



CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 1/27

Numéro de version : **2.0**

Pour les versions révisées :

- Date de 1^{ère} mise en application : 15/06/2009
- Numéro de l'ancienne version du document : ANPGM_030-v1
- Date de révision : 28/09/2016

	Nom	Hôpital	Date
Rédacteur(s)	<i>Dr Pascale Richard</i>	<i>Pitié Salpêtrière</i>	10/02/2016
Vérificateur(s)			
Filière	Dr Gilles Millat	GH Est Lyon	20 Aout 2016
Approbateur(s)	<u>Pour le CA de l'ANPGM :</u>		
	Benoit ARVEILER	CHU Bordeaux	28/09/2016
	Cécile ACQUAVIVA	CHU Lyon	
	Anne-Sophie LEBRE	CHU Reims	
	Pascale SAUGIER-VEBER	CHU Rouen	

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 2/27

Numéro de version : **2.0**

1. Introduction / Aspects cliniques

Les cardiomyopathies héréditaires sont des atteintes primitives dans lesquelles le muscle cardiaque est structurellement et fonctionnellement anormal en l'absence de toute autre cause de cardiomyopathie (hypertension artérielle, rétrécissement aortique).

Elles sont réparties en quatre groupes phénotypiques : les cardiomyopathies hypertrophiques, les cardiomyopathies dilatées, les cardiomyopathies restrictives et les cardiomyopathies arythmogènes du ventricule droit (CVDA). Il est nécessaire d'y ajouter les non compactations du ventricule gauche (NCVG) qui partagent, pour certaines les mêmes gènes que ceux des cardiopathies classiques. La définition exclue toutes les atteintes cardiaques secondaires à une étiologie ischémique, valvulaire ou congénitale.

Les plus fréquentes sont les cardiomyopathies dilatées et les cardiomyopathies hypertrophiques.

- **Les cardiomyopathies hypertrophiques (OMIM_192600)** sont caractérisées morphologiquement par une hypertrophie du ventricule gauche (VG) sans dilatation et en l'absence d'une maladie systémique ou cardiaque évidente (hypertension artérielle, sténose aortique). Les CMH sont définies à l'échographie cardiaque par une hypertrophie des parois du ventricule gauche affectant principalement le septum interventriculaire. C'est une pathologie le plus fréquemment autosomique dominante et présentant une grande hétérogénéité clinique et génétique. La prévalence de la cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est évaluée à 1/500 dans une population de jeunes adultes.
- **Les cardiomyopathies dilatées (OMIM_115200)** sont caractérisées par un élargissement du VG et une dysfonction systolique avec épaisseur de la paroi du VG normale. Les CMD sont définies à l'échographie cardiaque par une fraction d'éjection du VG <45 % et une dimension du VG en fin de diastole > 117 % de la valeur cible corrigée par la surface corporelle. C'est une pathologie généralement autosomique dominante, de prévalence 1/2500 dans la population générale et pour laquelle de nombreux gènes ont également été impliqués.
- **Les cardiomyopathies restrictives (OMIM_115210)** sont caractérisées par un profil de remplissage restrictif et une réduction du volume diastolique d'un ou des deux ventricules, avec une épaisseur pariétale et une fonction systolique à peu près conservées. Une augmentation de la fibrose interstitielle peut être présente. La cardiomyopathie restrictive est parfois familiale ou peut être associée à une autre pathologie (amylose, pathologie endomyocardique). Le pronostic dépend de l'étiologie de la cardiomyopathie restrictive et reste très sévère chez l'enfant. Ce sont des cardiomyopathies rares et elles représentent moins de 5 % de tous les types de CM, dont la prévalence est estimée à 0,003 %.
- **Les non-compactations du ventricule gauche (OMIM_300183)** ont été classées dans les cardiomyopathies d'origine génétique en 2006. Elles sont définies par la présence de trabéculations associées à des formations communiquant avec la cavité ventriculaire. Elle est liée à un défaut de compaction des fibres musculaires cardiaques débutant normalement entre la 5e et la 8e semaine d'embryogenèse. Ce défaut d'accolement est responsable de la persistance de nombreux récessus au niveau de segments hypertrophiés et souvent hypokinétiques. La NCVG touche

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

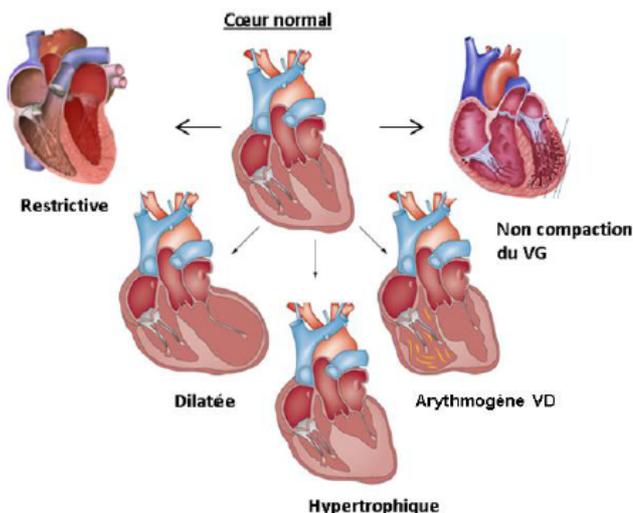
Référence : ANPGM_030
Page 3/27

Numéro de version : 2.0

préférentiellement les sujets jeunes ou d'âge moyen. Sa prévalence exacte chez l'adulte n'est pas connue, mais semble faible. Par contre, elle semble nettement plus importante chez l'enfant que chez l'adulte. Elle représenterait chez l'enfant la troisième cause de cardiomyopathie après les cardiopathies dilatées et hypertrophiques. L'échographie est l'examen clef pour le diagnostic de cette CM. Elle permet d'observer une structure en bicouche, avec une couche épicaudique fine, une couche endocaudique plus épaisse, non compactée. Des formes familiales comme isolées ont été rapportées, avec une transmission le plus souvent dominante. La physiopathologie de cette anomalie n'est pas encore résolue.

Ce phénotype peut s'observer dans des familles de cardiopathie hypertrophique ou dilatée.

- **La cardiomyopathie ventriculaire droite arythmogène (OMIM_601877)** est une cardiomyopathie dans laquelle les cardiomyocytes sont remplacés progressivement par du tissu fibro-adipeux. Le ventricule droit est préférentiellement atteint mais il existe également des formes biventriculaires. La fréquence de la maladie est estimée entre 1/5000 et 1/10000 dans la population générale. Les symptômes sont habituellement liés à la survenue de troubles du rythme de type extrasystoles ventriculaires, isolées ou en salves; ou bien des tachycardies ventriculaires, survenant spontanément ou à l'effort. Les symptômes qui en résultent sont des palpitations, des malaises avec ou sans perte de connaissance. Le diagnostic est réalisé avec l'ECG, l'échographie cardiaque est surtout utilisée pour éliminer une autre cardiopathie pouvant être associée des troubles du rythme comme les CMH ou les CMD. La pathologie est de transmission autosomique dominante avec une pénétrance incomplète.



Symptômes

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 4/27

Numéro de version : **2.0**

Dans les premiers stades de la cardiomyopathie, les symptômes ne sont pas toujours apparents. Toutefois, à mesure que la maladie s'aggrave, on peut observer des symptômes non spécifiques ;

- essoufflement à l'effort ou durant les activités habituelles;
- étourdissements ou évanouissement;
- douleur dans la poitrine (angine);
- fatigue importante;
- anomalie du rythme cardiaque;
- palpitations
- oedèmes au niveau des mains, des jambes, des chevilles, des pieds ou de l'abdomen.

De nombreux patients demeurent asymptomatiques ou peu symptomatiques alors que d'autres montrent des signes fonctionnels qui s'aggravent et deviennent invalidants. La gravité de la maladie est déterminée par le risque de «mort subite» (arrêt cardiaque dû à des troubles rythmiques majeurs), qui peut constituer la première manifestation de la CMH souvent favorisée par un effort physique. La mortalité de la CMH en relation avec une mort subite cardiaque est estimée à environ 1% par an chez l'adulte.

L'interrogatoire du patient doit permettre de préciser ses antécédents familiaux et personnels : cardiopathie, antécédents de mort subite dans la famille, syncopes, présence d'affections neuromusculaires. Il peut également être utile de noter les facteurs de risques cardiovasculaires

Diagnostic clinique

Au nombre des examens utilisés couramment pour diagnostiquer les cardiomyopathies figurent :

- l'[échocardiographie](#), qui sert à mesurer le volume de sang pompé par le cœur;
- l'[électrocardiographie](#), qui permet de déceler les anomalies du rythme cardiaque;
- le [moniteur Holter](#), qui est utilisé pour surveiller la fréquence cardiaque constamment pendant un jour ou deux;
- l'[épreuve d'effort](#), qui sert à évaluer la fonction cardiaque lorsque le cœur doit fournir un effort important;
- L'IRM Cardiaque

Diagnostic différentiels

Causes pathologiques génétiques ou non génétiques

Les glycoséses

- **Syndrome PRKAG2** (OMIM_600858) : il s'agit d'une entité clinique caractérisée par une hypertrophie cardiaque associée à des troubles rythmiques de type pré-excitation (PR court) et/ou un syndrome de Wolff Parkinson White. Ces patients peuvent parfois associer des signes musculaires frustrés au phénotype cardiaque. Ce syndrome de transmission autosomique dominante est dû à des mutations dans le gène PRKAG2 (7q36.1) codant la sous unité gamma 2 de l'Adénosine Mono Phosphate protéine kinase.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 5/27

Numéro de version : **2.0**

- **Maladie de Pompe** (OMIM_232300) : le phénotype décrit peut être très variable allant d'une forme infantile sévère (hypotonie, difficultés alimentaires, troubles respiratoires et CMH sévère dès les premiers jours de vie) à des formes adultes plus modérées ne présentant que l'atteinte cardiaque apparente. Elle est due à la mutation de l' α -galactosidase acide, un enzyme lysosomal codée par le gène GAA (17q25.3) de transmission autosomique récessive.

Les Maladies Lysosomales

- **La maladie de Danon** (OMIM_300257) est caractérisée par une atteinte syndromique associant une myopathie et des troubles du développement intellectuel avec une CMH sévère touchant les deux ventricules. Elle est due à des mutations dans le gène LAMP2 (Xq24) codant pour la protéine « lysosome-associated membrane protein-2 » associée à la membrane lysosomale.
- **La maladie d'Anderson-Fabry** (OMIM_301500) est un syndrome associant des manifestations cliniques multivisérales (douleurs neurologiques, des angiokératomes, des manifestations rénales et cardiovasculaires). La CMH est souvent modérée. Elle est due à des mutations dans le gène GLA (Xq22) codant l' α galactosidase. Cette maladie représenterait de 0,5 à 1 % des patients présentant une CMH après 40 ans, la prévalence dans la population générale étant de 1/80000 naissances.
- **Les cardiomyopathies mitochondriales.** Dans 20 à 40 % des maladies mitochondriales, une CM est associée. Il s'agit principalement de CMH mais des CMD et des NCVG ont été décrites. Parmi les plus fréquents, le syndrome MELAS (OMIM_540000, myopathie mitochondriale, acidose lactique et encéphalopathie), le syndrome de MERRF (OMIM_545000, épilepsie myoclonique avec fibres rouges déchiquetées à la biopsie musculaire). Enfin, une CMH de transmission récessive associée a une atteinte musculaire peut être observée avec des mutations du gène SLC25A4.
- **Les maladies neuromusculaires** peuvent s'accompagner dans de rares cas d'une CMH. La symptomatologie musculaire permet de faire le diagnostic différentiel avec la CMH primitive.

