de pacientes con RPA (4 (57,1%) vs, 23 (25,3%) $p=0,069$).

Un 62,5% se encontraban en clase funcional I de la NYHA y no hubo ningún paciente de este grupo con NYHA III-IV.

Finalmente, ninguno de ellos había presentado MS, Un 25% de los pacientes de este grupo tenía HFMS. En más de la mitad de los casos, el diagnóstico inicial se realizó tras *screening* familiar por MS o MS resucitada.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), MS o el evento combinado, respecto a pertenecer al haplogrupo K,

Tabla 18. Distribucion de los haplogrupos en controles y pacientes portadores afectados

%											
Haplogrupo	Control-DK1 Benn et al. (2008)	Control-DK2 Mikkelsen et al. (2010)	Control Madrid	Control Asturias	MCH DK	Trasplante Madrid	MCH Madrid	MCH Asturias	MCH Murcia	p1	p2
H	45,9	41,3	48,5	42,0	60,4	54,2	60,0	36,2	51,9	0,50	0,045
V	4,5			6,0	4,4			4,6	3,8		0,82
HV	4,5	3,5	15,2		1,1	5,3	15,0		18,6	0,34	
U	15,9	12,9	12,9	13,0	9,9	16,0	5,0	13,1	12,2	0,83	0,81
K	6,2	10,0	1,8	9,0	2,2	4,4	5,0	9,2	5,1	0,013	0,17
J	9,1	12,4	12,3	11,0	3,3	8,9	5,0	13,1	4,5	0,018	0,038
T	9,9	8,5	9,4	7,0	13,2	4,2	10,0	15,4	3,8	0,055	0,20

P1 y p2: Significación al comparar nuestra serie con controles de Madrid (p1) y Asturias (p2);

DK: Dinamarca

Haplogrupo J

La prevalencia del haplogrupo J era significativamente más baja en la población con MCH, (4,5% vs, 12,3% p=0,018) comparándola con controles de Madrid y (4,5% vs, 11,0% p=0,038) si la comparabamos con los controles de Asturias (Tabla 18).

En este haplogrupo hubo que resaltar la tendencia a una mayor frecuencia de diagnóstico por hallazgo casual de los pacientes (3 (42,9%) vs, 24 (16,2%) p=0,069).

En los pacientes que pertenecían a este haplogrupo, se observaron diferencias significativas en la función del ventrículo izquierdo, había un porcentaje superior tanto de pacientes con disfunción sistólica (4 (57,1%) vs 26 (18,2%), p=0,012) y con menor FEVI (47,4±18,0 % vs, 59,2±12,3% p=0,043), así como signos de afectación diastólica (patrón restrictivo: 1 (20,0%) vs 2 (2,1%), p=0,021). A pesar de las alteraciones ecocardiográficas, no hubo diferencias significativas en cuanto a los síntomas ni en relación con el riesgo de MS.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), muerte súbita o el evento combinado, respecto a pertenecer al haplogrupo J.

Haplogrupo T

La prevalencia del haplogrupo T era algo inferior en la población de pacientes con MCH que en los controles de Madrid (3,8% vs. 9,4% $p=0,055$), y no hubo diferencias con el grupo control de Asturias (18).

En cuanto a las variables demográficas, los pacientes de este grupo tendían a ser más jóvenes que los pacientes de otros grupos ($43,2\pm 15,9$ vs. $54,0\pm 13,3$ años $p=0,091$). No hubo diferencias significativas entre este haplogrupo y los demás, ni con respecto a la morfología del VI. No se observaron diferencias en relación con el riesgo de MS.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), MS o el evento combinado, respecto al haplogrupo T.

Haplogrupo UK

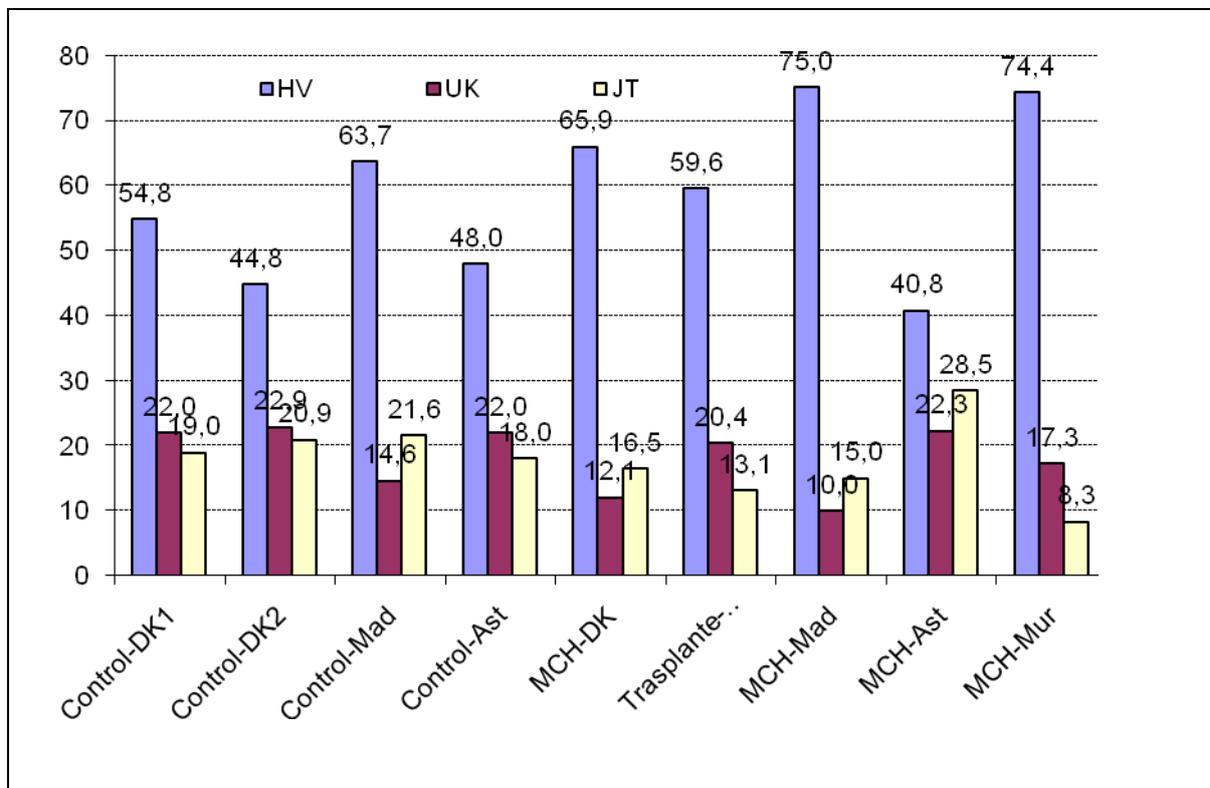
La prevalencia del haplogrupo UK fue similar cuando la comparamos con la frecuencia de la población UK control de Madrid, o con la de Asturias.

El porcentaje de hipertensos tendía a ser menor en este grupo (5 (19,2%) vs. 46(35,9%) $p=0,099$).

Las características demográficas y clínicas de los pacientes de este haplogrupo fueron similares a las de los demás haplogrupos.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), MS o el evento combinado, respecto al haplogrupo UK.

Figura 23. Distribución de cluster de haplogrupos en controles y pacientes con MCH



DK1: Dinamarca (Benn et al. 2008); DK2: Dinamarca (Mikkelsen et al. 2010); Mad: Madrid; Ast: Asturias

Haplogrupo JT

La prevalencia del cluster JT fue inferior comparándola con la población control de Madrid ((8,3%) vs, (21,6%), $p < 0,01$) y Asturias ((8,3%) vs, (18,0%), $p = 0,012$) (Figura 21).

Las características demográficas y clínicas de los pacientes de este haplogrupo fueron similares a las de los demás haplogrupos.

En el estudio de Kaplan Meier no se observaron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de FA, ACV, disnea limitante (NYHA III-IV), MS o el evento combinado, respecto al haplogrupo JT.

3.2. Análisis Multivariado

3.2.1. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

Polimorfismos del SRAA como predictores de variables ecocardiográficas

El polimorfismo T174M en homocigosis del gen del AGT se asoció de forma independiente con el grosor máximo y grosor indexado VI, (OR= 13,93 (IC95% 2,45-25,40) $p = 0,018$) y (OR=7,65 (IC95% 1,10-14,18) $p = 0,022$), respectivamente (en presencia del sexo, HTA, edad, genotipo y haplotipos mitocondriales).

La “dosis” del polimorfismo T174M también se asoció de forma independiente con el grosor máximo no indexado (OR=2,45 (IC95% -0,05 - 4,95) $p = 0,055$ (WT, heterocigoto, homocigoto)). La dosis del polimorfismo T174M también se asoció al grosor ventricular indexado.

La presencia del polimorfismo -1903 A>G en CMA1 se asoció significativamente con el tamaño ventricular en diástole (ajustado Henry %) (OR= 7,21 (IC95% 1,43 - 13,00) $p = 0,015$). La presencia de HTA también se asoció de forma significativa con este parámetro ecocardiográfico, (OR=4,81 (IC95% 0,21 - 9,40) $p = 0,041$).

El polimorfismo -1903 A>G y T174M fueron las variables más estrechamente asociadas al valor de DTD del VI, para CMA un OR=3,97 (IC95% 1,30 - 6,64) $p = 0,004$ y para T174M (dosis) inversamente con un OR=-3,13 (IC95% -5,82 - -0,44) $p = 0,023$. La superficie corporal fue el valor más íntimamente relacionado con el DTD del VI ($p < 0,0001$).

Ningún polimorfismo del sistema SRAA se asoció con la razón grosor/DTD, ni con el diámetro AI. El polimorfismo M235T presentó un valor en el límite de la significación, (OR=-2,70 (IC95% -5,60 - 0,19) $p = 0,067$). La edad y la BSA fueron las únicas variables asociadas significativamente con el diámetro AI, El OR para la edad fue de 0,23 (IC95% 0,15 - 0,30) $p < 0,0001$.

El polimorfismo -1903 A>G y el genotipo positivo para MYH7 junto con el grosor máximo fueron predictores independientes de la presencia de obstrucción en el TSVI, El OR para la ausencia del polimorfismo CMA en homocigosis se asoció a un OR de 2,83 (IC95% 1,01 – 8,03) $p=0,050$ y el OR para el genotipo MYH7 fue de 2,53 (IC95% 10,01 – 6,33) $p=0,047$). El grosor máximo se asocia a la presencia de obstrucción en el TSVI en el modelo (OR=1,12 (IC95% 1,05 – 1,20) $p<0,001$).

El polimorfismo -1903 A>G y el genotipo MYBPC3 junto con el grosor máximo fueron predictores independientes de la presencia de un septo reverso. El OR para la ausencia del polimorfismo -1903 A>G en homocigosis se asoció a un OR de 11,75 (IC95% 2,36 - 58,38) $p=0,003$ y el OR para el genotipo MYBPC3 fue de 7,21 (IC95% 1,29 - 40,42) $p=0,025$). El grosor máximo se asocia a la presencia de un septo reverso en el modelo con un OR de 1,27 (IC95% 1,15 - 1,41) $p<0,001$.

No se identificó asociación entre los polimorfismos del SRAA y la presencia de un determinado patrón de hipertrofia respecto de la clasificación en asimétrico, concéntrico o apical.

