

Génétique des cardiomyopathies hypertrophiques

Gisèle Bonne
Lucie Carrier
Pascale Richard
Bernard Hainque
Frédérique Tesson
Michel Komajda
Ketty Schwartz

La cardiomyopathie hypertrophique est une maladie cardiaque de révélation tardive, caractérisée par une hypertrophie de la paroi ventriculaire. Sa gravité est liée au risque de mort subite et à l'accroissement de la rigidité ventriculaire pouvant entraîner une insuffisance cardiaque par altération de la fonction diastolique du cœur. Des mutations dans les gènes codant pour des protéines sarcomériques en sont la cause principale, mais les mécanismes moléculaires conduisant aux cardiomyopathies hypertrophiques ne sont pas encore complètement élucidés. La très grande hétérogénéité génétique de la maladie nécessite de développer de nouvelles stratégies diagnostiques et de poursuivre la caractérisation des mutations et des phénotypes associés.

ADRESSES

G. Bonne: chargée de recherche à l'Inserm. L. Carrier: chargée de recherche au Cnrs. Inserm U. 153 et IFR de physiologie et génétique cardiovasculaire. P. Richard: praticien hospitalier. B. Hainque: maître de conférence des universités, praticien hospitalier. Service de biochimie B et IFR de physiologie et génétique cardiovasculaire. F. Tesson: chargée de recherche-Association Claude Bernard. M. Komajda: professeur des universités, praticien hospitalier. Laboratoire de génétique et insuffisance cardiaque, Association Claude Bernard et Université Paris 6 et IFR de physiologie et génétique cardiovasculaire. K. Schwartz: directeur de recherche au Cnrs, directeur de l'U. 153 Inserm. Inserm U. 153 et IFR de physiologie et génétique cardiovasculaire, Institut de myologie, Bâtiment Babinski, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France.

Des observations d'atteintes myocardiques qui peuvent être raisonnablement interprétées comme des cardiomyopathies hypertrophiques ont été effectuées à l'hôpital de la Salpêtrière à Paris au milieu du siècle dernier par Vulpian [1] qui leur donna le nom de « rétrécissements cardiaques sous-aortiques ». Ce n'est qu'un siècle plus tard que les caractéristiques cliniques de la cardiomyopathie hypertrophique furent systématiquement décrits. C'est une maladie cardiaque de révélation tardive, caractérisée par

une hypertrophie de la paroi ventriculaire, en l'absence de toute autre cause qui pourrait provoquer cet épaississement [2]. Elle peut revêtir plusieurs aspects cliniques et anatomiques. L'hypertrophie est en général asymétrique, touchant préférentiellement le septum interventriculaire, et plusieurs types morphologiques ont été décrits, même au sein d'une même famille. La cardiomyopathie hypertrophique présente un tableau clinique très divers: syncopes, vertiges, douleurs thoraciques, dyspnées, arythmies. La cardiomyopathie hypertrophique est donc

hétérogène cliniquement et non seulement entre des sujets appartenant à des familles distinctes mais également entre les membres d'une même famille. Sa gravité est liée au risque de mort subite et à l'accroissement de la rigidité ventriculaire résultant elle-même de l'hypertrophie et de la fibrose, qui peut entraîner une insuffisance cardiaque par altération de la fonction diastolique du cœur. D'un point de vue histologique, les cellules musculaires cardiaques sont hypertrophiées et désorganisées (*myocardial disarray*), les jonctions intercellulaires sont anormales et des foyers d'accumulation mitochondriale sont également observés. La cardiomyopathie hypertrophique était généralement considérée comme relativement peu fréquente. Cependant, il y a trois ans, dans une large cohorte de jeunes adultes apparemment sains, une prévalence de 0,2 % a été trouvée par échocardiographie [3]. Les formes familiales de transmission autosomique dominante prédominent et la première grande famille a été décrite en 1960 [4]. Aucune des hypothèses pathogéniques n'avait

supposé que des défauts dans des gènes codant pour des protéines sarcomériques pouvaient être à l'origine de cette affection. Les résultats de génétique moléculaire ont cependant montré que toutes les mutations trouvées à ce jour concernent des protéines sarcomériques (*Tableau I*), trois protéines contractiles, la chaîne lourde β de la myosine (β -MyHC pour *β -myosin heavy chain*), la chaîne légère essentielle ventriculaire 1 de la myosine (MLC-1s/v pour *myosin light chain-1 slow/ventricular*) et la chaîne légère régulatrice ventriculaire 2 de la myosine (MLC-2s/v pour *myosin light chain-2 slow/ventricular*) ; trois protéines associées, la troponine T cardiaque (cTnT pour *cardiac troponin T*), la troponine I cardiaque (cTnI pour *cardiac troponin I*) et l' α -tropomyosine (α -TM) ; et finalement une protéine liée à la myosine, la protéine C cardiaque (cMyBP-C pour *cardiac myosin-binding protein C*). Ces gènes ne représentent pas l'éventail complet des gènes morbides étant donné qu'un locus supplémentaire a été décrit [5].

Organisation et mutations des gènes impliqués dans la cardiomyopathie hypertrophique familiale

Tous les gènes morbides codent pour des constituants du sarcomère qui est une structure complexe avec un équilibre stœchiométrique précis et de multiples sites d'interactions protéines-protéines. La myosine est le moteur moléculaire qui transduit l'énergie en mouvement à partir de l'hydrolyse de l'ATP et qui produit ainsi le raccourcissement du sarcomère et la contraction musculaire. La myosine cardiaque est une myosine conventionnelle de classe II, composée de deux chaînes lourdes (MyHC) et de deux paires de chaînes légères, appelées chaînes légères essentielles (ou alcalines) (MLC-1) et régulatrices (ou phosphorylables) (MLC-2) (pour revue, voir [6]). La molécule de myosine est très asymétrique, composée de deux têtes globulaires reliées par une partie appelée cou (*hinge*) à une longue queue en bâtonnet. Les chaînes légères sont situées à

Tableau I			
GÈNES MORBIDES DANS LA CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE			
Gène	Locus	Protéine	Expression dans le muscle strié adulte
MYH7	14q11.2-q12	chaîne lourde β de la myosine (β -MyHC)	muscle cardiaque et muscle squelettique lent
MYL3	3p21.2-3p21.3	chaîne légère essentielle ventriculaire de la myosine (MLC-1s/v)	muscle cardiaque et muscle squelettique lent
MYL2	12q23-q24.3	chaîne légère régulatrice ventriculaire de la myosine (MLC-2s/v)	muscle cardiaque et muscle squelettique lent
TNNT2	1q3	troponine T cardiaque (cTnT)	muscle cardiaque
TNNI3	19p13.2-q13.2	troponine I cardiaque (cTnI)	muscle cardiaque
TPM1	15q22	α -tropomyosine (α -TM)	muscle cardiaque et muscle squelettique rapide
MYBPC3	11p11.2	protéine C cardiaque (cMyBP-C)	muscle cardiaque
?	7q3	?	?

proximité du domaine moteur des chaînes lourdes. Aucun des types de chaînes légères n'est nécessaire à l'activité d'hydrolyse de l'ATP des têtes de myosine, mais elles modulent probablement cette activité en présence d'actine et contribuent à la rigidité de la partie cou dont on pense qu'elle fonctionne comme un bras de levier pour produire du travail. Des mutations ont été trouvées dans les chaînes lourdes et dans les deux types de chaînes légères.

Le complexe troponine et la tropomyosine constituent l'interrupteur sensible au calcium qui déclenche la contraction des fibres musculaires cardiaques: la troponine C, sous-unité qui lie le calcium (cTnC), la troponine I, sous-unité inhibitrice (cTnI), et la troponine T, sous-unité qui lie la tropomyosine (cTnT). Quant à la protéine C cardiaque (cMyBP-C), sa fonction est mal connue, mais depuis une décennie, des résultats indiquent des rôles à la fois structuraux et régulateurs. L'extraction partielle de cMyBP-C de fibres pelées de cardiomyocytes de rat et de fibres musculaires squelettiques de lapin modifie la tension sensible au calcium [7] et la phosphorylation de cMyBP-C modifie la structure des ponts de filaments épais natifs, suggérant que cMyBP-C peut modifier la production de force dans le muscle cardiaque activé [8].

La myosine et cMyBP-C sont situées au niveau de la bande A des filaments épais du sarcomère, cMyBP-C constituant des bandes transverses espacées de 43 nm (figure 1). Les troponines et la tropomyosine sont situées au niveau des filaments fins. Chacune de ces protéines fait partie de familles multigéniques qui ont des profils d'expression spécifique de tissu réglés au cours du développement et dans diverses situations physiologiques et pathologiques.

L'organisation des gènes humains et la séquence de toutes les limites introns-exons sont connues pour *MYH7*, *MYL3*, *MYL2*, *TNNT2* et *MYBPC3* qui codent respectivement pour β -MyHC, MLC-1s/v, MLC-2s/v, cTnT, cTnI et cMyBP-C. Pour tous ces gènes, la recherche de mutations peut donc être faite sur l'ADN génomique des patients. Quant à *TPM1*, qui code pour α -TM, son organisation est connue seulement chez le rat.

