

La cardiomyopathie hypertrophique familiale : maladie du sarcomère cardiaque ?

Lucie Carrier
Pascale Guicheney
Ketty Schwartz

La cardiomyopathie hypertrophique familiale est une maladie à transmission autosomique dominante, très hétérogène cliniquement et sur le plan génétique. Le premier *locus* morbide fut identifié sur le chromosome 14 (*CMH1*) ; depuis, quatre autres *loci* ont été trouvés sur les chromosomes 1 (*CMH2*), 15 (*CMH3*), 11 (*CMH4*) et, tout récemment, sur le chromosome 7. Trois gènes ont été identifiés, codant tous pour des protéines du sarcomère cardiaque, la chaîne lourde β de la myosine, la troponine T et l' α -tropomyosine. La myosine est le moteur moléculaire du raccourcissement du sarcomère, la tropomyosine et la troponine sont des protéines du filament fin du sarcomère. Ces protéines interviennent dans la cinétique de la contraction cardiaque ; son ralentissement pourrait conduire à une hypertrophie compensatrice du muscle cardiaque, analogue à celle observée dans les surcharges de travail hémodynamique.

ADRESSE

L. Carrier : chargée de recherche au Cnrs.
P. Guicheney : chargée de recherche à l'Inserm.
K. Schwartz : directeur de recherche au Cnrs. Inserm U.153, pavillon Rambuteau, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France.

TIRÉS À PART

L. Carrier.

La cardiologie a été plus lente que d'autres disciplines médicales à intégrer les outils de la génétique moléculaire et c'est la cardiomyopathie hypertrophique qui a ouvert la voie de ce que l'on appelle maintenant la cardiologie génétique. Cette maladie est transmise selon un mode autosomique dominant, et notre connaissance de ses bases génétiques et moléculaires a progressé rapidement depuis l'identification, en 1989, du premier *locus* morbide sur le chromosome 14 et la mise en évidence, en 1990, de l'implication du gène codant pour la chaîne lourde β de la myosine. Depuis, une grande hétérogénéité allélique et non allélique a

été trouvée et il paraît clair maintenant que, dans certains cas au moins et de façon inattendue, ce sont des altérations des gènes codant pour des protéines de l'appareil contractile cardiaque qui sont en cause. Nous insisterons dans cette revue sur les arguments en faveur de cette hypothèse et sur les relations qui existent entre hétérogénéité phénotypique et hétérogénéité génétique.

Hétérogénéité phénotypique de la cardiomyopathie hypertrophique

La cardiomyopathie hypertrophique (CMH), décrite la première fois sous

RÉFÉRENCES

1. Vulpian A. Contribution à l'étude des rétrécissements de l'orifice ventriculo-aortique. *Arch Physiol* 1868; 3: 220-2.
2. Maron BJ, Gottdiener JS, Epstein S. Patterns and significance of distribution of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy. A wide angle, two dimensional echocardiographic study of 125 patients. *J Am Cardiol* 1981; 48: 418-28.
3. Codd MB, Sugrue DD, Gersh BJ, Melton LJ. Epidemiology of idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1989; 80: 564-72.
4. Komajda M, Grosogeat Y. Myocardiopathies. In: Swynghedauw B, ed. *Recherches en... hypertrophie et insuffisance cardiaques*. Paris: Inserm John Libbey Eurotext, 1990: 505-22.
5. Hollman A, Goodwin JF, Teare D, Renwick JW. A family with obstructive cardiomyopathy (asymmetrical hypertrophy). *Br Heart J* 1960; 22: 449-56.
6. Jarcho JA, McKenna W, Pare JAP, Solomon SD, Holcombe RF, Dickie S, Levi T, Donis-Keller H, Seidman JG, Seidman CE. Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14q1. *N Engl J Med* 1989; 321: 1372-8.
7. Geisterfer-Lowrance AAT, Kass S, Tanigawa G, Vosberg HP, McKenna W, Seidman CE, Seidman JG. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a β cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell* 1990; 62: 999-1006.
8. Tanigawa G, Jarcho JA, Kass S, Solomon SD, Vosberg HP, Seidman JG, Seidman CE. Molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: an α/β cardiac myosin heavy chain hybrid gene. *Cell* 1990; 62: 991-8.
9. Schwartz K, Carrier L, Guicheney P, Komajda M. The molecular basis of cardiomyopathies. *Circulation* 1995; 91: 532-40.
10. Dausse E, Komajda M, Dubourg O, Feller L, Dufour C, Carrier L, Wisniewski C, Bercevic J, Hengstenberg C, Al-Mahdawi S, Isnard R, Hagege A, Bouhour JB, Desnos M, Beckmann JS, Weissenbach J, Schwartz K, Guicheney P. Familial hypertrophic cardiomyopathy: microsatellite haplotyping and identification of a hot-spot for mutations in the β -myosin heavy chain gene. *J Clin Invest* 1993; 92: 2807-13.
11. Solomon SD, Jarcho JA, McKenna WJ, Geisterfer-Lowrance A, Germain R, Salerni R, Seidman JG, Seidman CE. Familial hypertrophic cardiomyopathy is a genetically heterogeneous disease. *J Clin Invest* 1990; 86: 993-9.
12. Schwartz K, Dufour C, Fougerousse F, Faure L, Carrier L, Hengstenberg C, Cambien F, Cohen D, Ferrière M, Desnos M, Sacrez A, Dubourg O, Komajda M. Exclusion of myosin heavy chain and cardiac actin gene involvement in hypertrophic cardiomyopathies of several French families. *Circ Res* 1992; 71: 3-8.