A pesar de que los varones y el grosor máximo se asociaron con la presencia de un patrón de flujo mitral pseudonormal, no hubo ninguna variable asociada a la presencia de un patrón restrictivo (o pseudonormal-restrictivo). El OR para el sexo varón fue de 3,41 (IC95% 1,17 - 9,88) $p=0,024$). El OR para el grosor máximo fue de 1,14 (IC95% 1,05 - 1,23) $p=0,001$.

El polimorfismo -1903 A>G, -344 C>T del CYP11B2 y el genotipo MYBPC3 fueron los parámetros más importantes asociados a la fracción de acortamiento. Los valores de OR fueron de -6,62 (IC95% (-2,20) - (-11,03)) $p=0,004$ para -1903 A>G, -5,90 (IC95% (-1,54) - (- 10,27)) $p=0,008$ para -344 C>T y -4,65 (IC95% (-0,26) – (- 9,05)) $p=0,038$ para el genotipo MYBPC3.

El polimorfismo -1903 A>G fue predictor independiente de la presencia del desarrollo de disfunción sistólica (como variable binaria). El OR para el polimorfismo -1903 A>G fue de 5,36 (IC95% 2,13 - 13,50) $p<0,001$,

Asociación con variables pronósticas

Ninguno de los polimorfismos del SRAA se asoció con el valor del Score de riesgo de muerte súbita. Hubo un polimorfismo del sistema SRAA que sí se asoció con el síncope. El OR para el polimorfismo A1166C del AGTR1 fue de 5,90 (IC95% 1,56 - 22,37) $p=0,009$.

Supervivencia libre de eventos

El polimorfismo I/D de la ECA y el grosor máximo fueron las variables asociadas a la supervivencia libre de FA, El HR para el polimorfismo I/D fue de 2,17 (IC95% 1,15 - 4,09) $p=0,017$ y para el grosor máximo fue de 1,07 (IC95% 1,01 - 1,15) $p=0,032$.

El polimorfismo -1903 A>G y la presencia de obstrucción fueron las variables asociadas a la supervivencia libre de NYHA III-IV. El HR para el polimorfismo -1903A>G fue de 4,32 (IC95% 1,88 - 9,91) $p=0,001$ y para la presencia de obstrucción fue de 2,43 (IC95% 1,09 - 5,40) $p=0,03$.

El polimorfismo I/D fue la única variable asociada con la supervivencia libre de ACV. El HR para el polimorfismo I/D fue de 4,09 (IC95% 1,05 - 15,91) $p=0,042$.

El grosor máximo fue la única variable asociada con la supervivencia libre del evento combinado. El HR para el grosor máximo fue de 1,08 (IC95% 1,03 - 1,14) $p=0,003$.

No hubo ninguna variable asociada a la supervivencia libre de muerte súbita.

3.2.2. Haplogrupos mitocondriales

Haplotipos mitocondriales como predictores de variables ecocardiográficas.

El haplogrupo UK se asoció de forma significativa con el grosor máximo con un OR=2,77 (IC95% 0,26 - 5,27) $p=0,030$ (en presencia del sexo, HTA, edad y BSA).

Hubo una tendencia no significativa a una asociación entre el haplogrupo K y grosor indexado con un OR=2,19 (IC95% -0,17 – 4,56) p = 0,069.

El haplogrupo K también se asoció en el límite de la significación con el grosor máximo con un OR (beta)=4,09 (IC95% -0,12 – 8,30) p = 0,057 (en presencia del sexo, HTA, edad y BSA).

El haplogrupo K se asoció a un ratio AI/DTD menor de forma significativa con una OR=-0,14 (IC95% (-0,29) – (-0,002)) p =0,047. La edad también se relacionó con este parámetro ecocardiográfico, (OR=0,003 (IC95% 0,001 - 0,005) p =0,003).

El haplogrupo K se asoció a un valor de DTD del VI ajustado (según Henry %). aunque esta asociación no alcanzó la significación si se observó una tendencia, (OR=8,56 (IC95% -1,03 - 18,16) p =0,08).

Ningun haplogrupo se asoció con la razón grosor/diámetro VI.

El haplogrupo V presentaba un valor en límite de la significación, (OR=5,63 (IC95% -0,19 – 11,45) p =0,058).

No se identificaron haplogrupos asociadas a la presencia de un determinado patrón de hipertrofia respecto de la clasificación en asimétrico, concéntrico o apical.

Hubo una tendencia no significativa (p=0,056) para el haplogrupo V con valor de beta alto negativo (OR=-8,01, IC95% (-16,24) – (0,21)).

El haplogrupo J fue predictor independiente de la presencia del desarrollo de disfunción sistólica (como variable binaria). El OR para el haplogrupo J fue de 6,12 (IC95% 1,18 - 31,91) p =0,031).

Asociación con variables pronósticas

El haplogrupo HV y el haplogrupo U se asociaron significativamente con un mayor score de riesgo, el OR para el haplogrupo HV fue de 1,73 (IC95% 0,43 - 3,02) p =0,009, para el haplogrupo U 2,66 (IC95% 1,03 – 4,28) p =0,002. La presencia de HTA

también se asoció a un mayor valor del score con un OR (beta) 1,15 (IC95% 0,70 – 2,23) $p=0,037$).

Ninguno de los haplogrupo se relacionó con el antecedente de síncope, El haplogrupo HV y la edad fueron las únicas variables asociadas a la presencia de TVNS. El OR para el haplogrupo HV fue de 3,02 (IC95% 1,10 – 8,24) $p=0,031$, y para la edad fue de 1,07 (IC95% 1,04 – 1,11) $p <0,001$. Esta asociación se mantuvo tanto en presencia como en ausencia de parámetros ecocardiográficos como grosor máximo y obstrucción en el TSVI.

El haplogrupo K y la presencia de obstrucción fueron las únicas variables asociadas a la presencia de una respuesta presora anormal en la prueba de esfuerzo. El OR para el haplogrupo K fue de 6,25 (IC95% 1,18 – 33,13) $p=0,031$, y para la obstrucción fue de 3,20 (IC95% 1,21 – 8,47) $p=0,019$.

Supervivencia libre de eventos

El haplogrupo V se asoció a la supervivencia libre de FA, El HR fue de 5,1 (IC95% 1,4 – 17,7) $p=0,01$.

El haplogrupo V y el U se asociaron a la supervivencia libre de NYHA III-IV. El HR para el haplogrupo V fue de 8,9 (IC95% 2,7 – 29,3) $p <0,001$ y para el U fue de 2,40 (IC95% 1,0 - 5,7) $p=0,05$.

No hubo ningún haplogrupo mitocondrial asociado a la supervivencia libre de muerte súbita ni del evento combinado.

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

1. Discusión objetivo 1

Este estudio presenta datos de penetrancia, expresión de la enfermedad y pronóstico en una población numerosa de pacientes con MCH portadores de mutaciones causales. Este es el primer trabajo en el que se analiza el papel del género, la HTA y la actividad física en el fenotipo de la MCH en una población genotipada.

La MCH es una enfermedad heterogénea con una variación importante en la edad de aparición, curso de la clínica y pronóstico entre familias portadoras de una misma mutación e incluso dentro de una misma mutación. En la literatura hay información de los distintos grados de penetrancia de la enfermedad en relación al género (131;140). También hay estudios sobre el valor del ECG y la disfunción diastólica como marcadores tempranos de la enfermedad en portadores asintomáticos (137), e incluso, datos experimentales del papel de polimorfismos del SRAA en el desarrollo de la HVI en modelos de ratón con MCH (198).

Hay una creencia general basada en datos indirectos, que la HTA se debería asociar con un incremento de la HVI en pacientes con MCH (199) y que el ejercicio intenso está asociado con un incremento en la HVI, siendo un desencadenante de arritmias malignas y que podría ser una causa de MS en la MCH (200-202).

El diagnóstico de la MCH se incluye en las actuales guías clínicas como causa de suspensión de deportes de competición (139;144;203;204). Los autores de estos documentos exponen esta recomendación, que se extiende a portadores asintomáticos, está basada en la hipótesis de que el ejercicio de entrenamiento regular y los deportes de competición podrían jugar un papel en el desarrollo de mecanismos celulares que dan lugar al fenotipo de la MCH (como hipertrofia ventricular izquierda) en presencia de una predisposición genética. Los propios expertos que firman estos documentos concluyen que no existen datos clínicos o experimentales que apoyen las recomendaciones y que éstas se basan en hipótesis no confirmadas(139).

Hay poca información en la literatura del supuesto mal pronóstico de los pacientes con MCH que practican deporte, viniendo toda ella de informes clínicos y

series retrospectivas (200), Sabemos de grandes series con 112,790 atletas de competición con un periodo de seguimiento de 21 años, en donde se recoge la causa de 300 MS, que los atletas tienen 2,3 veces incrementada su tasa anual de MS. En este estudio la MAVD fue 5,4 veces más prevalente en el grupo de atletas frente al grupo de no atletas. Esta relación, en este estudio, fue paradójicamente opuesta para la MCH, con una prevalencia 5 veces superior entre los no atletas que murieron súbitamente.

Sexo

En concordancia con los estudios previos (138;140-142;204-207), hemos encontrado que el género masculino está asociado con un diagnóstico más temprano de MCH. Los hombres comparados con las mujeres de nuestra serie se diagnosticaron más de una década más precoz. Las posibles explicaciones para este hallazgo consistente se podrían encontrar en el papel de los estrógenos en el desarrollo de la hipertrofia.

La activación del receptor de estrógenos podría modular la señalización de la hipertrofia en mujeres, Se ha demostrado que el tratamiento con estrógenos reduce la hipertrofia del miocardio en modelos animales (141;142;208).

Una vez que el fenotipo se ha desarrollado, las mujeres se comportaron de forma similar a los hombres, exhibiendo un grado de MCH (indexada) y obstrucción similar o incluso sintomáticamente más limitadas. No encontramos diferencias en la supervivencia libre de complicaciones cardíacas como FA y ACV entre géneros, Comparado con las mujeres y en contraste con muchos hallazgos en la literatura previa, los hombres tenían un incremento significativo de mortalidad por MS en nuestra serie. Esta asociación entre género y MS, ya ha sido descrita por nuestro grupo en artículos previos (209) estar esto relacionado con la predominancia de la mutación (IVS23+1G>A) encontrada en nuestra región.

Hipertensión

Una de las principales aportaciones del presente estudio ha sido analizar el papel de la HTA en la expresión fenotípica de la MCH en una población de pacientes genotipados. Contrariamente a lo que se esperaba, los individuos hipertensos tenían un diagnóstico de la MCH más tardío con respecto a los normotensos. El retraso en el diagnóstico de los pacientes hipertensos llegó a ser de más de una década. Es difícil de

explicar este hallazgo y probablemente esté relacionado con la metodología del estudio. Únicamente la edad a la que se diagnostica y no la edad a la que se desarrolla la enfermedad estuvo disponible para el análisis. Los signos en el ECG o la demostración de HVI en un ecocardiograma en pacientes con HTA son a menudo atribuidos a la HTA, incluso cuando hay una historia familiar de MCH, Además de esta explicación, se podría hipotetizar que el tratamiento médico administrado a los pacientes con HTA, frecuentemente consistente en bloqueadores del SRAA o calcioantagonistas, podría prevenir o retrasar el curso del fenotipo de la MCH. Existe alguna experiencia inicial en este sentido en la literatura. Recientemente se han publicado los resultados del un ensayo clínico en portadores genéticos con diltiazem. El tratamiento con este antagonista del calcio a dosis altas durante un periodo de tiempo de 2 años, no tenía un impacto sobre el desarrollo de la HVI pero si actuaba sobre el remodelado ventricular, Concretamente los portadores genéticos de mutaciones en MYBPC3 y no los portadores de MYH7 mantenían un tamaño ventricular normal. Los pacientes tratados con placebo presentaban una reducción del volumen ventricular con un aumento de la ratio grosor/diámetro VI.