Les syndromes malformatifs

Ils sont représentés par le syndrome de Noonan (OMIM_163950), le syndrome LEOPARD (OMIM_151100) et le syndrome de Costello (OMIM_218040). Le syndrome de Noonan (dysmorphie faciale, hypertrophie cardiaque dans 20 à 30 % des cas, déformation thoracique, retard mental) et le syndrome LEOPARD (taches cutanées, anomalies ECG, hypertélorisme, sténose pulmonaire, anomalies génitales, retard de croissance, surdité sensorielle), sont causés par des mutations dans les gènes RAF1 et PTPN11. Le syndrome de Costello (syndrome facio-cranio-squelettique) est dû à une mutation du gène HRAS. Ces syndromes sont le plus souvent de diagnostic pédiatrique sauf dans des formes très modérées de syndrome de Noonan.

L'amylose cardiaque : Elle est causée par des mutations dans le gène TTR (18q12.1) codant pour la transthyrétine. peut se présenter par atteinte clinique multiviscérale ou par une atteinte cardiaque isolée. La transmission est autosomique dominante mais la prévalence n'est pas connue.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : ANPGM_030
Page 6/27

Numéro de version : 2.0

Maladies intercurrentes

- L'hypertension artérielle, insuffisance mitrale, phéochromocytome et l'acromégalie.
- Maladies infectieuses et inflammatoires

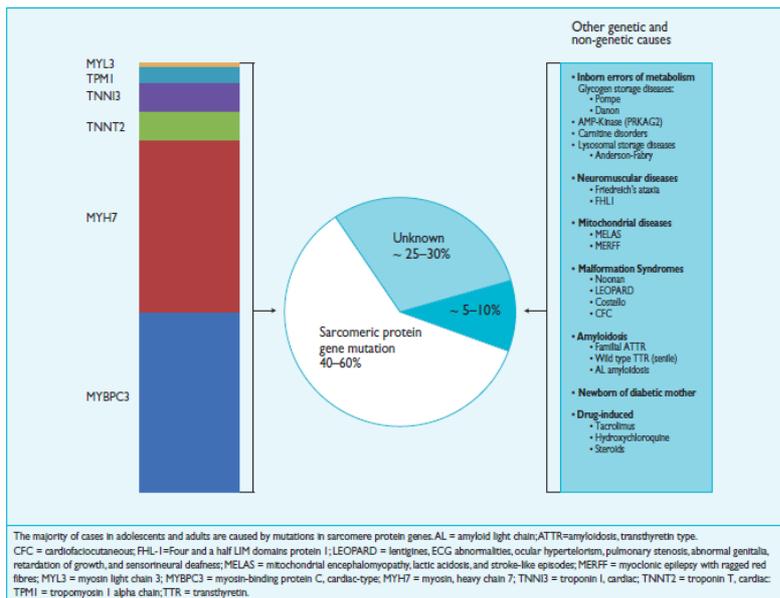
La myocardite est également un diagnostic différentiel important à éliminer devant une CMH.

- Causes médicamenteuses : stéroïdes anabolisants, tacrolimus ou hydroxychloroquine.

Causes Physiologiques

L'hypertrophie physiologique ou cœur d'athlète est une cause particulière.

Illustration de la proportion des cardiomyopathies hypertrophiques primitives vs les autres étiologies (ESC Guidelines 2014)



Prise en charge thérapeutique

Des recommandations de la Haute Autorité de Santé émises en 2011 résument les éléments de diagnostic et de prise en charge proposés aux patients atteints de CMH et leur famille. Les paragraphes ci-dessous résument ces recommandations.

Traitements médicamenteux

Il n'existe pas de traitement spécifique de la CMH, toutefois certaines molécules permettent d'améliorer la symptomatologie et prévenir les complications.

Un traitement à base de bêta bloquant (propranolol) est préconisé. Son action anti-arythmique est supposée diminuer l'incidence des morts subites. Il peut être associé à un inhibiteur calcique (diltiazem, verapamil) chez les patients présentant une importante hypertrophie.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : ANPGM_030
Page 7/27

Numéro de version : 2.0

Lorsque des troubles du rythme sont associés un traitement par amiodarone peut être instauré et un traitement anti-coagulant peut être proposé pour éviter les complications de la FA.

Traitements chirurgicaux

- Myomectomie

La myomectomie consiste à enlever une partie du bourrelet ventriculaire. Elle est destinée aux patients souffrant d'une forme obstructive sévère. L'intervention apporte généralement une amélioration des symptômes mais conduit fréquemment au développement à long terme d'une insuffisance cardiaque et l'absence d'effet préventif de la mort subite.

- Alcoolisation septale

Cette technique consiste à détruire chimiquement une partie du septum par injection locale d'alcool à 95 degrés dans la coronaire. Il s'agit d'un infarctus contrôlé qui va permettre de réduire la masse du septum

- Défibrillateur Implantable automatique

L'implantation d'un défibrillateur est envisagée dans le groupe des patients à risques élevé de mort subite, et chez les patients présentant des arythmies sévères. La décision d'implantation peut être modulée par la nature et la localisation de la mutation causale, en effet l'implantation peut être anticipée pour des mutations dans des gènes connus pour leur risque de mort subite, en particulier le gène *TNNT2*.

- Transplantation cardiaque

Enfin, la seule issue curative à la pathologie est la greffe cardiaque, elle est proposée aux patients présentant une insuffisance cardiaque réfractaire aux traitements avec une dysfonction systolique et une dilatation du VG. Parmi les patients avec une CMH, 3 à 5 % aux États Unis et 7 % en Europe bénéficient d'une greffe cardiaque.

CM et grossesse

La grossesse généralement bien tolérée et ce d'autant plus que la patiente est asymptomatique ou peu symptomatique avant la grossesse. Toutefois, une étude italienne a montré une mortalité maternelle de 10 pour 1 000 naissances beaucoup plus élevée que dans la population générale nécessitant une surveillance adaptée.

3- Génétique

Données épidémiologiques

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 8/27

Numéro de version : **2.0**

La cardiomyopathie hypertrophique ; il s'agit d'une maladie familiale dans plus de 60% des cas. En raison du mode de transmission, un apparenté au premier degré d'un individu atteint a 50% de chances d'être porteur de la mutation. Les gènes impliqués sont nombreux, avec en premier lieu les gènes codant pour des protéines du sarcomère.

La cardiomyopathie dilatée ; La prévalence dans la population générale est de l'ordre de 1 cas sur 2500 personnes. Une origine familiale est associée dans environ 30% des cas. De nombreuses mutations ont été retrouvées dans divers gènes codant des protéines du cardiomyocyte.

La DVDA : La prévalence est de l'ordre de 1/5000 dans la population générale. Les gènes impliqués sont essentiellement les gènes codant pour les protéines du desmosome.

La NCVG : La prévalence n'est pas connue, de même que s'il s'agit d'une cardiomyopathie à part entière. Les gènes en cause sont très hétérogènes avec un spectre équivalent à celui des CMD. Tous les modes de transmission peuvent être observés bien que le mode autosomique dominant soit le plus fréquent.

Pathologie moléculaire

Cardiomyopathie hypertrophique / Cardiomyopathie dilatée et Non compaction du VG :

De nombreux gènes ont été identifiés depuis +/- 20 ans. Les cardiomyopathies présentent une grande hétérogénéité allélique et génique. Les gènes impliqués codent pour des protéines cellulaires dont la grande majorité sont des protéines du sarcomère :

Gènes majeurs impliqués dans les cardiomyopathies isolées et leur prévalence (Elliot, 2014)

Gene	OMIM	Protein	Interactions	DCM	HCM	RCM	LVNC
Sarcomere contractile proteins							
<i>MYH7</i>	160760 192600	Myosin heavy chain, cardiac muscle β isoform	Myosin-binding protein C, myosin light chains, actin, titin, myomesin	X (4%)	X (20%)	X	X
<i>MYH6</i>	160710	Myosin heavy chain, cardiac muscle α isoform	Myosin-binding protein C, myosin light chains, actin, titin	X (4%)	X		
<i>MYL2</i>	160781 608758	Myosin regulatory light chain 2, ventricular/cardiac muscle isoform	Myosin heavy chain		X (<1%)		
<i>MYL3</i>	160790 608751	Myosin light polypeptide 3	Myosin heavy chain		X (<1%)	X	
<i>MYBPC3</i>	604958	Myosin-binding protein C, cardiac type	Myosin heavy chain, titin, actin	X (2%)	X (20%)		X
<i>TNNI2</i>	115195	Troponin I, cardiac muscle	Troponin I, tropomyosin	X (3%)	X (2.5%)	X	X
<i>TNNI3</i>	191044	Troponin I, cardiac muscle	Actin, troponin C, troponin T	X (<1%)	X (2.5%)	X	
<i>TNNI3I</i>	191040	Troponin C, slow skeletal and cardiac muscles	Troponin I	X (<1%)	X		
<i>TPM1</i>	115196 191010	Tropomyosin 1 α chain	Troponin T, actin	X (<1%)	X (1%)		X
<i>ACT1</i>	102540	Actin, α cardiac muscle 1	Myosin heavy chain, tropomyosin, troponin I, myosin-binding protein C, α -actinin 2	X (<1%)	X (<1%)	X	X
Sarcomeric cytoskeleton							
<i>TTN</i>	188840	Titin	Multiple (see text)	X (18-25%)	X		
<i>ACTN2</i>	102573	α -actinin 2	Actin	X (1%)	X		
<i>CSRP3</i>	600824	Muscle LIM protein	α -actinin, calcineurin, telethonin	X (<1%)	X		
<i>TCAP</i>	604488	Titin-cap or telethonin	Myozenin-2, myostatin	X (1%)	X		
<i>ILK</i>	602366	Integrin-linked kinase	Muscle LIM protein	X (<1%)			
<i>MYOZ2</i>	606602	Myozenin	Telethonin		X		
<i>FKBP1</i>	390163	Four-and-a-half-LIM domains 1					
<i>LOB3</i>	605906	LIM domain-binding protein 3/Cpher/ZASP	α -actinin, PKC	X (1%)	X		X
<i>PDZLIM3</i>	605889	PDZ LIM domain protein 3		X (<1%)			
<i>BAG3</i>	603883	BCL2-associated athanogene 3		X			
<i>DES</i>	125660	Desmin	Desmin, vimentin, actin	X (<1%)		X	
<i>CRYAB</i>	123590	α B crystallin	Actin	X (<1%)		X	
<i>NEBL</i>	605491	Nebulette	Actin		X (3-4%)		
<i>MYP9</i>	608517	Myopalladin	α -actinin, titin, nebulin, cardiac ankyrin repeat protein	X (<1%)			
<i>NEXN</i>	613121	Nexlin		X (<1%)	X		
<i>ANKRD1</i>	605959	Cardiac ankyrin repeat protein	Myopalladin/titin	X (2%)	X		

For HCM: only percentages for the strongest established genes are shown. X means that mutations in the gene have been associated with the phenotype. DCM, dilated cardiomyopathy; HCM, hypertrophic cardiomyopathy; OMM, online mendelian inheritance in man; LVNC, left ventricular non-compaction; PKA, protein kinase A; RCM, restrictive cardiomyopathy.

