

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2005-2006

N°101

THESE

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en Cardiologie et Pathologie Vasculaire

par

François Briec

né le 16 septembre 1975 à
Nantes

Présentée et soutenue publiquement le 24 janvier 2006

**TROUBLES DE CONDUCTION ISOLES PROGRESSIFS HEREDITAIRES :
Etude clinique et moléculaire de familles.**

Président : Monsieur le Professeur Hervé Le Marec

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Vincent Probst

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION	9
I.A. PRESENTATION DU SUJET	9
I.B. BASES ANATOMIQUES, ELECTROPHYSIOLOGIQUES ET ELECTROCARDIOGRAPHIQUES DE LA CONDUCTION CARDIAQUE	10
<i>I.B.1. Anatomie du tissu de conduction</i>	11
<i>I.B.2. Electrophysiologie : naissance et propagation de l'influx cardiaque</i>	13
I.B.2.a. Naissance de l'influx : automatisme du tissu nodal	13
I.B.2.b. Propagation de l'influx : mécanismes de la conduction cardiaque	15
<i>I.B.3. Electrocardiogramme</i>	17
I.B.3.a. ECG normal	17
I.B.3.b. Blocs auriculo-ventriculaires	18
I.B.3.b.1. Bloc du premier degré	
I.B.3.b.2. Bloc du deuxième degré	
I.B.3.b.2.a. Mobitz 1	
I.B.3.b.2.b. Mobitz 2	
I.B.3.b.2.c. Bloc de haut degré	
I.B.3.b.3. Bloc du troisième degré (ou bloc complet)	
I.B.3.b.3.1. Activité auriculaire	
I.B.3.b.3.b. Activité ventriculaire	
I.B.3.c. Blocs de branche	23
I.B.3.c.1. Blocs de branche complets	
I.B.3.c.1.a. Bloc de branche droit complet	
I.B.3.c.1.b. Bloc de branche gauche complet	
I.B.3.c.2. Blocs de branche incomplets	
I.B.3.c.2.a. Bloc de branche droit incomplet	
I.B.3.c.2.b. Bloc de branche gauche incomplet	
I.B.3.c.3. Blocs fasciculaires (hémiblocs)	
I.B.3.c.3.a. Hémibloc antérieur gauche	
I.B.3.c.3.b. Hémibloc postérieur gauche	
I.B.3.d. Blocs pariétaux	31
I.C. CLASSIFICATION DES TROUBLES DE CONDUCTION AURICULO-VENTRICULAIRES	32
<i>I.C.1. Troubles de conduction associés à des anomalies cardiaques structurales</i>	32

I.C.1.a. Défauts de septation cardiaque	33
I.C.1.b. Anomalies du cytosquelette	35
I.C.1.c. Anomalies des protéines kinases	36
<i>I.C.2. Troubles de conduction survenant sur un cœur apparemment sain</i>	37
I.C.2.a. Troubles de conduction acquis	37
I.C.2.a.1. Causes toxiques	
I.C.2.a.2. Causes auto-immunes	
I.C.2.b. Troubles de conduction héréditaires	38
I.C.2.b.1. Anomalies du gène <i>SCN5A</i>	
I.C.2.b.2. Anomalies des protéines kinases	
I.C.2.b.3. Anomalies de l'oxydation des acides gras	
I.C.2.b.4. Anomalies du cytosquelette	
I.C.2.b.5. Polymorphismes du gène codant la connexine 40	
I.D. HISTOIRE DES TROUBLES DE CONDUCTION HEREDITAIRES	46
<i>I.D.1. De la fin du XVIIIème siècle à la fin du XXème siècle : deux siècles d'observations</i>	46
<i>I.D.2. Le XXème siècle : émergence de la notion de troubles de conduction héréditaires</i>	47
<i>I.D.3. Des années 1990 à nos jours : l'ère de la biologie moléculaire</i>	50
II. MATERIEL ET METHODES	53
II.A. IDENTIFICATION DES FAMILLES	53
<i>II.A.1. Enquêtes chez les apparentés de patients ayant une histoire familiale</i>	53
<i>II.A.2. Approche d'épidémiologie génétique</i>	53
II.B. ENQUETE FAMILIALE	55
II.C. ENQUETE GENEALOGIQUE	55
II.D. DETERMINATION DU PHENOTYPE	55
II.E. DETERMINATION DU GENOTYPE	57
<i>II.E.1. Marqueurs génétiques utilisés</i>	57
<i>II.E.2. Extraction de l'ADN</i>	57
<i>II.E.3. Amplification par PCR</i>	57

<i>II.E.4. Résolution des allèles</i>	58
II.F. ANALYSE DE LIAISON	59
III. RESULTATS	61
III.A. FAMILLES IDENTIFIEES PAR UNE NOTION D'HISTOIRE FAMILIALE	61
<i>III.A.1. Etude de la famille B.</i>	61
III.A.1.a. Etude phénotypique de la famille B.	61
III.A.1.b. Etude génétique de la famille B.	63
<i>III.A.2. Etude de la famille R.</i>	68
III.A.2.a. Etude phénotypique de la famille R.	68
III.A.2.b. Etude génétique de la famille R.	70
<i>III.A.3. Etude de la famille C.</i>	71
III.A.3.a. Etude phénotypique de la famille C.	71
III.A.3.b. Etude génétique de la famille C.	73
<i>III.A.4. Etude de la famille G.</i>	75
III.A.4.a. Etude phénotypique de la famille G.	75
III.A.4.b. Etude génétique de la famille G.	77
<i>III.A.5. Etude de la famille N.</i>	77
III.A.5.a. Etude phénotypique de la famille N.	77
III.A.5.b. Etude génétique de la famille N.	79
<i>III.A.6. Etude de la famille M.</i>	80
III.A.6.a. Etude phénotypique de la famille M.	80
III.A.6.b. Etude génétique de la famille M.	81
III.B. FAMILLES IDENTIFIEES PAR UNE APPROCHE D'EPIDEMIOLOGIE GENETIQUE	82
<i>III.B.1. Répartition de l'origine géographique des patients implantés d'un stimulateur cardiaque</i>	82
<i>III.B.2. Enquêtes familiales réalisées dans la zone R</i>	83
<i>III.B.3. Etude de la famille Br</i>	84
III.B.3.a. Etude phénotypique de la famille Br	84
III.B.3.b. Etude génétique de la famille Br	85

IV. DISCUSSION	88
V. CONCLUSION	93
VI. REFERENCES	95
VII. ANNEXES	105
Annexe 1. Feuille de consentement de participation à l'étude génétique.....	106
Annexe 2. Avis favorable du Comité de Consultation pour la Protection de la Personne et des Biens pour le protocole de recherche «variabilité phénotypique et génétique des BAV progressifs et du syndrome de Brugada».....	107

I. INTRODUCTION

I.A. PRESENTATION DU SUJET

La maladie de Lenègre ou trouble de conduction cardiaque isolé progressif est une pathologie fréquente et potentiellement grave s'intégrant dans le cadre nosologique des troubles de la conduction cardiaque et plus généralement des arythmies cardiaques.

Elle est caractérisée par l'altération progressive de la conduction cardiaque dans le système de conduction spécialisé His-Purkinje survenant en l'absence d'atteinte macroscopique de l'architecture cardiaque.

Le plus souvent observée après la cinquantaine, la prévalence passant de 1% à 50 ans à 17% après 80 ans (Eriksson P. et Coll. 1998), elle est une cause de mort subite et représente le premier motif d'implantation de stimulateurs cardiaques parmi les 600 000 implantés chaque année dans le monde (Wood M.A. et Coll. 2002).

La description histologique de Lenègre faisait état d'une transformation fibreuse lente et progressive des deux branches du faisceau de His, volontiers proximale pour la branche gauche et totale pour la branche droite, alors que le myocarde commun avoisinant était normal et les artères septales perméables. Des calcifications du tronc et de la bifurcation du faisceau de His étaient parfois observées (Lenègre J. et Coll. 1963).

La maladie de Lenègre se traduit à l'électrocardiogramme par un bloc de branche droit, plus rarement gauche, et un bloc auriculo-ventriculaire plus ou moins complet. Dans la majorité des cas, l'affection débute par l'atteinte de la branche droite du faisceau de His, puis l'atteinte d'une hémibranche gauche précède de manière imprévisible le bloc auriculo-ventriculaire complet. Lorsque le bloc est complet, l'activité ventriculaire est commandée par le foyer d'échappement le plus rapide situé en dessous du siège du bloc, et est d'autant plus lente que le foyer d'échappement est bas situé.

Les manifestations fonctionnelles sont variables, étroitement liées au degré du bloc auriculo-ventriculaire, allant de l'absence de symptôme à la mort subite en passant par l'insuffisance cardiaque et les syncopes d'Adams-Stokes. Ces syncopes relèvent d'un ralentissement extrême du rythme d'échappement ventriculaire ou d'une pause ventriculaire complète par blocage subit de l'activité du foyer de remplacement. Le risque de mort subite, qui domine le pronostic, peut être prévenu par l'implantation au moment opportun d'un stimulateur cardiaque qui est actuellement le seul traitement disponible.

La physiopathologie reste mal connue : longtemps considérée comme une pathologie dégénérative primitive favorisée par le vieillissement ou une exagération de la fibrose physiologique affectant le tissu de conduction avec l'âge (Lenègre J. et Coll. 1963, Lev M. et Coll. 1964), l'existence d'un support génétique au moins dans certains cas est maintenant démontrée (Brink P.A. et Coll. 1995, De Meeus A. et Coll. 1995, Schott J.J. et Coll. 1995).

L'identification des gènes impliqués dans la maladie, qui passe par l'étude moléculaire des formes familiales, représente un espoir considérable, puisqu'elle a déjà permis d'améliorer notre connaissance des mécanismes physiopathologiques et sera peut-être à l'avenir à l'origine de nouvelles pistes thérapeutiques.

A côté de la famille de maladie de Lenègre héréditaire associée à une mutation dans le gène *SCN5A* décrite en 1999 (Schott J.J. et Coll. 1999), nous avons pu identifier d'autres familles atteintes de troubles de conduction isolés progressifs. Le travail que nous allons présenter ici décrit l'avancée de nos travaux sur plusieurs familles atteintes de troubles de la conduction dégénératifs de la région nantaise dont l'étude génétique est en cours.

Initialement, l'identification de ces familles résultait d'enquêtes familiales réalisées en cas d'identification de plusieurs cas familiaux de troubles de la conduction. Secondairement, nous avons développé une méthode plus systématique basée sur une approche d'épidémiologie génétique.

Avant de présenter nos travaux réalisés dans ces familles, nous allons rappeler des notions fondamentales d'anatomie, d'électrophysiologie et d'électrocardiographie de la conduction cardiaque, ainsi que des éléments de l'évolution des connaissances des troubles de conduction cardiaque jusqu'à ce jour.

I.B. BASES ANATOMIQUES, ELECTROPHYSIOLOGIQUES ET ELECTROCARDIOGRAPHIQUES DE LA CONDUCTION CARDIAQUE

Le système de conduction cardiaque spécialisé permet une contraction rapide et organisée du myocarde, indispensable pour assurer un débit cardiaque adapté aux besoins hémodynamiques de l'organisme. Il est composé de structures responsables de la formation et de la propagation de l'influx cardiaque. Il est présenté ici sous ses aspects anatomiques, électrophysiologiques et électrocardiographiques.