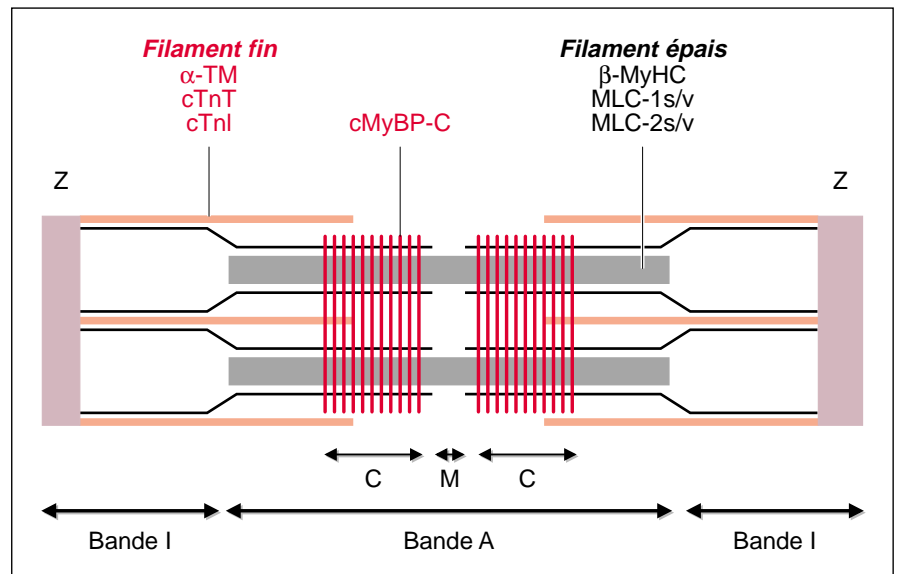


Figure 1. Organisation schématique des protéines sarcomériques impliquées dans les cardiomyopathies hypertrophiques. Les gènes morbides codent pour des protéines contractiles du filament épais (en gris), des protéines associées du filament fin (en rose) et une protéine se liant à la myosine (en rouge). Les stries Z et les filaments de titine sont présentés respectivement en bistre et en noir. β -MyHC: chaîne lourde β de la myosine, MLC-2s/v: chaîne légère régulatrice ventriculaire de la myosine, MLC-1s/v: chaîne légère essentielle ventriculaire de la myosine, cTnI: troponine I cardiaque, cTnT: troponine T cardiaque, α -TM: α -tropomyosine, cMyBP-C: protéine C cardiaque. C et M correspondent respectivement aux zones C et M de la bande A du sarcomère.

MYH7 humain

La chaîne lourde β de la myosine (β -MyHC) est l'isoforme majoritaire du ventricule humain et des fibres squelettiques lentes (pour revue, voir [6]). β -MyHC est aussi exprimée dans l'oreillette humaine. L'autre isoforme du tissu cardiaque est α -MyHC, qui est l'isoforme prédominante des oreillettes humaines, et l'isoforme quasi exclusive des oreillettes et des ventricules de cœurs de souris et de rat. α -MyHC est codée par le gène *MYH6*. *MYH6* et *MYH7* sont organisés en tandem sur le chromosome 14q11.2-q13. Le gène *MYH7*, d'environ 23 kb, est composé de 40 exons qui codent pour une protéine de 1935 acides aminés (figure 2). La partie amino-terminale constitue la partie globulaire qui contient les sites de liaison de l'ATP et de l'actine. La partie centrale constitue le cou, et la partie carboxy-terminale le bâtonnet qui a une structure caractéristique en hélice α avec des motifs répétés de 7 et 28 résidus.

MYH7 contient deux répétitions polymorphiques de dinucléotides

(ou microsatellites), l'un dans la région promotrice et l'autre dans le 24^e intron, et que nous avons appelés respectivement MYO I et MYO II [9]. Au moins cinquante mutations ont été identifiées dans *MYH7* (figure 2), et notamment trois points chauds de mutations, les codons 403 [10], 719 [11] et 741 [12]. Toutes les mutations, à l'exception de trois, sont des mutations faux-sens situées, soit dans la partie tête, soit dans la jonction tête-queue de la molécule. Les trois exceptions sont deux délétions de 3 pb qui ne décalent pas le cadre de lecture, l'une du codon 10 [13] et l'autre du codon 930 [14], et une délétion de 2,4kb dans la région 3' [15]. Vingt-neuf mutations ont été précisément positionnées sur la structure tridimensionnelle de la tête de la myosine de muscle squelettique de poulet, dont on pense qu'elle est très similaire à celle de la myosine humaine. Vingt-quatre de ces mutations sont localisées dans quatre régions distinctes: l'interface avec l'actine, autour du site de liaison de l'ATP, autour de deux cystéines dites

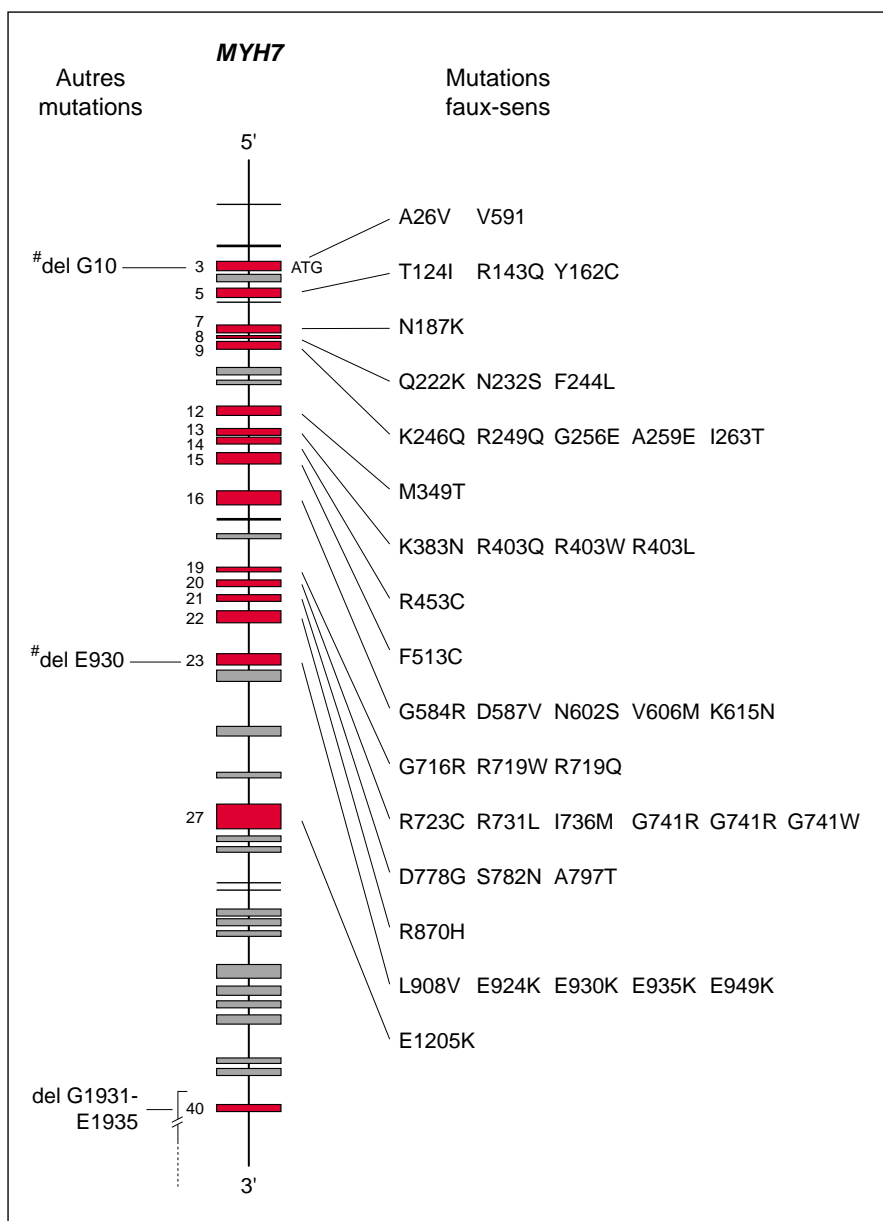


Figure 2. **Mutations dans le gène MYH7 codant pour la chaîne lourde β de la myosine.** Les exons contenant des mutations sont numérotés et présentés en rouge. # désigne les mutations sans décalage de cadre de lecture (délétion d'un codon).

réactives, et à l'interface de la chaîne légère essentielle. Les cinq autres mutations sont situées sur la partie queue [16].

MYL3 humain

La chaîne légère ventriculaire de la myosine MLC-1s/v (dite essentielle parce que son élimination par un traitement alcalin résulte en une perte de l'activité ATPasique de la myosine) est exprimée dans le myo-

carde ventriculaire et dans les fibres squelettiques lentes. Elle appartient à la super-famille des protéines *EF-hand*, qui inclut la calmoduline et la troponine C (pour revue, voir [17]). Elle contient donc quatre motifs structuraux de type hélice-boucle-hélice qui indiquent l'existence de quatre sites supposés de liaison au calcium. Dans le muscle squelettique de poulet, l'extraction de la chaîne légère essentielle ralentit la vitesse de déplacement, mesu-

rée dans un test de motilité *in vitro* [18], de l'actine sur la myosine, et diminue de 50 % la tension isométrique [19]. Il n'y a que très peu de données concernant le muscle cardiaque. Des résultats récents montrent que des peptides synthétiques correspondant à la partie amino-terminale augmentent l'activité ATPasique de fibres cardiaques intactes ou pelées de cœur de rat [20]. Tout cela suggère que MLC-1s/v pourrait jouer un rôle inotrope.

MYL3 est localisé sur le chromosome 3p21.2-p21.3. Il est composé de sept exons et code pour une protéine de 195 acides aminés (figure 3). Deux mutations faux-sens ont été trouvées dans l'exon 4 par Poetter *et al.* [21], l'une chez tous les individus atteints d'une même famille, l'autre chez un patient non apparenté. La moitié des patients (sept sur quatorze) présentaient un phénotype rare avec un épaississement à mi-paroi de la cavité ventriculaire gauche.