Cardiomyopathies hypertrophiques

Plus de 500 mutations, pour la plupart faux-sens, ont été identifiées dans le gène de la chaîne lourde bêta de la myosine, MYH7, qui fut le premier à être identifié comme responsable de la CMH.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

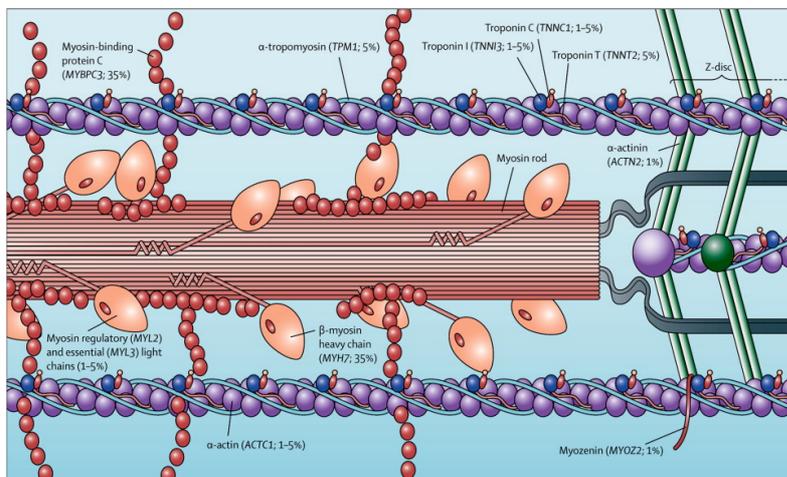
Référence : **ANPGM_030**
Page 9/27

Numéro de version : **2.0**

L'étude systématique de 8 gènes chez un ensemble d'environ de 200 patients français a montré que les gènes les plus fréquemment mutés étaient MYBPC3 (43 %), MYH7 (40 %), TNNI3 (6 %), TNNT2 (6 %) et MYL2 (4 %) (Richard et coll., 2003). Ces résultats ont par la suite été confirmés dans plusieurs études. Parmi les deux gènes majeurs (MYH7 et MYBPC3), les mutations identifiées dans le gène MYH7 sont dans la très grande majorité des cas, des mutations de type faux sens. Dans le gène MYBPC3, 2/3 des mutations identifiées sont des mutations de type non-sens. Le mécanisme pathophysiologique évoqué est celui de l'haploinsuffisance

L'analyse des 5 gènes les plus fréquemment mutés permet de détecter la mutation causale chez 35-45 % des patients. De plus dans 5 à 7 % des cas, des génotypes complexes associant deux mutations hétéroalléliques ou sur deux gènes différents expliquent les phénotypes les plus sévères (Richard et coll., 2003).

L'analyse en NGS d'un panel d'environ 50 gènes chez les patients restés négatifs après l'analyse des 5 gènes majeurs permet d'obtenir un taux de mutations d'environ 60%.



Protéines impliquées dans les cardiomyopathies sarcomériques et leur prévalence

Cardiomyopathies dilatées

Il existe une plus grande diversité des causes génétiques incriminées (Hershberger, R. E. *et al.* Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat. Rev. Cardiol.*2013.105). Il en résulte donc une plus grande hétérogénéité génétique dans la distribution des gènes en cause (Table 1).

Les mutations identifiées peuvent toucher des gènes codant :

- des protéines du sarcomère et altérer la production de la force de contraction;
- des protéines du cytosquelette et altérer la transmission de la force de contraction ;

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : ANPGM_030
Page 10/27

Numéro de version : 2.0

- des protéines nucléaires et altérer notamment la stabilité nucléaire ; des mutations peuvent être également présentes sur des gènes codant d'autres protéines impliquées dans différents mécanismes intervenant dans la fonction cardiaque, que ce soit la signalisation calcique ou l'apoptose.

Table 1 : Gènes associés avec la cardiomyopathie dilatée familiale isolée.

Gene	Protein	Function	Estimated contribution to total number of patients	Allelic disorders
Sarcomere				
ACTC1 ^{42,63}	α-Cardiac actin	Muscle contraction	<1%	Hypertrophic cardiomyopathy
ACTN2 ⁶⁴	α-Actinin-2	Anchor for myofibrillar actin	1%	NA
ANKRD1 ⁶⁵	Ankyrin repeat domain-containing protein 1	Localized to myopalladin/titin complex	NA	NA
CSRP3 ^{66,67}	Cysteine and glycine-rich protein 3 (cardiac LIM protein)	Z-disc protein; stretch sensor	<1%	NA
MYBPC3 ^{68,69}	Cardiac-type myosin-binding protein C	Muscle contraction	2%	Hypertrophic cardiomyopathy
MYH6 ^{70,71}	Myosin-6 (α-myosin heavy chain)	Muscle contraction	4%	NA
MYH7 ^{68,69,71,72}	Myosin-7 (β-myosin heavy chain)	Muscle contraction	4%	Laing distal myopathy, hypertrophic cardiomyopathy
MYP1 ⁷³	Myopalladin	Z-disc protein	3–4%	NA
TCAP ^{64,74}	Telethonin (titin cap protein)	Z-disc protein; sarcomere assembly	1%	LGMD2G
TNNC1 ^{75,76}	Cardiac muscle troponin C	Muscle contraction	<1%	NA
TNNI3 ^{75,77,78}	Cardiac muscle troponin I	Muscle contraction	<1%	NA
TNNI3K ^{76,77,79,80}	Cardiac muscle troponin T	Muscle contraction	3%	Hypertrophic cardiomyopathy
TPM1 ^{75,81,82}	α-Tropomyosin	Muscle contraction	<1%	Hypertrophic cardiomyopathy
TTN ^{86-88,83}	Titin	Extensible scaffold	25%	Udd distal myopathy, hypertrophic cardiomyopathy
Cytoskeleton				
DES ^{84,85}	Desmin	Transduces contractile forces	<1%	Desminopathy, myofibrillar myopathy
DMD ^{86,87}	Dystrophin	Transduces contractile forces	NA	Dystrophinopathies (Duchenne muscular dystrophy, Becker muscular dystrophy)
ILK ⁸⁸	Integrin-linked protein kinase	Intracellular serine–threonine kinase; interacts with integrins	<1%	NA
LAMA4 ⁸⁹	Laminin subunit α ₄	Extracellular matrix protein	1%	NA
LDB3 ^{47,89}	LIM domain-binding protein 3 (protein cypher, ZASP)	Cytoskeletal assembly; clustering of membrane proteins	1%	NA
PDLIM3 ⁹⁰	PDZ and LIM domain protein 3	Cytoskeletal protein	<1%	NA
SGCD ⁹¹⁻⁹³	δ-Sarcoglycan	Transduces contractile forces	<1%	δ-Sarcoglycanopathy (LGMD2F)
VCL ^{72,94}	Vinculin	Sarcomere structure; intercalated discs	1%	NA
Nuclear envelope				
LMNA ^{43,95-206}	Lamin-A/C	Stability of inner nuclear membrane; regulation of gene expression	6%	Partial lipodystrophy, Charcot–Marie–Tooth disease type 2B1, Emery–Dreifuss muscular dystrophy, Hutchinson–Gilford progeria syndrome, LGMD1B
TMPO ¹⁰⁷	Thymopoietin	Lamin-associated nuclear protein	1%	NA
γ-Secretase activity				
PSEN1 ¹⁰⁸	Presenilin-1	Transmembrane protein, γ-secretase activity	<1%	Alzheimer disease
PSEN2 ¹⁰⁸	Presenilin-2	Transmembrane protein, γ-secretase activity	<1%	Alzheimer disease
Ion channel				
ABCC9 ⁹²	ATP-binding cassette subfamily C member 9 (sulfonylurea receptor 2)	K _v 5.2 regulatory subunit; inwardly rectifying cardiac K _{ir} channel	<1%	NA
SCN5A ^{66,109,110}	Sodium channel protein type 5 subunit α	Controls Na ⁺ flux	2–3%	Long QT syndrome
Mitochondrial				
TAZ (G4.5) ^{111,112}	Tafazzin	NA	NA	Barth syndrome, endocardial fibroelastosis type 2, familial isolated noncompaction of the left ventricular myocardium
Spliceosomal				
RBM20 ^{113,114}	RNA-binding protein 20	Spliceosome protein; regulates splicing of several cardiac genes	2%	NA
Sarcoplasmic reticulum				
PLN ^{21,115-118}	Phospholamban	Sarcoplasmic reticulum Ca ²⁺ regulator; inhibits SERCA2a pump	<1%	NA
Desmosomal				
DSC2 ¹¹⁹	Desmocollin-2	Component of desmosomal junction	NA	Arrhythmic right ventricular cardiomyopathy
DSG2 ¹¹⁹	Desmoglein-2	Component of desmosomal junction	NA	Arrhythmic right ventricular cardiomyopathy
DSP ¹¹⁹	Desmoplakin	Component of desmosomal junction	NA	Arrhythmic right ventricular cardiomyopathy
Other				
BAG3 ^{120,121}	BAG family molecular chaperone regulator 3	Inhibits apoptosis	NA	Myofibrillar myopathy
CRYAB ¹²²	α-Crystallin B chain	Cytoskeletal protein	<1%	NA
EYA4 ¹²³	Eyes absent homolog 4	Transcriptional coactivator	NA	NA

Abbreviations: LGMD, limb girdle muscular dystrophy; NA, not applicable or not available; SERCA2a, sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase 2a.

Ces mutations n'expliquent qu'un faible pourcentage des cas familiaux. Ce sont les mutations du gène codant la chaîne lourde de la myosine (MYH7) qui sont les plus fréquentes, mais elles sont trouvées chez moins de 10 % des cas familiaux, ce qui rend la recherche de mutation dans un contexte diagnostique très limitée.

Une attention particulière est à porter sur le gène LMNA, codant la lamine A/C qui est impliqué dans 15% des cardiomyopathies dilatées avec troubles de la conduction auriculoventriculaire. Devant un phénotype évocateur, il est à tester en priorité de par les troubles rythmiques particulièrement graves qui sont associés avec les mutations.

Non compactions du ventricule Gauche :

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 11/27

Numéro de version : **2.0**

L'analyse génétique des NCVG est beaucoup plus récente que celle des autres cardiomyopathies. Le spectre des gènes est très large. Les mutations pathogènes impliquent des protéines sarcomériques et de la bande Z, du cytosquelette, de la mitochondrie.... (Table 2)

Table 2 : gènes associés aux non compactons du VG

Table 1 Genetic derangements associated with LVNC

Mutations	Associated disorders
Xq28 regio – G4.5 gene	Barth syndrome Dilated cardiomyopathy Hypertrophic cardiomyopathy
Cytoskeletal genes	
alpha-dystrobrevin gene	Congenital heart disease
Sarcomeric genes	Hypertrophic cardiomyopathy
MYH7	MYH7 is also associated with Ebstein anomaly
ACTC	
TNNT2	
Z-line protein genes	Dilated cardiomyopathy
Cypher/ZASP	
Nuclear membrane	
Lamin A/C	Dilated cardiomyopathy
NOTCH pathway	/
MIB1 mutation	
Ion channel genes	
HCN4 mutations	Familial sinus node dysfunction
RyR2 exon 3 deletion	Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, dilated cardiomyopathy
Mitochondrial mutations	/
Chromosomal	/
1p36 deletion	
22q11.2 deletion	
Turner syndrome	

Cardiomyopathies arythmogènes du ventricule droit:

La plupart des variants génétiques pathogènes associés à ARVC ont été identifiés dans les gènes codant pour des protéines du desmosome, qui sont des structures cellulaires pour la membrane cellulaire, qui sont cruciaux pour assurer l'intégrité structurelle et fonctionnelle aux cellules adjacentes dans le myocarde. Cependant, les défauts moléculaires spécifiques causés par ces variants génétiques pathogènes ne sont pas complètement compris.