I.B.1. Anatomie du tissu de conduction

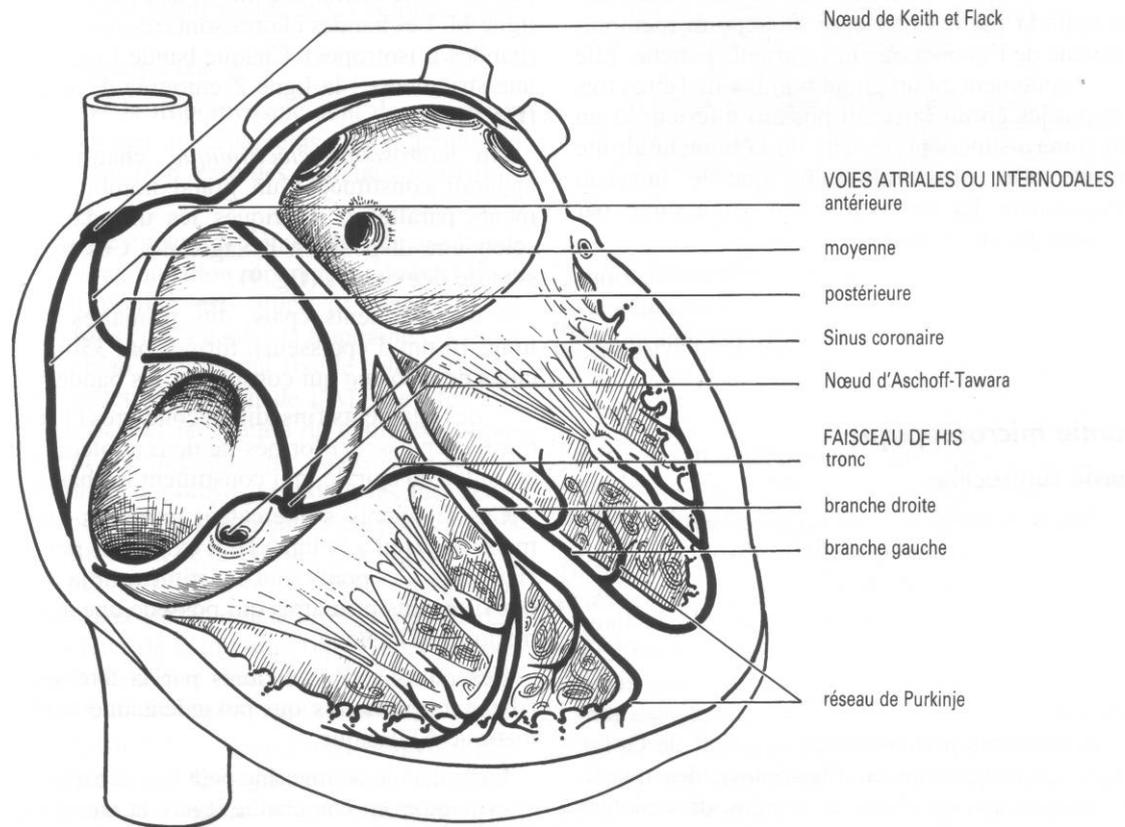


Figure 1 : Anatomie du tissu nodal (d'après Vacheron A. et Coll. 1999).

Localisation et désignation des structures constituant le tissu nodal.

Au sein du myocarde, on distingue la partie contractile, la plus importante, et une partie non contractile anatomiquement réduite, le tissu nodal, qui constitue le lieu d'origine de l'automatisme cardiaque et le système de conduction de l'onde d'activation. Il comprend plusieurs formations (figure 1) :

-Le nœud sino-auriculaire (ou nœud sinusal) de Keith et Flack est situé à la partie supérieure de l'oreillette droite à la jonction du *crista terminalis* auriculaire et de l'abouchement de la veine cave supérieure. De siège sous-épiqueur, il est en croissant à concavité supérieure, de 15 à 20 mm de long sur 5 mm de large. Il est connecté au nœud auriculo-ventriculaire d'Aschoff-Tawara par des faisceaux plus ou moins différenciés : internodal antérieur qui émet une branche, le faisceau de Bachmann, vers la partie supérieure de l'oreillette gauche, internodal moyen ou faisceau de Wenckebach et internodal postérieur ou faisceau de Thorel.

- Le nœud auriculo-ventriculaire d'Aschoff-Tawara est situé sous l'endocarde

de la cloison interauriculaire, à la partie inférieure de l'oreillette droite, devant l'orifice du sinus coronaire, derrière l'insertion de la valve septale de la tricuspide. Il mesure 3 à 5 mm de long sur 1 mm de large.

- Le tronc du faisceau de His se détache de la partie antérieure du nœud d'Aschoff-Tawara, se porte en avant sur la face droite du septum interventriculaire, pénètre dans le noyau fibreux central, atteint le bord inférieur du septum membraneux et se divise en deux branches, droite et gauche.

- La branche droite du faisceau de His continue la direction du tronc, sous l'endocarde de la face droite du septum, puis dans le myocarde, puis à nouveau sous-endocardique, dans la bandelette ansiforme, jusqu'au pilier antérieur de la tricuspide où elle se termine en deux à trois branches.

- La branche gauche du faisceau de His s'étale largement sous la partie antérieure du septum membraneux, proche de l'endocarde du ventricule gauche. Elle se divise rapidement en un grand nombre de fibres très fines disposées en un faisceau postéro-inférieur et un faisceau antéro-supérieur, proche de la branche droite. Le faisceau antéro-supérieur est plus vulnérable que le faisceau postéro-inférieur.

- Le réseau de Purkinje représente les ramifications terminales du tissu nodal dans la région sous-endocardique des deux ventricules. Il est difficilement individualisable chez l'homme.

Le nœud sino-auriculaire est constitué de cellules d'origine musculaire, entourées de collagène et de fibroblastes. Les cellules situées au centre du tissu ont un diamètre moyen de 10 μm et une longueur de 50 μm . À la périphérie, les cellules ont un diamètre voisin de 12 μm et une longueur de 90 μm . Les cellules situées au centre du tissu nodal contiennent peu de myofilaments. Ceux-ci sont répartis dans toutes les directions et ne présentent pas d'organisation en myofibrilles. La structure cellulaire devient progressivement plus régulière du centre nodal vers le tissu auriculaire, avec des myofilaments plus nombreux et de mieux en mieux organisés. Deux types de cellules sinusales capables, une fois isolées, de battre spontanément sont classiquement décrites : les cellules de type « fuseau » et les cellules de type « araignée ». A mesure que l'on descend vers les régions distales du faisceau de His, les cellules nodales pauvres en myofibrilles se raréfient au profit de cellules intermédiaires et de cellules semblables à celles du myocarde ventriculaire commun.

I.B.2. Electrophysiologie : naissance et propagation de l'influx cardiaque

I.B.2.a. Naissance de l'influx : automatisme du tissu nodal

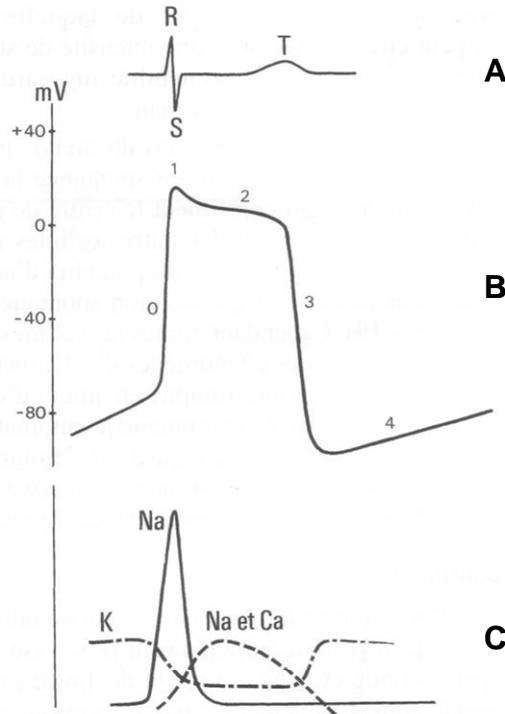


Figure 2 : *Potentiel d'action du tissu nodal (d'après Vacheron A. et Coll. 1999). Relation temporelle du potentiel d'action (B) avec l'électrocardiogramme (A) et les variations des conductances des ions Na, Ca et K (C).*

L'automatisme du tissu nodal est due à la dépolarisation diastolique spontanée de ses cellules qui amène progressivement le potentiel de membrane d'une valeur de - 90 millivolts en moyenne, à un seuil critique de l'ordre de - 70 millivolts à partir duquel se déclenche le potentiel d'action (figure 2).

Le potentiel d'action comporte une dépolarisation brutale (phase 0) amenant le potentiel transmembranaire à une valeur d'environ + 30 millivolts, puis une phase de repolarisation initiale (phase 1), une phase de dépolarisation maintenue en plateau (phase 2), une phase de repolarisation (phase 3) où le potentiel transmembranaire revient à sa valeur de repos, et enfin une phase de dépolarisation diastolique lente (phase 4). L'onde QRS de l'électrocardiogramme est contemporaine des phases 0 et 1, le segment ST correspond à la phase 2, l'onde T à la phase 3.

Les phénomènes électriques de la dépolarisation sont liés à des mouvements ioniques transmembranaires. A l'état de repos, il existe une perméabilité dominante pour le potassium

qui pénètre dans la cellule alors que le sodium et le calcium sont extracellulaires. La dépolarisation est due à une augmentation de perméabilité ou de conductance, d'abord rapide pour le sodium, puis plus lente pour le sodium et pour le calcium qui entrent dans la cellule, tandis que le potassium commence à en sortir. La repolarisation survient quand le courant sortant de potassium devient supérieur au courant entrant calcico-sodique. Le sodium et le calcium sont alors expulsés de la cellule par des pompes électrogènes fonctionnant grâce à une ATPase cellulaire et échangés avec le potassium.

Une cellule n'est excitable et capable de propager un influx que dans la mesure où son potentiel de membrane dépasse en valeur absolue le seuil de potentiel, c'est-à-dire lorsqu'il est compris entre - 70 et - 90 millivolts. Après chaque activation, la cellule présente une période réfractaire absolue d'inexcitabilité totale, à laquelle fait suite une période réfractaire relative alors que la repolarisation est encore incomplète puis une période d'excitabilité supernormale. C'est la période vulnérable qui correspond au sommet de l'onde T de l'électrocardiogramme, au cours de laquelle une réponse peut être obtenue avec une intensité de stimulation inférieure au seuil d'excitabilité myocardique. Enfin, l'excitabilité redevient normale.

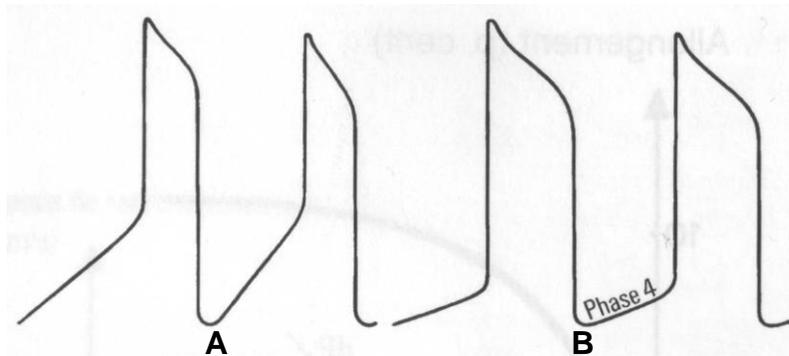


Figure 3 : *Potentiel d'action des cellules du tissu nodal (d'après Vacheron A. et Coll. 1999).*

A : cellules du nœud sinusal, B : cellules du tissu de conduction.

Normalement, ce sont les cellules du nœud sino-auriculaire qui ont la pente de dépolarisation spontanée la plus élevée (figure 3). Ce sont elles qui constituent le centre de commande du cœur. L'excitation des autres cellules automatiques est due à la propagation du potentiel d'action sinusal car leur pente de dépolarisation spontanée est plus faible. Cependant, toutes les cellules sont capables de présenter des phénomènes d'échappement quand la conduction est interrompue en amont. Cependant, leur fréquence de fonctionnement automatique est de plus en plus lente lorsque l'on s'éloigne du nœud sino-auriculaire. La

fréquence spontanée est d'environ 120 par minute dans le noeud sino-auriculaire et elle s'abaisse à 30 ou 40 par minute dans le faisceau de His.

I.B.2.b. Propagation de l'influx : mécanismes de la conduction cardiaque

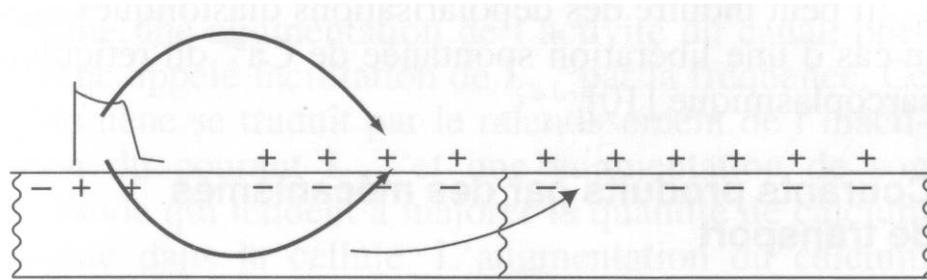


Figure 4 : *Courants locaux et propagation de l'excitation* (d'après Argibay J. 2002). La différence de potentiel entre la zone excitée et la zone au repos crée des courants électriques locaux (flèches) dont l'intensité décroît avec la distance (grosseur des flèches). Ceux-ci dépolarisent la zone au repos jusqu'au potentiel seuil du potentiel d'action. Les courants locaux peuvent diffuser d'une cellule à l'autre par les jonctions gap mais ils ne peuvent pas revenir dans le sens opposé, la zone étant inexcitable (période réfractaire).