le nom de « rétrécissement sous-aortique » [1], a été définie par un groupe d'experts de l'OMS comme une maladie du myocarde d'origine inconnue. Sa fréquence est difficile à estimer car les formes latentes cliniquement sont assez courantes [2]. Le seul travail épidémiologique réalisé sur une population du Minnesota entre 1975-1984 donne une prévalence de l'ordre de 2/10 000 [3]. Cette maladie est définie par la présence d'une hypertrophie ventriculaire sans dilatation [4]. De grandes variations ont été observées entre patients au niveau de la localisation et de l'étendue de l'hypertrophie [2]. On trouve, en outre, chez la plupart des individus, une désorganisation cellulaire importante (figure 1). A l'intérieur des myocytes, l'arrangement des myofibrilles peut être également très perturbé avec une perte de leur parallélisme [4]. La maladie est associée à une dysfonction diastolique, à une ischémie myocardique, à des arythmies ventriculaires et au risque élevé de mort subite chez le jeune. La CMH est donc hétérogène cliniquement, sur le plan morphologique et aussi dans le pronostic des individus affectés. Cette hétérogénéité se retrouve parmi les membres d'une même famille mais aussi parmi des sujets appartenant à des familles distinctes. La première étude de génétique clinique a été rapportée en 1958 avec la description d'une famille possédant une hypertrophie septale transmise selon un mode autosomique dominant [5]. Actuellement, on estime à 60 % les formes familiales mais on peut penser, au vu des résultats actuels de génétique moléculaire, que ce chiffre est nettement sous-évalué. Plusieurs hypothèses pathogéniques ont été émises: (1) anomalie au niveau des mouvements de calcium intracellulaire, à l'origine d'une perturbation de la fonction diastolique; (2) stimulation sympathique altérée conduisant à une surproduction de catécholamines; (3) épaississement des artères coronaires à l'origine d'une fibrose et d'une hypertrophie compensatrice; (4) et enfin, anomalies structurales entraînant une configuration particulière du septum conduisant à une désorganisation cellulaire et à une hypertrophie. Comme on le verra dans les paragraphes suivants, un des résultats surprenants

des analyses génétiques est qu'aucune de ces hypothèses n'a été vérifiée dans les formes familiales de CMH.

La chaîne lourde β de la myosine, premier gène morbide identifié

Les premiers résultats des analyses génétiques apparurent en 1989 avec l'identification du premier locus morbide (CMH1) sur le chromosome 14q11-q12 [6], à l'aide de marqueurs bialléliques de type RFLP (*restriction fragments length polymorphism*). Les gènes codant pour les deux isoformes α et β de la chaîne lourde de la myosine sont localisés en tandem sur ce locus et devinrent alors des gènes candidats non préalablement suspectés pour la CMH. Une mutation faux-sens au niveau du codon 403 du gène *MYH7* codant pour la forme β [7] ainsi que la formation d'un gène hybride α/β [8] furent mises en évidence. Après ces descriptions, on trouva une liaison au locus *CMH1* dans plusieurs familles. Plus de 29 mutations ponctuelles faux-sens dans le gène *MYH7* ont maintenant été décrites (pour revue, voir [9]) et nous avons mis en évidence un point chaud de mutations au niveau du codon 403 [10], correspondant à l'instabilité du dinucléotide CG. Dans une famille, on a également rapporté une délétion de la région C-terminale de la myosine, mais il n'est pas évident qu'elle soit la cause de la CMH dans cette famille [11]. Il faut noter que ce fut une surprise de découvrir que l'un des mécanismes à l'origine de la CMH était un défaut dans une protéine contractile cardiaque.

Hétérogénéité génétique de locus

A côté de l'hétérogénéité allélique dans le gène *MYH7*, une hétérogénéité de locus fut rapidement soupçonnée car deux familles n'étaient pas liées au locus *CMH1* [11]. C'est en développant deux nouveaux marqueurs microsatellites très informatifs dans le gène *MYH7* que nous avons trouvé que le gène morbide de huit familles françaises n'était pas celui du locus *CMH1* [12]. Par une approche gène candidat, l'implication du gène codant pour l'autre pro-