Actuellement, près de 60% des cas diagnostiqués cliniquement montrent au moins une variation génétique pathogène responsable de la maladie après le dépistage génétique complet de 13 gènes associés à la DVDA. Ces gènes codent pour des protéines desmosomales: plakophiline-2 (pKP2) desmoplakine (DSP), desmocolin-2 (DSC2), desmoglène-2 (DSG2) et plakoglobine-PG-codée par le gène JUP; et les protéines non-desmosomales: protéine transmembranaire 43 (Tmem43), facteur de croissance transformant bêta-3 (TGFB3), caténine alpha-3 (CTNNA3), desmine (DES), lamine A / C (LMNA), titine (TTN), phospholambane (PLN) et du canal sodium (SCN5A)

La plupart des variants génétiques pathogènes signalés ont un mode autosomique dominant, mais, dans certains cas, un mode récessif a également été décrit.

Comme dans les autres phénotypes, des cas de digénisme ont été décrits et rendent le phénotype plus sévère.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

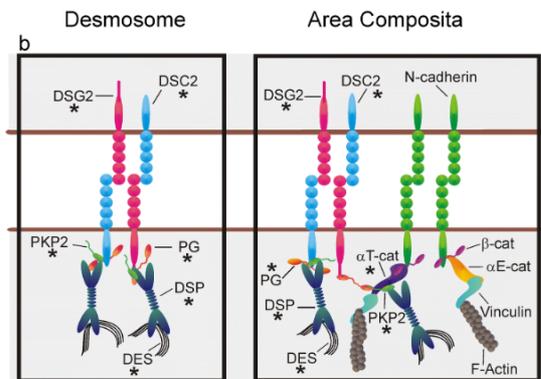
Référence : **ANPGM_030**
Page 12/27

Numéro de version : **2.0**

Gènes associés au phénotype de CVDA, mode transmission et fréquence (Clin Res Cardio, 2015)

Genes associated with ARVC. AD: autosomal dominant

Gene	Locus	Protein	Inheritance	Prevalence (%)
PKP2	12p11	Plakophilin-2	AD/AR	30-40
DSP	6p24	Desmoplakin	AD/AR	10-15
DSG2	18q12.1	Desmoglein-2	AD/AR	3-8
DSC2	18q21	Desmocollin-2	AD/AR	1-5
JUP	17q21	Junction plakoglobin	AD/AR	<1
TTN	2q31	Titin	AD	<1
TMEM43	3p25.1	Transmembrane protein 43	AD	<1
TGFB3	14q24	Transforming growth factor beta-3	AD	<1
PLN	6q22.1	Phospholamban	AD	<1
LMNA	1q22	Lamin A/C	AD	<1
DES	2q35	Desmin	AD	<1
CTNNA3	10q22.3	Alpha-T-catenin	AD	-
SCN5A	3p22.2	Sodium channel, voltage-gated, type V, alpha subunit	AD	-



Cardiomyopathies syndromiques:

Gènes à inclure dans les panels permettant le diagnostic différentiel (Cardiovascular Research, 2015)

	Gene	Location	Frequency (%)
Non-sarcomeric genes associated with cardiac hypertrophy	Gene	Associated phenotypes	Transmission/Frequency
Protein kinase, AMP-activated, gamma 2 subunit	PRKAG2	Wolff-Parkinson-White	Dominant/

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 13/27

Numéro de version : **2.0**

		syndrome	rare
Lysosomal-associated membrane protein 2	<i>LAMP2</i>	Danon disease	Dominant/rare
Galactosidase, alpha	<i>GLA</i>	Fabry	X Linked/1–2% of males
Four and a half LIM domains 1	<i>FHL1</i>	FHL1-related diseases	X Linked/rare
Transthyretin	<i>TTR</i>	Amylose	Dominant
Glucosidase, alpha	<i>GAA</i>	Pompe	Recessive/rare
Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11	<i>PTPN11</i>	Noonan	Dominant/rare
Frataxin	<i>FXN</i>	Friedreich	Recessive/rare

IMPORTANT : Une attention particulière est à porter au gène *TTN* codant pour la Titine. La titine (OMIM: 188840) est une protéine géante assurant la stabilité du sarcomère et s'étendant de la strie Z jusqu'à la bande A. Le gène *TTN* (NM_133378) contient 363 exons, et l'ARNm mesure 3574 bases. Ce gène est décrit dans des phénotypes de cardiopathies isolées, de myopathies ou de formes mixtes cardiopathies et myopathies. Son mode de transmission peut être dominant ou récessif. C'est le dans lequel le plus grand nombre de variants sont identifiés quel que soit le sous-phénotype de Cardiomyopathie.

En conclusion des analyses moléculaires avant l'introduction du NGS en pratique diagnostique, 60% des patients avec CMH et 80% des patients CMD testés ne présentent pas d'anomalies causales de leur maladie et restent donc sans diagnostic moléculaire.

Plusieurs hypothèses sont envisageables pour les patients restés sans identification d'anomalie moléculaire :

- erreur de diagnostic initial
- existence possible de mutations dans des régions non explorées des gènes (séquences promotrices, séquences introniques profondes, séquences régulatrices en 5' ou 3')
- mutations non décelées par les techniques utilisées classiquement (délétions multiexoniques)
- implication de gènes non encore identifiés.
- Sensibilité non absolue des techniques utilisées

En conséquence, l'absence d'identification de mutation ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic qui reste clinique.

Toutefois, l'identification d'une mutation dans un gène précis permet une meilleure prise en charge des patients en anticipant les complications ne particulier rythmiques et de faire le conseil génétique familial.

Corrélations génotype-phénotype

Cardiomyopathie Hypertrophique : Les analyses de cohortes ont permis d'étudier la corrélation génotype-phénotype au sein des CMH. Les premières études ont été menées sur les gènes du sarcomère uniquement. Grâce à l'utilisation des technologies de séquençage haut débit et à l'analyse d'un plus grand nombre de gènes, ces premières observations ont été dupliquées et la participation des gènes non sarcomériques a été mieux évaluée. Deux études récentes dans lesquelles des patients atteints de CMH ont bénéficié de l'analyse moléculaire d'une vingtaine de gènes retrouvent un début plus précoce de la maladie chez les patients porteurs de mutations dans des gènes sarcomériques, versus ceux porteurs de mutations dans des gènes du cytosquelette ou des canaux ioniques. Dans ce groupe, l'histoire familiale et des morts subites sont retrouvées plus fréquemment, et l'hypertrophie est préférentiellement asymétrique et localisée sur le septum interventriculaire.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : ANPGM_030
Page 14/27

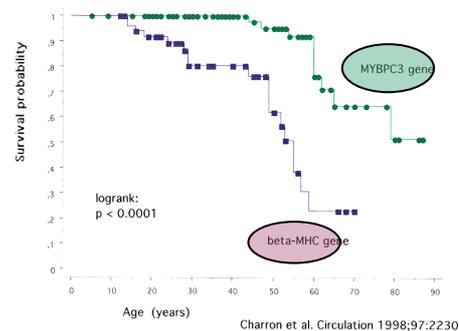
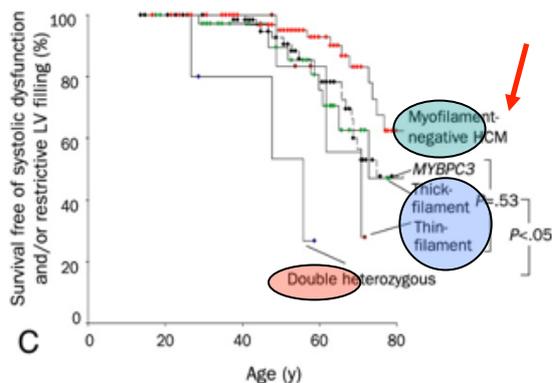
Numéro de version : 2.0

Chez les patients porteurs de mutations dans les gènes des canaux ioniques, l'épaisseur septale est inférieure à celle retrouvée chez les patients porteurs de mutations dans d'autres groupes de gènes. En outre, chez les patients porteurs de mutation dans les gènes du cytosquelette la prévalence des tachycardies ventriculaires non soutenues est plus importante et le grade d'insuffisance cardiaque est moindre.

Quelques éléments de relations entre les génotypes et les phénotypes sont décrits mais ne sont pas exhaustifs. Une grande variabilité phénotypique peut être observée pour un gène donné entre familles et au sein d'une même famille.

Les mutations du gène MYH7 semblent associées à des phénotypes sévères, d'âge de début plus précoce et d'évolution plus péjorative que les mutations du gène MYBPC3.

D'un point de vue moléculaire, les mutations du gène TNNT2 sont associées à une hypertrophie septale très modérée mais un plus grand risque de mort subite de par le plus grand risque arythmogène. Chez les patients porteurs de mutations de la TNNT3, l'hypertrophie est variable, mais le risque de mort subite reste important.



Cardiomyopathie dilatée : Très peu d'études de corrélation entre la sévérité du phénotype et le gène/la mutation identifiée ont été réalisées, probablement à cause de la grande hétérogénéité génétique de ce phénotype.

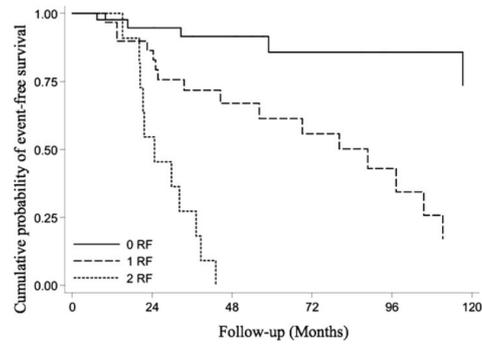
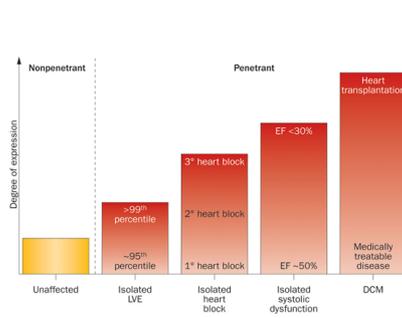
Les seules études à grande échelles concernent les L-CMD, impliquant le gène LMNA pour lequel plus de 450 mutations ont été décrites et qui représente une entité bien décrite. La fréquence des mutations LMNA au sein des CMD familiales ou sporadiques est de l'ordre de 7-10%. Le gène LMNA est largement étudié et semble être associé à des phénotypes sévères avec des troubles rythmiques fréquents qui en font toute la gravité.