Lors du potentiel d'action, l'ouverture des canaux sodiques rend le potentiel de membrane de la zone myocardique excitée positif par rapport aux zones myocardiques au repos adjacentes (figure 4). Ceci entraîne des courants ioniques à l'intérieur de la cellule (transporté principalement par des ions potassium), et au travers des jonctions gap. Des courants locaux, dans le sens opposé, circulent à l'extérieur de la cellule, ayant comme transporteurs de charges principalement les ions sodium et chlorure. Ces circuits locaux tendent à dépolariser la membrane cellulaire au repos jusqu'au potentiel seuil du potentiel d'action. Ceci correspond au point de potentiel où l'augmentation des conductances dépolarisantes (ouverture des canaux ioniques sodiques et calciques) dépasse les conductances hyperpolarisantes (potassiques, chlorures) de repos. Un nouveau potentiel d'action est ainsi déclenché dans la zone myocardique initialement au repos.

La répétition du phénomène de proche en proche est à l'origine de l'onde de dépolarisation (excitation) qui traverse le myocarde. Le retour en arrière du potentiel d'action, par ce même mécanisme, est empêché par l'existence d'une période réfractaire dans la zone de départ du potentiel d'action.

Ainsi, l'onde d'excitation qui naît normalement du nœud sinusal envahit le myocarde auriculaire à la vitesse d'un mètre par seconde et gagne le nœud de Tawara en se ralentissant considérablement dans sa portion juxta-auriculaire (5 centimètres par seconde). La lenteur de la conduction nodale est due à la dépolarisation partielle des cellules du nœud d'Aschoff-Tawara dont le potentiel diastolique n'est que de - 80 millivolts. L'onde d'excitation s'engage ensuite dans le faisceau de His où sa vitesse augmente à nouveau pour atteindre 4 mètres par seconde dans le réseau de Purkinje. L'activation ventriculaire débute par la face gauche du septum et s'étend au myocarde des parois ventriculaires en cheminant de l'endocarde vers l'épicarde, à la vitesse beaucoup plus lente de 20 centimètres par seconde.

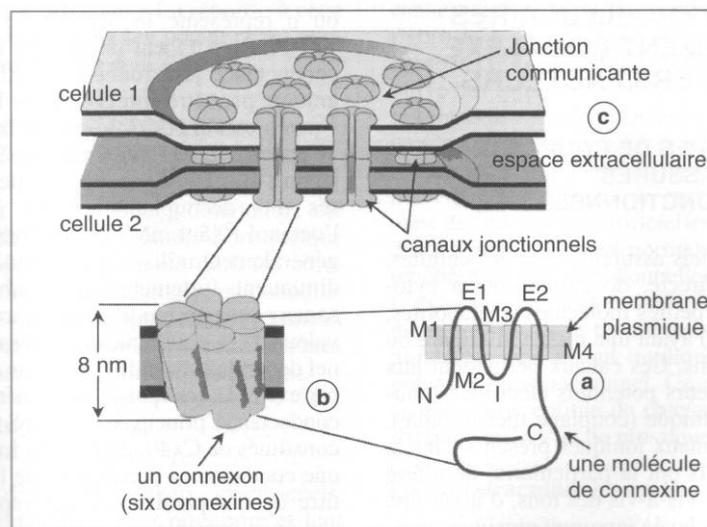


Figure 5 : Représentation schématique d'une jonction communicante et de ses constituants (d'après Gros D. et Coll. 2002).

a : les connexines sont des protéines transmembranaires à quatre segments transmembranaires (M1 à M4).

b : les connexines s'assemblent en hexamères pour former des canaux appelés connexons.

c : les connexons de deux cellules adjacentes s'arriment dans l'espace extracellulaire pour former des canaux jonctionnels qui assurent une communication directe entre les cytoplasmes des deux cellules. Les canaux s'agrègent pour former des jonctions communicantes dans lesquelles l'espace extracellulaire est réduit à 2-3 nm.

Le canal sodique voltage dépendant et les jonctions communicantes (ou jonctions gap) jouent un rôle déterminant dans la propagation du potentiel d'action au travers des oreillettes, du réseau His-Purkinje et des ventricules. La vitesse de conduction de l'onde de

dépolarisation dans ces tissus est dépendante notamment de l'amplitude du potentiel d'action et de la variation de potentiel en fonction du temps $(dV/dt)_{max}$, paramètres dépendants de la fonctionnalité et de la disponibilité du canal sodique, et de la résistance interne du tissu traversé, paramètre dépendant du nombre et de l'intégrités des jonctions gap. Les jonctions gap assurent le couplage fonctionnel et électrique de myocytes voisins. Elles sont constituées d'hémi-canaux jonctionnels, les connexons, eux-mêmes constitués de 6 sous-unités protéiques, les connexines (figure 5).

I.B.3. Electrocardiogramme

Le cheminement de l'onde d'excitation depuis son émission par le nœud sinusal jusqu'à son arrivée aux dernières portions du muscle ventriculaire explique la succession et la morphologie des ondes de l'électrocardiogramme.

L'onde P traduit l'excitation des oreillettes, l'intervalle PR correspond pour deux tiers environ au cheminement lent de l'excitation dans le nœud auriculo-ventriculaire et pour un tiers au cheminement plus rapide dans le faisceau de His et ses branches, le complexe QRS traduit l'excitation du myocarde ventriculaire et le segment ST et l'onde T traduisent la repolarisation ventriculaire.

I.B.3.a. Electrocardiogramme normal

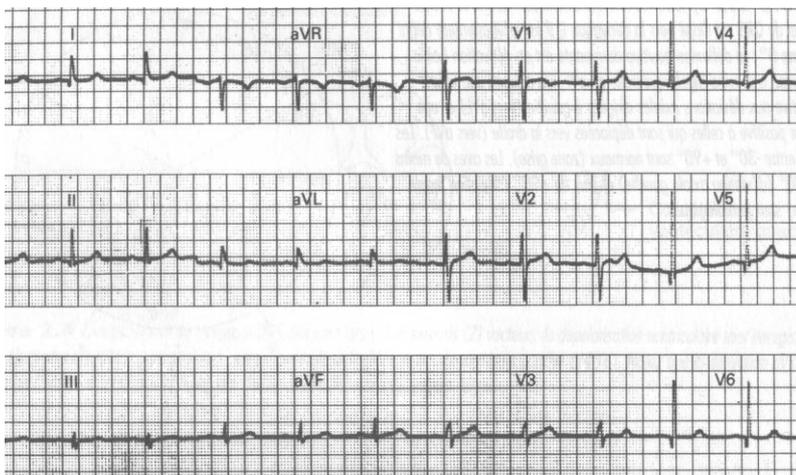


Figure 6 : *Electrocardiogramme normal.*

Electrocardiogramme 12 dérivations montrant un rythme sinusal avec un intervalle PR de durée normale (0.15 s) et un complexe QRS de durée et d'axe normaux (respectivement 0.8 s et $+30^\circ$).

La conduction auriculo-ventriculaire est normale lorsque chaque onde P est suivie d'un complexe QRS, l'intervalle PR est compris entre 0.12 et 0.20 s, la durée de QRS est inférieure à 100 ms et l'axe de QRS est compris entre -30° et $+90^{\circ}$ (figure 6).

I.B.3.b. Blocs auriculo-ventriculaires

I.B.3.b.1. Bloc du premier degré

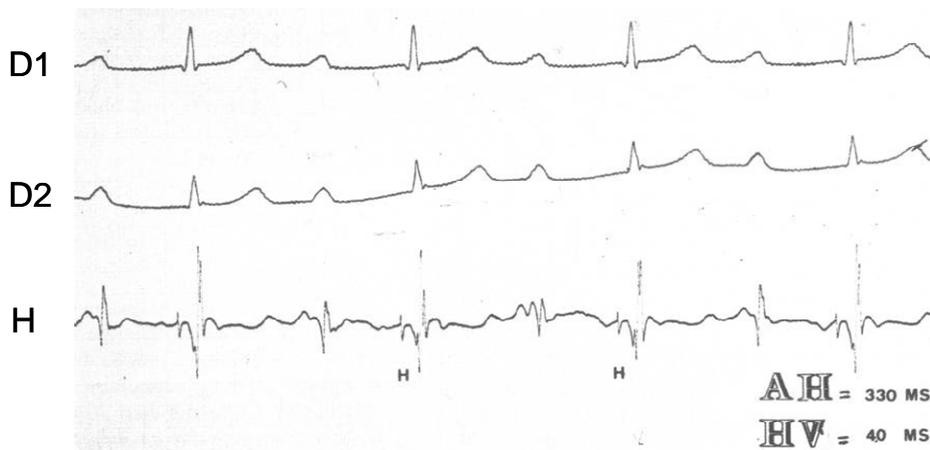


Figure 7 : Bloc auriculo-ventriculaire du premier degré.

D1 et D2 : ECG de surface, H : enregistrement endocavitaire du potentiel hissien (H : potentiel hissien, AH : temps de conduction auriculo-hissien, HV : temps de conduction His-ventricule).

Le ralentissement de la vitesse de conduction dans le nœud auriculo-ventriculaire se traduit par l'allongement de l'intervalle PR au-delà de 0,21 s. Cet allongement reste le plus souvent inférieur à 0,40 s, mais peut atteindre 0,80 s dans les cas extrêmes. Le tracé comporte autant d'ondes P que de complexes QRS (figure 7). Le siège du bloc, localisé par l'enregistrement hissien endocavitaire est le plus souvent nodal, rarement intra-hissien. Il est exceptionnel qu'il soit infra-hissien, l'allongement de l'intervalle HV étant généralement insuffisant pour entraîner un allongement de PR.

I.B.3.b.2. Bloc du deuxième degré

La gêne à la conduction est plus marquée. Certaines systoles auriculaires ne sont pas suivies de systoles ventriculaires. Le tracé comporte plus d'ondes P que de complexes QRS. Trois modalités sont possibles : les type I et II de Mobitz et le bloc de haut degré.

I.B.3.b.2.a. Mobitz 1

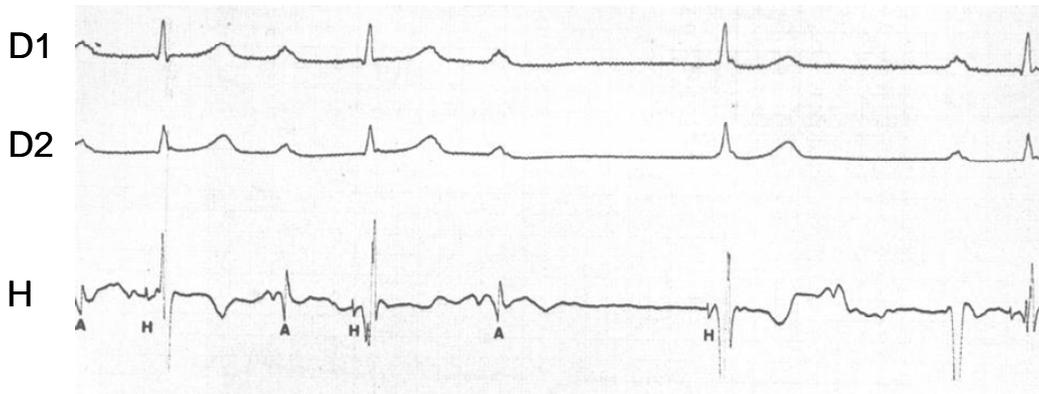


Figure 8 : Bloc auriculo-ventriculaire du deuxième degré de type Mobitz 1.

D1 et D2 : ECG de surface, H : enregistrement endocavitaire du potentiel hissien (A : auriculogramme, H : potentiel hissien).