MYL2 humain

La chaîne légère de la myosine MLC-2s/v [dite régulatrice parce que son élimination par l'EDTA (acide éthylène diamino-tétra-acétique) résulte en une perte de la sensibilité au calcium de l'activité ATPasique de la myosine] est exprimée à la fois dans le myocarde ventriculaire et dans les fibres squelettiques lentes. Comme la chaîne légère essentielle, elle appartient à la super-famille des protéines *EF-hand*. La phosphorylation de MLC-2 par une kinase spécifique est essentielle à l'interaction actine-myosine dans le muscle lisse, mais n'a qu'un rôle modulateur dans le muscle strié [22]. Son extraction diminue significativement la vitesse de déplacement de l'actine sur la myosine [18]. Cependant, contrairement à MLC-1, son extraction n'a que peu d'effets sur la tension isométrique [19]. Des expériences récentes de transgénèse au cours desquelles MLC-2s/v a été remplacée dans le cœur de souris par l'isoforme squelettique ont conduit à une diminution à la fois de la contraction et de la relaxation cardiaque, sans modification de la vitesse de raccourcissement à charge nulle de cardiomyocytes isolés [23].

MYL2 est localisé sur le chromosome 12q23-q24.3 et nous avons récem-

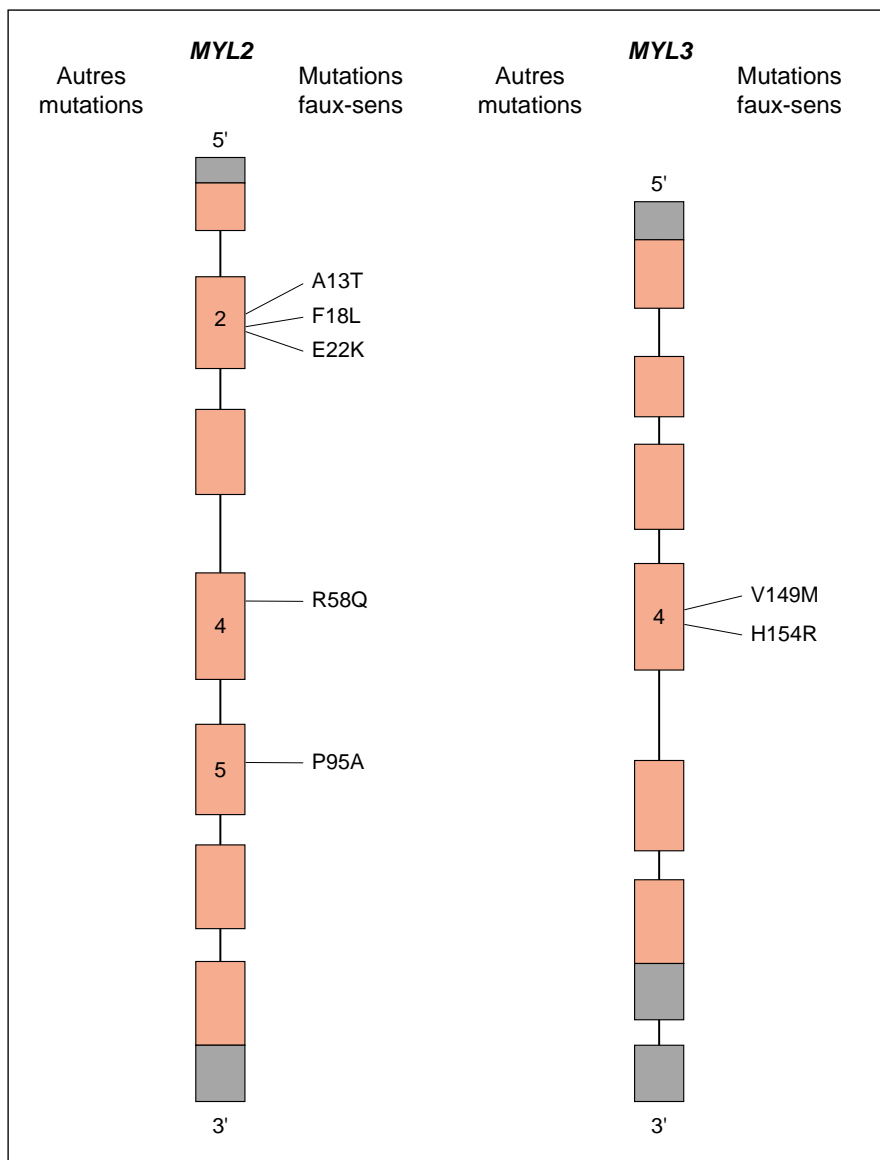


Figure 3. **Mutations dans les gènes MYL2 et MYL3 codant pour les chaînes légères régulatrice et essentielle de la myosine.** Les exons contenant des mutations sont numérotés. Les rectangles gris représentent les régions non codantes des exons.

ment déterminé sa localisation fine sur la carte génétique dans un intervalle de six centimorgans contenant six microsatellites informatifs [24]. *MYL2* a une taille d'environ 12 kb ; il est composé de sept exons et code pour une protéine de 166 acides aminés (figure 3). Cinq mutations ont été décrites [21, 24] : deux d'entre elles (E22K, A13T) sont associées au même phénotype rare d'épaississement à mi-paroi de la cavité ventriculaire gauche produit par les mutations de *MYL3* (voir ci-dessus), alors que les mutations F18L et R58Q sont

associées à des formes familiales classiques de cardiomyopathie hypertrophique [24].

TNNT2 humain

De nombreuses isoformes de cTnT ont été décrites dans le cœur humain. Elles sont dues à l'épissage alternatif d'un gène unique, *TNNT2*, et sont exprimées différemment dans le cœur fœtal, adulte et pathologique [6]. Leurs fonctions spécifiques ne sont pas connues. *TNNT2* est localisé chez l'homme sur le chro-

mosome 1q32. L'organisation et la séquence du gène de rat ont été déterminées par Jin *et al.* en 1992 [25], et les premières mutations décrites dans la cardiomyopathie hypertrophique ont été numérotées selon ce gène [26]. Nous avons établi l'organisation partielle du gène humain, et cela permet de positionner correctement toutes les mutations en tenant compte de la structure complète du gène humain et, en particulier, en incluant les exons épissés alternativement au cours du développement [27].

TNNT2 est composé de dix-sept exons répartis sur 17 kb. L'isoforme cardiaque partage les caractéristiques structurales des autres isoformes de troponine. C'est une molécule asymétrique d'approximativement 37 kDa dont la partie amino-terminale s'étend sur une grande longueur le long du filament de tropomyosine en recouvrant les jonctions tête-queue des molécules de tropomyosine (pour revue, voir [28]). cTnT contient plusieurs sites de phosphorylation et deux sites de liaison à la tropomyosine, l'un entre les exons 9 et 12, et l'autre dans la partie carboxy-terminale. La phosphorylation de cTnT inhibe l'activité ATPasique de filaments fins reconstitués, indiquant que cette protéine joue un rôle déterminant dans la régulation de la cinétique des ponts d'acto-myosine (pour revue, voir [29]).

Onze mutations ont été décrites, dont trois dans le codon 102 qui est un point chaud de mutations [26, 27, 30] (figure 4). Neuf de ces mutations sont des mutations faux-sens localisées entre les exons 9 et 17 [26, 27, 30-32], l'une d'elles est une délétion d'un codon situé dans l'exon 12 [31], et la dernière est localisée dans le site donneur d'épissage de l'intron 16 et produit probablement une protéine tronquée des sites de liaison situés dans la partie carboxy-terminale [26].

TNNI3 humain

L'isoforme cTnI est exprimée uniquement dans le muscle cardiaque. *TNNI3*, localisé sur le chromosome 19p13.2-q13.2, a une taille de 6,2 kb (figure 4). Ses huit exons codent pour un polypeptide de 210 acides aminés qui est très semblable aux isoformes