Pénétrance et expressivité des cardiomyopathies dilatées associées au gène LMNA.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

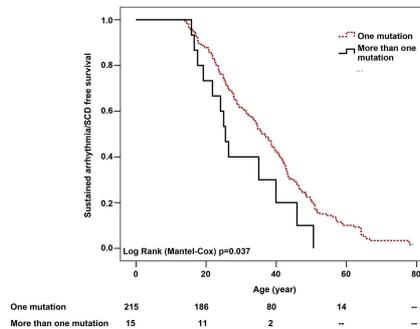
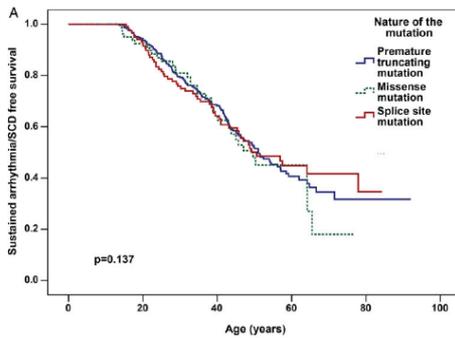
Référence : ANPGM_030
Page 15/27

Numéro de version : 2.0



Cardiomyopathie arythmogène du VD :

Peu d'études sont disponibles sur les corrélations génotype phénotype des CVDA. Les mutations tronquantes de PKP2 ont été décrites comme étant plus souvent associées avec des morts subites. Cette observation n'est pas confirmée par des études récentes de grosses cohortes. (A. Bhonsale et al., Genotype–phenotype correlation in ARVD/C, European Heart Journal (2015) 36, 847–855)



Digénisme : Dans tous les phénotypes de cardiopathies, l'analyse simultanée de plusieurs gènes a montré que dans 10% des cas, deux mutations pathogènes pouvaient être retrouvées (soit dans le même gène, soit dans deux gènes différents), et sont associées à un phénotype plus sévère. Enfin, lorsque les patients sont porteurs de deux variants pathogène le phénotype est plus sévère avec une hypertrophie plus importante et une augmentation de la prévalence des syncopes. Dans les gènes majeurs c'est 10 % de doubles mutés. Le phénotype est plus sévère avec une hypertrophie plus marquée voir d'emblée un phénotype de cardiomyopathies dilatées.

Dans ces situations de patients avec particulière gravité (Anarsaque, morts fœtales in utéro, Cardiopathies anté natales et néonatales...) il est particulièrement important de rechercher d'emblée l'association de plusieurs mutations par l'analyse d'un panel étendu de gènes.

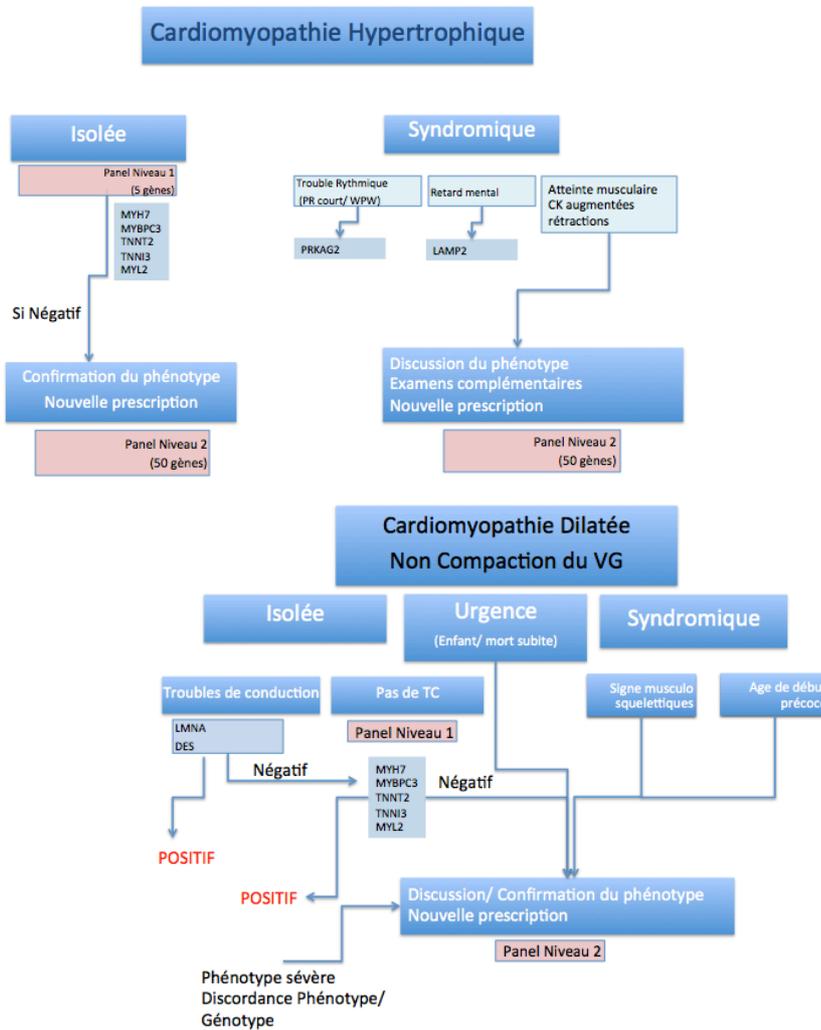
CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030** Numéro de version : **2.0**
 Page 16/27

4- Méthodes de diagnostic moléculaire

Arbre(s) décisionnel(s) pour la prise en charge

- *Diagnostic d'un cas index :*



Le panel de niveau 2 est d'emblée analysé dans les cas suivants :

- Si phénotype particulièrement grave : vérifier par panel de niveau 2 qu'une autre mutation n'est pas associée
- Si discordance phénotype / génotype intrafamilial : faire panel de niveau 2
- Morts subites récupérées ou non
- Formes de cardiomyopathies anté et/ou néonatales

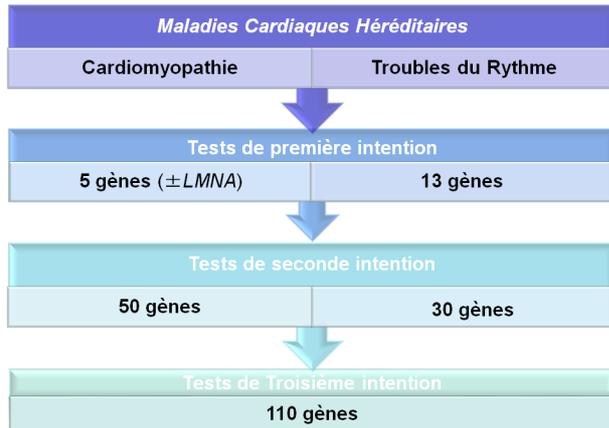
CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 17/27

Numéro de version : **2.0**

○

Arbre décisionnel de la prise en charge des cardiopathies par la technologie NGS



Analyses de niveau 1 : *Panel des 5 gènes majeurs (MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, MYL2).*

Le laboratoire de la Pitié salpêtrière a fait le choix d'utiliser la technologie **CARDIOMASTR (MULTIPLICOM)**

Technologie basée sur l'amplification multiplex des régions codantes des 5 gènes majeurs de CMH.

- Coordonnées des gènes testés en panel de niveau 1 (gènes sarcomériques majeurs)

Gène	protéine	OMIM	Nombres d'exons	Localisation Cytogénétique (HGNC)	Nombre de fragments analysés	NM-hg19	NP_
MYH7	Chaîne lourde b de la myosine	160760	41	14q11.2-q13	38	NM_000257	P12883
MYBPC3	Protéine C Cardiaque de liaison à la myosine	600958	35	11p11.2	35	NM_000256	Q14896
TNNT2	Troponine cardiaque	191045	17	1q32	16	NM_000364	P45379
TNNI3	Troponine I cardiaque	191044	8	19q13.4	8	NM_000363	P19429
MYL2	Chaîne légère régulatrice	160781	6	12q24.11	6	NM_000432	P10916

Ce panel de 5 gènes correspond au séquençage de 132 fragments incluant 10 fragments « contrôle » permettant une détection des CNVs.

Sa taille de de 26Kb permet d'analyser 96 patients simultanément et de les séquencer avec un séquenceur MiSeq sur une flow Cell de 600 pb (2 x 300 pb) V3 Illumina.

- Coordonnées du gène LMNA : dans les cardiomyopathies dilatées avec troubles de conduction en addition du panel niveau 1.

LMNA	Lamines A/C	150330	12	1q22	12	NM_170707	P02545
------	-------------	------------------------	----	------	----	-----------	--------

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 18/27

Numéro de version : **2.0**

Analyses de niveau 2 : Le laboratoire a fait le choix de la technologie de CAPTURE ciblée puis SEQUENCE avec un design réalisé par la société Nimblegen Roche.

- Coordonnées des gènes testés en panel de niveau 2 (toutes cardiomyopathies confondues)

Disease	Genes	Ref Seq	Chr	5'end	3'end	Exons codants	
CARDIOMYOPATHY	ABCC9	NM_020297	chr12	21950324	22089628	38	
CARDIOMYOPATHY	ACTC1	NM_005159.4	chr15	35082524	35087087	6	
CARDIOMYOPATHY	ACTN2	NM_001103.2	chr1	236849900	236926700	21	
CARDIOMYOPATHY	ANKRD1	NM_014391.2	chr10	92672442	92681119	9	
CARDIOMYOPATHY	BAG3	NM_004281.3	chr10	121410839	121437129	4	
CARDIOMYOPATHY	CRYAB	NM_001885.2	chr11	111777344	111785936	3	
CARDIOMYOPATHY	CSRP3	NM_003476.3	chr11	19203577	19232118	5	
CARDIOMYOPATHY	DES	NM_001927.3	chr2	220282977	220290839	9	
ARVC	DSG2	NM_001943.3	chr18	29078027	29128814	15	
ARVC	DSP	NM_004415.2	chr6	7541870	7586946	24	
CARDIOMYOPATHY	DTNA	NM_001390.4	chr18	32335940	32471808	21	
CARDIOMYOPATHY	EMD	NM_000117.2	chrX	153607727	153609706	6	
CARDIOMYOPATHY	FHL1	NM_001159702	chrX	135229559	135293518	6	
CARDIOMYOPATHY	FLNC	NM_001458.4	chr7	128470509	128498874	48	
BAV	GATA4	NM_002052.3	chr8	11559717	11619508	6	
FABRY	GLA	NM_000169.2	chrX	100652716	100663014	7	
CARDIOMYOPATHY	LAMA4	NM_001105206.2	chr6	112567861	112575879	38	
DANON	LAMP2	NM_002294.2	chrX	119564925	119603519	9	
CARDIOMYOPATHY	LDB3 (ZASP)	NM_007078.2	chr10	88428064	88493126	13	
CARDIOMYOPATHY	LMNA	NM_170707.2	chr1	156084211	156109122	12	
CARDIOMYOPATHY	MYBPC3	NM_000256.3	chr11	47353172	47374477	34	
CARDIOMYOPATHY	MYH6	NM_002471.3	chr14	23851199	23877486	37	
CARDIOMYOPATHY	MYH7	NM_000257.2	chr14	23881887	23903141	38	
CARDIOMYOPATHY	MYL2	NM_000432.3	chr12	111348763	111358463	7	
CARDIOMYOPATHY	MYL3	NM_000258.2	chr3	46899716	46904958	6	
CARDIOMYOPATHY	MYLK2	NM_033118.3	chr20	30407178	30422500	12	
CARDIOMYOPATHY	MYOZ2	NM_016599.3	chr4	120057000	120108000	5	
CARDIOMYOPATHY	MYPN	NM_032578.2	chr10	69549958	69640893	19	
CARDIOMYOPATHY	NEBL	NM_006393.2	chr10	21068903	21186531	28	
CARDIOMYOPATHY	NEXN	NM_144573.3	chr1	78153507	78181932	12	
CARDIOMYOPATHY	NKX2-5	NM_004387.3	chr5	172659365	172662212	2	
CARDIOMYOPATHY	PLN	NM_002667.3	chr6	118869380	118881908	1	
CARDIOMYOPATHY	PRKAG2	NM_016203.3	chr7	151251200	151575543	16	
CARDIOMYOPATHY	RBM20	NM_001134363.1	chr10	112404154	112598198	14	
ARVC	RYR2	NM_001035.2	chr1	237205702	237997288	105	
BRUGADA	SCN5A	NM_198056.2	chr3	38589553	38674850	27	
BARTH	TAZ	NM_000116.3	chrX	153639925	153649530	11	
CARDIOMYOPATHY	TCAP	NM_003673.3	chr17	37821516	37822450	2	
CARDIOMYOPATHY	TMPO = LAP2	NM_003276.2	chr12	98907351	98946156	4	