Dans le type I de Mobitz, on observe un allongement progressif de l'espace PR jusqu'à ce qu'une impulsion auriculaire se trouve bloquée (phénomène de Luciani-Wenckebach) (figure 8). Le taux d'augmentation du délai de conduction est habituellement maximal lors de la seconde révolution cardiaque qui suit l'onde P bloquée. Il en résulte un raccourcissement progressif de l'espace R-R. La durée de la pause ventriculaire est inférieure au double du cycle R-R le plus court. En fait, ces caractères ne sont pas toujours tous retrouvés. Souvent, on observe une augmentation brusque du taux d'allongement de PR (incrément) lors de la dernière onde P conduite de la séquence. Parfois, l'incrément augmente durant toute la période de Luciani-Wenckebach, avec allongement progressif de l'intervalle R-R.

Le caractère décrementiel de la conduction dans le syncytium nodal explique les phénomènes de Luciani-Wenckebach : les influx auriculaires tombent de plus en plus tôt dans la période réfractaire du précédent cycle jusqu'au blocage complet, réalisant un aspect de dissociation auriculo-ventriculaire partielle. A l'enregistrement endocavitaire, le AH s'allonge jusqu'à ce qu'un auriculogramme soit bloqué. Rarement, le phénomène de Wenckebach peut être intra-hissien (allongement de l'intervalle H1 H2 jusqu'à ce qu'un couple AH1 reste sans réponse) ou infra-hissien (allongement progressif de HV jusqu'à ce qu'un H soit bloqué).

I.B.3.b.2.b. Mobitz 2

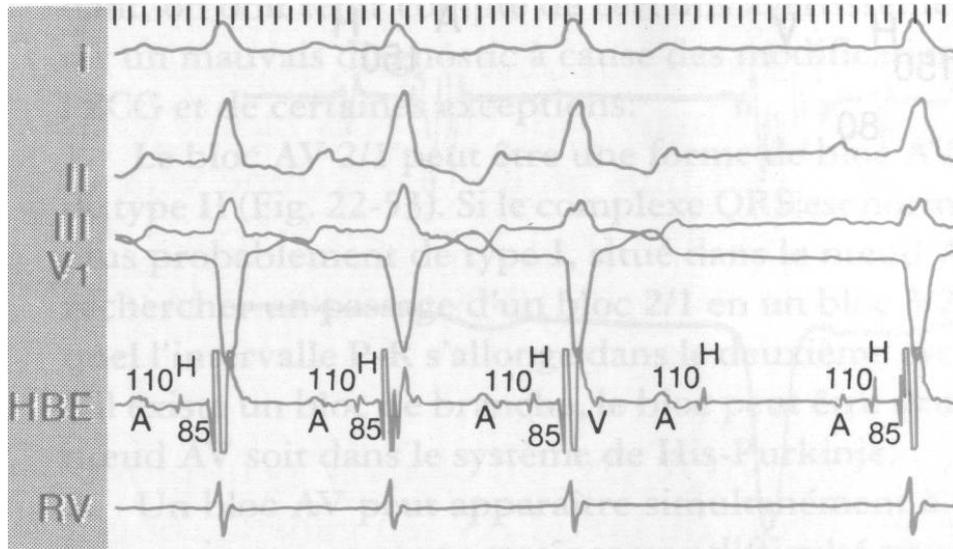


Figure 9 : Bloc auriculo-ventriculaire du deuxième degré de type Mobitz 2.

Dérivations I, II, III et V1 : ECG de surface, dérivation HBE : His endocavitaire, dérivation RV : ventricule droit endocavitaire, A : auriculogramme, H : potentiel hissien

Dans le type II de Mobitz, le blocage d'une onde P est inopiné, non précédé d'une variation de l'espace PR lors des cycles précédents, cet espace PR étant le plus souvent normal (figure 9). Par contre, l'espace PR suivant l'onde P bloquée est souvent un peu plus court que les précédents ou les suivants. La pause ventriculaire est habituellement deux fois plus longue que les cycles précédents. Dans la plupart des cas, les ventriculogrammes sont altérés par un trouble de la conduction intraventriculaire.

Dans le type I comme dans le type II la fréquence des blocages auriculaire est assez souvent irrégulière et augmente généralement avec la fréquence auriculaire : 7/6, 6/5, 5/4... au maximum 3/2.

I.B.3.b.2.c. Bloc de haut degré

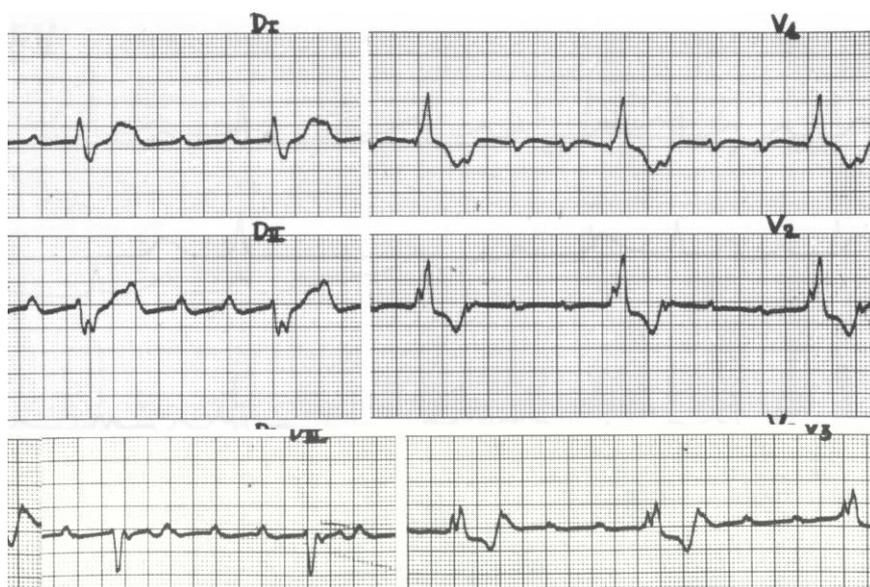


Figure 10 : Bloc auriculo-ventriculaire de haut degré 4/1.

Dérivations de surface DI, DII, DIII, V1, V2 et V3. A noter un bloc de branche droit complet et un hémibloc antérieur gauche.

Lorsqu'il est impossible de distinguer le type du bloc, c'est-à-dire lorsque l'espace PR est constant, avec un rapport fixe 2/1, 3/1, 4/1, on parle de bloc de haut degré (figure 10). Un long tracé est indispensable pour vérifier la constance des rapports entre les ondes P et les complexes QRS et éliminer un bloc du troisième degré. Des phénomènes d'échappement ventriculaire sont possibles, réalisant parfois un aspect de dissociation auriculo-ventriculaire partielle.

I.B.3.b.3. Bloc du troisième degré (ou bloc complet)

La transmission des impulsions auriculaires aux ventricules est totalement interrompue. Les activités auriculaire et ventriculaire sont complètement indépendantes.

I.B.3.b.3.a. Activité auriculaire

Elle est le plus souvent sinusale avec des ondes P de morphologie et de fréquence normales (70 à 80/min). Une arythmie sinusale «ventriculophasique» n'est pas rare: la période sinusale est plus courte lorsque s'inscrit un complexe QRS entre deux ondes P qu'en l'absence de systole ventriculaire. Une conduction ventriculo-auriculaire rétrograde peut être

observée en cas de bloc unidirectionnel.

I.B.3.b.3.b. Activité ventriculaire

Elle est commandée par le foyer d'échappement le plus rapide situé au-dessous du siège du bloc. Elle est régulière et le plus souvent monomorphe, sauf en cas (rare) de compétition entre plusieurs foyers d'échappement. Elle est d'autant plus lente que le foyer ventriculaire est plus bas situé. En pratique, 3 éventualités sont possibles :

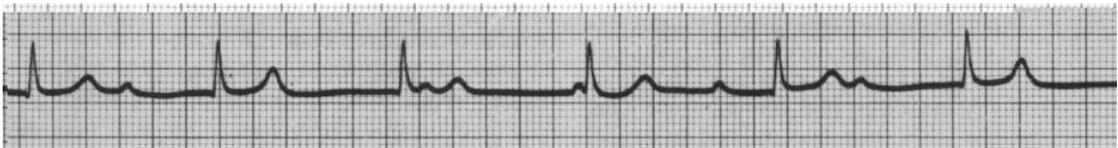


Figure 11 : Bloc auriculo-ventriculaire du troisième degré avec échappement nodal.

Dissociation auriculo-ventriculaire complète et complexes QRS fins.

- *les complexes QRS sont fins*, d'une durée inférieure à 0,08 s. Ils traduisent un échappement naissant au-dessus de la bifurcation du faisceau de His (figure 11), donc un bloc auriculo-ventriculaire haut situé, ce que confirme l'enregistrement du potentiel hissien qui montre la présence d'une onde H avant chaque onde R, alors qu'il n'y a pas d'onde H après les ondes P bloquées; la fréquence ventriculaire est alors comprise entre 40 et 50 par minute. Exceptionnellement, le siège du bloc est intra-hissien. L'enregistrement endocavitaire montre alors une onde H1 bloquée après chaque onde P, chaque onde R étant précédée d'une onde H2.

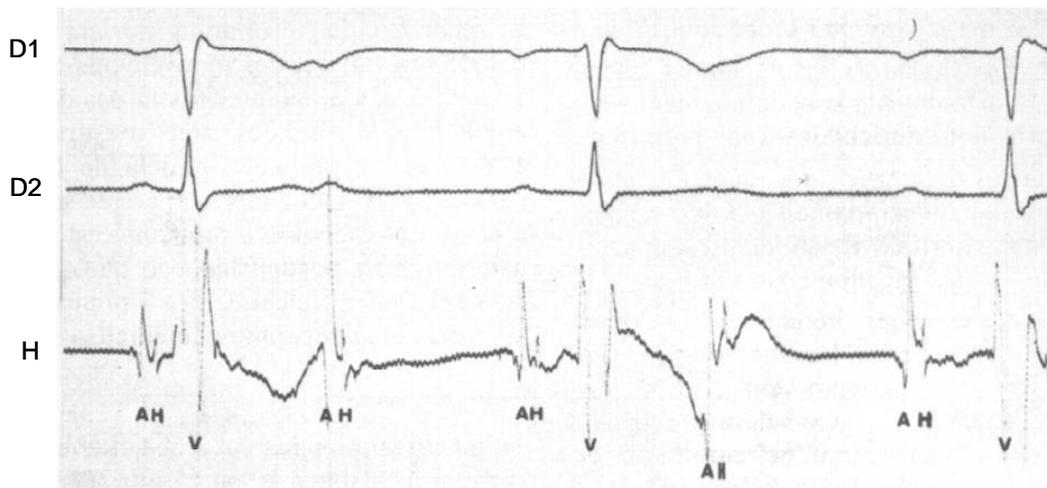


Figure 12 : Bloc auriculo-ventriculaire du troisième degré avec échappement infra-hissien.

Dissociation auriculo-ventriculaire complète et complexes QRS très larges.

D1 et D2 : ECG de surface, H : enregistrement endocavitaire du potentiel hissien (A : auriculogramme, H : potentiel hissien, V : ventriculogramme).

- les complexes QRS sont très larges à type de retard droit ou gauche, d'une durée supérieure à 0,12 s. Ils traduisent à peu près certainement l'échappement d'un foyer idio-ventriculaire gauche ou droit, situé au-dessous de la bifurcation du faisceau de His, ce que confirme l'enregistrement du potentiel hissien qui montre la présence d'une onde H après chaque onde P (figure 12). La fréquence ventriculaire est alors très faible et peut s'abaisser au-dessous de 20 par minute.

- les complexes QRS sont larges, d'une durée de 0,12 s, avec la morphologie caractéristique d'un bloc de branche. Ils peuvent traduire soit un échappement hissien sur bloc de branche préalable, soit un bloc bas situé avec échappement sur une branche. Le diagnostic ne peut être fait avec certitude que par l'enregistrement de l'activité du faisceau de His.

I.B.3.c. Blocs de branche

Le bloc de branche est un syndrome électrocardiographique dû au blocage plus ou moins complet de la conduction dans l'une des branches du faisceau de His. L'onde d'activation ne rejoint les voies différenciées de conduction du ventricule correspondant qu'au-dessous de l'interruption par des trajets détournés et lents. Il en résulte un

asynchronisme ventriculaire : le ventricule dont la branche est bloquée se contracte avec retard par rapport au ventricule dont la branche est normale. Le diagnostic électrocardiographique de bloc de branche n'est possible que si le rythme cardiaque obéit à une commande supra-ventriculaire avec, dans le cas d'une commande sinusale, une durée de l'espace PR supérieure ou égale à 0,12s (un espace PR inférieur à 0,12 s correspond à un syndrome de Wolff-Parkinson-White).