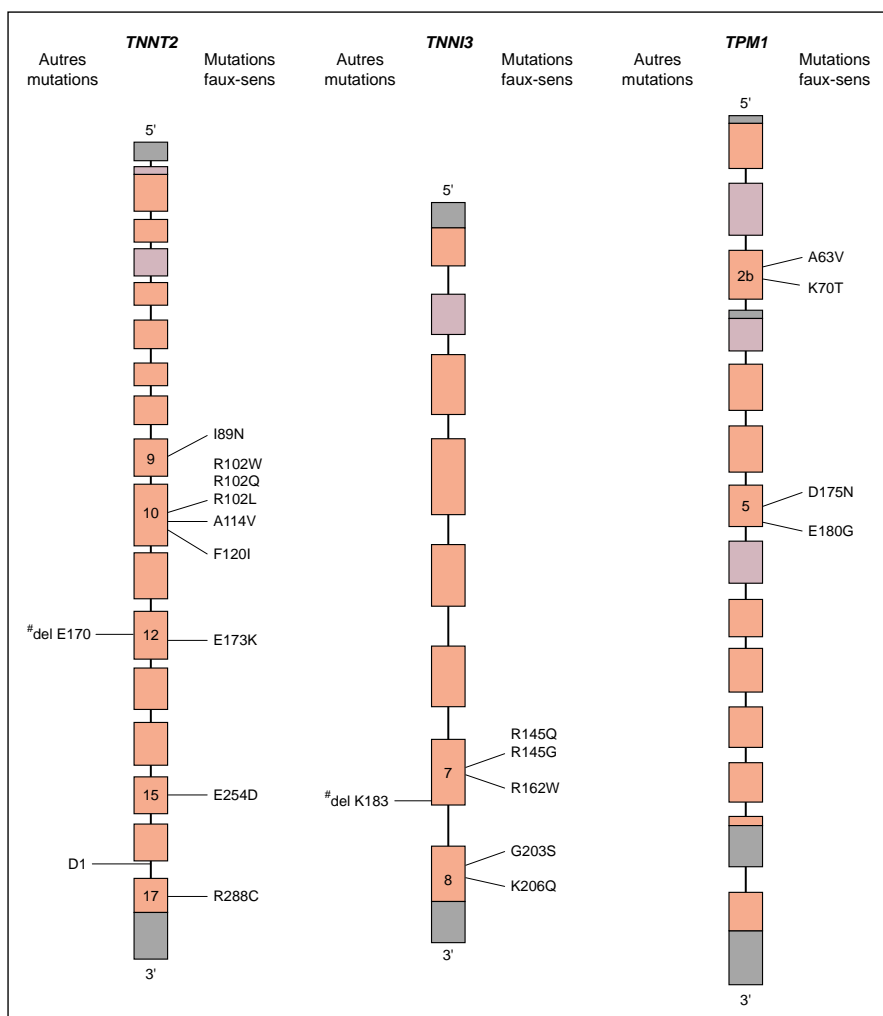


Figure 4. **Mutations dans les gènes *TNNT2*, *TNNI3*, et *TPM1* codant respectivement pour la troponine T cardiaque, la troponine I cardiaque et l' α -tropomyosine.** Les exons contenant des mutations sont numérotés. Les rectangles gris représentent les régions non codantes des exons, en bistré sont indiqués les exons alternatifs. # désigne les mutations sans décalage de cadre de lecture (déletion d'un codon). D1: mutation dans un site donneur d'épissage en position 1.

squelettiques lentes et rapides dans sa partie carboxy-terminale. La liaison coopérative de cTnI à l'actine-tropomyosine est une caractéristique de l'isoforme cardiaque. cTnI contient plusieurs sites actifs : (1) deux sites dont la phosphorylation altère la sensibilité au calcium et la liaison coopérative avec l'actine ; (2) une région proche de la partie amino-terminale qui se lie à la partie carboxy-terminale de la troponine C cardiaque et qui contient aussi deux sites dont la phosphorylation diminue l'activité ATPasique myofibrillaire ; (3) une région dite inhibitrice qui se lie à l'actine et à la troponine

C cardiaque et qui favorise la relaxation cardiaque en inhibant l'interaction actomyosine ; et enfin (4) la partie carboxy-terminale qui est importante pour la sensibilité au calcium des myofilaments [29]. Six mutations ont été récemment identifiées dans *TNNI3* (figure 4). Cinq sont des mutations faux-sens localisées dans les exons 7 et 8, et une est une déletion d'un codon [33].

TPM1 humain

TPM1 code pour plusieurs isoformes engendrées par épissage alternatif (pour revue, voir [34]). L'isoforme

cardiaque est exprimée à la fois dans le myocarde ventriculaire et dans les fibres squelettiques rapides. Elle a la même structure que les autres tropomyosines : ce sont des protéines allongées en forme de bâtonnets qui ont une structure simple dimérique en double hélice, et qui sont orientées de façon parallèle. La structure en double hélice est due à une répétition de sept acides aminés, avec des résidus hydrophobes en 1^{re} et 4^e positions. Ces dimères ont des jonctions tête-queue, ils sont disposés dans le sillon des filaments d'actine et recouvrent sept monomères d'actine.

La localisation chromosomique de *TPM1* est connue chez l'homme (15q22) et non chez le rat, mais son organisation a été déterminée chez le rat et non chez l'homme (pour revue, voir [34]). *TPM1* est composé de quatorze exons, et les exons 1a, 2b, 3, 4, 5, 6b, 7, 8, 9a et 9b sont exprimés dans le tissu cardiaque (figure 4). Ils codent pour un polypeptide de 284 acides aminés qui contient deux sites supposés de liaison à la TnT, l'un près de la cystéine 190, et l'autre le long de l'extension carboxy-terminale de la molécule.

Quatre mutations ont été décrites. Deux mutations sont situées dans l'exon 2b au niveau de la séquence consensus de répétition de l' α -TM et pourraient altérer la liaison d' α -TM à l'actine [35, 36]. Les autres mutations sont localisées au niveau de l'exon 5, près de la cystéine 190 et du site de liaison de TnT sensible au calcium [26, 35].

MYBPC3 humain

MYBPC3 a été localisé par hybridation *in situ* sur le chromosome 11p11.2, et nous avons déterminé sa position précise entre les locus D11S4133 et D11S1326 en utilisant des hybrides d'irradiation [37, 38]. Nous avons également déterminé récemment son organisation et sa séquence [39] (figure 5). *MYBPC3* a une taille minimale de 21 kb et est composé de trente-cinq exons. Deux exons ont une très petite taille, inhabituelle, de 3 pb. L'ARNm code pour un polypeptide de 1173 résidus qui possède l'architecture globulaire caractéristique de la super-famille des immunoglobulines intracellulaires et qui contient sept modules de type

immunoglobuline (IgI) et trois domaines de type fibronectine (fn-3) [38]. Trois régions sont spécifiques de l'isoforme cardiaque: le domaine amino-terminal C0 qui est formé de 101 résidus, le motif MyBP-C qui est constitué de 105 résidus reliant les domaines C1 et C2, et une boucle de 28 résidus insérée dans le domaine C5. Le motif MyBP-C n'est pas spécifique de l'isoforme cardiaque, mais il contient une boucle de 9 résidus qui, elle, est spécifique de l'isoforme cardiaque et contient des sites phosphorylables par la protéine-kinase A et une protéine-kinase dépendante de la calmoduline associée à la protéine native [38]. Le principal site de liaison à la myosine se trouve dans le domaine C10 carboxy-terminal, et est restreint aux 102 derniers acides aminés. Le site de liaison à la titine est aussi localisé dans la partie carboxy-terminale, entre les domaines C8 et C10 [40]. Des travaux récents de notre équipe et d'un autre groupe ont montré qu'au cours du développement humain et murin cMyBP-C est exprimée uniquement dans le cœur [41, 42].

Quatorze mutations ont été décrites (figure 5). Neuf d'entre elles produisent des transcrits aberrants dont on peut prédire qu'ils codent pour des protéines tronquées de la partie carboxy-terminale et qui ont perdu au minimum le site de fixation à la myosine [33, 37, 39, 43, 44]. Trois autres mutations produisent des protéines mutées sans décalage du cadre de lecture: une mutation faux-sens dans l'exon 23 [45], une mutation du site donneur d'épissage dans l'intron 27 [33] et une duplication de 18 résidus dans l'exon 33 [43]. Enfin, deux mutations peuvent donner lieu soit à une protéine mutée, soit à une protéine tronquée: l'une est une mutation faux-sens dans l'exon 17, l'autre une mutation du point de branchement dans l'intron 23 [39].

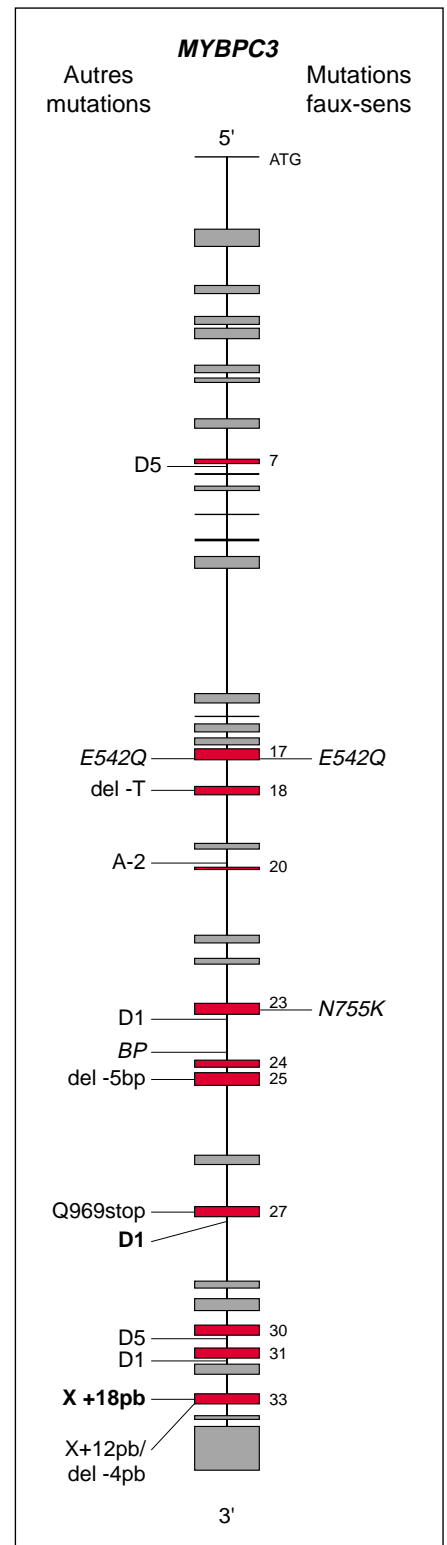
Quels sont les mécanismes moléculaires par lesquels les mutations produisent la cardiomyopathie hypertrophique ?