A pesar de que los pacientes con MCH e HTA tienen una AI significativamente más dilatada que los normotensos en nuestra serie, no pudimos demostrar una asociación con el pronóstico en general ni con la FA o ACV en particular.

Actividad física

Un estudio reciente ha demostrado una asociación significativa entre ejercicio y pacientes con mutaciones desmosomales tanto en la penetrancia de la MAVD como en las complicaciones arrítmicas (210). Los portadores no afectados que realizaban un ejercicio intenso aumentaban el riesgo de desarrollar la enfermedad. El riesgo de aparición de la enfermedad era proporcional a la intensidad y duración del deporte. Los pacientes que continuaron realizando ejercicio intenso tras haberles informado del estado de portador experimentaban un mayor riesgo de taquicardia ventricular (TV) y fibrilación ventricular (FV) comparado con los más sedentarios (75% vs, 10%).

La observación de que el ejercicio intenso podría desencadenar el desarrollo de la enfermedad parece ser también cierto por la MCH. En nuestra serie, hemos encontrado que entre los portadores de mutaciones sarcoméricas, aquellos grupos de

ejercicio más intenso se diagnosticaron de MCH 14 años más precozmente que los portadores sedentarios.

Una vez que la enfermedad se desarrolla, los pacientes con MCH que realizan ejercicio en los grupos de mayor intensidad parecen desarrollar un grado de hipertrofia similar. Es interesante resaltar que en el análisis multivariante, ni el género, ni la HTA ni la intensidad del ejercicio eran predictores de la HVI en nuestra serie. En contra de lo esperable, tampoco se encontraron diferencias en las dimensiones del VI y AI entre el grupo de pacientes con MCH que realizaban ejercicio y el grupo de sedentarios. En estos, la MCH podría prevenir el remodelado propio del corazón de atleta. El ejercicio parece tener más impacto en el tamaño del ventrículo derecho (VD) en individuos normales y en portadores de mutaciones desmosomales que el que tiene sobre el VI en los pacientes con MCH (211). Respecto a la penetrancia, por el contrario, las tres variables analizadas en este objetivo (género, HTA y actividad física) estaban significativamente asociadas con la edad de diagnóstico de la MCH.

Los pacientes con MCH que realizan un ejercicio más intenso tienen una supervivencia similar a eventos como FA, ACV, NYHA III-IV y MS. En conclusión, basado en nuestro estudio, el ejercicio físico tiene un papel en la edad del diagnóstico pero no en la expresión de la enfermedad y en particular, no parece tener un impacto importante en el pronóstico. Son necesarios más estudios con un número superior de pacientes y tiempos de seguimiento para dar una explicación definitiva a estos hallazgos.

2. Discusión objetivo 2

La frecuencia de los alelos pro-HVI no estuvo sobrerrepresentada entre nuestra población de estudio, solamente hemos encontrado una frecuencia más alta del alelo C en el polimorfismo p,M235T (45%) en nuestra población comparado con controles sanos (36%). Esto podría representar una predisposición a desarrollar MCH entre individuos con este alelo, aunque con $p=0,06$ solo se observó una tendencia. El cambio de T>C en p,M235T se ha asociado con un mayor riesgo en determinadas enfermedades cardiovasculares, incluida una mayor predisposición de desarrollar HTA. Algunos

autores encontraron una asociación significativa entre este alelo y la HVI independientemente de la presión sanguínea.

Resumen global de los resultados del estudio multivariado,

En el estudio multivariado se observa una tendencia a que los polimorfismos considerados pro-HVI estén modulando parámetros ecocardiográficos de morfología cardíaca más que de pronóstico de la enfermedad.

En la bibliografía, la mayoría de los estudios publicados, como es el caso de Ortlepp JR y Meghan J, Perkins se centran en la influencia de los polimorfismos del SRAA en el fenotipo de la MCH basándose básicamente en el grosor de la pared del VI (19). Sin embargo, no existen estudios que analicen el papel de los polimorfismos pro-HVI con el pronóstico de la enfermedad en la MCH.

Trabajos previos	Corvol P	Karjalainen J	Ortlepp JR	Meghan JP	Pilbrow AP	Coto E	Kolder I	Kozhevnikova MV	Nuestra serie
País	Francia	Finlandia	Reino Unido	EEUU	EEUU	España	Holanda	Rusia	
Año publicación	1997	1999	2002	2005	2007	2010	2012	2014	2015
N		80	26	389	451	245	368	58	156
Características población	Review	Atletas con HVI	1 familia	Probandos	Insuficiencia cardíaca	Probandos	Probandos y familiares	Probandos y familiares	Probandos y familiares
Diagnóstico Genético			X	X		X	X		X
Polimorfismos SRAA		p.M235T ECA AGTR1	p.M235T ECA AGTR, CPYP11B2 CMA1	p.M235T ECA AGTR1 CPYP11B2 CMA1	p.T174M p.M235T	p.M235T ECA AGTR1	p.M235, ECA AGTR1 CPYP11B2 CMA1	p.M235T p.T174M AGTR1 CPYP11B2 CMA1	p.M235T p.T174M ECA AGTR1 CPYP11B2 CMA1
HTA	X	X	X		X	X	X		X
Edad diagnóstico				X	X	X			X
Síntomas					X			X	X
Síncope					X				X
Masa VI		X	X		X				X
Grosor máximo		X	X	X		X	X	X	X
IGRVI									X
Obstrucción				X					X
DTD		X							X
AI									X
Disf. Sistólica					X				X

Disf. Diastólica					X				X
HFMS				X		X			X
Penetrancia			X						
FA					X				X
TVNS								X	X
Score pro-HVI			X	X			X		X
FEVI					X				X
Supervivencia					X				X
Riesgo de MS									X

Sistema RAAS y morfología cardiaca.

El polimorfismo infrecuente C>T (p.T174M) en el gen del AGT, se asoció significativamente a un mayor grosor ventricular, tanto cuando se presenta en homocigosis como en heterocigosis, y a un mayor diámetro telediastólico del VI. Aunque muy pocos estudio incluyen el análisis de este polimorfismo, este hallazgo está en consonancia con un estudio previo en el que este alelo era predictor del desarrollo de hipertrofia cardiaca en una serie de pacientes con HTA (no MCH). Pilbrow AP, et al (212) por otro lado encontró aunque no en una población de hipertróficos sino en una población de pacientes con fallo cardiaco, que tener el polimorfismo en heterocigosis u homocigosis aumentaba el riesgo de fallo cardiaco basándose en medidas de masa del VI (ellos no miden grosor ventricular) asociando el alelo T, con una mortalidad incrementada en este tipo de pacientes. A pesar de ello, estos individuos tenían una buena función sistólica y una FEVI alta. Este polimorfismo también se ha asociado a infarto de miocardio e HVI en un otro estudio previo(213).

El polimorfismo -1903A>G en el gen CMA1 en homocigosis (-1903AA) resultó estar relacionado significativamente con un fenotipo particular caracterizado por un VI más dilatado, con mayor prevalencia de disfunción sistólica (fracción de acortamiento y binaria), menos frecuencia de septo reverse y una menor proporción de obstrucción en el TSVI. En el estudio de Kozhevnikova et al describieron una relación entre este polimorfismo en homocigosis y la severidad de la HVI además de mayor proporción de angina y mayor frecuencia de extrasistolia ventricular de alto grado. En nuestro estudio no encontramos una mayor frecuencia de TVNS en los portadores de este polimorfismo en CMA1.

El polimorfismo -344C>T del CYP11B2 podría asociarse a una peor función sistólica (fracción de acortamiento únicamente, no binaria). En estudios de seguimiento de predictores de disfunción sistólica del VI en MCH previos, los pacientes que desarrollaban disfunción sistólica tenían un grosor de la pared del VI mayor que los pacientes que tenían una función sistólica normal al inicio del seguimiento (214-216). Sin embargo, en nuestra población no hay evidencia de que este polimorfismo esté asociado no solo con disfunción sistólica sino también con un fenotipo más severo que pueda resultar en HVI. No existen datos de la relación de estos polimorfismos (en concreto del -344C>T) y la progresión de la disfunción sistólica en pacientes con MCH. En estudios previos. La función sistólica solo ha sido analizada en otro trabajo además del nuestro por Anna P Pilbrow.

No hubo ningún polimorfismo que se asociara con la obstrucción en el TSVI, con el diámetro auricular, ni con las razones AI/DTD ni grosor/DTD. Estos datos concuerdan con lo publicado en la bibliografía.

No hubo relación entre el sumatorio de los genotipos pro-HVI de cada paciente con la hipertrofia o riesgo. Esto está en contraste con los estudios publicados (147;148). En los estudios de Ortlepp et al, en los 26 portadores de mutación de una sola familia, el grado de la hipertrofia cardiaca tiene una relación directa con la carga del genotipo pro-HVI. En nuestro caso no tenemos familias tan numerosas como la del estudio de Ortlepp. En cualquier caso, en nuestro estudio más del 70% de los pacientes evaluados comparten una de las 3 mutaciones fundadoras, por lo que el grado de homogenicidad genético es elevado en nuestra población. Destacar que uno de los polimorfismos pro-HVI (-1903A>G) tiene una frecuencia en nuestra población de estudio menor que en la población control. McLeod CJ publicó resultados de estudios histológicos donde se evidencia que la acumulación de polimorfismos genéticos relacionados con la MCH se asocia con la magnitud de la hipertrofia en la MCH.

Sistema RAAS y variables pronósticas.

Van Geel PP, asocio el polimorfismo 1166C del AGTR1 significativamente a una mayor prevalencia de síncope, Los individuos con esta variante alélica muestran una respuesta mayor a la angiotensina II que aquellos con el genotipo 1166A. Su X y Abdollahi MR. describieron dos haplotipos principales para este gen, uno definido por

marcadores en la región promotora y el otro por los SNP's rs5182 y rs5186 en la región 3'. Por lo tanto se necesitaría una resecuenciación del gen AGTR1 en pacientes portadores del alelo 1166C para identificar otras variantes que pudieran estar asociadas al desarrollo de hipertrofia cardiaca.

Otro hallazgo en el presente estudio tuvo que ver con el polimorfismo I/D de la ECA, que se asoció a una menor supervivencia libre de FA y de ACV, Rigat B, asoció el alelo DD de la ECA con niveles más altos de ECA en plasma que con el genotipo II. La ECA posee un efecto profibrótico demostrado. Los pacientes con niveles elevados de la ECA en plasma podrían tener una mayor riesgo de desarrollar FA y como consecuencia complicaciones tromboembólicas. El tratamiento con inhibidores de la ECA han demostrado a nivel tisular tener un efecto beneficioso antifibrótico. El efecto beneficioso sobre el riesgo de FA en pacientes con HTA es indirecto y según Ehrlich J.R. parece estar en relación con la reducción de las presiones de llenado VI.

El polimorfismo CMA -1903A>G se asoció a una menor supervivencia libre de NYHA III-IV. Este hallazgo concuerda con lo publicado por Kozhevnikova MV et al., que relaciona este polimorfismo con NYHA II-III.