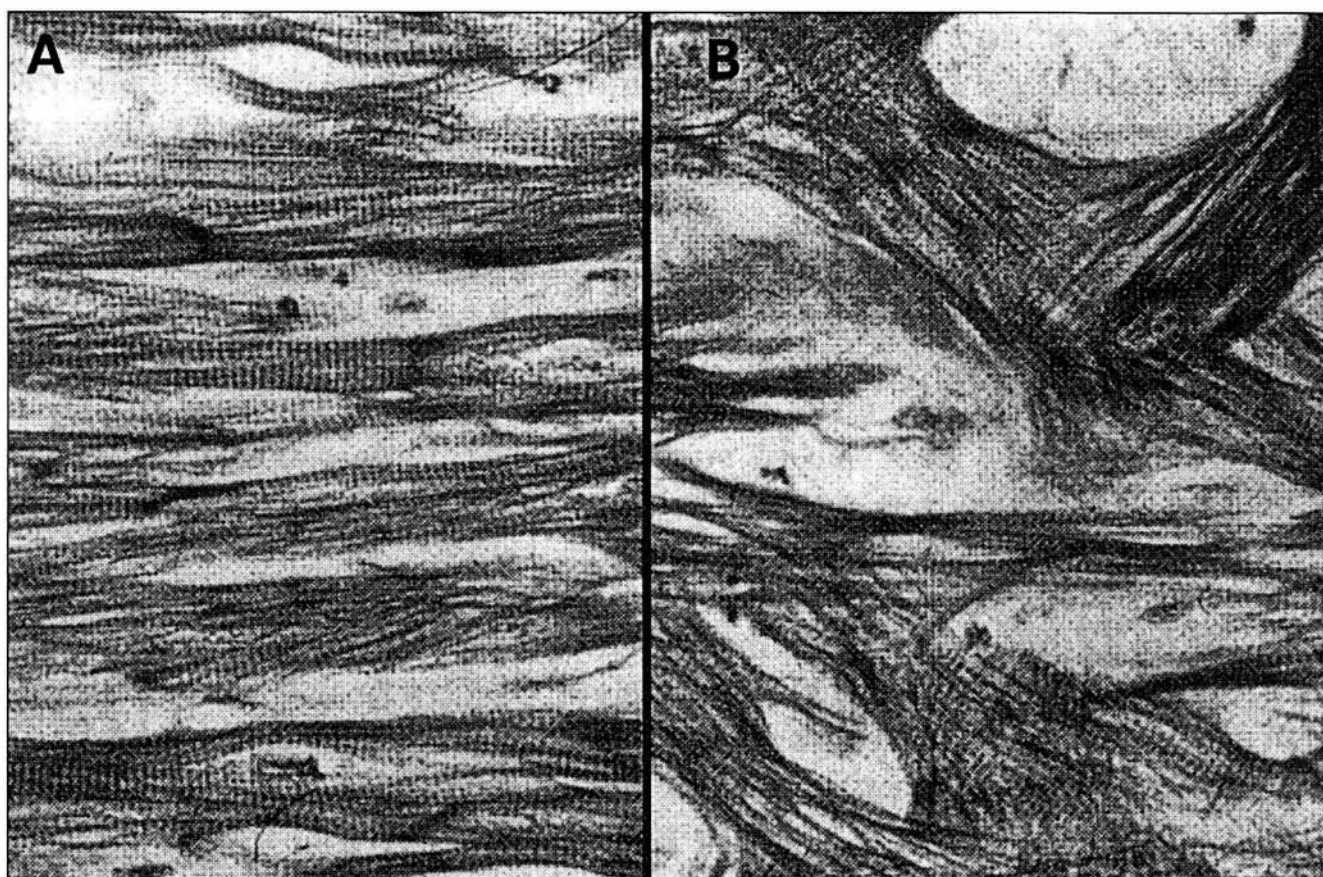


Figure 1. **Architecture du myocarde normal (A) et désorganisation cellulaire dans la cardiomyopathie hypertrophique.** (Reproduit avec permission de [43].)

Tableau I

LOCI CMH2 ET CMH3 : MUTATIONS DANS LES GÈNES CODANT POUR LA TROPONINE T CARDIAQUE ET L'α-TROPOMYOSINE

Exon	Nucléotide substitué	Acide aminé substitué	Changement de charge	Conservation interespèces	Nombre de familles
Troponine T cardiaque (<i>locus CMH2</i>)					
8	T→A	Ile ⁷⁹ →Asp	oui	+	1
9	G→A	Arg ⁹² →Gln	oui	+	1
9	T→A	Phe ¹¹⁰ →Ile	non	+	1
11	ΔGAG	ΔGlu160	oui	+	2
11	G→A	Glu ¹⁶³ →Lys	oui	+	1
14	G→T	Glu ²⁴⁴ →Asp	non	+	1
intron 15	G→A	ARNm aberrants		+	1
15	C→T	Arg ²⁷⁸ →Cys	oui	+	1
α-tropomyosine (<i>locus CMH3</i>)					
5	G→A	Asp ¹⁷⁵ →Asn	oui	+	1
5	A→G	Glu ¹⁸⁰ →Gly	oui	+	1

RÉFÉRENCES

13. Dufour C, Carrier L, Hengstenberg C, Bercovici J, Dausse E, Weissenbach J, Dubourg O, Komajda M, Schwartz K, Beckmann JS. Exclusion of genes coding for proteins of cytoskeleton and extracellular matrix in familial hypertrophic cardiomyopathy using a candidate gene approach. *CR Acad Sci Paris* 1993; 316: 474-81.
14. Watkins H, MacRae C, Thierfelder L, Chou YH, Frenneaux M, McKenna WJ, Seidman JG, Seidman CE. A disease locus for familial hypertrophic cardiomyopathy maps to chromosome 1q3. *Nature Genet* 1993; 3: 333-7.
15. Thierfelder L, MacRae C, Watkins H, Tomfohrde J, Williams M, McKenna WJ, Bohm K, Noeske G, Schlepper M, Bowcock A, Vosberg HP, Seidman JG, Seidman CE. A familial hypertrophic cardiomyopathy locus maps to chromosome 15q2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6270-4.
16. Carrier L, Hengstenberg C, Beckmann JS, Guicheney P, Dufour C, Bercovici J, Dausse E, Berebby-Bertrand I, Wisniewsky C, Pulvenis D, Fetter L, Vignal A, Weissenbach J, Hillaire D, Feingold J, Bouhour JB, Hagege A, Desnos M, Isnard, Dubourg O, Komajda M, Schwartz K. Mapping of a novel gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 11. *Nature Genet* 1993; 4: 311-3.
17. Hengstenberg C, Charron P, Isnard R, Beckmann JS, Fetter L, Desnos M, Hagege A, Bouhour JB, Souriant G, Dubourg O, Schwartz K, Komajda M. Mise en évidence d'un cinquième locus impliqué dans les cardiomyopathies hypertrophiques familiales. *Arch Mal Cœur* 1994; 87: 1655-62.
18. MacRae CA, Ghaisas N, Kass S, Donnelly S, Basson CT, Watkins HC, Anan R, Thierfelder LH, McGarry K, Rowland E, McKenna WJ, Seidman JG, Seidman CE. Familial hypertrophic cardiomyopathy with Wolff-Parkinson-White syndrome maps to a locus on chromosome 7. *J Clin Invest* 1995; 96: 1216-20.
19. Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, Limas R, McKenna W, Vosberg HP, Seidman JG, Seidman CE. α -tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell* 1994; 77: 701-12.
20. Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, Spirito P, Matsumori A, Moravec CS, Seidman JG, Seidman CE. Mutations in the genes for cardiac troponin T and α -tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1995; 332: 1058-64.
21. Carrier L, Richard P, Bonne G, Bercovici J, Tesson F, Lautié N, Forissier JF, Hainque B, Bennaceur M, Guicheney P, Komajda M, Schwartz K. Distribution of disease loci in twenty-eight French families with familial hypertrophic cardiomyopathy. Anaheim, California: American Heart Association, 13-16 novembre 1995.

téine majoritaire du sarcomère, l'actine cardiaque, fut exclue dans ces familles [12] ainsi que celle des gènes codant pour des protéines du cytosquelette et de la matrice extracellulaire [13]. L'hétérogénéité de locus fut ensuite confirmée par notre équipe et par d'autres avec l'identification de trois autres loci sur les chromosomes 1q3 (*CMH2*) [14], 15q2 (*CMH3*) [15] et 11p13-q13 (*CMH4*) [16]. Par ailleurs, nous avons montré l'existence d'un cinquième locus [17]. Enfin, un locus impliqué dans la survenue conjointe de la CMH et du syndrome de Wolff-Parkinson-White* vient d'être identifié sur le chromosome 7q3 [18].