Le bloc de branche peut être complet ou incomplet selon que l'interruption de la conduction dans la branche intéressée est totale ou partielle.

I.B.3.c.1. Blocs de branche complets

Ils sont caractérisés par :

- l'augmentation importante de la durée de QRS supérieure ou égale à 0,12 s dans les dérivations standard,
- le retard considérable de la déflexion intrinsécoïde, supérieur ou égal à 0,08 s dans les dérivations précordiales qui font face au ventricule «bloqué».

Ces signes s'accompagnent habituellement de troubles secondaires de la repolarisation ventriculaire qui s'effectue dans le même sens que la dépolarisation anormalement lente dans le ventricule intéressé.

I.B.3.c.1.a. Bloc de branche droit complet

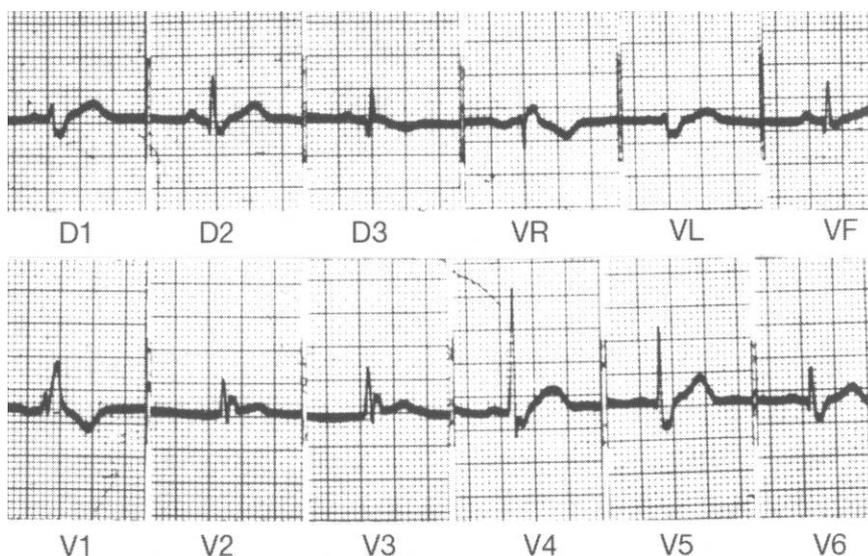


Figure 13 : Bloc de branche droit complet.

ECG 12 dérivations. Aspect rR' en V1, rS en D1, qRS en V6

Les vecteurs terminaux de QRS sont déviés à droite, d'où une onde S large caractéristique en DI (figure 13). Mais le début de QRS peut avoir une orientation variable, soit normale ou déviée à gauche (aspect qRS le plus fréquent en DI, dit type Wilson), soit verticale avec une onde r de faible amplitude en DI (aspect rS dit type rare) traduisant souvent l'association au bloc d'une hypertrophie ventriculaire droite.

Les modifications secondaires de la repolarisation sont pratiquement constantes: le segment ST et l'onde T sont décalés en sens inverse de la partie de QRS ayant la plus grande surface. L'onde T est asymétrique.

L'axe de QRS est généralement dévié à droite, alors que l'axe de T est normal ou dévié à gauche.

Dans les dérivations unipolaires des membres, l'aspect de QRS varie suivant la position électrique du cœur. Le seul signe constant est une onde R ou R' large, épaisse et souvent ample en aVR, avec aspect rSR' comparable à l'aspect en VI.

Dans les dérivations unipolaires précordiales, les signes directs du bloc de branche droit sont observés en V1 et en V2:

- élargissement du complexe QRS, avec importante positivité tardive réalisant le plus souvent un aspect rsR' ou rSR' ou en M, plus rarement un aspect qR ou R exclusif,
- retard de la déflexion intrinsécoïde à 0,08 s ou plus,
- troubles secondaires de la repolarisation ventriculaire: décalage inférieur à convexité supérieure du segment ST avec onde T négative et asymétrique.

En précordiales gauches, on observe un aspect qRs ou qRS avec onde S large et empâtée (comme en DI) ; la déflexion intrinsécoïde et la repolarisation sont normales.

I.B.3.c.1.b. Bloc de branche gauche complet

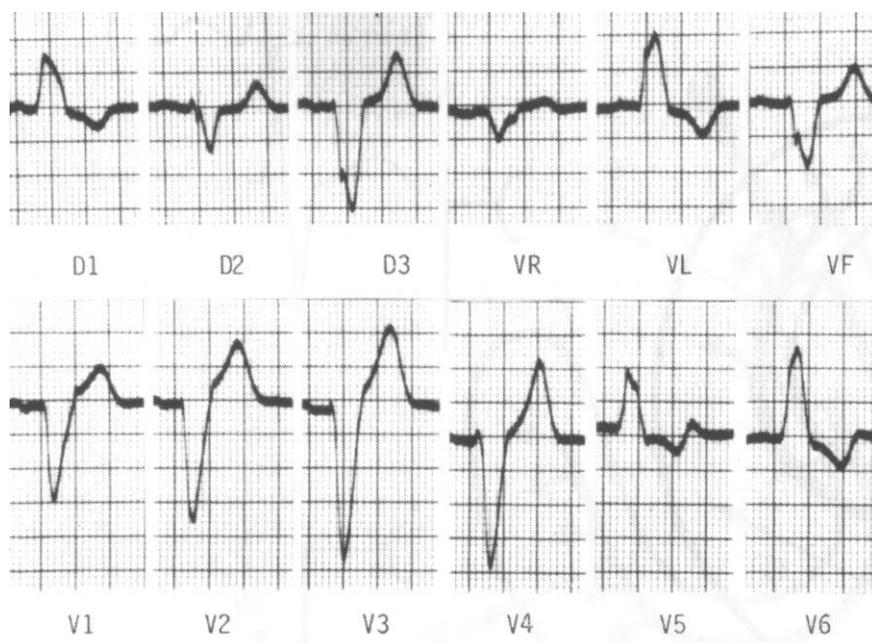


Figure 14 : Bloc de branche gauche complet.

ECG 12 dérivations. Aspect QS en V1, R exclusif en D1, V6 et VL.

Dans les dérivations standard, la durée totale de QRS atteint ou dépasse 0,12 s.

L'amplitude de QRS est augmentée en cas d'hypertrophie ventriculaire gauche associée.

Il n'y a plus ni onde q, ni onde s en D1 où l'aspect de QRS est de type R exclusif (figure 14).

Les modifications secondaires de la repolarisation ventriculaire sont constantes : abaissement du point J, décalage inférieur à convexité supérieure du segment RS-T, avec onde T négative et asymétrique en D1 ou D1 et D2.

L'axe de QRS est habituellement dévié vers la gauche (sauf en cas de position électrique verticale) et l'axe de T est dévié à droite. Parfois cependant l'axe de QRS reste normal.

Dans les dérivations unipolaires des membres, l'aspect varie suivant la position électrique du cœur. Lorsque le cœur est en position horizontale (cas le plus fréquent) : en aVR, on observe le plus souvent, comme en V1, un aspect rS ou QS avec décalage positif de RS-T, onde T positive et asymétrique, plus rarement en cas de forte déviation axiale gauche de QRS (au-delà de -60°) un aspect QR ou qR. En aVL, l'aspect est identique à celui observé en D1 et en V6 : onde R large et exclusive, à sommet crocheté, bifide ou en plateau, segment RS-T sous-dénivelé à convexité supérieure, onde T négative et asymétrique. En aVF, on

observe tantôt un aspect rS ou QS avec onde T positive (comme en VI), tantôt un aspect RS avec onde T plate ou diphasique (- +). Lorsque le cœur est en position verticale, l'aspect en aVR et aVL est essentiellement négatif: rS ou QS, avec onde T positive. L'aspect en aVF rappelle l'image en V6 avec une positivité exclusive de l'onde rapide, une onde T négative et asymétrique.

Dans les dérivations unipolaires précordiales, les signes directs du bloc de branche gauche sont observés en V5 et V6:

- élargissement du complexe QRS, entièrement positif (sans onde q, ni onde s), à branche ascendante empâtée ou crochetée, à sommet crocheté, en plateau ou en M,
- retard de la déflexion intrinsécoïde à 0,08 s ou plus,
- modifications secondaires de la repolarisation comme en DI, avec inversion asymétrique de l'onde T.

Dans les dérivations précordiales droites, VI, V2, on observe un aspect rS ou QS, cette négativité exclusive pouvant s'étendre jusqu'à V3 ou même V4. La déflexion intrinsécoïde est immédiate en cas d'aspect QS ou précoce en cas d'aspect rS. Le point J est surélevé, le segment ST sus-décalé.

I.B.3.c.2. Blocs de branche incomplets

Ils sont caractérisés par :

- la durée de QRS inférieure à 0,12 s dans les dérivations standard,
- le retard modéré de la déflexion intrinsécoïde, inférieur à 0,08 s, dans les dérivations précordiales qui font face au ventricule «bloqué».

I.B.3.c.2.a. Bloc de branche droit incomplet

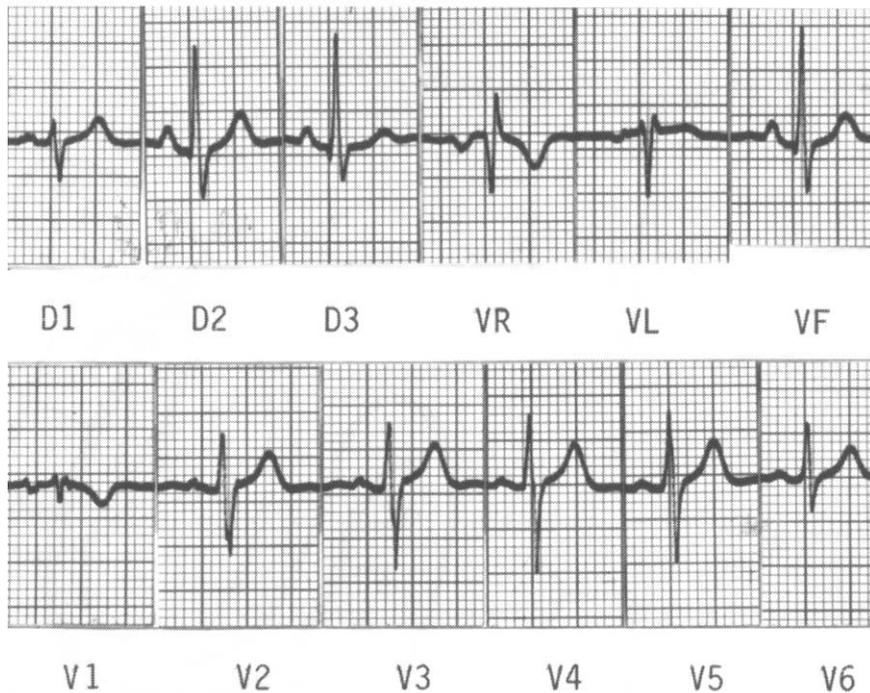


Figure 15 : Bloc de branche droit incomplet.

ECG 12 dérivations. Aspect rSr' en V1, RS en V6 et D1.

Il est défini par l'existence d'une double positivité de l'onde rapide, avec retard de la déflexion intrinsécoïde compris entre 0,04 et 0,07 s, dans les dérivations précordiales droites V1, V2 (aspects rR', rsR', rSR' en M, rSr', rsr') (figure 15). Les troubles de la repolarisation sont d'autant plus marqués que la dépolarisation est plus altérée. Ils peuvent être absents.

Dans les dérivations précordiales gauches, on observe généralement une onde S peu profonde et empâtée.

La présence d'une onde S plus ou moins empâtée en D1 est habituelle.