No hubo asociación entre los polimorfismos del sistema RAAS y la presencia de TVNS o respuesta presora anormal. Tampoco hubo asociación con el Score de riesgo de MS, Solo hay un estudio publicado por Kozhevnikova MV en el que se analizan los hallazgos arrítmicos en el Holter y su relación con la presencia de determinados polimorfismos pro-HVI. En el trabajo de Anna P de 2014 es el único que analiza el papel de los polimorfismos del SRAA en el pronóstico de los pacientes con MCH, en concreto p.T174M y p.M235T.

Nuestro estudio a diferencia de los publicados hasta la fecha, examina múltiples variables en los pacientes evaluados, incluyendo demográficas, síntomas, ecocardiográficas, presencia de arritmias, y predictores pronósticos. El diseño del estudio permite además la realización de un análisis de supervivencia (Tabla 19).

Ningún polimorfismo en el SRAA se asoció a la supervivencia libre de MS o del evento combinado.

Discusión objetivo 3

Una de las hipótesis fisiopatológicas con más apoyo es la que defiende que la hipertrofia en la MCH es consecuencia de un déficit energético en el miocardiocito que desencadenaría una cascada de factores celulares y tisulares compensadores. La mitocondria es la organela celular más importante en la producción de moléculas de carga energética como el ATP y en el equilibrio red-ox celular. Los haplogrupos mitocondriales podrían, al menos teóricamente, tener una influencia en el desarrollo de las diferentes características morfológicas de la enfermedad, evolución o en la tolerancia de está con mayor o menor prevalencia de síntomas limitantes.

La mayoría de las referencias que hay en la literatura en las que se estudien relación del haplogrupo mitocondrial con la MCH, comparan las frecuencias de determinados haplogrupos mitocondriales en pacientes con MCH respecto a la población control. Los resultados que obtienen en estos trabajos nos dan información acerca de la susceptibilidad a padecer la enfermedad, aquellos haplogrupos que están más representados en la población de pacientes serán más susceptibles de padecer la enfermedad que aquellos que están menos representados en la población de pacientes que en la población control.

Tabla 20. Estudios previos de correlación entre variables clínicas y haplogrupos mitocondriales

Trabajos previos	García Castro. M	Gallardo ME	Hagen Christian M.	Nuestra serie
Pais	España	España	Dinamarca	
Año publicación	2006	2012	2013	2015
N	130	450	91	156
Características población	Probandos	Probandos y familiares	Probandos y familiares	Probandos y familiares
Diagnóstico Genético			X	X
Haplogrupos	H,V,U,K,J,T,I,W,X	H,U,UK,J,T,HV,O	H,V,U,K,J,T,I,W,X,HV	H,V,U,K,J,T,HV
HTA			X	X
Edad diagnóstico				X
Síntomas		X		X
Síncope				X
Masa VI				X
Grosor máximo	X		X	X
IGRVI				X

Obstrucción			X
DTD			X
AI		X	X
Disf. Sistólica	X		X
Disf. diastólica			X
HFMS	X	X	X
FA			X
TVNS			X
FEVI			X
Supervivencia			X
Riesgo de MS			X

De igual manera, no hay trabajos publicados en los que estudien las variables clínicas tanto de morfología cardíaca como de pronóstico que nos describan el fenotipo de los pacientes y este se pueda asociar a un determinado haplogrupo.

La frecuencia de determinados haplogrupos en nuestra población de pacientes con MCH portadores de mutación es bastante distinta a la de los grupos control españoles, en particular para los haplogrupos H, K, J y T.

Observamos que el haplogrupo J es mucho menos frecuente en nuestra población que en los dos grupos control, esto es en parte debido a la baja frecuencia del alelo m,13708A entre nuestros pacientes (solo los pacientes que portan el alelo A en este sitio polimórfico pertenecen al haplogrupo J). Otra diferencia es la sobrerrepresentación del haplogrupo H en nuestros pacientes con MCH.

En el trabajo presentado por Christian M, Hagen en 2013 observaron el mismo hallazgo, el haplogrupo H era el más frecuente en la población de pacientes con MCH comparado con los controles y el haplogrupo J, en cambio, era más prevalente en los controles. Por lo tanto, podemos decir que el haplogrupo H parece ser un factor de susceptibilidad para el desarrollo de la enfermedad y que el haplogrupo J sería un factor protector. En cuanto al grupo de Gallardo ME., observan igualmente que su población de pacientes (en este caso trasplantados) tenía una sobrerrepresentación del haplogrupo H comparado con los controles, hecho que no ocurría en la población de García-Castro M.

Cuando comparamos la frecuencia del haplogrupo V con el grupo control de Asturias no encontramos diferencias significativas, por lo tanto, puesto que el haplogrupo H y V son cercanos evolutivamente, podemos concluir que el polimorfismo m.7028C>T es el responsable del efecto de susceptibilidad.

En nuestra población de estudio, el número de pacientes pertenecientes al haplogrupo K fue mayor que en la población control de Madrid, al contrario que el haplogrupo T que se presentó con una frecuencia menor respecto a esta población control.

La prevalencia de los haplogrupos mitocondriales ha sido evaluada en otras enfermedades donde la mitocondria podría estar jugando un papel relevante. El haplogrupo J se ha asociado con un menor riesgo de desarrollo de enfermedad de Parkinson comparado con el H, que es el haplogrupo más frecuente según Van der Walt JM, y Van der Walt JM, Igualmente, el haplogrupo U se ha asociado significativamente a un mayor riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer comparado con el H.

En cuanto a las características clínicas de los pacientes de cada haplogrupo hemos observado que determinados haplogrupos se correlacionan más con variables ecocardiográficas de morfología cardíaca y otras con variables que nos dan idea del pronóstico de la enfermedad y del riesgo de padecer un evento cardíaco.

Haplogrupos mitocondriales y morfología cardíaca.

El haplotipo J se asoció de forma significativa con la presencia de disfunción sistólica. Este hallazgo va en contra de lo publicado en las series clásicas, en las cuales el haplogrupo J parece tener un efecto protector. De Benedictis et al, observaron que en la población más longeva de Italia predominaba el haplogrupo J. Concretamente en la MCH no ha sido analizado con anterioridad la asociación entre el haplogrupo J y la disfunción sistólica (esta variable no ha sido incluida en los análisis de otros grupos). En el trabajo de Gallardo en pacientes con MCD que precisaron trasplante cardíaco el haplogrupo J no tuvo diferencias en su frecuencia con la población control.

De igual modo, el haplogrupo K y el UK podrían asociarse con un mayor grosor ventricular (tendencia no significativa), hecho que discrepa de los estudios previos,

donde describen al haplogrupo J y UK como posibles protectores del desarrollo de la MCH.

En nuestra población no hubo ningún haplotipo que se asociara en multivariado con otros parámetros ecocardiográficos analizados (obstrucción, DTD, AI, AI/DTD, grosor/DTD).

Haplogrupos mitocondriales y variables pronósticas.

Al igual que no conocemos hasta hoy trabajos que estudien la relación de los polimorfismos del SRAA con el pronóstico de la enfermedad, con los haplogrupos mitocondriales ocurre lo mismo, los pocos trabajos que han analizado las asociaciones entre el haplogrupo mitocondrial con fenotipo de la MCH, lo hacen en base al grosor de la pared del VI pero no existen trabajos sobre su relación con el pronóstico de la enfermedad.

El haplogrupo HV se asoció a una mayor frecuencia de TVNS, pero en ningún otro trabajo se estudia esta variable con respecto al haplogrupo. El haplogrupo K se asoció a una mayor frecuencia de respuesta presora anormal. No hubo asociación entre el haplotipo mitocondrial y la presencia de síncope.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que el haplogrupo V es un marcador pronóstico porque se asoció a una menor supervivencia libre de FA. Los haplogrupos V y el U se asociaron a una menor supervivencia libre de NYHA III-IV.

En nuestro estudio, los haplogrupos HV y U se asociaron en el multivariado a un mayor score de riesgo de MS (perfil de riesgo de MS). Ningún haplogrupos se asoció a la supervivencia libre de MS o del evento combinado, quizá en relación con el reducido número de eventos.

Genotipo y morfología cardiaca.

La presencia del genotipo MYBPC3 se asoció en el multivariado de forma significativa a una mayor prevalencia de disfunción sistólica (fracción de acortamiento) aunque no se asoció a la variable binaria (disfunción sistólica).

La presencia del genotipo MYBPC3 comparado con el genotipo MYH7 se asoció a una mayor frecuencia de septo reverse. Paradójicamente, los pacientes con genotipo MYBPC3 tenían menos prevalencia de obstrucción en TSVI.

Genotipo y variables pronósticas.

La presencia de cualquiera de los dos genotipos, MYHBPC3 o MYH7 no se asoció significativamente a ninguna de las variables pronosticas, score de riesgo, ni tuvo influencia en los análisis de supervivencia.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

1. Los hombres y los deportistas portadores de mutaciones sarcoméricas asociadas a miocardiopatía hipertrófica son diagnosticados más precozmente que las mujeres y sus parientes que llevan una vida sedentaria.
2. Los portadores genéticos de mutaciones sarcoméricas que son hipertensos tienen un diagnóstico más tardío de la enfermedad.
3. Ni el sexo, ni la presencia de hipertensión arterial ni la intensidad de ejercicio físico se asocian a una mayor severidad de la hipertrofia en portadores genéticos de mutaciones asociadas a miocardiopatía hipertrófica.
4. El sexo varón, pero no la hipertensión arterial ni la intensidad del ejercicio físico se relacionan con el pronóstico.
5. La presencia de un polimorfismo infrecuente, el AGT T174M, se asoció significativamente a un mayor grosor ventricular, tanto cuando se presenta en homocigosis como en heterocigosis.
6. El polimorfismo CMA en homocigosis resultó estar relacionado significativamente con un fenotipo particular caracterizado por disfunción sistólica, dilatación ventricular izquierda, e insuficiencia cardíaca, y consecuentemente menor frecuencia de obstrucción en el tracto de salida ventricular izquierdo.
7. El polimorfismo ECA en homocigosis se asocia a una menor supervivencia libre de FA y de ACV.
8. El haplotipo infrecuente J se asocia con la presencia de disfunción sistólica.

9. El haplotipo frecuente HV se asocia a una mayor frecuencia de taquicardia ventricular no sostenida.

10. Los haplotipos HV y U se asocian a un mayor score de riesgo de muerte súbita.

11. El haplotipo V se asoció a una menor supervivencia libre de fibrilación auricular y disnea limitante. El haplotipos U también se asocia a un mayor riesgo del desarrollo de disnea.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Teare D. Asymmetrical hypertrophy of the heart in young adults. *Br Heart J* 1958 Jan; 20(1):1-8.
- (2) Mirchandani S, Phoon CK. Sudden cardiac death: a 2400-year-old diagnosis? *Int J Cardiol* 2003 Jul; 90(1):41-8.
- (3) Coats CJ, Hollman A. Hypertrophic cardiomyopathy: lessons from history. *Heart* 2008 Oct; 94(10):1258-63.
- (4) Hollman A, Goodwin JF, Teare D, Renwick JW. A family with obstructive cardiomyopathy (asymmetrical hypertrophy). *Br Heart J* 1960 Sep; 22:449-56.
- (5) Sadoshima J, Izumo S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annu Rev Physiol* 1997; 59:551-71.
- (6) Lorell BH, Carabello BA. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation* 2000 Jul 25; 102 (4):470-9.
- (7) Lombardi R. Genetics and sudden death. *Curr Opin Cardiol* 2013 May; 28 (3):272-81.
- (8) Bos JM, Towbin JA, Ackerman MJ. Diagnostic, prognostic, and therapeutic implications of genetic testing for hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2009 Jul 14; 54 (3):201-11.
- (9) Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation* 1995 Aug 15; 92 (4):785-9.
- (10) Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1997 Mar 13; 336(11):775-85.
- (11) Maron BJ, Peterson EE, Maron MS, Peterson JE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in an outpatient population referred for echocardiographic study. *Am J Cardiol* 1994 Mar 15; 73(8):577-80.
- (12) Kuang SQ, Yu JD, Lu L, He LM, Gong LS, Chen SJ, et al. Identification of a novel missense mutation in the cardiac beta-myosin heavy chain gene in a Chinese patient with sporadic hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 1996 Sep; 28(9):1879-83.
- (13) Hada Y, Sakamoto T, Amano K, Yamaguchi T, Takenaka K, Takahashi H, et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a population of adult Japanese workers as detected by echocardiographic screening 4. *Am J Cardiol* 1987 Jan 1; 59(1):183-4.