Troponine T cardiaque et α -tropomyosine

C'est par synténie avec le génome murin et par génétique moléculaire que les gènes morbides des loci *CMH2* et *CMH3* ont été identifiés l'an dernier [19] : ils codent pour deux autres protéines du filament fin du sarcomère, la troponine T (TNT) cardiaque et l' α -tropomyosine (α -TM). Deux mutations ponctuelles ont été trouvées dans le gène α -TM et huit variations de séquence ont été mises en évidence dans le gène *TNT* (Tableau I) [19, 20]. Six parmi ces dernières sont des mutations ponctuelles faux-sens, une autre correspond à une délétion d'un codon, et la dernière est une mutation dans le site donneur d'épissage de l'intron 15. Ces protéines jouent, comme la myosine, un rôle structural et fonctionnel important dans le sarcomère suggérant qu'un des mécanismes pathogéniques de la CMH pourrait être une anomalie de la fonction de l'ensemble du système contractile myocytaire.

A la recherche du quatrième gène morbide

Le fait que la CMH soit une maladie du sarcomère, au moins pour certaines familles, suggère fortement que des mutations dans des gènes

codant pour d'autres protéines du filament fin ou épais ou pour des protéines impliquées dans l'assemblage des filaments pourraient être à l'origine de la CMH au niveau des autres loci, et plus particulièrement au niveau du locus *CMH4* que nous avons trouvé sur le chromosome 11 en 11p13-q13 [16]. Cette localisation n'a concerné initialement qu'une seule famille mais nous venons récemment de montrer que trois autres familles ont aussi leur affection liée à ce locus [21]. L'analyse de plus de 30 nouveaux marqueurs microsatellites sur les quatre familles a permis de réduire l'intervalle de liaison de 23 cM à 9 cM, soit environ de 23 millions à 9 millions de paires de bases [22]. Parmi les 60 gènes localisés dans cette région, aucun ne code pour une protéine sarcomérique. Le gène codant pour la troponine C cardiaque n'était pas localisé sur le génome. Nous avons donc essayé de le positionner dans le locus *CMH4* en utilisant de l'ADN de cellules hybrides homme/hamster contenant spécifiquement le chromosome 11. Les résultats montrent que le gène codant pour la troponine C cardiaque n'est pas localisé sur le chromosome 11. Nous avons alors testé une autre hypothèse, celle d'un défaut métabolique puisque le gène codant pour la sous-unité VIII du complexe cytochrome C oxydase était localisé dans l'intervalle. Ni altérations majeures ni mutations ponctuelles n'ont été mises en évidence, indiquant que cette sous-unité n'est pas le gène morbide du locus *CMH4* [23].

Mutations ou polymorphismes ?

Ni les études de liaison, ni l'identification de mutations géniques ne suffisent à prouver que les mutations trouvées sont à l'origine de la CMH puisque l'on sait que des mutations faux-sens existent dans de nombreux gènes de mammifères et n'entraînent pas d'anomalie fonctionnelle. Des arguments solides peuvent cependant être apportés, au moins en ce qui concerne la chaîne lourde de la myosine β , prouvant que les mutations trouvées ne sont pas de simples polymorphismes: (1) la même mutation a été trouvée dans plusieurs familles non apparentées et d'origine

* Syndrome électrocardiographique, fréquemment compliqué de crises de tachycardie auriculaire paroxystiques, caractérisé par un raccourcissement de l'espace PR et d'un élargissement du complexe QRS.

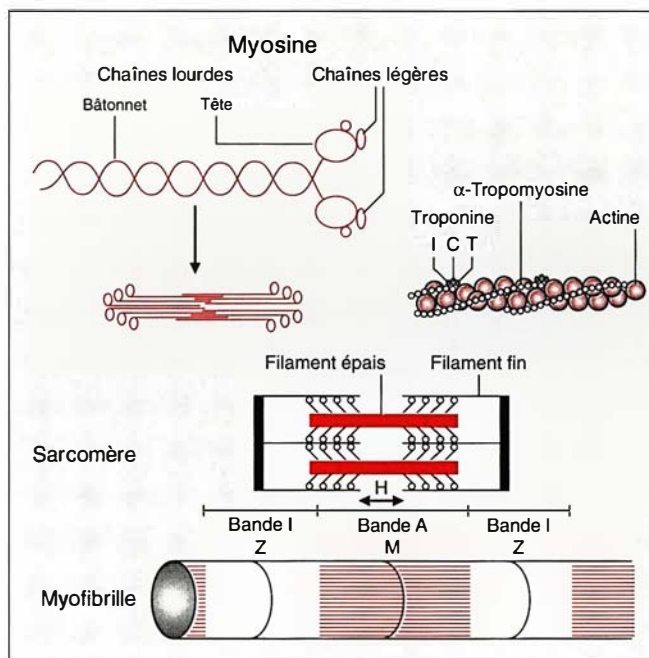


Figure 2. Structure du sarcomère cardiaque. Le sarcomère est l'unité contractile du muscle strié contenue entre deux stries Z, composé de filaments épais et fins. Les filaments épais sont essentiellement composés de molécules de myosine contenant deux chaînes lourdes et deux paires de chaînes légères alors que les filaments fins sont constitués d'actine, de tropomyosine et du complexe troponine T, C, I.

géographique différente et aucune des mutations n'a été trouvée chez des individus non affectés; (2) l'identification d'un point chaud de mutation au niveau de l'arginine 403 suggère que ce résidu joue un rôle majeur dans le maintien de la fonction normale des molécules de myosine; (3) les mutations touchent toutes des acides aminés conservés au cours de l'évolution, suggérant un rôle clé de ces acides aminés dans la structure et/ou la fonction de la myosine; (4) des mutations *de novo* ont été mises en évidence chez des individus porteurs d'une forme sporadique de CMH et une de ces mutations est transmise dans la descendance avec expression simultanée du phénotype atteint [24, 25]; (5) et enfin, comme nous le verrons dans le paragraphe suivant, les quelques mutations analysées sur le plan fonctionnel altèrent les propriétés contractiles de la fibre musculaire.