I.B.3.c.2.b. Bloc de branche gauche incomplet

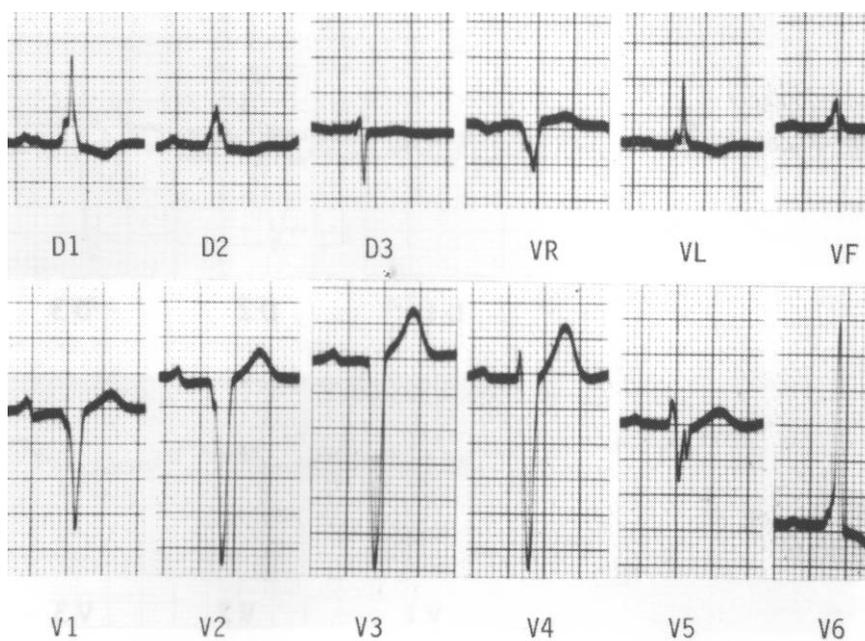


Figure 16 : Bloc de branche gauche incomplet.

ECG 12 dérivations. Aspect QS en V1, absence d'onde Q en V6 et D1.

Il est défini par la présence d'un crochetage ou d'un empâtement franc du pied de l'onde rapide effaçant plus ou moins complètement l'onde q avec retard inconstant ou modéré (0,05 à 0,08 s) de la déflexion intrinsécoïde en dérivation précordiales gauches V5 et V6 (figure 16). Les troubles secondaires de la repolarisation sont inconstants et d'autant plus marqués que le trouble conducteur est plus important.

Dans les dérivation précordiales droites, on observe l'aspect rS, qrS ou QS comme dans le bloc de branche gauche complet.

Dans les dérivation standard, la durée de QRS est normale ou modérément augmentée. L'axe de QRS est le plus souvent dévié vers la gauche. L'aspect en D1 (comme celui en aVL) rappelle l'aspect en V5 et V6.

I.B.3.c.3. Blocs fasciculaires (hémiblocs)

Le trouble de conduction intéresse l'un des deux faisceaux de division de la branche gauche. Ces hémiblocs peuvent s'associer à un bloc complet de la branche droite, réalisant un bloc bi-fasciculaire. L'hémibranche antérieure gauche étant plus fragile que l'hémibranche postérieure, la conduction auriculo-ventriculaire est sévèrement menacée en cas de bloc bi-fasciculaire associant un bloc de branche droit complet et un hémibloc postérieur gauche.

I.B.3.c.3.a. Hémibloc antérieur gauche



Figure 17 : Hémibloc antérieur gauche et bloc de branche droit complet.

ECG 12 dérivations. Aspect qRs en D1 et VL, rS en D3, RS en V6.

C'est le plus fréquent. La durée de QRS reste souvent normale. Elle peut cependant s'allonger jusqu'à 0,13 s. L'axe électrique moyen de QRS est habituellement dévié vers la gauche au-delà de -30° , généralement aux environs de -60° (figure 17). Dans les dérivations standard, on observe l'aspect ql S3. Une petite onde q est habituelle en aVL. Elle est généralement absente en V5 et V6 où l'on observe un aspect RS ou Rs.

I.B.3.c.3.b. Hémibloc postérieur gauche

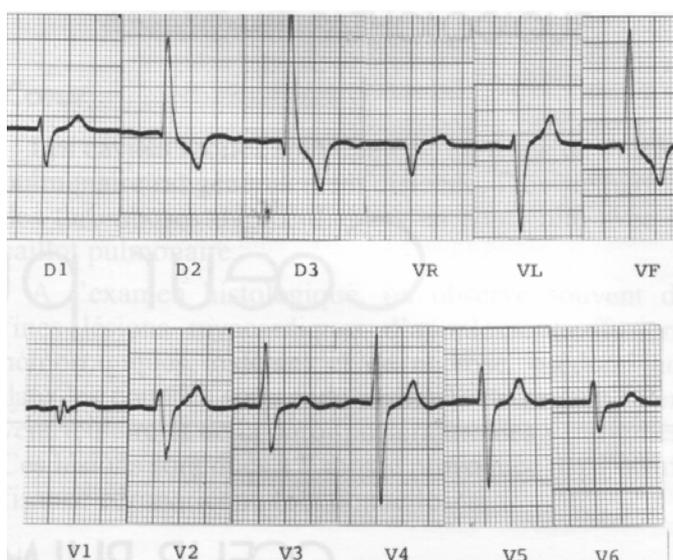


Figure 18 : Hémibloc postérieur gauche (et bloc de branche droit incomplet).

ECG 12 dérivations. Aspect rS en D1, qRs en D3, ondes q absentes en V5 V6.

La durée de QRS reste généralement normale et n'excède pas 0,10 s en l'absence de bloc de branche droit associé. L'axe moyen de QRS est dévié vers la droite au-delà de $+100^\circ$, généralement aux alentours de $+120^\circ$ (figure 18). Dans les dérivations standard, une onde S apparaît ou s'approfondit en DI, avec aspect SI Q3. L'onde R augmente alors que l'onde S diminue en D3.

Les dérivations précordiales sont peu modifiées. Les ondes q sont absentes ou minimales en V5 et V6.

I.B.3.d. Blocs pariétaux

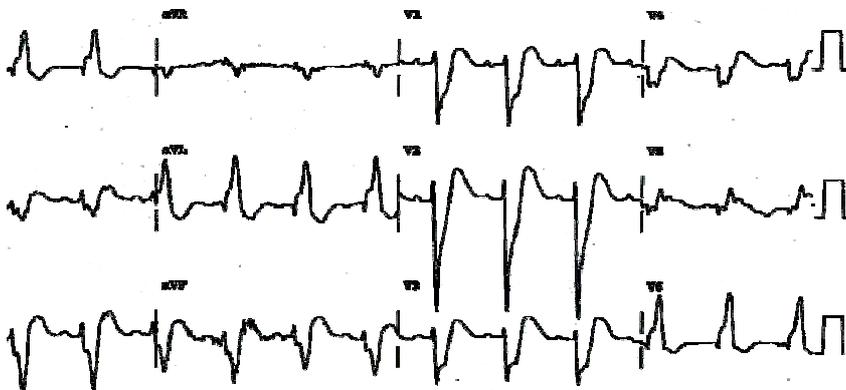


Figure 19 : Bloc pariétal.

ECG 12 dérivations. Déformation importante de la partie terminale de QRS, déviation axiale gauche.

Ils répondent au retard d'activation d'une région localisée d'une paroi ventriculaire, le plus souvent la gauche par destruction d'un secteur du réseau de Purkinje. Celle-ci peut être la conséquence d'un infarctus, on parle dans ce cas de bloc péri-infarctus (*peri-infarction block*). Le trouble conducteur affecte la partie terminale des ondes rapides du ventriculogramme, la ralentit et en bouleverse l'orientation. La durée de QRS est généralement peu augmentée autour de 110 ms. Les vecteurs terminaux de la dépolarisation sont souvent très déviés vers la gauche alors que les vecteurs initiaux sont normaux (figure 19).

I.C. CLASSIFICATION DES TROUBLES DE CONDUCTION AURICULO-VENTRICULAIRES

Les troubles de conduction auriculo-ventriculaires représentent une partie du cadre nosologique des arythmies cardiaques.

D'une manière générale, on peut distinguer les troubles de conduction qui sont associés à une anomalie de l'architecture cardiaque de ceux survenant sur un cœur apparemment sain. Nous verrons cependant qu'il peut parfois y avoir certains chevauchements dans cette classification.

I.C.1. Troubles de conduction associés à des anomalies cardiaques structurales

Lorsque les troubles de conduction sont associés à des anomalies de l'architecture cardiaque, des anomalies anatomiques constituent un obstacle à la propagation normale de l'influx cardiaque. Il peut s'agir d'anomalies micro- ou macroscopiques situées à n'importe quel endroit du système de conduction. Ces anomalies structurales peuvent aller de l'absence partielle ou totale des structures du système de conduction à une infiltration fibreuse, graisseuse ou calcaire du tissu de conduction normal.

De nombreuses cardiopathies peuvent être associées à des troubles de conduction :

L'infarctus du myocarde est la cause la plus fréquente des blocs auriculo-ventriculaires transitoires. La régression du bloc est la règle, notamment lorsque l'infarctus est de siège postérieur.

Les cardiomyopathies dilatées, qu'elles soient ischémiques ou d'une autre origine, s'accompagnent volontiers d'un bloc de branche gauche.

Les cardiopathies valvulaires, surtout aortiques, sont également une cause classique de blocs chroniques. Le rétrécissement aortique calcifié émet des spicules calcaires qui pénètrent dans le septum et l'insuffisance aortique provoque des lésions de jet sur le septum membraneux.

Les cardiopathies hypertensives et les cardiomyopathies hypertrophiques s'accompagnent parfois d'un bloc de branche gauche.

Les cardiopathies congénitales à citer ici sont la transposition des gros vaisseaux, les défauts de septation (communication inter-ventriculaire et communication inter-auriculaire), la persistance du canal artériel, le canal atrio-ventriculaire commun, la tétralogie de Fallot, le

rétrécissement pulmonaire, le rétrécissement aortique, la coarctation aortique, l'atrésie tricuspidiennne.

Des maladies inflammatoires, infectieuses, métaboliques, tumorales et systémiques peuvent se compliquer de troubles de conduction : amylose cardiaque, tumeurs cardiaques malignes primitives (sarcomes) ou secondaires, hémopathies malignes (maladie de Hodgkin), syphilis, hémochromatose, goutte, oxalose, sarcoïdose, maladie de Marfan, maladie de Chagas, maladie de Lyme, rhumatisme articulaire aigu, diphtérie, myocardites virales et les endocardites infectieuses.

Les maladies auto-immunes peuvent atteindre l'ensemble du système cardiovasculaire, y compris le tissu de conduction spécialisé. Les troubles de conduction observés chez les adultes atteints de maladies auto-immunes peuvent répondre de plusieurs mécanismes plus ou moins associés (Maisch B. et Coll. 2001) : processus de myocardite atteignant les fibres nodales (lupus érythémateux disséminé, polyarthrite rhumatoïde, polymyosite) ; dépôts amyloïdes (polyarthrite rhumatoïde) ; ischémie myocardique (vascularites, endartérite oblitérante, lupus érythémateux disséminé) ; fibrose du tissu de conduction (sclérose systémique) ; auto-anticorps anti-tissu de conduction (polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux disséminé) . Par ailleurs l'antigène HLA B27 semble plus fréquent chez les adultes ayant un bloc auriculo-ventriculaire nodal ainsi que chez les enfants ayant un bloc auriculo-ventriculaire congénital, sans toutefois que l'on en connaisse la raison.

Les dystrophies musculaires et la myotonie de Steinert peuvent s'accompagner de troubles de conduction, avec ou sans cardiomyopathie cliniquement patente associée.

Enfin, les traumatismes cardiaques et la chirurgie cardiaque (remplacements valvulaires prothétiques, fermeture de communication interventriculaires, réparation d'un canal atrio-ventriculaire) sont également une cause de blocs auriculo-ventriculaires plus ou moins chroniques.

Parmi les étiologies citées plus haut de troubles de conduction associés à une atteinte de l'architecture cardiaque, certaines ont une origine génétique aujourd'hui clairement identifiée :

I.C.1.a. Défaits de septation cardiaque

Les défauts de septation à type communication inter-auriculaire et inter-ventriculaire résultent d'anomalies lors du processus embryogénique de formation des cloisons inter-

auriculaire et inter-ventriculaire. Ils peuvent s'observer dans le cadre d'anomalies chromosomiques telles que le syndrome de Down (trisomie 21), d'Edwards (Trisomie 18), de Patau (Trisomie 13) ou de Turner (monosomie X). Toutefois, la majorité des patients atteints n'a pas d'anomalie chromosomique. Ces malformations cardiaques sont souvent associées à un bloc auriculo-ventriculaire de siège nodal, qui peut déjà être présent in-utero ou se manifester plus tard dans la vie.