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 19/27

Numéro de version : **2.0**

CARDIOMYOPATHY	TNNC1	NM_003280.2	chr3	52485259	52488077	6	
CARDIOMYOPATHY	TNNI3	NM_000363.4	chr19	55663104	55669083	8	
CARDIOMYOPATHY	TNNT2	NM_001001430.1	chr1	201328136	201346828	15	
CARDIOMYOPATHY	TPM1	NM_001018005.1	chr15	63334757	63358273	10	
CARDIOMYOPATHY	TTN	NM_001256850.1	chr2	179390717	179672150	312	
AMYLOSE	TTR	NM_000371.3	chr18	29171745	29178781	4	
CARDIOMYOPATHY	VCL	NM_014000.2	chr10	75757872	75879914	22	
ARVC	PKP2	NM_004572.3	chr12	32943680	33049780	14	
Long QT Syndrome	HCN4	NM_005477.2	chr15	73612200	73661605	8	
CARDIOMYOPATHY	PDLIM3	NM_014476.4	chr4	186421815	186456712	8	
CARDIOMYOPATHY	MYOM1	NM_003803.3	chr18	3066805	3220106	37	ex 1 non codant
CARDIOMYOPATHY	ALPK3	NM_020778.4	chr15	85357911	85418712	14	

Ce design correspond au séquençage de 1138 régions codantes et 338200 paires de bases.

- *Etude chez les apparentés ; Diagnostic présymptomatique:*

Si une mutation est identifiée, lors d'une consultation de génétique, un dépistage de la mutation identifiée chez le cas index sera proposé aux apparentés qu'ils soient atteints ou non de la pathologie. Dans tous les cas, une consultation avec un psychologue est proposée et un délai de réflexion est nécessaire avant la réalisation du test génétique.

Lorsqu'une mutation d'un des gènes est identifiée chez un cas index, sa recherche peut être réalisée chez les apparentés par séquençage direct ciblé du fragment muté chez le cas index. Chez les **sujets atteints**, le diagnostic moléculaire constitue une confirmation de la maladie. Il peut être réalisé dans le cadre d'une consultation de génétique mais également par le clinicien spécialiste. Une prise en charge pluridisciplinaire est proposée. Le résultat permet de confirmer le diagnostic chez les apparentés atteints.

Chez les sujets asymptomatiques et/ ou présymptomatiques : La prescription de test pré-symptomatique est réalisée par des généticiens œuvrant au sein d'une équipe multidisciplinaire déclarée auprès de l'agence de Biomédecine (Décret n° 2008-321 du 4 avril 2008 relatif à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne ou à son identification par empreintes génétiques à des fins médicales). Chez les apparentés porteurs de mutation, une prise en charge cardiologique sera entreprise. Pour les apparentés non porteurs de la mutation, aucun suivi particulier ne sera effectué.

L'étude des parents peut également être utile pour confirmer le caractère *de novo* de la mutation pour certains cas sporadiques.

De même une étude de ségrégation familiale peut s'avérer nécessaire pour apporter un complément d'information sur le caractère délétère d'une anomalie génétique de signification inconnue (VSI).

Ces analyses de diagnostic d'apparentés symptomatiques ou non symptomatiques sont réalisées en double détermination avec en parallèle avec un témoin muté (ADN du cas index ou autre ADN porteur de la mutation) et un témoin négatif

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 20/27

Numéro de version : **2.0**

- Diagnostic prénatal.

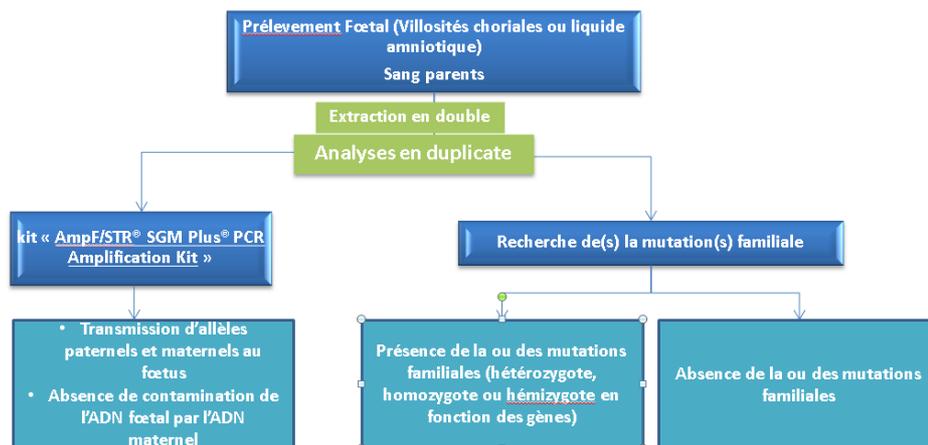
Le diagnostic prénatal (DPN) est autorisé en France pour les maladies d'une particulière gravité et incurables et encadré par la loi (Code de la santé publique - Article L2131-1). Les commissions pluridisciplinaires de diagnostic prénatal accèdent rarement à la demande de DPN des couples pour des cardiomyopathies. Toutefois lorsque la mutation est connue pour donner des formes précoces et sévères, un DPN peut être accepté. Le diagnostic préimplantatoire dans le cadre d'aide médicale à la procréation peut également être accepté. Dans chacun des cas, uniquement la mutation familiale portée par l'un des parents sera recherchée.

Il est réalisé dans l'UF de Cardiogénétique et Myogénétique après avis favorable du CPDPN.

Le clinicien organisant le DPN doit contacter ce laboratoire pour organiser les modalités de prélèvements et d'acheminement des échantillons : prélèvements du fœtus (villosités chorales ou liquide amniotique) ainsi que le prélèvement des deux parents.

Les prélèvements du fœtus peuvent être des villosités chorales ou du liquide amniotique. Il est accompagné du prélèvement sanguin des deux parents. L'ADN est extrait en double et analysé.

- Réalisation d'une analyse de marqueurs génétiques polymorphes. Permet de vérifier la ségrégation des marqueurs des parents au fœtus, de vérifier la paternité et de s'assurer de la non contamination de l'ADN foetal par l'ADN maternel.
- Séquençage direct de la mutation pathogène chez le fœtus et ses parents.



Résultats qualitatifs et quantitatifs de la stratégie adoptée

Analyses de niveau 1 :

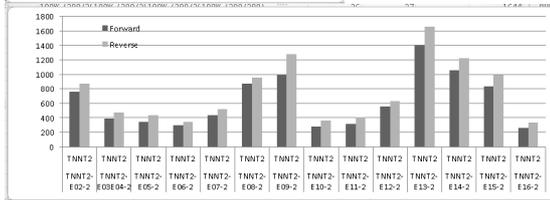
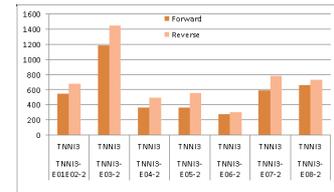
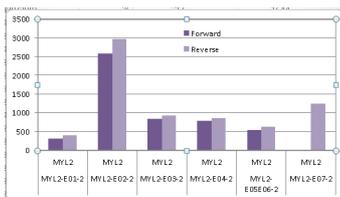
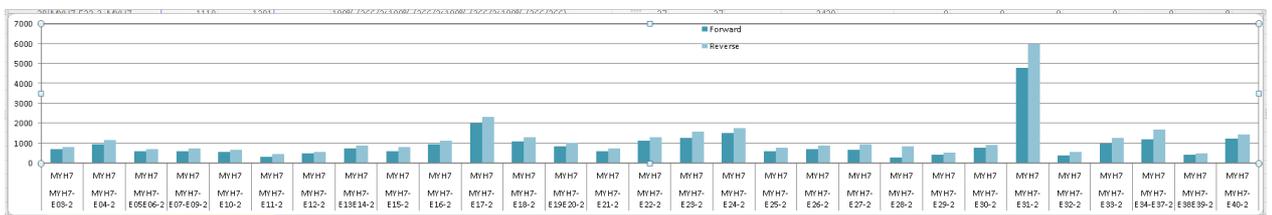
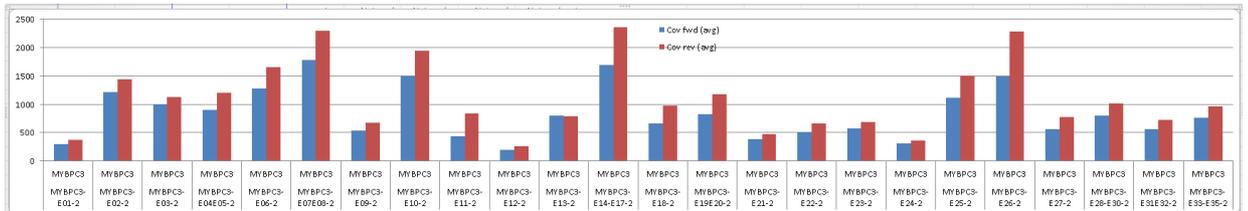
Le kit a été validé par des tests de répétabilité et de reproductibilité

- Tous les exons codants inclus dans le design du panel sont couverts avec une profondeur >100x. (couvertures ci-dessous)

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : ANPGM_030
Page 21/27

Numéro de version : 2.0



La détection des CNVs, se fait par chargement sur le site de la société multiplicom d'un fichier généré lors du séquençage (.tsv) dans le pipeline « CNVs Calculator ».

L'analyse des séquences est réalisée via le logiciel SeqPilot après réalignement des .fastq sur les cibles.