Mutations dans le gène codant pour la chaîne lourde β de la myosine et fonction de la molécule

La myosine est le moteur moléculaire qui dirige le raccourcissement du sarcomère et donc la contraction musculaire [26]. C'est une enzyme qui convertit l'énergie chimique de l'ATP en énergie cinétique. La myosine est un hexamère composé de deux chaînes lourdes et de deux paires de chaînes légères (figure 2). Il existe plusieurs isoformes de chaîne lourde dont la synthèse est réglée au cours du développement et qui ont une spécificité tissulaire. Elles hydrolysent l'ATP à des vitesses différentes, ce qui induit des vitesses de contraction et des rendements énergétiques différents. Le type de myosine présent est donc un des éléments déterminants de la vitesse et de l'énergétique de la contraction. L'isoforme

de chaîne lourde majoritaire dans le cœur humain adulte est la forme β /lente. Comme le dit son nom, elle est aussi exprimée dans les fibres musculaires lentes. La chaîne lourde de la myosine est bifonctionnelle: elle possède une activité enzymatique et des propriétés structurales. C'est une grosse molécule avec des domaines moléculaires bien caractérisés (figure 3). La partie N-terminale forme le domaine globulaire ou « tête » (sous-fragment 1 ou S1) qui contient les sites de fixation des deux chaînes légères. Tous les sites actifs de la molécule sont également contenus dans cette partie globulaire. La partie C-terminale de la molécule forme un bâtonnet enroulé sur lui-même en hélice α et elle est divisée en deux sous-domaines, méromyosine légère (LMM) et sous-fragment 2 (S2) [26]. Les vingt-neuf mutations mises en évidence dans le gène codant pour la chaîne lourde β (Tableau II et figure 3) correspondent à des mutations ponctuelles faux-sens, entraînant la substitution d'un acide aminé par un autre. Dix de ces mutations n'affectent pas la charge de la molécule de myosine, transformant un acide aminé apolaire ou chargé positivement par un autre de la même nature. Les dix-neuf autres, en revanche, entraînent un changement non négligeable de charge ou de polarité dans la molécule de myosine (pour revue, voir [12]). C'est en examinant la localisation des mutations dans la protéine parmi les domaines fonctionnels de la molécule de myosine que l'on a pu avancer dans la compréhension des défauts moléculaires responsables de la CMH. On sait que S1 constitue la partie fonctionnelle et S2 et LMM la partie structurale. Plus de 75 % des mutations sont situées dans le domaine S1 et peuvent ainsi entraîner une altération du mouvement des têtes de la myosine sur l'actine ou de l'activité enzymatique. C'est le cas, au moins, pour la mutation Arg⁴⁰³→Gln qui, *in vitro*, diminue l'activité ATPasique de l'actomyosine [27] et la vitesse de translocation de la myosine sur l'actine [27, 28]. Les mutations peuvent être réparties dans six sites importants de la molécule [29-31] (Tableau II). Premièrement, le site de liaison de l'ATP (de Thr¹²⁴ à Gly²⁵⁶). Ce groupe comprend la mutation Asn²³²→Ser que nous avons décrite [32], située

RÉFÉRENCES

22. Carrier L, Bercovici J, Bonne G, Richard I, Lautié N, Komajda M, Schwartz K. Reduction of the *CMH4* locus in familial hypertrophic cardiomyopathy by fine haplotype analysis. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: A224.
23. Bonne G, Carrier L, Komajda M, Schwartz K. The *COX8* gene is not the disease gene of the *CMH4* locus in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Med Genet* 1995; 32: 670-1.
24. Watkins H, Thierfelder L, Hwang DS, McKenna WJ, Seidman JG, Seidman CE. Sporadic hypertrophic cardiomyopathy due to *de novo* myosin mutations. *J Clin Invest* 1992; 90: 1666-71.
25. Greve G, Mares A, Bachinski L, Roberts R. A sporadic mutation in the β -myosin heavy chain gene transmits hypertrophic cardiomyopathy to the offspring of two generations. *Circulation* 1993; 88: 562-72.
26. Eldin P, Cornillon B, Mornet D, Léger J. Une nouvelle jeunesse pour les myosines. *médecine/sciences* 1995; 11: 1005-16.
27. Sweeney HL, Straceski AJ, Leinwand LA, Tikunov BA, Faust L. Heterologous expression of a cardiomyopathic myosin that is defective in its actin interaction. *J Biol Chem* 1994; 269: 1603-5.
28. Cuda G, Fananapazir L, Zhu WS, Seller JR, Epstein NE. Skeletal muscle expression and abnormal function of β -myosin in hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1993; 91: 2861-5.
29. Rayment I, Holden HM, Whittaker M, Yohn C, Lorenz M, Holmes KC, Milligan RA. Structure of the actin-myosin complex and its implication for muscle contraction. *Science* 1993; 261: 58-65.
30. Rayment I, Rypniewski WR, Schmidt-Bäse K, Smith R, Tomchick DR, Benning MM, Winkelmann DA, Wesenberg G, Holden HM. Three-dimensional structure of myosin subfragment-1: a molecular motor. *Science* 1993; 261: 50-6.
31. Rayment I, Holden HM, Sellers JR, Fananapazir L, Epstein ND. Structural interpretation of the mutations in the β -cardiac myosin that have been implicated in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3864-8.
32. Dufour C, Dausse E, Fétler L, Dubourg O, Bouhour JB, Vosberg HP, Guicheney P, Komajda M, Schwartz K. Identification of a mutation near a functional site of the β cardiac myosin heavy chain gene in a family with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 9: 1241-7.
33. Eldin P, Cathiard AM, Léger J, Anoul F, Pons F, Mornet D, Léger JJ. Probing functional regions in cardiac isomyosins with monoclonal antibodies. *Biochemistry* 1993; 32: 2542-7.