Quel que soit le mécanisme moléculaire impliqué dans la cardiomyopathie hypertrophique, il doit être en

Figure 5. Mutations dans le gène MYBPC3 codant pour la protéine C cardiaque. Les exons contenant des mutations sont numérotés et présentés en rouge. Neuf mutations produisent potentiellement une protéine tronquée (intron 7 del 5, exon 18 del, intron 19A-2, intron 23 D1, exon 25 D, exon 27 Q969stop, intron 30 D5, intron 31 D1, exon 33 X/del), trois mutations aboutissent à des protéines mutées ou délétées (en gras)(exon 23 N755K, intron 27 D1, exon 33 X), et deux mutations produisent potentiellement deux ARNm différents conduisant soit à une protéine tronquée, soit à une protéine mutée (en italiques) (exon 17 E542Q, intron 23 BP). D1 ou D5: mutations dans un site donneur d'épissage en position 1 ou 5; A-2: mutation dans un site accepteur d'épissage en position -2; del: délétion; BP: mutation dans un point de branchement; X: duplication.

accord avec le mode de transmission autosomique dominant de la pathologie. La plupart des mutations trouvées dans les gènes *MYH7*, *MYL3*, *MYL2*, *TPM1*, *TNNT2* et *TNNI3* sont des mutations faux-sens ou des petites délétions qui ne produisent pas de décalage du cadre de lecture et dont on peut prévoir qu'elles conduisent à la production de protéines mutées, alors que la plupart de celles trouvées dans le gène *MYBPC3* sont des mutations de sites consensus d'épissage, des délétions, des insertions ou des mutations non-sens dont on peut prédire qu'elles conduisent à la production de protéines tronquées.

Les protéines mutées sont probablement présentes dans le tissu et agiraient de façon dominante négative en tant que polypeptides poisons, c'est-à-dire qu'elles seraient incorporées dans le sarcomère et altéreraient la fonction de la protéine sauvage et/ou l'assemblage normal des filaments du sarcomère. La séparation de la protéine mutée de la protéine sauvage n'a pas été possible jusqu'à maintenant du fait de la nature discrète des mutations et de l'accès limité à des échantillons cardiaques. L'incorporation de la protéine mutée *in vivo* a cependant été démontrée pour deux mutations dans des extraits de muscles squelettiques de patients: la mutation R403Q du gène *MYH7* qui produit la perte d'un site de cli-



vage à une endoprotéinase spécifique de l'arginine [46] et la mutation D175N du gène *TPM1* qui induit une bande de migration électrophorétique spécifique [47]. Toute une série

de résultats obtenus *in vitro* confirment cette hypothèse de polypeptides poisons (voir plus bas).

La situation est plus complexe dans le cas des protéines tronquées. Les mutations pourraient agir comme des allèles nuls conduisant à une haplo-insuffisance : la production de quantités insuffisantes d'une protéine sarcomérique normale altérerait la stoechiométrie des composants du filament épais, et cela serait suffisant pour altérer la structure et la fonction du sarcomère. Deux études ont récemment tenté de démontrer cette hypothèse, l'une en faisant exprimer une cTnT humaine tronquée dans des myotubes de caille [48] et l'autre en caractérisant les transcrits et les protéines présents dans une biopsie endomyocardique d'un patient possédant une mutation dans un site donneur d'épissage de *MYBPC3* [44]. Aucun des résultats obtenus n'a confirmé l'hypothèse d'un mécanisme d'haplo-insuffisance. La mutation cTnT a semblé fonctionner comme un allèle dominant négatif, peut-être parce que la protéine tronquée contenait encore un des sites de fixation à la tropomyosine. Cependant, on ne sait pas si cette protéine tronquée est exprimée ou non dans le tissu cardiaque des patients concernés. Quant à la mutation de *MYBPC3*, les auteurs suggèrent qu'elle pourrait produire un ARNm dont la conformation interférerait avec celle de l'ARNm codant pour la titine, ce qui modifierait l'assemblage normal du complexe sarcomérique.

Quelles sont les conséquences fonctionnelles des mutations et comment cela conduit-il à la cardiomyopathie hypertrophique ?

Le fait que toutes les mutations produisent globalement le même phénotype suggère que leurs conséquences fonctionnelles sont très semblables. La difficulté d'obtention d'échantillons de tissu cardiaque de patients a conduit à la création de modèles animaux et au développement d'analyses *in vitro*.

Modèles murins

Deux modèles murins de cardiomyopathie hypertrophique ont été produits par l'introduction de la mutation R403Q du gène *MYH7* dans le gène murin *MYH6* (le ventricule de souris adulte contient uniquement α -MyHC et ne contient pas β -MyHC) [49, 50].

Dans le premier modèle, la mutation a été introduite par recombinaison homologue [49]. Les souris ceaux homozygotes meurent sept jours après la naissance. Les souris hétérozygotes qui possèdent donc un gène normal et un gène muté, survivent et présentent à cinq semaines une altération de la fonction cardiaque, caractérisée par des anomalies de la relaxation ventriculaire (diminution de la vitesse de décroissance de la pression intraventriculaire, allongement de la durée de la relaxation) et une réduction du débit cardiaque. Des altérations histologiques semblables à celles des patients apparaissent à quinze semaines, sans hypertrophie ventriculaire, mais avec une hypertrophie auriculaire, ce qui est différent des patients. Apparaissent également des troubles de la conduction cardiaque et des arythmies. Toutes ces altérations évoluent ensuite vers un phénotype plus prononcé chez les mâles que chez les femelles, mais toujours sans hypertrophie ventriculaire. L'effet de l'exercice physique a été testé en faisant nager cinq souris. Une de ces souris est morte subitement au cours de l'exercice ; elle présentait, à ce moment-là, une hypertrophie ventriculaire droite modérée et une hypertrophie marquée et asymétrique du ventricule gauche.

L'autre modèle a été obtenu par expression transgénique d'une α -MyHC portant la mutation R403Q et une délétion dans le site de liaison à l'actine [50]. Les souris transgéniques ont donc leurs deux allèles normaux plus le transgène. Le transgène est transcrit à un niveau représentant entre 26 % et 50 % du niveau du gène endogène, mais la protéine mutée ne représente que 1 % à 12 % de la myosine totale. En dépit de cette faible quantité de protéine, les souris présentent les caractéristiques

morphologiques et histologiques des patients, à savoir désorganisation des myocytes et des sarcomères et hypertrophie ventriculaire droite et gauche. L'évolution du phénotype avec l'âge montre des différences entre mâles et femelles, avec une évolution vers une hypertrophie ventriculaire sévère pour les femelles et une dilatation ventriculaire pour les mâles.

Ces deux modèles confirment l'hypothèse d'un effet dominant négatif de la mutation R403Q *MYH7*, puisque la protéine est synthétisée et stable. Ils montrent également que des modifications de *MYH6* produisent une altération de la fonction et de la structure du cœur, ce qui est en accord avec un certain nombre d'études *in vitro* (voir plus loin). On peut donc, à partir de ces deux modèles, proposer un schéma d'évolution de la maladie : l'incorporation d'un polypeptide poison altérerait d'abord la fonction du sarcomère, puis celle du cœur, puis secondairement la structure des sarcomères et des myocytes ; l'altération structurale contribuerait alors à augmenter le dysfonctionnement cardiaque ; la structure anormale et le dysfonctionnement cardiaque conduiraient alors tous deux à une hypertrophie compensatrice, la dernière des manifestations observées dans les deux modèles animaux. Ce que ces modèles montrent également c'est une pénétrance incomplète et des différences phénotypiques liées au sexe. Cela suggère l'implication d'autres facteurs, génétiques et/ou liés à l'environnement qui module raient l'expression phénotypique des gènes mutés.

Analyses *in vitro* des conséquences structurales et fonctionnelles des mutations

L'expression de mutations de β -MyHC et de cTnT dans des cultures primaires de cardiomyocytes ventriculaires de rats nouveau-nés ou dans des myotubes de cailles ne semble pas induire de modifications structurales significatives [48, 51, 52]. On peut supposer que la durée des expériences a été trop courte pour pouvoir observer un effet sur l'assemblage des sarcomères.

Un certain nombre d'études visant à analyser la fonction sarcomérique associée à diverses mutations ont, quant à elles, montré des altérations significatives se traduisant, soit par une hypocontractilité, soit par une hypercontractilité.

Neuf mutations de *MYH7*, T124I, Y162C, R249Q, G256E, R403Q, R453C, V606M, R870H et L908V diminuent la vitesse des filaments d'actine mesurée par le test de motilité *in vitro* [46, 53]. L'effet de deux mutations *MYH7*, G741R et R403Q a pu être étudié directement sur des fibres pelées produites à partir de biopsies de muscle squelettique de patients [54] : la vitesse maximale de raccourcissement et la tension isométrique sont diminuées. La force activée par le calcium est également diminuée dans des myotubes de caille transfectés avec un ADNc codant pour une cTnT tronquée de sa partie carboxy-terminale [48]. La mutation R102Q de *TNNT2*, diminue, après transfection, la vitesse de contraction de cardiomyocytes adultes de chat [51]. Enfin, des mutants de myosine II de *Dictostelium discoideum* équivalents à six mutations de cardiomyopathie hypertrophique, R403Q, F513C, G584R, G716R, R719Q et R719W ont été produits par mutagenèse dirigée [55]. La fonction de ces myosines mutées est altérée avec une diminution de la force, de l'affinité pour l'actine et de l'activité ATPasique, et plus cette altération est importante, plus le pronostic des patients est mauvais. Les auteurs ont donc émis l'hypothèse selon laquelle le niveau de force engendrée par la myosine mutée pourrait être un des facteurs-clés impliqués dans le pronostic des patients. L'ensemble de ces résultats suggère que certaines mutations produisent une altération de la fonction des sarcomères plutôt qu'une désorganisation de leur structure. Cela est en faveur d'une hypothèse pathogénique impliquant une hypocontractilité suivie d'une hypertrophie compensatrice.