- (14) Maron BJ, Bonow RO, Cannon RO, III, Leon MB, Epstein SE. Hypertrophic cardiomyopathy. Interrelations of clinical manifestations, pathophysiology, and therapy. *N Engl J Med* 1987 Mar 26; 316(13):780-9.
- (15) Hagege AA, Dubourg O, Desnos M, Mirochnik R, Isnard G, Bonne G, et al. Familial hypertrophic cardiomyopathy. Cardiac ultrasonic abnormalities in genetically affected subjects without echocardiographic evidence of left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J* 1998 Mar; 19(3):490-9.
- (16) Spirito P, Maron BJ, Bonow RO, Epstein SE. Occurrence and significance of progressive left ventricular wall thinning and relative cavity dilatation in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1987 Jul 1; 60(1):123-9.
- (17) Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 1997 Jul 12; 350(9071):127-33.
- (18) Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK, Kappenberger LJ, Kuhn HJ, Seidman CE, et al. American College of Cardiology/European Society of Cardiology Clinical Expert Consensus Document on Hypertrophic Cardiomyopathy. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. *Eur Heart J* 2003 Nov; 24(21):1965-91.
- (19) Maron BJ, Tajik AJ, Ruttenberg HD, Graham TP, Atwood GF, Victorica BE, et al. Hypertrophic cardiomyopathy in infants: clinical features and natural history. *Circulation* 1982 Jan; 65(1):7-17.
- (20) Maron BJ, Spirito P, Wesley Y, Arce J. Development and progression of left ventricular hypertrophy in children with hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1986 Sep 4; 315(10):610-4.
- (21) Panza JA, Maris TJ, Maron BJ. Development and determinants of dynamic obstruction to left ventricular outflow in young patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1992 Apr; 85(4):1398-405.
- (22) Spirito P, Watson RM, Maron BJ. Relation between extent of left ventricular hypertrophy and occurrence of ventricular tachycardia in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1987 Nov 15; 60(14):1137-42.
- (23) Spirito P, Bellone P. Natural history of hypertrophic cardiomyopathy. *Br Heart J* 1994 Dec; 72(6 Suppl):S10-S12.
- (24) Panza JA, Maris TJ, Maron BJ. Development and determinants of dynamic obstruction to left ventricular outflow in young patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1992 Apr; 85(4):1398-405.
- (25) Marian AJ. Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 2000 Jan 1; 355(9197):58-60.

- (26) Shapiro LM, McKenna WJ. Distribution of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: a two-dimensional echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 1983 Sep; 2(3):437-44.
- (27) Lever HM, Karam RF, Currie PJ, Healy BP. Hypertrophic cardiomyopathy in the elderly. Distinctions from the young based on cardiac shape. *Circulation* 1989 Mar; 79(3):580-9.
- (28) Solomon SD, Wolff S, Watkins H, Ridker PM, Come P, McKenna WJ, et al. Left ventricular hypertrophy and morphology in familial hypertrophic cardiomyopathy associated with mutations of the beta-myosin heavy chain gene. *J Am Coll Cardiol* 1993 Aug; 22(2):498-505.
- (29) Binder J, Ommen SR, Gersh BJ, Van Driest SL, Tajik AJ, Nishimura RA, et al. Echocardiography-guided genetic testing in hypertrophic cardiomyopathy: septal morphological features predict the presence of myofibrillar mutations. *Mayo Clin Proc* 2006 Apr; 81(4):459-67.
- (30) McKenna WJ, Spirito P, Desnos M, Dubourg O, Komajda M. Experience from clinical genetics in hypertrophic cardiomyopathy: proposal for new diagnostic criteria in adult members of affected families. *Heart* 1997 Feb; 77(2):130-2.
- (31) Maron BJ, Spirito P. Impact of patient selection biases on the perception of hypertrophic cardiomyopathy and its natural history. *Am J Cardiol* 1993 Oct 15; 72(12):970-2.
- (32) Maron BJ, Pelliccia A, Spirito P. Cardiac disease in young trained athletes. Insights into methods for distinguishing athlete's heart from structural heart disease, with particular emphasis on hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1995 Mar 1; 91(5):1596-601.
- (33) Elliott P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 2004 Jun 5; 363(9424):1881-91.
- (34) Solomon SD, Wolff S, Watkins H, Ridker PM, Come P, McKenna WJ, et al. Left ventricular hypertrophy and morphology in familial hypertrophic cardiomyopathy associated with mutations of the beta-myosin heavy chain gene. *J Am Coll Cardiol* 1993 Aug; 22(2):498-505.
- (35) Wigle ED, Sasson Z, Henderson MA, Ruddy TD, Fulop J, Rakowski H, et al. Hypertrophic cardiomyopathy. The importance of the site and the extent of hypertrophy. A review. *Prog Cardiovasc Dis* 1985 Jul; 28(1):1-83.
- (36) Varnava AM, Elliott PM, Sharma S, McKenna WJ, Davies MJ. Hypertrophic cardiomyopathy: the interrelation of disarray, fibrosis, and small vessel disease. *Heart* 2000 Nov; 84(5):476-82.
- (37) Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, et al. 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). *Eur Heart J* 2014 Oct 14; 35(39):2733-79.

- (38) O'Hanlon R, Grasso A, Roughton M, Moon JC, Clark S, Wage R, et al. Prognostic significance of myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010 Sep 7; 56(11):867-74.
- (39) Chan RH, Maron BJ, Olivotto I, Pencina MJ, Assenza GE, Haas T, et al. Prognostic value of quantitative contrast-enhanced cardiovascular magnetic resonance for the evaluation of sudden death risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2014 Aug 5; 130(6):484-95.
- (40) McKenna WJ, Nagueh SF. Cardiac magnetic resonance imaging and sudden death risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2014 Aug 5; 130(6):455-7.
- (41) Frenneaux MP, Counihan PJ, Caforio AL, Chikamori T, McKenna WJ. Abnormal blood pressure response during exercise in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1990 Dec; 82(6):1995-2002.
- (42) Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, Buxton AE, Chaitman B, Fromer M, et al. Guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. Executive summary. *Rev Esp Cardiol* 2006 Dec; 59(12):1328.
- (43) Epstein AE, Dimarco JP, Ellenbogen KA, Estes NA, III, Freedman RA, Gettes LS, et al. ACC/AHA/HRS 2008 Guidelines for Device-Based Therapy of Cardiac Rhythm Abnormalities: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the ACC/AHA/NASPE 2002 Guideline Update for Implantation of Cardiac Pacemakers and Antiarrhythmia Devices) developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2008 May 27; 51(21):e1-62.
- (44) O'Mahony C, Jichi F, Pavlou M, Monserrat L, Anastasakis A, Rapezzi C, et al. A novel clinical risk prediction model for sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy (HCM risk-SCD). *Eur Heart J* 2014 Aug 7; 35(30):2010-20.
- (45) Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, et al. 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). *Eur Heart J* 2014 Oct 14; 35(39):2733-79.
- (46) Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, et al. 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). *Eur Heart J* 2014 Oct 14; 35(39):2733-79.
- (47) Watkins H, Rosenzweig A, Hwang DS, Levi T, McKenna W, Seidman CE, et al. Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations

- in familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1992 Apr 23; 326(17):1108-14.
- (48) Garcia-Giustiniani D, Arad M, Ortiz-Genga M, Barriaes-Villa R, Fernandez X, Rodriguez-Garcia I, et al. Phenotype and prognostic correlations of the converter region mutations affecting the beta myosin heavy chain. *Heart* 2015 Jul; 101(13):1047-53.
- (49) Elliott PM, Poloniecki J, Dickie S, Sharma S, Monserrat L, Varnava A, et al. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: identification of high risk patients. *J Am Coll Cardiol* 2000 Dec; 36(7):2212-8.
- (50) Elliott PM, Gimeno Blanes JR, Mahon NG, Poloniecki JD, McKenna WJ. Relation between severity of left-ventricular hypertrophy and prognosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 2001 Feb 10; 357(9254):420-4.
- (51) Monserrat L, Elliott PM, Gimeno JR, Sharma S, Penas-Lado M, McKenna WJ. Non-sustained ventricular tachycardia in hypertrophic cardiomyopathy: an independent marker of sudden death risk in young patients. *J Am Coll Cardiol* 2003 Sep 3; 42(5):873-9.
- (52) Sherrid MV. Dynamic Left Ventricular Outflow Obstruction in Hypertrophic Cardiomyopathy Revisited: Significance, Pathogenesis, and Treatment. *Cardiol Rev* 1998 May; 6(3):135-45.
- (53) Matsubara H, Nakatani S, Nagata S, Ishikura F, Katagiri Y, Ohe T, et al. Salutary effect of disopyramide on left ventricular diastolic function in hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1995 Sep; 26(3):768-75.
- (54) Pollick C. Disopyramide in hypertrophic cardiomyopathy. II. Noninvasive assessment after oral administration. *Am J Cardiol* 1988 Dec 1; 62(17):1252-5.
- (55) Pollick C, Giacomini KM, Blaschke TF, Nelson WL, Turner-Tamiyasu K, Briskin V, et al. The cardiac effects of d- and l-disopyramide in normal subjects: a noninvasive study. *Circulation* 1982 Aug; 66(2):447-53.
- (56) Sherrid M, Delia E, Dwyer E. Oral disopyramide therapy for obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1988 Nov 15; 62(16):1085-8.
- (57) McKenna WJ, Oakley CM, Krikler DM, Goodwin JF. Improved survival with amiodarone in patients with hypertrophic cardiomyopathy and ventricular tachycardia. *Br Heart J* 1985 Apr; 53(4):412-6.
- (58) Cecchi F, Olivotto I, Monterege A, Squillatini G, Dolara A, Maron BJ. Prognostic value of non-sustained ventricular tachycardia and the potential role of amiodarone treatment in hypertrophic cardiomyopathy: assessment in an unselected non-referral based patient population. *Heart* 1998 Apr; 79(4):331-6.