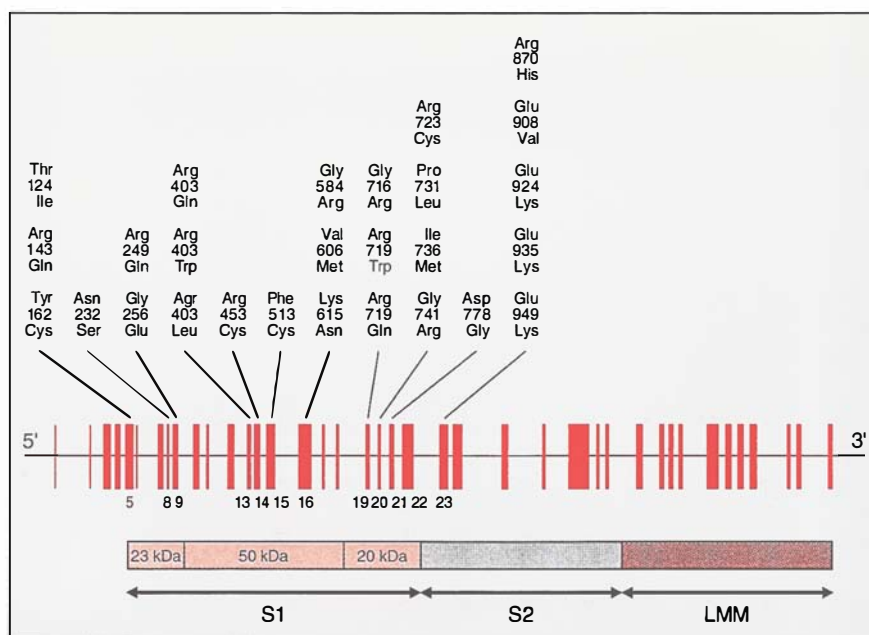


Figure 3. **Distribution des mutations ponctuelles dans les différents exons du gène codant pour la chaîne lourde β de la myosine.** La structure du gène (exons-introns) est schématisée ainsi que la position des exons dans lesquels se trouvent les mutations décrites. Les domaines protéiques sont représentés au bas de la figure. Les abréviations sont les suivantes: S1, sous-fragment 1, S2, sous-fragment 2, LMM, méromyosine légère.

dans une région préalablement identifiée au moyen d'un anticorps monoclonal comme un site modulateur de l'activité ATPasique [33]. Deuxièmement, le site de liaison de l'actine (Arg⁴⁰³ à Lys⁶¹⁵). Troisièmement, la région « charnière » séparant les domaines supérieur et inférieur du fragment S1 (Arg⁴⁵³). Quatrièmement, la région des cystéines « réactives » (Gly⁷¹⁶ à Gly⁷⁴¹) contenant le segment Ile⁷³² à Phe⁷³⁷. Ce segment montre une densité faible ou désordonnée dans la structure tridimensionnelle et contient une séquence consensus impliquée dans la liaison du nucléotide. De plus, la proximité des cystéines réactives, dont le pontage covalent conduit à un piégeage du nucléotide, suggère que cette région pourrait, elle aussi, être impliquée dans l'hydrolyse de l'ATP ou dans la libération du phosphate. Cinquièmement, le site d'interaction avec les chaînes légères (Asp⁷⁷⁸). Enfin, sixièmement, la jonction tête/bâtonnet ou fragment S2 (Arg⁸⁷⁰ à Glu⁹⁴⁹). Bien que le rôle de ce fragment n'ait pas été clairement défini, on pense qu'il

pourrait moduler l'activité contractile de la molécule de myosine. Finalement, une seule mutation a été mise en évidence dans la partie du gène correspondant au domaine LMM de la molécule, chez un seul patient [34]. S'il est clair, au vu des précédentes données, que les mutations peuvent toucher des sites fonctionnels importants de la molécule de myosine, on ne sait pas précisément quelles en sont les conséquences sur la myosine et l'activité contractile. Plusieurs mécanismes ont été proposés: (1) une instabilité des ARNm qui conduirait à un taux plus faible de myosine dans le myocarde. Cela n'est pas le cas, au moins pour certaines mutations, puisque les ARNm mutés sont présents dans le cœur et le muscle squelettique lent de patients non apparentés [28, 35-37]; (2) une instabilité de la protéine mutée elle-même. Cette hypothèse a également été rejetée, au moins dans le cas de la mutation Arg⁴⁰³→Gln, puisque la protéine mutée est présente dans le cœur et le muscle lent [28, 38]. De plus, l'organisation myofibrillaire apparaît