Analyses de niveau 2 :

La validation du panel a été faite sur un design de 1053 régions (298500bp) qui a été complété depuis. Elle donne les résultats suivants :

L'analyse des couvertures montre que les 1053 cibles sont correctement couvertes avec une profondeur minimale de 30x (seuil de validation) à l'exception d'une cible qui présente une couverture <10x (exon 7 du gène PRKAG2). La couverture par cible dépendra du nombre de patients multiplexés pour le séquençage, et de la flow-cell utilisée. En pratique diagnostique, nous utilisons les conditions suivantes :

- Capture par multiplexage de 8 patients puis séquençage par 8 patients sur Flow cell de 300 pb
- Capture par multiplexage de 8 patients puis séquençage par 16 ou 24 patients sur Flow cell de 500 pb

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : ANPGM_030
Page 22/27

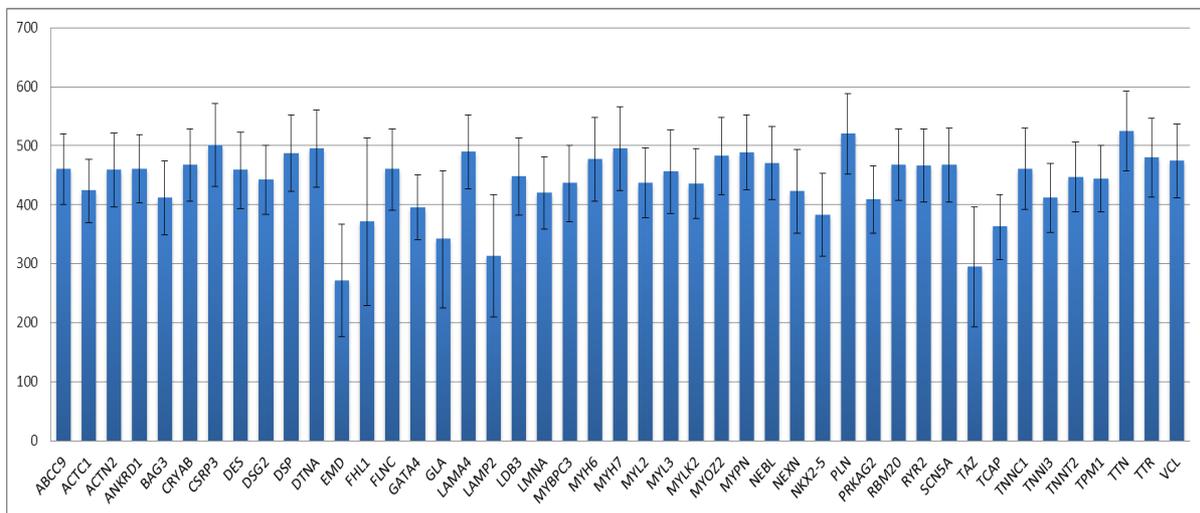
Numéro de version : 2.0

Couverture moyenne par cible et nombre de cible non couvertes par type de flow cell utilisées.

Flow cell	Couverture moyenne (ET)	Nombre de cibles <30x	Nombre de cibles < 200x (ET)
8 patients sur 2*150 cycles (n=4)	647x (69)	1	9 (8)
16 patients sur 2*250 cycles (n=2)	633 x (237)	1	5,5 (2)
24 patients sur 2*250 cycles (n=2)	467x (57)	1	55 (45)

L'étude de la couverture de chacun des gènes au sein d'un run montre une grande homogénéité de couverture (Figure ci-dessous). En effet pour un gène porté par un autosome, cette couverture varie de 350x à 550x pour le séquençage de 24 patients sur une flow-cell de 2*250 cycles. Les gènes portés par le chromosome X présentent une couverture inférieure chez les individus masculins. Cette homogénéité est essentielle pour assurer une bonne détection des remaniements génomiques plus larges de type CNVs.

*Exemple de couverture par gène pour une série de 24 patients séquençés sur une flow cell de 2*250 cycles.*



La répétabilité et la reproductibilité ont été analysées. Les résultats permettent d'utiliser ces réactifs dans un contexte diagnostique avec une grande fiabilité et robustesse.

Confirmation technique des variants

Tous les variants considérés comme potentiellement pathogènes sont vérifiés par la technique de Sanger à partir de l'ADN source pour s'assurer qu'il n'y a pas eu d'inversion ou de contamination d'ADN lors des étapes techniques de NGS.



CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : ANPGM_030 Numéro de version : 2.0
Page 23/27

Les variants de type CNVs sont vérifiés par la technique MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification). Des kits commerciaux MRC® (Amsterdam, The Netherlands) ont été utilisés pour la confirmation des CNV retrouvés dans les gènes *MYBPC3* (SALSA MLPA P100 *MYBPC3* probemix), *MYH7* (SALSA MLPA P196 *TNNT2-BAG3* probemix) et *TNNT2* (SALSA MLPA P196 *TNNT2-BAG3* probemix).

La PCR quantitative peut être utilisée pour la confirmation des CNVs dans des gènes pour lesquels il n'existe pas de solutions commerciales.

4- Prescription des actes, Interprétation et rendu des résultats

Prescription des analyses

Dans le cadre de la filière des maladies cardiaques héréditaires CARDIOGEN, des feuilles de prescription ont été établies permettant au laboratoire de disposer des informations nécessaires à l'analyse et l'interprétation des données (modèle ci-dessous).

Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière - Charles Foix
Unité Fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique
 Centre de Génétique et Cytogénétique Moléculaire
<http://www.cgmc-psl.fr>

Praticien responsable : Dr. Pascale Richard
 Secrétaire : Mme Christèle Herrero ☎ (33) 1 42 17 76 47 / Fax (33) 1 42 17 76 18
 Laboratoire ☎ : (33) 1 42 17 76 06

Statut des prélèvements : 2 tubes de sang sur EDTA (bouchon violet) à conserver à température ambiante
Réception des prélèvements : du lundi au jeudi, de 9h à 17h ; le vendredi, de 9h à 12h

Adresse : 6-10 Rue la Peyronie
 Secteur Pitié
 47/83, boulevard de l'Hôpital
 75651 PARIS cedex 13

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES PERMETTANT D'ORIENTER LES ANALYSES :

Premiers symptômes : Age de début : _____ Age du diagnostic : _____

Manifestations Cliniques (Oui/non) : _____

Dyspnée Douleurs thoraciques Malaises Syncopes Mort subite

Autres cas dans la famille (précisez) : _____

Tests réalisés : ECG Echo IRM Test effort

Cardiomyopathie Type : Hypertrophique Septum : _____ mm Paroi Post. : _____ mm
 Dilatée FEVG : _____
 Restrictive
 Non compaction VG

Troubles Rythmiques : Troubles de conduction AV Oui Non BAV : _____
 PR court
 WPW Autre : _____

Signes associés : Ataxie Myopathique Oui Non Taux de CK : _____
 Autre(s) Signes : _____

ANALYSE(S) MOLECULAIRE(S) DEMANDEE(S)

ANALYSE(S) DE NIVEAU 1 : SCREENING DE GENES MAJEURS PAR SEQUENÇAGE A HAUT DEBIT
 Cardiomyopathie Hypertrophique Familiale
 Analyse des 5 gènes majeurs (MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNT3, MYL2) (Cotation : N351 ; RHN5570)
 Cardiomyopathie Dilatée Familiale
 Analyse des 5 gènes majeurs (MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNT3, MYL2) (Cotation : N351 ; RHN5570)
 Gène LMNA (BHN1500)
 Cardiomyopathies autres
 Gène PRKAG2 - cardiomyopathie hypertrophique associée au syndrome de Wolff Parkinson White (Cotation BHN1500) ;
 Gène LAMP2 - Maladie de DANGON (liée à FX) (BHN1500)
 Gène FHLL1 (liée à FX) (BHN1500)
 Gène DES (BHN1000)
 Gène BAG3 (BHN1000)

ANALYSE(S) DE NIVEAU 2 : SCREENING PAR NGS d'un panel élargi de gènes (46 gènes)
 (Après confirmation de l'hypothèse diagnostique et précisions phénotypiques nécessaires à l'interprétation)
 Cardiomyopathie Hypertrophique, Dilatée, restrictive, non compaction du ventricule Gauche (Cotation : N352 ; RHN 8170)

RECHERCHE DIRECTE DE MUTATION(S) CHEZ UN APPARENTE [A REMPLIR]
 Symptomatique non symptomatique 1er prélèvement 2ème prélèvement

Gène : _____ (Ou photocopie du résultat précédent) (Cotation : N353 ; BHN720)
 Mutation : _____

ATTESTATION DE CONSENTEMENT

Je soussigné, Dr. _____, certifie que, conformément au Code Civil (Art. 16-10) et au Code de la Santé Publique (Art. L1133-1 ou, pour le diagnostic prénatal, R2151-7), je suis en possession du consentement éclairé signé par le sujet dans le cadre du diagnostic moléculaire par de approches de séquençage à haut débit.

Date : _____ Signature : _____

CADRE RESERVE AU LABORATOIRE DE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DATE D'ARRIVEE : _____
 CONFORMITE DU PRELEVEMENT : Oui Non
 SI NON CONFORMITE : Tubes non étiquetés Discordance Tube et Feuille Pas de Consentement
 Service Preleveur : Oui Non Autre : _____

DEMANDE DE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE EN CARDIOLOGIE

Etiquette ID du Patient	Etiquette ID du prescripteur	Etiquette UH du service (pour les hôpitaux de l'APHP)	Emplacement réservé au laboratoire
PRESCRIPTEUR (SENIOR) Nom et prénom : _____ Service : _____ Institution : _____ Adresse : _____ Téléphone : _____ Fax : _____ courriel : _____	PRELEVEUR Nom et prénom : _____ Service : _____ Date : _____ Adresse : _____ Heure : _____		

PATIENT Sexe : _____ M F Uli apparemment n'a-t-il déjà été prélevé dans le but de réaliser une étude moléculaire liée au diagnostic évoqué chez le patient ? non oui

Nom : _____ Si oui, indiquez ci-dessous :
 Prénom : _____ Les nom et prénom de l'apparenté :
 Nom de jeune fille : _____ Le laboratoire où le prélèvement a été envoyé :
 Date de naissance : _____ Consanguinité des parents : non oui
 Lieu et pays de naissance : _____ Mode de transmission : Familial sporadique
 Origine Ethnique : _____
 Nature du prélèvement : Sang ADN Autre (préciser) : _____

DOCUMENTS A JOINDRE IMPERATIVEMENT AVEC LA DEMANDE

- Bon de commande de l'établissement prescripteur
- Autre génésique (si jointe)
- Consentement écrit (à joindre ou remplir sur la feuille)

INDICATION DU DIAGNOSTIC MOLECULAIRE

Sujet à risque : symptomatique non symptomatique
 1er prélèvement 2ème prélèvement

DIAGNOSTIC DE CONFIRMATION DU PHENOTYPE
 CONSEIL GENETIQUE :
 DIAGNOSTIC PRESYMPTOMATIQUE (l'analyse moléculaire est effectuée seulement si la personne est prise en charge dans le cadre d'une consultation pluridisciplinaire déclarée)
 DIAGNOSTIC PRENATAL :
 La date du prélèvement doit être fixée avec l'obstétricien et un praticien du laboratoire. Les prélèvements de deux parents doivent être envoyés dès la décision du diagnostic prénatal.

Sujet non à risque (conjoint)

Interprétation des variants

Plusieurs critères d'interprétation et de validation des variants identifiés sont utilisés : en dehors de la cohérence avec la symptomatologie, sont considérés des aspects tels que la nature de l'altération dans la protéine (perte ou gain de

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 24/27

Numéro de version : **2.0**

fonction), la région affectée dans la protéine, les corrélations génotype-phénotype (le changement protéique explique-t-il la pathologie ? le phénotype associé à cette variation est-il présent chez le patient ?). Depuis la mise en œuvre du NGS en diagnostic, ces recommandations ont été reprises et complétées en prenant en compte les prédictions *in silico* de la conséquence de la variation pour les variants faux sens, les conséquences sur l'épissage (saut d'exon, perte ou inclusion de séquences introniques) et la fréquence du variant dans la population d'intérêt, un variant dont la fréquence étant $> 1\%$ étant considéré comme un polymorphisme non pathogène.