- (59) Maron BJ, Shen WK, Link MS, Epstein AE, Almquist AK, Daubert JP, et al. Efficacy of implantable cardioverter-defibrillators for the prevention of sudden death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2000 Feb 10; 342(6):365-73.
- (60) Maron BJ, Spirito P, Shen WK, Haas TS, Formisano F, Link MS, et al. Implantable cardioverter-defibrillators and prevention of sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. *JAMA* 2007 Jul 25; 298(4):405-12.
- (61) Thaman R, Gimeno JR, Murphy RT, Kubo T, Sachdev B, Mogensen J, et al. Prevalence and clinical significance of systolic impairment in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 2005 Jul; 91(7):920-5.
- (62) Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK, Kappenberger LJ, Kuhn HJ, Seidman CE, et al. American College of Cardiology/European Society of Cardiology clinical expert consensus document on hypertrophic cardiomyopathy. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2003 Nov 5; 42(9):1687-713.
- (63) Wigle ED, Rakowski H, Kimball BP, Williams WG. Hypertrophic cardiomyopathy. Clinical spectrum and treatment. *Circulation* 1995 Oct 1; 92(7):1680-92.
- (64) Marian AJ. Hypertrophic cardiomyopathy: from genetics to treatment. *Eur J Clin Invest* 2010 Apr; 40(4):360-9.
- (65) Bonne G, Carrier L, Richard P, Hainque B, Schwartz K. Familial hypertrophic cardiomyopathy: from mutations to functional defects. *Circ Res* 1998 Sep 21; 83(6):580-93.
- (66) Niederlander N, Raynaud F, Astier C, Chaussepied P. Regulation of the actin-myosin interaction by titin. *Eur J Biochem* 2004 Nov; 271(22):4572-81.
- (67) Flashman E, Redwood C, Moolman-Smook J, Watkins H. Cardiac myosin binding protein C: its role in physiology and disease. *Circ Res* 2004 May 28; 94(10):1279-89.
- (68) Mizuno R, Fujimoto S, Yamaji K, Yutani C, Hashimoto T, Nakamura S. Myocardial ultrasonic tissue characterization for estimating histological abnormalities in hypertrophic cardiomyopathy: comparison with endomyocardial biopsy findings. *Cardiology* 2001; 96(1):16-23.
- (69) Davies MJ. The current status of myocardial disarray in hypertrophic cardiomyopathy. *Br Heart J* 1984 Apr; 51(4):361-3.
- (70) Blanchard E, Seidman C, Seidman JG, LeWinter M, Maughan D. Altered crossbridge kinetics in the alphaMHC403/+ mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 1999 Mar 5; 84(4):475-83.

- (71) Yang Q, Sanbe A, Osinska H, Hewett TE, Klevitsky R, Robbins J. A mouse model of myosin binding protein C human familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1998 Oct 1; 102(7):1292-300.
- (72) Yang Q, Sanbe A, Osinska H, Hewett TE, Klevitsky R, Robbins J. In vivo modeling of myosin binding protein C familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 1999 Oct 29; 85(9):841-7.
- (73) Tardiff JC, Factor SM, Tompkins BD, Hewett TE, Palmer BM, Moore RL, et al. A truncated cardiac troponin T molecule in transgenic mice suggests multiple cellular mechanisms for familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1998 Jun 15; 101(12):2800-11.
- (74) Spindler M, Saupe KW, Christe ME, Sweeney HL, Seidman CE, Seidman JG, et al. Diastolic dysfunction and altered energetics in the alphaMHC403/+ mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1998 Apr 15; 101(8):1775-83.
- (75) Ashrafian H, Redwood C, Blair E, Watkins H. Hypertrophic cardiomyopathy: a paradigm for myocardial energy depletion. *Trends Genet* 2003 May; 19(5):263-8.
- (76) Crilley JG, Boehm EA, Blair E, Rajagopalan B, Blamire AM, Styles P, et al. Hypertrophic cardiomyopathy due to sarcomeric gene mutations is characterized by impaired energy metabolism irrespective of the degree of hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 2003 May 21; 41(10):1776-82.
- (77) Elliott K, Watkins H, Redwood CS. Altered regulatory properties of human cardiac troponin I mutants that cause hypertrophic cardiomyopathy. *J Biol Chem* 2000 Jul 21; 275(29):22069-74.
- (78) Lin D, Bobkova A, Homsher E, Tobacman LS. Altered cardiac troponin T in vitro function in the presence of a mutation implicated in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1996 Jun 15; 97(12):2842-8.
- (79) Ho CY, Sweitzer NK, McDonough B, Maron BJ, Casey SA, Seidman JG, et al. Assessment of diastolic function with Doppler tissue imaging to predict genotype in preclinical hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002 Jun 25; 105(25):2992-7.
- (80) Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annu Rev Physiol* 2003; 65:45-79.
- (81) Frey N, McKinsey TA, Olson EN. Decoding calcium signals involved in cardiac growth and function. *Nat Med* 2000 Nov; 6(11):1221-7.
- (82) Frey N, Katus HA, Olson EN, Hill JA. Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? *Circulation* 2004 Apr 6; 109(13):1580-9.
- (83) DeAnda A, Jr., Komeda M, Moon MR, Green GR, Bolger AF, Nikolic SD, et al. Estimation of regional left ventricular wall stresses in intact canine hearts. *Am J Physiol* 1998 Nov; 275(5 Pt 2):H1879-H1885.

- (84) Wallace DC, Brown MD, Lott MT. Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene* 1999 Sep 30; 238(1):211-30.
- (85) Ashrafian H, McKenna WJ, Watkins H. Disease pathways and novel therapeutic targets in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2011 Jun 24; 109(1):86-96.
- (86) Lankford EB, Epstein ND, Fananapazir L, Sweeney HL. Abnormal contractile properties of muscle fibers expressing beta-myosin heavy chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1995 Mar; 95(3):1409-14.
- (87) Yanaga F, Morimoto S, Ohtsuki I. Ca²⁺ sensitization and potentiation of the maximum level of myofibrillar ATPase activity caused by mutations of troponin T found in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Biol Chem* 1999 Mar 26; 274(13):8806-12.
- (88) Marian AJ, Zhao G, Seta Y, Roberts R, Yu QT. Expression of a mutant (Arg92Gln) human cardiac troponin T, known to cause hypertrophic cardiomyopathy, impairs adult cardiac myocyte contractility. *Circ Res* 1997 Jul; 81(1):76-85.
- (89) Oberst L, Zhao G, Park JT, Brugada R, Michael LH, Entman ML, et al. Dominant-negative effect of a mutant cardiac troponin T on cardiac structure and function in transgenic mice. *J Clin Invest* 1998 Oct 15; 102(8):1498-505.
- (90) Geisterfer-Lowrance AA, Christe M, Conner DA, Ingwall JS, Schoen FJ, Seidman CE, et al. A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Science* 1996 May 3; 272(5262):731-4.
- (91) Vikstrom KL, Factor SM, Leinwand LA. Mice expressing mutant myosin heavy chains are a model for familial hypertrophic cardiomyopathy. *Mol Med* 1996 Sep; 2(5):556-67.
- (92) Watkins H. Genetic clues to disease pathways in hypertrophic and dilated cardiomyopathies. *Circulation* 2003 Mar 18; 107(10):1344-6.
- (93) Welikson RE, Buck SH, Patel JR, Moss RL, Vikstrom KL, Factor SM, et al. Cardiac myosin heavy chains lacking the light chain binding domain cause hypertrophic cardiomyopathy in mice. *Am J Physiol* 1999 Jun; 276 (6 Pt 2):H2148-H2158.
- (94) Frey N, Franz WM, Gloeckner K, Degenhardt M, Muller M, Muller O, et al. Transgenic rat hearts expressing a human cardiac troponin T deletion reveal diastolic dysfunction and ventricular arrhythmias. *Cardiovasc Res* 2000 Aug; 47(2):254-64.
- (95) Marian AJ, Wu Y, Lim DS, McCluggage M, Youker K, Yu QT, et al. A transgenic rabbit model for human hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1999 Dec; 104(12):1683-92.

- (96) Swynghedauw B. Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles. *Physiol Rev* 1986 Jul; 66(3):710-71.
- (97) Sweeney HL, Straceski AJ, Leinwand LA, Tikunov BA, Faust L. Heterologous expression of a cardiomyopathic myosin that is defective in its actin interaction. *J Biol Chem* 1994 Jan 21; 269(3):1603-5.
- (98) Tyska MJ, Hayes E, Giewat M, Seidman CE, Seidman JG, Warshaw DM. Single-molecule mechanics of R403Q cardiac myosin isolated from the mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2000 Apr 14; 86(7):737-44.
- (99) Solaro RJ, Rarick HM. Troponin and tropomyosin: proteins that switch on and tune in the activity of cardiac myofilaments. *Circ Res* 1998 Sep 7; 83(5):471-80.
- (100) Rust EM, Albayya FP, Metzger JM. Identification of a contractile deficit in adult cardiac myocytes expressing hypertrophic cardiomyopathy-associated mutant troponin T proteins. *J Clin Invest* 1999 May 15; 103(10):1459-67.
- (101) Bing W, Redwood CS, Purcell IF, Esposito G, Watkins H, Marston SB. Effects of two hypertrophic cardiomyopathy mutations in alpha-tropomyosin, Asp175Asn and Glu180Gly, on Ca²⁺ regulation of thin filament motility. *Biochem Biophys Res Commun* 1997 Jul 30; 236(3):760-4.
- (102) Cuda G, Fananapazir L, Epstein ND, Sellers JR. The in vitro motility activity of beta-cardiac myosin depends on the nature of the beta-myosin heavy chain gene mutation in hypertrophic cardiomyopathy. *J Muscle Res Cell Motil* 1997 Jun; 18(3):275-83.
- (103) Fujita H, Sugiura S, Momomura S, Omata M, Sugi H, Sutoh K. Characterization of mutant myosins of *Dictyostelium discoideum* equivalent to human familial hypertrophic cardiomyopathy mutants. Molecular force level of mutant myosins may have a prognostic implication. *J Clin Invest* 1997 Mar 1; 99(5):1010-5.
- (104) Seidman JG, Seidman C. The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms. *Cell* 2001 Feb 23; 104(4):557-67.
- (105) Seidman CE, Seidman JG. Identifying sarcomere gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy: a personal history. *Circ Res* 2011 Mar 18; 108(6):743-50.
- (106) Jarcho JA, McKenna W, Pare JA, Solomon SD, Holcombe RF, Dickie S, et al. Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14q1. *N Engl J Med* 1989 Nov 16; 321(20):1372-8.
- (107) Geisterfer-Lowrance AA, Kass S, Tanigawa G, Vosberg HP, McKenna W, Seidman CE, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell* 1990 Sep 7; 62(5):999-1006.