Tableau II				
LOCALISATIONS PRÉSUMÉES DES MUTATIONS DANS LA STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE LA CHAÎNE LOURDE β DE LA MYOSINE				
Localisation dans la molécule	Acide aminé substitué	Changement de charge	Exon	Nucléotide substitué
Site de fixation de l'ATP	Thr ¹²⁴ →Ile	non	5	C→T
	Arg ¹⁴³ →Gln	oui	5	G→A
	Tyr ¹⁶² →Cys	non	5	A→G
	Asn ²³² →Ser	non	8	A→G
	Arg ²⁴⁹ →Gln	oui	9	G→A
	Gly ²⁵⁶ →Glu	oui	9	G→A
Site de fixation de l'actine	Arg ⁴⁰³ →Gln	oui	13	G→A
	Arg ⁴⁰³ →Leu	oui	13	G→T
	Arg ⁴⁰³ →Trp	oui	13	C→T
	Phe ⁵¹³ →Cys	non	15	T→G
	Gly ⁵⁸⁴ →Arg	oui	16	G→C
	Val ⁶⁰⁶ →Met	non	16	G→A
	Lys ⁶¹⁵ →Asn	oui	16	G→C
Région charnière	Arg ⁴⁵³ →Cys	oui	14	C→T
Région des cystéines réactives	Gly ⁷¹⁶ →Arg	oui	19	G→A
	Arg ⁷¹⁹ →Trp	oui	19	C→T
	Arg ⁷¹⁹ →Gln	oui	19	G→A
	Arg ⁷²³ →Cys	oui	20	C→T
	Pro ⁷³¹ →Leu	non	20	C→T
	Ile ⁷³⁶ →Met	non	20	T→G
	Gly ⁷⁴¹ →Arg	oui	20	G→C
	Gly ⁷⁴¹ →Arg	oui	20	G→A
Interaction avec les chaînes légères	Asp ⁷⁷⁸ →Gly	oui	21	A→G
Jonction tête/bâtonnet	Arg ⁸⁷⁰ →His	non	22	G→A
	Leu ⁹⁰⁸ →Val	non	23	C→G
	Glu ⁹²⁴ →Lys	oui	23	G→A
	Glu ⁹³⁰ →Lys	oui	23	G→A
	Glu ⁹³⁵ →Lys	oui	23	G→A
	Glu ⁹⁴⁹ →Lys	oui	23	G→A

Données tirées de [44].

normale chez un patient porteur de la mutation Arg⁴⁰³→Gln [38]. Par ailleurs, la stabilité de la protéine mutée ne semble pas être altérée dans des cellules non musculaires transfectées avec différentes constructions mutées; néanmoins, la capacité de former des filaments semble

être altérée dans plus d'un tiers des cellules transfectées [39]; (3) la myosine mutée pourrait avoir un effet dominant négatif sur la myosine normale. Plusieurs données appuient cette hypothèse: ce mécanisme est en accord avec le mode de transmission de la CMH [5], une même mutation

est associée à un phénotype plus grave à l'état homozygote qu'à l'état hétérozygote [40] et enfin la protéine mutée présente *in vitro* une diminution de la vitesse d'interaction avec l'actine qui est directement proportionnelle à la quantité de protéine mutée présente [27].

RÉFÉRENCES

34. Marian AJ, Yu QT, Mares A, Hill R, Roberts R, Perryman MB. Detection of a new mutation in the β -myosin heavy chain gene in an individual with hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1992; 90: 2156-65.
35. Perryman MG, Yu QY, Marian AJ, Mares A, Czernuszewicz G, Ifegwu J, Hill R, Roberts R. Expression of a missense mutation in myocardial tissue in hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1992; 90: 271-7.
36. Yu QT, Ifegwu J, Marian AJ, Mares A, Hill R, Perryman MB, Bachinski LL, Roberts R. Hypertrophic cardiomyopathy mutation is expressed in messenger RNA of skeletal as well as cardiac muscle. *Circulation* 1993; 87: 406-12.
37. Greve G, Bachinski L, Friedman DL, G C, Anan R, Towbin J, Seidman CE, Roberts R. Isolation of a *de novo* mutant myocardial β MHC protein in a pedigree with hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 2073-5.
38. Vybiral T, Roberts R, Epstein H. Accumulation and assembly of myosin in hypertrophic cardiomyopathy with the 403 Arg to Gln β -myosin heavy chain mutations. *Circ Res* 1992; 71: 1404-9.
39. Straceski AJ, Geisterfer-Lowrance A, Seidman CE, Seidman JG, Leinwand LA. Functional analysis of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 589-93.
40. Nishi H, Kimura A, Harada H, Adachi K, Koga Y, Sasazuki T, Toshima H. Possible gene dose effect of a mutant cardiac β -myosin heavy chain gene on the clinical expression of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200: 549-56.
41. Anan R, Greve G, Thierfelder L, Watkins H, McKenna WJ, Solomon S, Vecchio C, Shono H, Nakao S, Tanaka H, Mares A, Towbin JA, Spirito P, Roberts R, Seidman JG, Seidman CE. Prognostic implications of novel β myosin heavy chain gene mutations that cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1994; 93: 280-5.
42. Fananapazir L, Epstein ND. Genotype-phenotype correlations in hypertrophic cardiomyopathy: insights provided by comparisons of kindreds with distinct and identical β -myosin heavy chain mutations. *Circulation* 1994; 89: 22-32.
43. Elliott PM, Saumarez TC, McKenna WJ. Recent clinical advances in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart Failure* 1995; 11: 5-26.
44. Dufour C. *Hétérogénéité génétique de la cardiomyopathie hypertrophique*. Thèse de doctorat, université Paris VI, 1995.