L'interprétation finale tiendra compte du mode de transmission de la pathologie, de la fréquence du variant identifié, de la conséquence de la variation sur les caractéristiques de la protéine, de la localisation du variant, de l'existence ou non d'études fonctionnelles.

Dans le cadre des cardiomyopathies, devant une transmission dominante, une prévalence de $0,2\%$ et des mutations privées, nous avons retenu les critères de tri suivants : fréquence du variant dans les bases de variants (ExAC) $< 0,05\%$, localisation de la variation dans des régions codantes et sites consensus d'épissage. Les variants introniques et les variants exoniques synonymes sont testés pour la création de sites cryptiques d'épissage avec les logiciels de prédiction *in silico* (SpliceSiteFinder like®, MaxEntScan®, NNSPLICE®, GeneSplicer® et Human Splicing Finder®). Ensuite, l'influence de la variation sur l'acide aminé et la protéine est prédite par des logiciels de prédiction *in silico* (GVGD®, PolyPhen®, MutationTaster®, et Sift®) sur les bases des caractéristiques biochimiques du nouvel acide aminé, la conséquence de la variation faux sens. La conservation phylogénétique de l'acide aminé est également considérée.

Enfin une étude de la littérature permettra d'argumenter le choix des variants pathogènes.

Variant pathogène : Un variant sera retenu comme pathogène si sa fréquence est $< 0,05\%$ dans les bases de données, et si tous les logiciels de prédiction donnent des arguments concordant en faveur d'un effet pathogène ou si ce variant a été décrit comme pathogène dans la littérature. Le variant sera également interprété pathogène lorsque la ségrégation de ce dernier a déjà été prouvée dans une famille connue du laboratoire.

Variant probablement pathogène : Un variant sera retenu comme probablement pathogène si fréquence est $< 0,05\%$ dans les bases de données, et si au moins $3/4$ des logiciels de prédiction donnent des arguments en faveur d'un effet pathogène. Dans cette catégorie, se trouvent le plus souvent de nouveaux variants non décrits dans la littérature.

Variant de signification inconnue : Un variant sera interprété comme de signification inconnue pour une fréquence $< 0,05\%$, avec $2/4$ des logiciels de prédiction donnant des arguments en faveur d'un effet pathogène et si il n'est pas rapporté dans la littérature. Dans ce cas, seule la ségrégation familiale (tous les atteints devront être porteurs de l'anomalie) permettra de conclure sur le caractère pathogène du variant.

Variant probablement bénin : Un variant sera interprété comme de probablement bénin pour une fréquence $< 0,05\%$, avec $1/4$ des logiciels de prédiction donnant des arguments en faveur d'un effet pathogène.

Variant non pathogène ou polymorphisme : les variants ne seront pas considérés comme pathogènes s'ils ont une fréquence $> 0,05\%$ et si tous les logiciels de prédiction donnant des arguments en faveur d'un effet bénin.

Cette stratégie de tri des variants est en accord avec les critères internationaux et adaptés à la problématique de la CMH.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 25/27

Numéro de version : **2.0**

A noter, en ce qui concerne le gène de la *TTN* (363 exons) : C'est le gène dans lequel le plus grand nombre de variants sont identifiés quel que soit le sous-phénotype de Cardiomyopathie. Il est décrit dans des phénotypes de cardiopathies isolées, de myopathies ou de formes mixtes cardiopathies et myopathies. Son mode de transmission peut être dominant ou récessif.

Par manque de données et de connaissances, l'interprétation se limite actuellement à certaines mutations ; seuls les variants non-sens dans une isoforme cardiaque sont actuellement considérés. L'interprétation des variants faux sens dans ce gène est impossible par manque de données dans les bases (fréquence allélique, prédictions in silico) et par manque d'études fonctionnelles sur la pathogénicité des variants. Ces variants sont classés en VSI.

La recherche de « Copy Number Variations » (CNV) est également effectuée sur le panel de capture par comparaison des couvertures normalisées par cibles pour l'ensemble des patients d'un run. Si le ratio est < 0.7 une délétion est suspectée, si le ratio est > 1.3 une duplication du fragment est suspectée.

Validation de la pathogénicité

La confirmation de la pathogénicité du variant se fera par l'étude de la coségrégation du variant au sein de la famille (toutes les personnes atteintes doivent être porteuses). Les patients asymptomatiques ne peuvent être considérés dans cette analyse de par la pénétrance variable de la maladie.

En pratique, chaque série est interprétée par deux personnes, et le résultat sera rendu après consensus avec consultation de la littérature au besoin.

Délais de rendu des résultats

Devant l'importante demande et le petit nombre de laboratoires réalisant ces tests, les criblages en NGS de première intention ont des délais de 6 mois à un an en fonction des centres et ceux de seconde intention de l'ordre de 1 – 1.5 an. Les diagnostics des apparentés sont rendus dans un délai de 4 à 6 semaines.

Conséquences du résultat (recommandations filière CARDIOGEN)

7. Dépistage familial.

Le dépistage familial s'impose chez tous les apparentés au 1^{er} degré à compter de l'âge de 10 ans (ou plus tôt en cas de mort subite précoce dans la famille, en cas de pratique de sport de compétition ou en cas de cause génétique pédiatrique) car la transmission est autosomique dominante dans la majorité des cas. La stratégie dépend de l'identification préalable ou non d'une mutation chez le cas index (propositus).

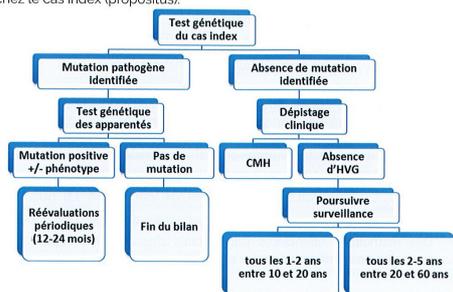


Figure 5. Algorithme pour le dépistage familial de la CMH.

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 26/27

Numéro de version : **2.0**

5- Cotation des actes selon le RIHN

Selon les forfaits inscrits à la nomenclature RIHN

14-3-1-Génétique constitutionnelle postnatale					
N315	Forfait Test fonctionnels ex vivo à partir de matériel issu du patient (ARN ou protéine)	BHN 500	135,00 €		
N350	Forfait séquençage haut débit (NGS) < 20 kb (cas index)	BHN 3270	882,90 €		
N351	Forfait séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb (cas index)	BHN 5570	1 503,90 €		Panel d'analyse de niveau 1 (5 gènes, 132 exons, 22kb)
N352	Forfait séquençage haut débit (NGS) > 100 kb et < 500 kb (cas index)	BHN 8170	2 205,90 €		Panel d'analyses de niveau 2 (52 gènes cardiomyopathies, 1139 exons, 300kb)
N353	Forfait recherche chez apparenté d'une mutation identifiée par NGS	BHN 720	194,40 €		

6- Laboratoires Nationaux effectuant ce diagnostic et activité diagnostique

EQUIPE	PRATICIEN	CHAMPS DIAGNOSTICS	NBRE CAS INDEX : APPARENTES : ANNEE 2014	NBRE CAS INDEX : APPARENTES : ANNEE 2015	PANELS UTILISES
NANTES	PR S. BEZIAU DR FLORENCE KYNDT	DVDA CARDIOPATHIES (EN COURS DE MISE AU POINT)	70/50	100/100	PANEL CARDIO NIVEAU 1 PANEL CARDIO NIVEAU 2
LYON	DR G. MILLAT	CMP	350/400	470/500	PANEL CARDIO NIVEAU 1 PANEL CARDIO NIVEAU 2
PARIS	DR P. RICHARD DR V. FRESSART	CMP DVDA	1666 (SANGER) /937 140	1512 (NGS)/1526	PANEL CARDIO NIVEAU 1 PANEL CARDIO NIVEAU 2 PED MASTR (RYTHMO NIV 2) PANEL CARDIO-RYTHMO
PARIS	DR JULIETTE ALBUISSON PR X. JEUNEMAITRE	CMP	NON REALISE	50/0	?
GRENOBLE	DR J. FAURE DR N. ROUX-BUISSON	DVDA	NON COMMUNIQUE	NON COMMUNIQUE	

CARDIOMYOPATHIES HEREDITAIRES

Référence : **ANPGM_030**
Page 27/27

Numéro de version : **2.0**

7- Références Bibliographiques (ordre alphabétique)

- Bhonsale et al., Genotype–phenotype correlation in ARVD/C, *European Heart Journal* (2015) 36, 847–855).
- Campuzano O, Alcalde M, Allegue C, Iglesias A, García-Pavía P, Partemi S, Oliva A, Pascali VL, Berne P, Sarquella-Brugada G, Brugada J, Brugada P, Brugada R. Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Med Genet.* 2013 May;50(5):280-9.
- Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, Hagege AA, Lafont A, Limongelli G, Mahrholdt H, McKenna WJ, Mogensen J, Nihoyannopoulos P, Nistri S, Pieper PG, Pieske B, Rapezzi C, Rutten FH, Tillmanns C, Watkins H. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2014 Oct 14;35(39):2733-79.
- Hershberger RE1, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol.* 2013 Sep;10(9):531-47.
- Ho CY, Charron P, Richard P, Girolami F, Van Spaendonck-Zwarts KY, Pinto Y. Cardiovasc Genetic advances in sarcomeric cardiomyopathies: state of the art. *Res.* 2015 Apr 1;105(4):397-408.
- Le Winter MM, Granzier HL. Cardiac titin and heart disease. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2014 Mar;63(3):207-12.
- Lopes LR, Syrris P, Guttman OP, O'Mahony C, Tang HC, Dalageorgou C, Jenkins S, Hubank M, Monserrat L, McKenna WJ, Plagnol V, Elliott PM. Novel genotype-phenotype associations demonstrated by high-throughput sequencing in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart.* 2015 Feb;101(4):294-301.
- Marcus FI, Edson S, Towbin JA. Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a practical guide for physicians. *J Am Coll Cardiol.* 2013 May 14;61(19):1945-8.
- Maron BJ, Ommen SR, Semsarian C, Spirito P, Olivetto I, Maron MS. Hypertrophic cardiomyopathy: present and future, with translation into contemporary cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol.* 2014 Jul 8;64(1):83-99.
- Millat G, Bouvagnet P, Chevalier P, Dauphin C, Jouk PS, Da Costa A, Prieur F, Bresson JL, Faivre L, Eicher JC, Chassaing N, Crehalet H, Porcher R, Rodriguez-Lafrasse C, Rousson R. Prevalence and spectrum of mutations in a cohort of 192 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Med Genet.* 2010 Sep-Oct;53(5):261-7.
- Richard P, Charron P, Carrier L, Ledeuil C, Cheav T, Pichereau C, Benaiche A, Isnard R, Dubourg O, Burbann M, Gueffet JP, Millaire A, Desnos M, Schwartz K, Hainque B, Komajda M; EUROGENE Heart Failure Project. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation.* 2003 May 6;107(17):2227-32.
- Seidman JG, Seidman C. The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms. *Cell.* 2001 Feb 23;104(4):557-67.
- Towbin JA. Inherited cardiomyopathies. *Circ J.* 2014;78(10):2347-56.
- Towbin JA, Lorts A, Jefferies JL. Left ventricular non-compaction cardiomyopathy. *Lancet.* 2015 Aug 22;386(9995):813-25.
- Wilde AA, Behr ER. *Nat Rev Cardiol.* Genetic testing for inherited cardiac disease. 2013 Oct;10(10):571-83.