- (108) Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation* 2003 May 6;107(17):2227-32.
- (109) Tian T, Liu Y, Zhou X, Song L. Progress in the molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy: a mini-review. *Gerontology* 2013;59(3):199-205.
- (110) Ho CY. Genetics and clinical destiny: improving care in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2010 Dec 7; 122(23):2430-40.
- (111) Solomon SD, Wolff S, Watkins H, Ridker PM, Come P, McKenna WJ, et al. Left ventricular hypertrophy and morphology in familial hypertrophic cardiomyopathy associated with mutations of the beta-myosin heavy chain gene. *J Am Coll Cardiol* 1993 Aug; 22(2):498-505.
- (112) Erdmann J, Raible J, Maki-Abadi J, Hummel M, Hammann J, Wollnik B, et al. Spectrum of clinical phenotypes and gene variants in cardiac myosin-binding protein C mutation carriers with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2001 Aug; 38(2):322-30.
- (113) Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, Lamas R, McKenna W, Vosberg HP, et al. Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell* 1994 Jun 3; 77(5):701-12.
- (114) Satoh M, Takahashi M, Sakamoto T, Hiroe M, Marumo F, Kimura A. Structural analysis of the titin gene in hypertrophic cardiomyopathy: identification of a novel disease gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Aug 27; 262(2):411-7.
- (115) Arad M, Benson DW, Perez-Atayde AR, McKenna WJ, Sparks EA, Kanter RJ, et al. Constitutively active AMP kinase mutations cause glycogen storage disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 2002 Feb; 109(3):357-62.
- (116) Keren A, Syrris P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: the genetic determinants of clinical disease expression. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008 Mar; 5(3):158-68.
- (117) Watkins H, Ashrafian H, Redwood C. Inherited cardiomyopathies. *N Engl J Med* 2011 Apr 28; 364(17):1643-56.
- (118) Teekakirikul P, Padera RF, Seidman JG, Seidman CE. Hypertrophic cardiomyopathy: translating cellular cross talk into therapeutics. *J Cell Biol* 2012 Oct 29; 199(3):417-21.
- (119) Chen SN, Czernuszewicz G, Tan Y, Lombardi R, Jin J, Willerson JT, et al. Human molecular genetic and functional studies identify TRIM63, encoding Muscle RING Finger Protein 1, as a novel gene for human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2012 Sep 14; 111(7):907-19.

- (120) Knoll R, Hoshijima M, Hoffman HM, Person V, Lorenzen-Schmidt I, Bang ML, et al. The cardiac mechanical stretch sensor machinery involves a Z disc complex that is defective in a subset of human dilated cardiomyopathy. *Cell* 2002 Dec 27; 111(7):943-55.
- (121) Watkins H. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2000 Feb 10; 342(6):422-4.
- (122) Maron BJ, Moller JH, Seidman CE, Vincent GM, Dietz HC, Moss AJ, et al. Impact of laboratory molecular diagnosis on contemporary diagnostic criteria for genetically transmitted cardiovascular diseases: hypertrophic cardiomyopathy, long-QT syndrome, and Marfan syndrome. A statement for healthcare professionals from the Councils on Clinical Cardiology, Cardiovascular Disease in the Young, and Basic Science, American Heart Association. *Circulation* 1998 Oct 6; 98(14):1460-71.
- (123) Orenes-Pinero E, Hernandez-Romero D, Jover E, Valdes M, Lip GY, Marin F. Impact of polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system on hypertrophic cardiomyopathy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2011 Dec; 12(4):521-30.
- (124) Kim S, Iwao H. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev* 2000 Mar; 52(1):11-34.
- (125) Day SM. Exercise in hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiovasc Transl Res* 2009 Dec; 2(4):407-14.
- (126) Patel R, Lim DS, Reddy D, Nagueh SF, Lutucuta S, Sole MJ, et al. Variants of trophic factors and expression of cardiac hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2000 Dec; 32(12):2369-77.
- (127) Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, Hirota T, Hayato K, Yamasaki N, et al. Clinical impact of atrial fibrillation in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Results from Kochi RYOMA Study. *Circ J* 2009 Sep; 73(9):1599-605.
- (128) Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, et al. 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). *Eur Heart J* 2014 Oct 14; 35(39):2733-79.
- (129) Garcia-Giustiniani D, Arad M, Ortiz-Genga M, Barriales-Villa R, Fernandez X, Rodriguez-Garcia I, et al. Phenotype and prognostic correlations of the converter region mutations affecting the beta myosin heavy chain. *Heart* 2015 Jul; 101(13):1047-53.
- (130) Maron BJ, Yeates L, Semsarian C. Clinical challenges of genotype positive (+)-phenotype negative (-) family members in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2011 Feb 15; 107(4):604-8.

- (131) Maron BJ, Casey SA, Hurrell DG, Aeppli DM. Relation of left ventricular thickness to age and gender in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2003 May 15; 91(10):1195-8.
- (132) Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S, Watkins H, Chudley AE, McKenna W, et al. Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998 Apr 30; 338(18):1248-57.
- (133) Gowda RM, Konka S, Khan IA. Hour-glass left ventricle: Midventricular hypertrophy and apical aneurysm in elderly hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Geriatr Cardiol* 2002 Jul; 11(4):270-1.
- (134) Elliott PM, D'Cruz L, McKenna WJ. Late-onset hypertrophic cardiomyopathy caused by a mutation in the cardiac troponin T gene. *N Engl J Med* 1999 Dec 9; 341(24):1855-6.
- (135) Kofflard MJ, ten Cate FJ, van der LC, van Domburg RT. Hypertrophic cardiomyopathy in a large community-based population: clinical outcome and identification of risk factors for sudden cardiac death and clinical deterioration. *J Am Coll Cardiol* 2003 Mar 19; 41(6):987-93.
- (136) Haider AW, Larson MG, Benjamin EJ, Levy D. Increased left ventricular mass and hypertrophy are associated with increased risk for sudden death. *J Am Coll Cardiol* 1998 Nov; 32(5):1454-9.
- (137) Charron P, Dubourg O, Desnos M, Isnard R, Hagege A, Millaire A, et al. Diagnostic value of electrocardiography and echocardiography for familial hypertrophic cardiomyopathy in a genotyped adult population. *Circulation* 1997 Jul 1; 96(1):214-9.
- (138) Page SP, Kounas S, Syrris P, Christiansen M, Frank-Hansen R, Andersen PS, et al. Cardiac myosin binding protein-C mutations in families with hypertrophic cardiomyopathy: disease expression in relation to age, gender, and long term outcome. *Circ Cardiovasc Genet* 2012 Apr 1; 5(2):156-66.
- (139) Maron BJ. Distinguishing hypertrophic cardiomyopathy from athlete's heart: a clinical problem of increasing magnitude and significance. *Heart* 2005 Nov; 91(11):1380-2.
- (140) Olivotto I, Maron MS, Adabag AS, Casey SA, Vargiu D, Link MS, et al. Gender-related differences in the clinical presentation and outcome of hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2005 Aug 2; 46(3):480-7.
- (141) Ghali JK, Krause-Steinrauf HJ, Adams KF, Khan SS, Rosenberg YD, Yancy CW, et al. Gender differences in advanced heart failure: insights from the BEST study. *J Am Coll Cardiol* 2003 Dec 17; 42(12):2128-34.
- (142) Dimitrow PP, Czarnecka D, Strojny JA, Kawecka-Jaszcz K, Dubiel JS. Impact of gender on the left ventricular cavity size and contractility in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2001 Jan; 77(1):43-8.

- (143) Kirchhof P, Fabritz L, Zwiener M, Witt H, Schafers M, Zellerhoff S, et al. Age- and training-dependent development of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in heterozygous plakoglobin-deficient mice. *Circulation* 2006 Oct 24; 114(17):1799-806.
- (144) Pelliccia A, Fagard R, Bjornstad HH, Anastassakis A, Arbustini E, Assanelli D, et al. Recommendations for competitive sports participation in athletes with cardiovascular disease: a consensus document from the Study Group of Sports Cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology and the Working Group of Myocardial and Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005 Jul; 26(14):1422-45.
- (145) Aslam F, Haque A, Foody J, Shirani J. The frequency and functional impact of overlapping hypertension on hypertrophic cardiomyopathy: a single-center experience. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2010 Apr; 12(4):240-5.
- (146) Bleumink GS, Schut AF, Sturkenboom MC, Deckers JW, van Duijn CM, Stricker BH. Genetic polymorphisms and heart failure. *Genet Med* 2004 Nov; 6(6):465-74.
- (147) Perkins MJ, Van Driest SL, Ellsworth EG, Will ML, Gersh BJ, Ommen SR, et al. Gene-specific modifying effects of pro-LVH polymorphisms involving the renin-angiotensin-aldosterone system among 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2005 Nov; 26(22):2457-62.
- (148) Ortlepp JR, Vosberg HP, Reith S, Ohme F, Mahon NG, Schroder D, et al. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system associated with expression of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: a study of five polymorphic genes in a family with a disease causing mutation in the myosin binding protein C gene. *Heart* 2002 Mar; 87(3):270-5.
- (149) Tesson F, Dufour C, Moolman JC, Carrier L, al-Mahdawi S, Chojnowska L, et al. The influence of the angiotensin I converting enzyme genotype in familial hypertrophic cardiomyopathy varies with the disease gene mutation. *J Mol Cell Cardiol* 1997 Feb; 29(2):831-8.
- (150) Brugada R, Kelsey W, Lechin M, Zhao G, Yu QT, Zoghbi W, et al. Role of candidate modifier genes on the phenotypic expression of hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Investig Med* 1997 Dec; 45(9):542-51.
- (151) Lechin M, Quinones MA, Omran A, Hill R, Yu QT, Rakowski H, et al. Angiotensin-I converting enzyme genotypes and left ventricular hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1995 Oct 1; 92(7):1808-12.
- (152) Tom B, Garrelds IM, Scalbert E, Stegmann AP, Boomsma F, Saxena PR, et al. ACE-versus chymase-dependent angiotensin II generation in human coronary arteries: a matter of efficiency? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003 Feb 1; 23(2):251-6.

- (153) Harrap SB, Dominiczak AF, Fraser R, Lever AF, Morton JJ, Foy CJ, et al. Plasma angiotensin II, predisposition to hypertension, and left ventricular size in healthy young adults. *Circulation* 1996 Mar 15; 93(6):1148-54.
- (154) Jaffre F, Callebort J, Sarre A, Etienne N, Nebigil CG, Launay JM, et al. Involvement of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in cardiac hypertrophy linked to sympathetic stimulation: control of interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor- α cytokine production by ventricular fibroblasts. *Circulation* 2004 Aug 24; 110(8):969-74.
- (155) Sano M, Fukuda K, Kodama H, Pan J, Saito M, Matsuzaki J, et al. Interleukin-6 family of cytokines mediate angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in rodent cardiomyocytes. *J Biol Chem* 2000 Sep 22; 275(38):29717-23.
- (156) Chai W, Hoedemaekers Y, van Schaik RH, van FM, Garrelds IM, Saris JJ, et al. Cardiac aldosterone in subjects with hypertrophic cardiomyopathy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2006 Dec; 7(4):225-30.
- (157) Kaufman BD, Auerbach S, Reddy S, Manlhiot C, Deng L, Prakash A, et al. RAAS gene polymorphisms influence progression of pediatric hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Genet* 2007 Dec; 122(5):515-23.
- (158) Hebert PR, Foody JM, Hennekens CH. The renin-angiotensin system: the role of inhibitors, blockers, and genetic polymorphisms in the treatment and prevention of heart failure. *Curr Vasc Pharmacol* 2003 Mar; 1(1):33-9.
- (159) Wang JG, Staessen JA. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease. *Eur J Pharmacol* 2000 Dec 27; 410(2-3):289-302.
- (160) Blauwet LA, Ackerman MJ, Edwards WD, Riehle DL, Ommen SR. Myocardial fibrosis in patients with symptomatic obstructive hypertrophic cardiomyopathy: correlation with echocardiographic measurements, sarcomeric genotypes, and pro-left ventricular hypertrophy polymorphisms involving the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc Pathol* 2009 Sep; 18(5):262-8.
- (161) Jaffre F, Bonnin P, Callebort J, Debbabi H, Setola V, Doly S, et al. Serotonin and angiotensin receptors in cardiac fibroblasts coregulate adrenergic-dependent cardiac hypertrophy. *Circ Res* 2009 Jan 2; 104(1):113-23.
- (162) Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994 Dec; 90(6):2622-8.
- (163) Heineke J, Molkenin JD. Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006 Aug; 7(8):589-600.
- (164) Osterop AP, Kofflard MJ, Sandkuijl LA, Ten Cate FJ, Krams R, Schalekamp MA, et al. AT₁ receptor A/C1166 polymorphism contributes to cardiac hypertrophy in subjects with hypertrophic cardiomyopathy. *Hypertension* 1998 Nov; 32(5):825-30.