Conséquences fonctionnelles des mutations dans les gènes codant pour l' α -tropomyosine et la troponine T cardiaque

La tropomyosine et la troponine sont des protéines du filament fin du sarcomère (figure 2). La tropomyosine assure une certaine rigidité au filament fin. La troponine est composée de trois sous-unités T, C, I. La troponine T possède un site de liaison à la tropomyosine et paraît être responsable du maintien de la formation du complexe. La troponine I empêche l'interaction actine-myosine. La troponine C présente dans le cœur trois sites de liaison du Ca^{2+} . La fixation des ions Ca^{2+} induit un changement de conformation du complexe troponine, nécessaire à l'interaction actine-myosine qui est à la base de la contraction. Comme pour la myosine, il existe plusieurs isoformes de tropomyosine et de troponine T qui ont une spécificité tissulaire et sont réglées au cours du développement. Les deux mutations décrites dans le gène codant pour l' α -TM entraînent un changement de charge de la molécule et sont situées dans une région impliquée dans la fixation de la TNT. En ce qui concerne le gène codant pour la TNT, cinq des sept mutations ponctuelles décrites entraînent un changement de charge de la molécule et l'ensemble des mutations affecte une région de la TNT impliquée dans la fixation à l' α -TM. La mutation dans le site d'épissage entraîne l'élimination d'un exon accompagnée d'un décalage du cadre de lecture. Il en résulte une interruption prématurée de la traduction altérant la partie C-terminale de la molécule de TNT. Si aucune étude fonctionnelle n'a été publiée à ce jour, on imagine bien cependant qu'un défaut dans des régions impliquées dans l'interaction entre les diverses protéines constitutives du filament fin puisse entraîner les mêmes désordres au niveau du sarcomère que ceux produits par les mutations dans le gène codant pour la myosine β . L'hypothèse pathogénique actuelle est donc, dans certains cas au moins, une altération de la cinétique de l'interaction entre les

filaments fins et épais du sarcomère qui entraîne une modification de la vitesse de la contraction cardiaque conduisant à une hypertrophie compensatrice du tissu cardiaque, analogue par certains aspects à celle produite par les surcharges de travail hémodynamique.

Mutations bénignes et mutations malignes ?

Nous avons vu qu'à l'hétérogénéité clinique de la CMH, se superpose une grande hétérogénéité allélique et non allélique, et l'analyse des relations entre phénotype et génotype a rapidement conduit à l'hypothèse selon laquelle, en fonction du type de gène ou de mutation, le profil évolutif de la maladie et le pronostic des individus atteints pouvaient être très différents. Il faut avouer cependant qu'aucun schéma clair n'émerge encore. Il a été proposé que le pronostic des individus atteints, mais non le degré d'hypertrophie, était directement lié au type de mutation : les mutations dans le gène codant pour la myosine entraînant un changement de charge ($\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Gln}$, $\text{Arg}^{453} \rightarrow \text{Cys}$, $\text{Arg}^{719} \rightarrow \text{Trp}$) seraient associées à un mauvais pronostic, alors que celles qui ne s'accompagnent pas de modification de charge ($\text{Phe}^{513} \rightarrow \text{Cys}$, $\text{Val}^{606} \rightarrow \text{Met}$, $\text{Leu}^{906} \rightarrow \text{Val}$) seraient plus bénignes [41]. L'hypothèse était attrayante mais fut infirmée, car la mutation $\text{Gly}^{256} \rightarrow \text{Glu}$ avec changement de charge paraît bénigne, alors que, dans une autre famille, la mutation $\text{Val}^{606} \rightarrow \text{Met}$ sans changement de charge est de pronostic beaucoup plus sévère [42]. En ce qui concerne le codon 403, il est clair que la présentation clinique et le pronostic des individus atteints varient avec la mutation en cause $\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Gln}$, $\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Trp}$ ou $\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Leu}$, bien que ces trois mutations induisent des changements de charge dans la molécule [10]. Seules les mutations $\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Gln}$ et $\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Trp}$ sont associées à une fréquence élevée de mort subite. Finalement, de nombreuses mutations sont associées à une faible pénétrance. Par exemple, dans les familles porteuses des mutations $\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Trp}$, $\text{Arg}^{403} \rightarrow \text{Leu}$, $\text{Asn}^{232} \rightarrow \text{Ser}$, nous avons trouvé 28 individus porteurs d'une mutation mais cliniquement sains [10, 32]. L'ensemble de ces données souligne le rôle non né-

gligeable d'autres facteurs génétiques et/ou liés à l'environnement qui pourraient moduler l'expression phénotypique de la CMH et le pronostic des individus atteints, tant au sein d'une même famille que dans des familles différentes.

Conclusion

C'est le développement des outils de la génétique ces dernières années qui a permis de commencer à comprendre les bases moléculaires de la CMH. Les gènes identifiés codent pour des protéines contractiles cardiaques, ce qui suggère fortement que certaines formes de CMH seraient des maladies du sarcomère. D'autres gènes non encore identifiés existent qui pourraient coder pour un autre composant du filament fin ou épais ou pour une protéine intervenant dans la régulation du cycle contraction-relaxation. Il est clair que des efforts importants sont maintenant nécessaires pour identifier ces autres gènes et pour analyser les conséquences fonctionnelles de toutes les mutations décrites avant de proposer une hypothèse simple et générale pour la pathogenèse de la CMH. A partir des études fonctionnelles *in vitro* et/ou *in vivo* et au travers des analyses structurales par cristallographie, on peut prévoir que ces études auront des retombées majeures dans la compréhension de la fonction du sarcomère normal et donc de la régulation de la fonction contractile du myocarde ■

Summary

Familial hypertrophic cardiomyopathy : a disease of the cardiac sarcomere ?

Familial hypertrophic cardiomyopathy is phenotypically and genetically heterogeneous. The first *locus* for familial hypertrophic cardiomyopathy (*CMH1*) was identified on chromosome 14. Since then four other *loci* have been reported (*CMH2* on chromosome 1, *CMH3* on chromosome 15, *CMH4* on chromosome 11, and very recently on chromosome 7 in a family presenting both Wolff-Parkinson-White syndrome and familial hypertrophic cardiomyopathy); at least there is yet another *locus*. Three genes have been identified among these *loci*, and it was a surprise to find that they encode sarcomeric proteins, β myosin heavy chain, cardiac troponin T and α -tropomyosin. For these three genes, there is also a large allelic heterogeneity. Identification of gene mutations are not sufficient to prove that they are the cause of the disease, but some clues were recently provided by different approaches determining the functional impact of the mutation, at least for the β myosin heavy chain gene. Important issues for the future are to find what are the other disease gene(s) that cause familial hypertrophic cardiomyopathy and to determine whether the genotype heterogeneity of this disease accounts for its phenotypic diversity.