Toutes les mutations n'induisent pas une diminution de la mobilité des filaments d'actine *in vitro*. Les myosines ventriculaires de patients ayant les mutations R719Q de *MYH7* et de M149V de *MYL3* pro-

duisent au contraire une accélération de la vitesse de migration [21]. La mutation R719Q de *MYH7* est localisée dans l'interface de β -MyHC avec MLC-1s/v, ce qui suggère que la localisation de la mutation sur la molécule pourrait être un des facteurs importants responsable du type d'altération fonctionnelle. Une cTnT de rat correspondant à la mutation I89N de *TNNT2* humain augmente de 50 % la vitesse des filaments fins sur une membrane recouverte de myosine [56]. Enfin, la mutation D175N de *TPM1* augmente elle aussi la vitesse des filaments d'actine [57]. D'autres résultats obtenus sur des fibres pelées ou à l'aide de protéines recombinantes mutées ne montrent pas de diminution de fonction : c'est le cas de la mutation D175N de *TPM1* qui induit une augmentation de la sensibilité au calcium des fibres [47]. L'ensemble de ces résultats montre donc que certaines mutations induisent un état hypercontractile, et suggère que cette altération de la contractilité cardiaque serait à l'origine de la maladie.

Il faut cependant souligner que les arguments en faveur d'hypothèses d'hypocontractilité ou d'hypercontractilité sont encore très hypothétiques et incomplets. Pour des raisons pratiques, dans la plupart des études, les tests de motilité *in vitro* ont été utilisés. Ces études sont effectuées en l'absence de charge, et l'on ne sait pas bien comment une diminution ou une augmentation de motilité se traduit en termes de production de force ou de puissance développée *in vivo* dans les conditions de charge sous lesquelles le cœur travaille. Seules trois études ont été effectuées sur des fibres musculaires pelées, conditions expérimentales que l'on peut considérer comme correspondant mieux à une situation physiologique. Les résultats doivent cependant en être considérés avec précaution, car ces études ont été effectuées à basse température [47, 48, 54]. Tout cela souligne la nécessité d'analyses d'autres mutations avec d'autres tests et le développement d'autres modèles animaux pour mieux comprendre la pathogénie de la cardiomyopathie hypertrophique.

L'hétérogénéité génétique de la cardiomyopathie hypertrophique rend-elle compte de l'hétérogénéité phénotypique ?

Avant les études de génétique moléculaire, il était bien connu que la localisation et l'étendue de l'hypertrophie ventriculaire gauche pouvait varier considérablement, même entre des individus apparentés au premier degré, et qu'un nombre élevé de morts subites existait dans certaines familles. La génétique commence à expliquer cette hétérogénéité clinique. Les résultats sont encore très préliminaires, car seuls quelques centaines d'individus ont été étudiés, et il est tout à fait clair que même si un phénotype semble caractériser une petite famille, ce n'est qu'en examinant de multiples familles de grande taille que des conclusions non ambiguës pourront être tirées. Certains concepts commencent cependant à émerger, tout du moins pour les mutations dans les gènes *MYH7*, *TNNT2* et *MYBPC3*. Pour le gène *MYH7*, le pronostic des patients varie considérablement selon le type de mutation (pour revue, voir [58]). Par exemple, la mutation R103Q semble être associée à un taux réduit de survie, alors que la mutation V606M apparaît plus bénigne [59]. La maladie résultant de mutations dans *TNNT2* est associée à une pénétrance incomplète, une hypertrophie modérée, et un taux élevé de morts subites qui peuvent survenir même en l'absence d'hypertrophie clinique significative [30-32]. Cependant, dans une famille avec une mutation de *TNNT2*, la pénétrance est complète avec un large éventail d'hypertrophie à l'échocardiographie et absence de mort subite [27]. Les mutations du gène *MYBPC3* semblent être caractérisées par un tableau clinique particulier, avec un phénotype peu accentué chez les sujets jeunes, un âge tardif d'apparition des symptômes et un pronostic favorable avant l'âge de 40 ans [60].

Les études génétiques ont également révélé l'existence d'individus apparemment cliniquement sains, porteurs d'une mutation qui était responsable chez leurs apparentés au premier

degré d'un phénotype classique de la maladie [10, 39]. Dans certaines familles, jusqu'à un quart des individus atteints génétiquement ne le sont pas cliniquement. Deux types de mécanismes peuvent être à l'origine de cette grande variabilité d'expression de la mutation: le rôle de facteurs liés à l'environnement (modes de vie, facteurs de risque, exercice physique), et l'existence de gènes modificateurs et/ou de polymorphismes qui peuvent moduler l'expression phénotypique. Le rôle des facteurs d'environnement est clairement démontré par l'observation de phénotypes différents de la maladie chez des jumeaux monozygotes [61] qui, par définition, ont un génome identique. Les seuls résultats obtenus à ce jour concernant les gènes modificateurs portent sur les polymorphismes d'insertion/délétion (I/D) de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. Des études d'association ont montré que l'allèle D est plus fréquent chez des patients que dans une population témoin, et chez des patients avec un fort taux de mort subite [62]. Nous avons récemment montré que l'association entre l'allèle D et l'hypertrophie est observée dans le cas de mutations du codon R403 de *MYH7*, mais non dans le cas de mutations du gène *MYBPC3*, ce qui suggère l'existence de multiples gènes modificateurs [63]. Par ailleurs, nous avons montré que la pénétrance était significativement augmentée chez les individus de sexe masculin atteints par rapport aux individus de sexe féminin sur une dizaine de familles liées aux gènes *MYH7* et *MYBPC3*, suggérant le rôle de facteurs dépendant des chromosomes sexuels dans l'expression clinique de la maladie [14]. Cela a été confirmé dans une autre étude qui a récemment montré que le sexe masculin et un polymorphisme situé dans le gène codant pour l'endothéline 1 influençaient le degré d'hypertrophie ventriculaire gauche sur un groupe de 108 individus non apparentés [64]. Ces différentes observations laissent penser que l'identification de gènes modificateurs constituera, dans la cardiomyopathie hypertrophique, une approche importante pour mieux comprendre l'hétérogénéité phénotypique. Les progrès accomplis dans la connaissance de la génétique molé-

culaire permettent désormais d'envisager un réexamen des critères diagnostiques cliniques utilisés à la lueur de la génétique. Avant le développement de la biologie moléculaire, il était largement admis que l'expression clinique de la cardiomyopathie hypertrophique familiale était complète à l'âge adulte. Les travaux récents ont montré que la situation est en réalité plus complexe, en identifiant l'existence de porteurs sains dans des familles liées à *MYH7* et *MYBPC3* et en révélant que, dans le cas du gène *MYBPC3*, les symptômes révélateurs, les complications liées à la maladie (décès, insuffisance cardiaque), l'hypertrophie ventriculaire gauche pouvaient apparaître au-delà de l'âge de 30 ans [60]. On ne peut donc plus admettre que la pénétrance de la maladie est totale à la fin de l'adolescence et, s'il est vrai que des variations importantes existent selon les gènes et les mutations impliquées, nous avons estimé la pénétrance globale à 90 % et celle dépendante de l'âge à 55 % de 10 à 20 ans, 75 % de 30 à 49 ans et 95 % au-delà de 50 ans sur une population importante d'adultes génotypés (10 familles liées aux gènes *MYH7*, *MYBPC3* ou *TNNT2*) [14]. Il était également admis que, parmi les deux outils diagnostiques majeurs de la maladie, l'échocardiographie et l'électrocardiogramme, l'échocardiographie avait une sensibilité supérieure à celle de l'électrocardiogramme pour identifier une cardiomyopathie hypertrophique. Nous avons pu au contraire montrer, à partir de l'étude de 155 adultes génotypés provenant de 10 familles non apparentées et associés aux gènes *MYH7*, *MYBPC3* et *TNNT2*, que la sensibilité des deux examens était tout à fait voisine et de l'ordre de 60 %. L'addition de critères mineurs échographiques ou électrocardiographiques aux critères majeurs utilisés habituellement (épaisseur des parois ventriculaires supérieure à 13 mm à l'échographie, ondes Q de pseudo-nécrose et aspect d'hypertrophie ventriculaire gauche électrique à l'ECG) a permis d'améliorer la sensibilité. Dans une population d'enfants provenant de 13 familles, nous avons identifié des critères électrocardiographiques et échocardiographiques non utilisés habituellement qui permettaient

d'augmenter significativement la sensibilité des outils diagnostiques dans cette population dans laquelle le nombre d'individus porteurs sains est élevé [65]. Ce réexamen des critères diagnostiques constitue une retombée fondamentale de la génétique moléculaire pour progresser dans l'identification de critères plus subtils de la maladie et permettre ainsi d'accroître la performance des outils cliniques utilisés.

Une autre voie de recherche clinique concerne les porteurs sains. Spécifiquement, il est important d'entreprendre un travail d'analyse approfondie de la fonction cardiaque de ces individus afin d'essayer de mettre en évidence des anomalies infracliniques. Une telle approche est possible en utilisant les outils classiques (échocardiographie, ECG). Par l'analyse fine de la morphologie ventriculaire gauche, nous avons ainsi montré, sur une population de porteurs sains à l'échographie, que l'épaisseur et la masse du ventricule gauche étaient supérieures à celle d'apparentés indemnes génétiquement et que la cavité ventriculaire était plus petite, bien que restant dans les limites de la normale, suggérant ainsi qu'il existe un continuum des formes typiques d'hypertrophie à l'hypertrophie infraclinique [66]. La recherche de nouveaux outils pour tenter d'identifier les porteurs sains a également commencé en utilisant d'autres techniques telles que l'enregistrement continu de l'ECG, l'analyse spectrale, l'étude de la repolarisation ventriculaire, l'échographie Doppler, le *tissue imaging*, et les résultats de ces approches devraient être disponibles dans quelques années.