Les défauts de septation cardiaque peuvent survenir dans le cadre d'une atteinte familiale. C'est dans de telles familles que des mutations dans les gènes *CSX/NKX2.5* (Schott J.J. et Coll. 1998) et *TBX5* (Vaughan C.J. et Coll. 2001) ont pu être identifiées.

CSX/NKX2.5 est un gène codant pour un facteur de transcription homéotique impliqué dans la différenciation cellulaire et le développement cardiaque. Notamment, il intervient dans les processus de septation cardiaque, de différenciation conotruncale, de formation des valves cardiaques et de maturation du tissu de conduction spécialisé à partir des précurseurs mésodermiques. Des mutations causales dans ce gène ont été retrouvées dans des formes familiales de défauts de septation cardiaque (type CIA ou CIV), associés à des troubles de conduction à l'étage nodal, sans anomalies extracardiaques (Schott J.J. et Coll. 1998). Des mutations de ce gène sont également retrouvées chez des patients atteints d'autres types de cardiopathies congénitales, notamment la tétralogie de Fallot, le ventricule droit à double issue, le troncus arteriosus et l'interruption de l'arche aortique (McElhinney D.B. et Coll. 2003).

Des mutations dans le gène *TBX5* sont retrouvées chez 70% des patients atteints du syndrome atrio-digital de Holt-Oram, un syndrome poly-malformatif transmis sur le mode autosomique dominant associant des anomalies cardiaques (communication inter-auriculaire ou inter-ventriculaire et troubles du rythme et de la conduction) et squelettiques (pouces ayant l'aspect d'un doigt radial) (Heinritz et Coll. 2005). *TBX5* est un gène homéotique codant pour une protéine régulant le processus embryogénique de septation cardiaque. De façon notable, des patients mutés *TBX5* ont des troubles de conduction et des arythmies atriales mais ont une architecture cardiaque normale.

Dans d'autres cas familiaux de défauts de septation avec troubles de conduction, les gènes impliqués restent à identifier.

I.C.1.b. Anomalies du cytosquelette

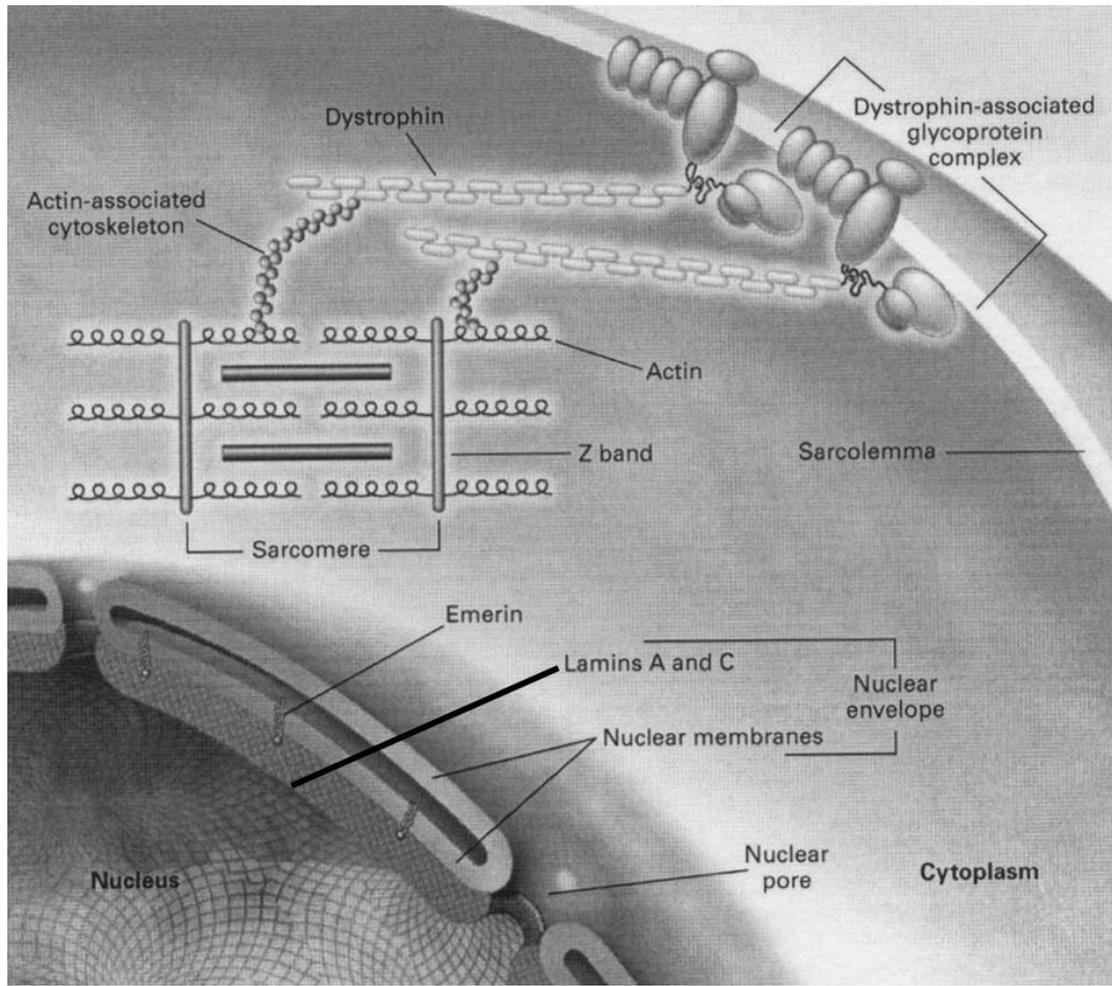


Figure 20 : *Cytosquelette du myocyte. (d'après Fatkin et Coll. 1999).*

Localisation des Lamines A et C à la face interne de la membrane cellulaire.

Le cytosquelette joue un rôle important dans la structure du myocyte et est impliqué dans la signalisation intracellulaire. Des mutations dans le gène *LMNA* codant pour la lamine A/C (ou plus précisément codant pour les lamines A et C par épissage alternatif) ont été identifiées comme étant à l'origine de la forme autosomique dominante de la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss et de cardiomyopathies dilatées avec troubles de conduction transmises sur le mode autosomique dominant (Bonne G. et Coll. 1999, Fatkin D. et Coll. 1999). Les troubles de conduction associés aux mutations de la lamine A/C peuvent concerner l'ensemble du système de conduction, du nœud sinusal aux fibres de Purkinje (Sanna T. et Coll. 2003). Certains individus mutés ont des troubles de conduction mais n'ont pas d'atteinte décelable de l'architecture cardiaque. Il s'agit généralement du premier

symptôme précédant l'apparition d'une cardiomyopathie dilatée cliniquement patente (Hershberger et Coll. 2002).

Les lamines sont des constituants de la lamina nucléaire qui est une couche fibreuse tapissant le côté interne de la membrane nucléaire (figure 20). Elles réagissent avec la chromatine et les protéines de la membrane nucléaire interne. Elles ont la même localisation à la membrane nucléaire que l'émerine, impliquée dans la forme liée à l'X de la myopathie d'Emery-Dreifuss. Les mécanismes physiopathologiques de l'atteinte musculaire squelettique et myocardique n'ont pas encore été élucidés en détail. Des anomalies des lamines pourraient perturber les fonctions nucléaires et provoquer un phénomène d'apoptose qui pourrait rendre compte de l'infiltration fibreuse et lipidique du myocarde, y compris du système de conduction. Elles pourraient aussi perturber leurs interactions avec les protéines cytoplasmiques du sarcomère, du cytosquelette et du sarcolemme (Fatkin D. et Coll 1999).

I.C.1.c. Anomalies des protéines kinases

Le gène *PRKAG2* code pour la sous-unité gamma 2 régulatrice de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK). Cette enzyme est impliquée dans la régulation du transport cellulaire du glucose et dans le processus de glycolyse. Des mutations faux-sens dans ce gène entraînant une activité constitutive de l'AMPK provoquent des cardiopathies hypertrophiques de surcharge en glycogène et des anomalies électrophysiologiques, en particulier un syndrome de Wolff-Parkinson-White, des troubles de conduction auriculo-ventriculaires progressifs et de la fibrillation auriculaire. Il s'agit des mutations Exon5 :InsLeu, His142Arg (Blair E. et Coll. 2001), Arg302Gln (Gollob M.H. et Coll., N Engl J Med 2001), Thr400Asn et Asn488Ile (Arad M. et Coll. 2002). Cette pathologie doit être distinguée des cardiomyopathies hypertrophiques associées à des mutations dans des gènes codant pour des protéines du sarcomère, caractérisées histologiquement par une désorganisation des myofibrilles. En effet, en ce qui concerne les cardiopathies hypertrophiques associées à des mutations de *PRKAG2*, l'examen histologique du cœur retrouve dans les myocytes cardiaques des vacuoles contenant des polysaccharides et l'absence de désorganisation des myofibrilles (Arad M. et Coll. 2002). Les mécanismes à l'origine des troubles de conduction ne sont pas clairement élucidés. Ils pourraient être la conséquence de l'infiltration en glycogène des cardiomyocytes du tissu de conduction. Quand au syndrome de Wolff-Parkinson-White, un modèle animal suggère qu'il pourrait être la conséquence de la rupture par des myocytes chargés en glycogène de l'intégrité de

l'anneau fibreux qui normalement isole électriquement les oreillettes des ventricules (Arad M et Coll. 2003).

I.C.2. Troubles de conduction survenant sur un cœur apparemment sain

Il s'agit ici des troubles de conduction survenant chez des patients ayant un cœur d'architecture normale. Les anomalies de la conduction sont généralement la conséquence de dysfonctionnements des canaux ioniques cardiaques ou des protéines qui leur sont associées. Toutefois, il ne faut pas oublier que des troubles de conduction peuvent être le premier signe d'une atteinte myocardique débutante, comme c'est le cas dans les cardiomyopathies dilatées associées à une anomalie du gène *LMNA*.

I.C.2.a. Troubles de conduction acquis

I.C.2.a.1. Causes toxiques

Des troubles de conduction d'origine fonctionnelle peuvent être induits par de nombreuses drogues, en particulier les médicaments antiarythmiques (y compris les molécules apparentées comme les antidépresseurs tricycliques qui ont des propriétés quinidine-like). Dans ces cas, l'atteinte est réversible après l'arrêt du traitement.

Certaines toxines végétales peuvent provoquer des troubles de conduction réversibles en exerçant un effet direct ou indirect sur la fonction des canaux ioniques (digitale, hellebore, laurier rose, phytolaque) (Marinov et Coll. 1987).

Egalement, des anomalies de concentration intra- ou extracellulaire de certains ions (principalement les ions potassium et calcium) peuvent induire des troubles de conduction réversibles.

I.C.2.a.2. Causes auto-immunes

Alors que des anomalies inflammatoires sont le plus souvent associées aux troubles de conduction observés dans les maladies auto-immunes, il peut y avoir aussi une composante purement fonctionnelle. C'est notamment le cas pour certains des nouveau-nés de mères lupiques ou atteintes d'autres connectivites naissant avec un bloc auriculo-ventriculaire. Le bloc est de siège nodal et de degré est variable, et lorsqu'il n'est pas complet

d'emblée une régression complète peut être observée. Le mécanisme fait appel au passage transplacentaire d'auto-anticorps maternels IgG anti-Ro/SS-A et/ou anti-LA/SS-B (Scott J.S. et Coll. 1983). Boutjdir et Coll. ont montré que des IgG anti Ro/SS-A d'une mère lupique dont l'enfant était né avec un bloc auriculo-ventriculaire induisaient un bloc auriculo-ventriculaire complet partiellement régressif dans un modèle expérimental de cœur fœtal humain perfusé dans un système de Langendorff (Boutjdir M et Coll. 1997). Les anticorps maternels auraient pour cible le canal calcique de type L des cardiomyocytes du nœud auriculo-ventriculaire fœtal ; il résulterait de cette interaction une diminution du courant calcique I_{CaL} (Qu Y. et Coll. 2001).