- (165) Chen AH, Zhang WX, Li ZL, Tang XM, Lu Q, Qian XX, et al. [Association between aldosterone synthase gene polymorphism and hypertrophic cardiomyopathy]. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 2002 Aug; 22(8):704-6.
- (166) Martin MM, Buckenberger JA, Jiang J, Malana GE, Nuovo GJ, Chotani M, et al. The human angiotensin II type 1 receptor +1166 A/C polymorphism attenuates microRNA-155 binding. *J Biol Chem* 2007 Aug 17; 282(33):24262-9.
- (167) Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* 2007 May; 12(5):913-22.
- (168) DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N Engl J Med* 2003 Jun 26; 348(26):2656-68.
- (169) Wallace DC, Fan W, Procaccio V. Mitochondrial energetics and therapeutics. *Annu Rev Pathol* 2010; 5:297-348.
- (170) Obayashi T, Hattori K, Sugiyama S, Tanaka M, Tanaka T, Itoyama S, et al. Point mutations in mitochondrial DNA in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am Heart J* 1992 Nov; 124(5):1263-9.
- (171) Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980 Nov; 77(11):6715-9.
- (172) Montoya J, Lopez-Gallardo E, ez-Sanchez C, Lopez-Perez MJ, Ruiz-Pesini E. 20 years of human mtDNA pathologic point mutations: carefully reading the pathogenicity criteria. *Biochim Biophys Acta* 2009 May; 1787(5):476-83.
- (173) Schurr TG, Ballinger SW, Gan YY, Hodge JA, Merriwether DA, Lawrence DN, et al. Amerindian mitochondrial DNAs have rare Asian mutations at high frequencies, suggesting they derived from four primary maternal lineages 1. *Am J Hum Genet* 1990 Mar; 46(3):613-23.
- (174) Horai S. [New developments of molecular genetic analysis on human mitochondrial DNA]. *Nihon Rinsho* 1993 Sep; 51(9):2258-63.
- (175) Torroni A, Huoponen K, Francalacci P, Petrozzi M, Morelli L, Scozzari R, et al. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations. *Genetics* 1996 Dec; 144(4):1835-50.
- (176) Vigilant L, Stoneking M, Harpending H, Hawkes K, Wilson AC. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science* 1991 Sep 27; 253(5027):1503-7.
- (177) Denaro M, Blanc H, Johnson MJ, Chen KH, Wilmsen E, Cavalli-Sforza LL, et al. Ethnic variation in Hpa I endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981 Sep; 78(9):5768-72.
- (178) Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 1987 Jan 1; 325(6099):31-6.

- (179) Merriwether DA, Clark AG, Ballinger SW, Schurr TG, Soodyall H, Jenkins T, et al. The structure of human mitochondrial DNA variation. *J Mol Evol* 1991 Dec; 33(6):543-55.
- (180) Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet* 1999 Oct; 23(2):147.
- (181) Wallace DC, Fan W, Procaccio V. Mitochondrial energetics and therapeutics. *Annu Rev Pathol* 2010; 5:297-348.
- (182) Pello R, Martin MA, Carelli V, Nijtmans LG, Achilli A, Pala M, et al. Mitochondrial DNA background modulates the assembly kinetics of OXPHOS complexes in a cellular model of mitochondrial disease. *Hum Mol Genet* 2008 Dec 15; 17(24):4001-11.
- (183) De BG, Rose G, Carrieri G, De LM, Falcone E, Passarino G, et al. Mitochondrial DNA inherited variants are associated with successful aging and longevity in humans. *FASEB J* 1999 Sep; 13(12):1532-6.
- (184) Semsarian C, Ahmad I, Giewat M, Georgakopoulos D, Schmitt JP, McConnell BK, et al. The L-type calcium channel inhibitor diltiazem prevents cardiomyopathy in a mouse model. *J Clin Invest* 2002 Apr; 109(8):1013-20.
- (185) Patel R, Nagueh SF, Tsybouleva N, Abdellatif M, Lutucuta S, Kopelen HA, et al. Simvastatin induces regression of cardiac hypertrophy and fibrosis and improves cardiac function in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2001 Jul 17; 104(3):317-24.
- (186) Ten Cate FJ, Hugenholtz PG, Van Dorp WG, Roelandt J. Prevalence of diagnostic abnormalities in patients with genetically transmitted asymmetric septal hypertrophy. *Am J Cardiol* 1979 Apr; 43(4):731-7.
- (187) Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996 Mar 1; 93(5):841-2.
- (188) Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman P, et al. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2002 Apr; 20(4):657-63.
- (189) Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman P, et al. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344 C/T polymorphism is related to antihypertensive response: result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens* 2002 May; 15(5):389-93.

- (190) Diet F, Graf C, Mahnke N, Wassmer G, Predel HG, Palma-Hohmann I, et al. ACE and angiotensinogen gene genotypes and left ventricular mass in athletes. *Eur J Clin Invest* 2001 Oct; 31(10):836-42.
- (191) Den Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. *Hum Mutat* 2000; 15(1):7-12.
- (192) Doolan G, Nguyen L, Chung J, Ingles J, Semsarian C. Progression of left ventricular hypertrophy and the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2004 Aug; 96(2):157-63.
- (193) Macaulay V. The emerging tree of West Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs. 1999 Jan.
- (194) Dominguez-Garrido E. Association of mitochondrial haplogroup J and mtDNA oxidative damage in two different North Spain elderly populations. 2009 Aug.
- (195) Gallardo ME, Garcia-Pavia P, Chamorro R, Vazquez ME, Gomez-Bueno M, Millan I, et al. Mitochondrial haplogroups associated with end-stage heart failure and coronary allograft vasculopathy in heart transplant patients. *Eur Heart J* 2012 Feb; 33(3):346-53.
- (196) Garcia-Castro M, Reguero JR, Moris C,onso-Montes C, Berrazueta JR, Sainz R, et al. Prevalence and spectrum of mutations in the sarcomeric troponin T and I genes in a cohort of Spanish cardiac hypertrophy patients. *Int J Cardiol* 2007 Sep 14; 121(1):115-6.
- (197) Michels M, Hoedemaekers YM, Kofflard MJ, Frohn-Mulder I, Dooijes D, Majoor-Krakauer D, et al. Familial screening and genetic counselling in hypertrophic cardiomyopathy: the Rotterdam experience. *Neth Heart J* 2007 May; 15(5):184-90.
- (198) Funada A, Konno T, Fujino N, Muramoto A, Hayashi K, Tsubokawa T, et al. Impact of renin-angiotensin system polymorphisms on development of systolic dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy. Evidence from a study of genotyped patients. *Circ J* 2010 Nov; 74(12):2674-80.
- (199) Brown DW, Giles WH, Croft JB. Left ventricular hypertrophy as a predictor of coronary heart disease mortality and the effect of hypertension. *Am Heart J* 2000 Dec; 140(6):848-56.
- (200) Corrado D, Basso C, Rizzoli G, Schiavon M, Thiene G. Does sports activity enhance the risk of sudden death in adolescents and young adults? *J Am Coll Cardiol* 2003 Dec 3; 42(11):1959-63.
- (201) Corrado D, Basso C, Pavei A, Michieli P, Schiavon M, Thiene G. Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program. *JAMA* 2006 Oct 4; 296(13):1593-601.

- (202) Corrado D, Schmied C, Basso C, Borjesson M, Schiavon M, Pelliccia A, et al. Risk of sports: do we need a pre-participation screening for competitive and leisure athletes? *Eur Heart J* 2011 Apr; 32(8):934-44.
- (203) Pelliccia A, Zipes DP, Maron BJ. Bethesda Conference #36 and the European Society of Cardiology Consensus Recommendations revisited a comparison of U.S. and European criteria for eligibility and disqualification of competitive athletes with cardiovascular abnormalities. *J Am Coll Cardiol* 2008 Dec 9; 52(24):1990-6.
- (204) Nijenkamp LL, Guclu A, Appelman Y, van d, V, Kuster DW. Sex-dependent pathophysiological mechanisms in hypertrophic cardiomyopathy: implications for rhythm disorders. *Heart Rhythm* 2015 Feb; 12(2):433-9.
- (205) Lin CL, Chiang CW, Shaw CK, Chu PH, Chang CJ, Ko YL. Gender differences in the presentation of adult obstructive hypertrophic cardiomyopathy with resting gradient: a study of 122 patients. *Jpn Circ J* 1999 Nov; 63(11):859-64.
- (206) Regitz-Zagrosek V. Therapeutic implications of the gender-specific aspects of cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov* 2006 May; 5(5):425-38.
- (207) Dimitrow PP, Czarnecka D, Jaszcz KK, Dubiel JS. Sex differences in age at onset of symptoms in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiovasc Risk* 1997 Feb; 4(1):33-5.
- (208) Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, Hirota T, Hayato K, Yamasaki N, et al. Gender-specific differences in the clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in a community-based Japanese population: results from Kochi RYOMA study. *J Cardiol* 2010 Nov; 56(3):314-9.
- (209) Oliva-Sandoval MJ, Ruiz-Espejo F, Monserrat L, Hermida-Prieto M, Sabater M, Garcia-Molina E, et al. Insights into genotype-phenotype correlation in hypertrophic cardiomyopathy. Findings from 18 Spanish families with a single mutation in MYBPC3. *Heart* 2010 Dec; 96(24):1980-4.
- (210) James CA, Bhonsale A, Tichnell C, Murray B, Russell SD, Tandri H, et al. Exercise increases age-related penetrance and arrhythmic risk in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated desmosomal mutation carriers. *J Am Coll Cardiol* 2013 Oct 1; 62(14):1290-7.
- (211) La GA, Claessen G, Van de BA, Pattyn N, Van CJ, Gewillig M, et al. Cardiac MRI: a new gold standard for ventricular volume quantification during high-intensity exercise. *Circ Cardiovasc Imaging* 2013 Mar 1; 6(2):329-38.
- (212) Pilbrow AP, Palmer BR, Frampton CM, Yandle TG, Troughton RW, Campbell E, et al. Angiotensinogen M235T and T174M gene polymorphisms in combination doubles the risk of mortality in heart failure. *Hypertension* 2007 Feb; 49(2):322-7.

- (213) Chistiakov DA, Turakulov RI, Moiseev VS, Nosikov VV. [Polymorphism of angiotensinogen T174M gene and cardiovascular diseases in the Moscow population]. *Genetika* 1999 Aug; 35(8):1160-4.
- (214) Harris KM, Spirito P, Maron MS, Zenovich AG, Formisano F, Lesser JR, et al. Prevalence, clinical profile, and significance of left ventricular remodeling in the end-stage phase of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2006 Jul 18; 114(3):216-25.
- (215) Thaman R, Gimeno JR, Murphy RT, Kubo T, Sachdev B, Mogensen J, et al. Prevalence and clinical significance of systolic impairment in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 2005 Jul; 91(7):920-5.
- (216) Biagini E, van Geuns RJ, Baks T, Boersma E, Rizzello V, Galema TW, et al. Comparison between contrast echocardiography and magnetic resonance imaging to predict improvement of myocardial function after primary coronary intervention. *Am J Cardiol* 2006 Feb 1; 97(3):361-6.