Une autre question clinique d'intérêt majeur concerne le pronostic associé aux différentes mutations: comme il est indiqué plus haut, une grande prudence s'impose avant de tirer des conclusions validées pour plusieurs raisons: le nombre des mutations répertoriées dépasse la centaine et augmente de façon continue. Le nombre des familles génotypées reste limité et, dans la littérature, des contre-exemples ont déjà été publiés de mutations qualifiées de malignes qui étaient bénignes dans certaines familles et *vice versa*. Il faudra donc attendre la constitution d'une base de données internationale, actuelle-

ment à l'étude, pour répertorier l'ensemble des mutations décrites et le phénotype clinique associé avant d'établir un profil de risque qui demeure en l'état actuel des connaissances relativement imprécis.

Un autre enjeu d'importance est le suivi des porteurs sains afin de déterminer s'il s'agit de simples porteurs obligatoires ou si les individus sont exposés aux mêmes risques que leurs apparentés phénotypiquement atteints.

Ces questions cliniques très importantes s'inscrivent naturellement dans le contexte du conseil génétique et du diagnostic prédictif dont l'organisation pour cette maladie est en cours dans trois centres (hôpital de la Pitié-Salpêtrière et hôpital Boucicaut, Paris, CHU de Nantes) en collaboration avec des généticiens et des psychologues. L'extrême hétérogénéité génétique et intergénétique de la maladie rend actuellement hors de portée l'analyse systématique de tous les gènes (7) et de toutes les mutations (> 100) répertoriés à ce jour. De plus, certaines familles ne sont associées à aucun des gènes identifiés. La distribution des gènes impliqués dans 32 familles françaises étant de 59,4 % pour *MYBPC3*; 28,1 % pour *MYH7*; 9,4 % pour *MYL2* et 3,1 % pour *TNNT2*, nous recherchons désormais en routine des mutations dans les deux gènes les plus fréquemment impliqués, *MYH7* et *MYBPC3*. L'étape ultime, après l'identification, est la prise en charge précoce des individus à risque. Les modalités de cette prise en charge dépassent le cadre de cette revue. Il est néanmoins important de souligner que ce problème suscite actuellement un débat, notamment en ce qui concerne la prise en charge des porteurs sains de formes malignes et il faut espérer que les nouveaux outils génétiques à notre disposition permettront de mieux estimer le profil de risque de ces patients.

Conclusions et perspectives

Bien que les mécanismes moléculaires conduisant aux cardiomyopathies hypertrophiques ne soient pas encore complètement élucidés, il est maintenant clair que des mutations dans les gènes codant pour des pro-

téines sarcomériques en sont la cause principale. Il ne faut cependant pas arrêter la recherche d'autres origines génétiques. En effet, des travaux récents ont montré que des mutations dans le gène codant pour le δ -sarcoglycane, qui est un des constituants du complexe glyco-protéique associé à la dystrophine, sont impliquées dans les cardiomyopathies hypertrophiques et dilatées du hamster [67]. La demande de tests génétiques va certainement augmenter dès que les cliniciens seront plus au fait des données de génétique moléculaire, ce qui devrait faciliter la prise en charge et le suivi des malades. Pour cela, étant donnée la très grande hétérogénéité génétique de la maladie, de nouvelles stratégies de diagnostic génétique doivent être développées. Il est également nécessaire de poursuivre la caractérisation des mutations et des phénotypes qui leur sont associés afin d'établir des corrélations génotype/phénotype significatives. Enfin d'autres modèles animaux ainsi que d'autres types d'analyses fonctionnelles devront être développés pour mieux comprendre comment des altérations de l'unité contractile de base, le sarcomère, modifient le phénotype et la fonction du cœur ■

* ABRÉVIATIONS *

Abréviations des gènes et des protéines sarcomériques correspondantes

MYBPC3 et cMyBP-C: protéine C cardiaque liée à la myosine.

MYH7 et β -MyHC: chaîne lourde β de la myosine.

MYL2 et MLC-2s/v: chaîne légère régulatrice ventriculaire de la myosine.

MYL3 et MLC-1s/v: chaîne légère essentielle ventriculaire de la myosine.

TNNI3 et cTnI: troponine I cardiaque.

TNNT2 et cTnT: troponine T cardiaque.

TPM1 et α -TM: α -tropomyosine.

RÉFÉRENCES

1. Vulpian A. Contribution à l'étude des rétrécissements de l'orifice ventriculo-aortique. *Arch Physiol* 1868; 3: 220-2.
2. Wigle ED, Sasson Z, Henderson MA, et al. Hypertrophic cardiomyopathy. The importance of the site and the extent of hypertrophy. *Prog Cardiovasc Dis* 1985; 28: 1-83.
3. Maron BJ, Bonow RO, Cannon RO, Leon MB, Epstein SE. Hypertrophic cardiomyopathy: interrelations of clinical manifestations, pathophysiology, and therapy. *N Engl J Med* 1987; 316: 780-7; 844-52.
4. Hollman A, Goodwin JF, Teare D, Renwick JW. A family with obstructive cardiomyopathy (asymmetrical hypertrophy). *Br Heart J* 1960; 22: 449-56.
5. MacRae CA, Ghaisas N, Kass S, et al. Familial hypertrophic cardiomyopathy with Wolff-Parkinson-White Syndrome maps to a locus on chromosome 7q3. *J Clin Invest* 1995; 96: 1216-20.
6. Schiaffino S, Reggiani C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. *Physiol Rev* 1996; 76: 371-423.
7. Hofmann PA, Greaser ML, Moos RL. C-protein limits shortening velocity of rabbit skeletal muscle fibres at low levels of Ca^{2+} activation. *J Physiol* 1991; 439: 701-5.
8. Weisberg A, Winegrad S. Alteration of myosin cross bridges by phosphorylation of myosin-binding protein C in cardiac muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8999-9003.
9. Fougerousse F, Dufour C, Roudaut C, Beckmann JS. Dinucleotide repeat polymorphism at the human gene for cardiac beta-myosin heavy chain (*MYH7*). *Hum Mol Genet* 1992; 1: 64.
10. Dausse E, Komajda M, Dubourg O, et al. 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. Consevage M, Salada GC, Baylen BG, Ladda RL, Rogan PK. A new missense mutation, Arg719Gln, in the β -cardiac heavy chain myosin gene of patients with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 1025-6.
12. Fananapazir L, Dalakas MD, Cyran F, Cohn G, Epstein ND. Missense mutations in the β myosin heavy chain gene cause central core disease in hypertrophic cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3993-7.
13. Nakajima-Taniguchi C, Matsui H, Eguchi N, et al. A novel deletion mutation in the β -myosin heavy chain gene found in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 2607-12.
14. Charron P, Carrier L, Dubourg O, et al. Penetrance of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Genet Counsell* 1997; 8: 107-14.

RÉFÉRENCES

15. Marian AJ, Yu QT, Mares A, *et al.* 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.
16. 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.
17. Kretsinger RH. Structure and evolution of calcium-modulated proteins. *CRC Crit Rev Biochem* 1980; 8: 119-74.
18. Lowey S, Waller G, Trybus K. Skeletal muscle myosin light chains are essential for physiological speeds of shortening. *Nature* 1993; 365: 454-6.
19. VanBuren P, Waller GS, Harris DE, *et al.* The essential light chain is required for full force production by skeletal muscle myosin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 12403-7.
20. Rarick HM, Opgenorth TJ, von Geldern TW, Wu-Wong JR, Solaro RJ. An essential myosin light chain peptide induces supramaximal stimulation of cardiac myofibrillar ATPase activity. *J Biol Chem* 1996; 271: 27039-43.
21. Poetter K, Jiang H, Hassanzadeh S, *et al.* Mutation in either the essential or regulatory light chains of myosin are associated with a rare myopathy in human heart and skeletal muscle. *Nat Genet* 1996; 13: 63-9.
22. Sweeney H, Bowman B, Stull J. Myosin light chains phosphorylation in striated muscle: regulation and function. *Am J Physiol* 1993; 264: C1085-95.
23. Gulick J, Hewett TE, Klevitsky R, *et al.* Transgenic remodeling of the regulatory myosin light chains in the mammalian heart. *Circ Res* 1997; 80: 655-64.
24. Flavigny J, Richard P, Isnard R, *et al.* Identification of two novel mutations in the ventricular regulatory myosin light chain gene (*MYL2*) associated with familial and classical forms of hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Med* 1998; 76: 208-14.
25. Jin JP, Huang QQ, Yeh HI, Lin JJC. Complete nucleotide sequence and structural organization of rat cardiac troponin T gene: a single gene generates embryonic and adult isoforms *via* developmentally regulated alternative splicing. *J Mol Biol* 1992; 227: 1269-76.
26. Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, *et al.* α -tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell* 1994; 77: 701-12.
27. Forissier JF, Carrier L, Farza H, *et al.* Codon 102 of the cardiac troponin T gene is a putative hot spot for mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1996; 94: 3069-73.
28. Zot AS, Potter JD. Structural aspects of troponin-tropomyosin regulation of skeletal muscle contraction. *Ann Rev Biophys Chem* 1987; 16: 535-59.
29. Solaro RJ, Van Eyk J. Altered interactions among thin filament proteins modulate cardiac function. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 217-30.
30. Moolman JC, Corfield VA, Posen B, *et al.* Sudden death due to troponin T mutations. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 549-55.
31. Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, *et al.* Mutations in the genes for cardiac troponin T and α -tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1995; 332: 1058-64.
32. Nakajima-Taniguchi C, Matsui H, Fujio Y, *et al.* Novel missense mutation in cardiac troponin T gene found in Japanese patient with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 839-43.
33. Kimura A, Harada H, Park JE, *et al.* Mutations in the cardiac troponin I gene associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1997; 16: 379-82.
34. Lees-Miller JP, Helfman DM. The molecular basis for tropomyosin isoform diversity. *BioEssays* 1991; 13: 429-37.
35. Nakajima-Taniguchi C, Matsui H, Nagata S, Kishimoto T, Yamauchi-Takahara K. Novel missense mutation in α -tropomyosin gene found in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 2053-8.
36. Yamauchi-Takahara K, Nakajima-Taniguchi C, Matsui H, *et al.* Clinical implications of hypertrophic cardiomyopathy associated with mutations in the α -tropomyosin gene. *Heart* 1996; 76: 63-5.
37. Bonne G, Carrier L, Bercovici J, *et al.* Cardiac myosin binding protein-C gene splice acceptor site mutation is associated with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1995; 11: 438-40.
38. Gautel M, Zuffardi O, Freiburg A, Labeit S. Phosphorylation switches specific for the cardiac isoform of myosin binding protein C: a modulator of cardiac contraction? *EMBO J* 1995; 14: 1952-60.
39. Carrier L, Bonne G, Bährend E, *et al.* Organization and sequence of human cardiac myosin binding protein C gene (*MYBPC3*) and identification of mutations predicted to produce truncated proteins in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 1997; 80: 427-34.
40. Freiburg A, Gautel M. A molecular map of the interactions between titin and myosin-binding protein C. Implications for sarcomeric assembly in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Biochem* 1996; 235: 317-26.
41. Fougereousse F, Delezoide AL, Fiszman MY, *et al.* Cardiac myosin binding protein C gene is specifically expressed in heart during murine and human development. *Circ Res* 1998; 82: 130-3.
42. Gautel M, Fürst DO, Cocco A, Schiaffino S. Isoform transitions of the myosin-binding protein C family in developing human and mouse muscles. Lack of isoform transcomplementation in cardiac muscle. *Circ Res* 1998; 82: 124-9.
43. Watkins H, Conner D, Thierfelder L, *et al.* Mutations in the cardiac myosin binding protein-C gene on chromosome 11 cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1995; 11: 434-7.
44. Rottbauer W, Gautel M, Zehelein J, *et al.* Novel splice donor site mutation in the cardiac myosin-binding protein-C gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. Characterization of cardiac transcript and protein. *J Clin Invest* 1997; 100: 475-82.
45. Yu B, French JA, Carrier L, *et al.* Molecular pathology of familial hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the myosin binding protein C gene. *J Med Genet* 1998; 35: 205-10.
46. Cuda G, Fananapazir L, Epstein ND, Sellers JR. The *in vitro* motility activity of β -cardiac myosin depends on the nature of the β -myosin heavy chain gene mutation in hypertrophic cardiomyopathy. *J Muscle Res Cell Motil* 1997; 18: 275-83.
47. Bottinelli R, Coviello DA, Redwood CS, *et al.* A mutant tropomyosin that causes hypertrophic cardiomyopathy is expressed *in vivo* and associated with an increased calcium sensitivity. *Circ Res* 1998; 82: 106-15.
48. Watkins H, Seidman CE, Seidman JG, Feng HS, Sweeney HL. Expression and functional assessment of a truncated cardiac troponin T that causes hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1996; 98: 2456-61.
49. Geisterfer-Lowrance AAT, Christe M, Conner DA, *et al.* A mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Science* 1996; 272: 731-4.
50. Vikstrom KL, Factor SM, Leinwand LA. Mice expressing mutant myosin heavy chains are a model for familial hypertrophic cardiomyopathy. *Mol Med* 1996; 2: 556-67.
51. 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; 81: 76-85.
52. Becker KD, Gottshall KR, Hickey R, Perriard JC, Chien KR. Point mutations in human β cardiac myosin heavy chain have differential effects on sarcomeric structure and assembly: an ATP binding site change disrupts both thick and thin filaments, whereas hypertrophic cardiomyopathy mutations display normal assembly. *J Cell Biol* 1997; 137: 131-40.
53. Sata M, Ikebe M. Functional analysis of the mutations in the human cardiac β -myosin that are responsible for familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1997; 98: 2866-73.
54. 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; 95: 1409-14.

RÉFÉRENCES

55. Fujita H, Sugiura S, Momomura S, *et al.* Characterization of mutant myosins of *dictyostelium discoideum* equivalent to human familial hypertrophic mutants. Molecular force level of mutant myosins may have prognostic implication. *J Clin Invest* 1997; 99: 1010-5.
56. 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; 97: 2842-8.
57. Bing W, Redwood CS, Purcell IF, *et al.* Effects of two hypertrophic cardiomyopathy mutations in alpha-tropomyosin, Asp175Asn and Glu180Gly, on Ca²⁺ regulation of thin filament motility. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 760-4.
58. Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1997; 336: 775-85.
59. 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.
60. Charron P, Dubourg O, Desnos M, *et al.* Clinical features and prognostic implications of familial hypertrophic cardiomyopathy related to cardiac myosin binding protein C gene. *Circulation* 1998; 97: 2230-6.
61. Ko YL, Tang TK, Chen JJ, *et al.* Idiopathic hypertrophic cardiomyopathy in identical twins: morphological heterogeneity of the left ventricle. *Chest* 1992; 102: 783-5.
62. Marian AJ, Yu QT, Workman R, Greve G, Roberts R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet* 1993; 342: 1085-6.
63. Tesson F, Dufour C, Moolman JC, *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; 29: 831-8.
64. Brugada R, Kelsey W, Lechin M, *et al.* Role of candidate modifier genes on the phenotypic expression of hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Invest Med* 1997; 45: 542-51.
65. Charron P, Dubourg O, Desnos M, *et al.* Diagnostic value of electrocardiography and echocardiography for familial hypertrophic cardiomyopathy in genotyped children. *Eur Heart J* 1998 (sous presse).
66. Hagege AA, Dubourg O, Desnos M, *et al.* Familial hypertrophic cardiomyopathy – cardiac ultrasonic abnormalities in genetically affected subjects without echocardiographic evidence of left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J* 1998; 19: 490-9.
67. Sakamoto A, Ono K, Abe M, *et al.* Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation in the same gene, δ -sarcoglycan, in hamster: an animal model of disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13873-8.

TIRÉS À PART

K. Schwartz.

Summary

Genetics of familial hypertrophic cardiomyopathy

Familial hypertrophic cardiomyopathy (FHC) is characterized by left and/or right ventricular hypertrophy, preferentially affecting the interventricular septum, in the absence of other known causes that induce hypertrophy. Typical morphological changes include myocyte hypertrophy and disarray surrounding areas of loose connective tissue. Arrhythmias and premature sudden deaths are common. The clinical manifestations of FHC are numerous, ranging from benign asymptomatic course to severe heart failure and sudden death. FHC is inherited in an autosomal dominant pattern. The results of molecular genetic studies have shown that all mutations found so far concern genes that encode sarcomeric proteins: three contractile proteins, the β -myosin heavy chain, the ventricular myosin essential light chain 1 and the ventricular myosin regulatory light chain 2; three associated proteins, cardiac troponin T, cardiac troponin I, and α -tropomyosin; and finally one myosin-binding protein, the cardiac myosin binding protein C. These genes certainly do not represent the whole spectrum of FHC disease genes since an additional locus was reported and one might reasonably hypothesize that disease genes yet to be identified include additional components of the sarcomere. One of the next challenges is to decipher the mechanisms through which the disease results from sarcomeric gene defects. The focus of the present article is to review the current state of knowledge on (1) the organization and mutations of FHC disease genes and proteins and (2) the *in vitro* and *in vivo* functional consequences of these mutations.

Réunion de la Société de Biologie consacrée à la mémoire du Professeur Paul Boulanger

organisée sous l'égide de l'Université de Lille 2 et du Centre Hospitalier et Universitaire de Lille
le 23 octobre 1998 à la Faculté de Médecine de Lille

9 h 30	Accueil des participants : Ph. Roussel Introduction : J. Polonovski	14 h 30-14 h 55	F. Broly (CHU-Lille) – Cytochromes P450 et gènes de susceptibilité aux bronchopneumopathies chroniques
9 h 45-10 h 15	J.-P. Muh (Inserm-Tours) – Syndromes autistiques – Aspects génétiques et développementaux	14 h 55-15 h 20	A. Verbert (Cnrs-USTL) – Processus « glyco-déglyco » au cours de la synthèse des N-glycoprotéines
10 h 15-10 h 45	J.-C. Fruchart (Inserm-IPL) – PPAR α : régulateur du métabolisme des lipoprotéines et de l'inflammation	15 h 20-15 h 45	G. Lamblin (Inserm-Lille) – Mucoviscidose et mucines bronchiques : physiopathologie des anomalies de glycosylation et de sulfatation
10 h 45-11 h 15	pause	15 h 45-16 h 15	pause
11 h 15-11 h 45	J. Demaille (Cnrs-Montpellier) – Le sous-génome olfactif	16 h 15-16 h 40	N. Porchet (Inserm-Lille) – Les mucines humaines : une famille multigénique
11 h 45-12 h 15	D. Stehelin (Cnrs-IBL) – Relations entre les tumeurs invasives et l'hôte	16 h 40-17 h 05	P. Formstecher (Inserm-Lille) – Pharmacologie moléculaire et cellulaire des rétinoides
12 h 15-12 h 45	P. Boulanger (Cnrs-Montpellier) – Les récepteurs cellulaires des adénovirus : applications à la thérapie génique	17 h 05-17 h 15	Conclusions : J. Montreuil
12 h 45-14 h 30	buffet		

Inscriptions à envoyer à :

Philippe Roussel, Inserm U. 377, place de Verdun, 59045 Lille – Tél. : 03 20 98 43 00 – Fax : 03 20 53 85 62

E-mail : roussel@lille.inserm.fr

avec un chèque de 100 F libellé à l'ordre de « l'agent comptable de l'Université de Lille 2 » (en cas de participation au buffet)