I.C.2.b. Troubles de conduction héréditaires

I.C.2.b.1. Anomalies du gène *SCN5A*

Le gène *SCN5A* code pour la sous-unité alpha du canal sodique humain. Il est à ce jour le seul gène à avoir été identifié pour son implication dans les troubles de conduction isolés progressifs héréditaires. En effet, c'est en 1999 que notre équipe a identifié par une approche de clonage positionnel de type locus candidat deux mutations causales de *SCN5A* (IVS22+2 T→C et 5280delG), la première dans une famille française vendéenne atteinte de maladie de Lenègre et la deuxième dans une famille hollandaise atteinte de bloc auriculo-ventriculaire congénital (Schott J.J. et Coll. 1999). Ces mutations provoquent une perte complète de fonction du canal sodique. Les individus mutés ne disposent que des canaux sodiques fonctionnels codés par leur allèle non muté. Il en résulte une réduction de 50 % du courant sodique ce qui ralentit de la vitesse de conduction. La révélation tardive du phénotype observée dans la maladie de Lenègre associée à *SCN5A* pourrait être la double résultante de l'haploinsuffisance et d'anomalies dégénératives du tissu de conduction liées au vieillissement : chez ces patients ayant dès la naissance une réduction du courant sodique, la conduction se maintiendrait dans les limites de la normale jusqu'à ce qu'avec le vieillissement le phénomène surajouté de fibrose du tissu de conduction déclenche l'apparition de troubles de conduction cliniquement patents (Probst V. et Coll. 2003).

Nucleotide Change	Aminoacid Change	Mutation Type	Region	Phenotype	Reference
G468A	W156X⁽¹⁾	Nonsense	DII/S1-S2	CCD ⁽¹⁾	Bezzina et al. 2003
G481A	E161K	Missense	DII/S2	SSS+CCD	Smits et al. 2005
C659T	T220I	Missense	DII/S4	DCM ⁽²⁾	Olson et al 2005
C672T	R225W	Missense	DII/S4	CCD	Bezzina et al. 2003
G892A	G298S	Missense	DII/S5-S6	CCD	Wang et al 2002
C1535T	T512⁽³⁾	Missense	DI-DII	CCD	Viswanathan et al. 2003
G1541T	G514C	Missense	DI-DII	CCD	Tan et al 2001
	R814W	Missense	DII/S3	DCM ⁽²⁾	Olson et al 2005
2550-2551insTG	S851fs	Frameshift	DII/S5	DCM ⁽²⁾	Olson et al 2005
G3823A	D1275N	Missense	DIII/S2	CCD+DCM ⁽²⁾	McNair et al. 2004; Olson et al 2005
T>C	IVS22+2	Splice Mutation	DIII/S4-S5	CCD	Schott et al.1999
C3995T	P1332L	Missense	DIII/S4-S5	RW+CCD	Kehl HG et al 2004
A4372T	G1406R	Missense	DIII/S5-S6	CCD+Brugada ⁽⁴⁾	Kyndt et al. 2002
	D1595N	Missense	DIV/S5-S6	CCD	Wang et al 2002
G4783C	D1595H	Missense	DIV/S5-S6	DCM ⁽²⁾	Olson et al 2005
	S1710L	Missense	DIV/S5-S6	CCD+Brugada ⁽⁵⁾	Shirai et al. 2002
delG5280*	S1710+75X	Frameshift	DIV/S5-S6	CCD	Schott et al 1999
G5329A	V1777M	Missense	C-term	RW+AVblock ⁽⁶⁾	Lupoglazof et al. 200

Tableau 1: Mutations de SCN5A associées à des troubles de conduction (d'après Fondazione Salvatore Maugeri, <http://pc4.fsm.it:81/cardmoc/>).

Nucleotide change=changement de nucléotide, aminoacid change=changement d'acide aminé, mutation type=type de mutation, nonsense= non sens, missense=faux sens, frameshift=décalage du cadre de lecture, splice mutation=mutation d'épissage, CCD=troubles de conduction cardiaque, SSS= dysfonction sinusale, DCM=cardiomyopathie dilatée, RW=Romano-Ward. (1) associée à mutation R225W (2)=dilated cardiomyopathy (3) Associée au polymorphisme H558R sur le même allèle (4) également associée au syndrome de Brugada (5) bloc de branche chrono-dépendant, également associée au syndrome de Brugada (6) à l'état homozygote associée à LQT3 et - bloc AV 2:1 chrono-dépendant.

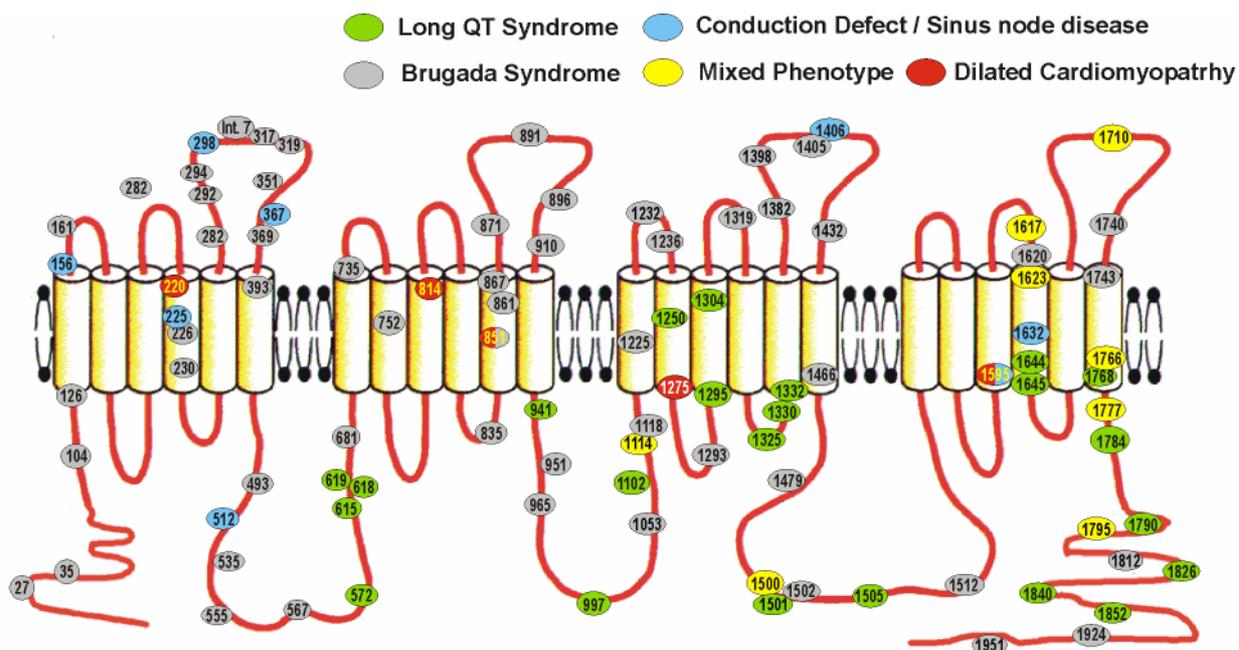


Figure 21 : Topologie prédite sur la protéine des mutations de SCN5A associées au syndrome du QT long de type 3, au syndrome de Brugada, aux troubles de conduction progressifs, à la dysfonction sinusale et aux cardiomyopathies dilatées (d'après Fondazione Salvatore Maugeri, http://pc4.fsm.it:81/cardmoc/scn5a_BRUGADA_cartoon.htm).

Vert : syndrome du QT long de type 3, gris : syndrome de Brugada, bleu : troubles de conduction et dysfonction sinusale, rouge : cardiomyopathie dilatée, jaune : phénotype mixte.

D'autres mutations de SCN5A associées à des troubles de conduction ont été identifiées par la suite (tableau1, figure 21). Ces mutations provoquent toutes une diminution du courant cardiaque sodique, qui peut répondre de plusieurs mécanismes :

- une haploinsuffisance. C'est le cas de la mutation IVS.22+2 T→C qui entraîne une délétion de l'exon 22 avec une perte du segment DIIS4 responsable de la sensibilité au voltage du canal. La réexpression de la protéine tronquée dans des cellules COS-7 montre que cette protéine est normalement exprimée à la membrane mais que le canal n'est pas fonctionnel (figure 22) (Probst V. et Coll. 2003). C'est également le mécanisme de la perte de fonction pour la mutation G1408R (Kyndt F. et Coll. 2001).

- un défaut d'adressage de la protéine. C'est le cas de la mutation 5280delG responsable d'un décalage de la phase de lecture dans la séquence codant pour la région pore du domaine IV et de la formation d'un codon stop prématuré. La protéine anormale qui en résulte n'atteint pas la membrane cellulaire (Herfst L.J. et Coll. 2003)

-une modification des propriétés d'activation et/ou d'inactivation du canal. C'est le cas des mutations G514C (Tan H.L et Coll. 2001), D1595N, G298S (Wang D.W. et Coll. 2002) et R225W (Bezzina C.R. et Coll. 2003).

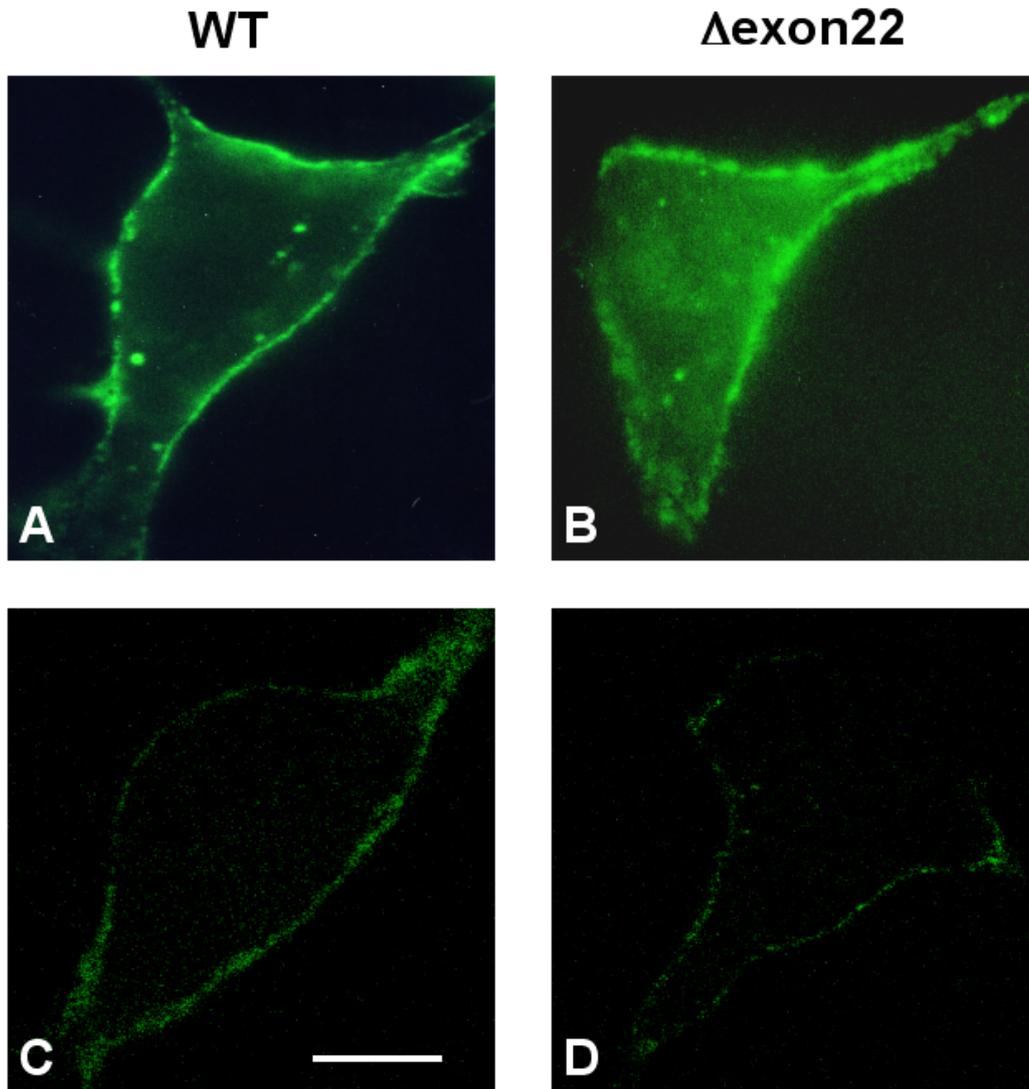


Figure 22 : *Adressage de SCN5A- δ exon22 à la surface cellulaire. Cet adressage n'est pas perturbé par la mutation SCN5A- δ exon22. Les cellules ont été transfectées par 1 μ g de SCN5A-WT-EGFP ou SCN5A- δ exon22-EGFP. Trois jours après transfection, la localisation de la protéine de fusion a été examinée en microscopie en fluorescence (A et B) et microscopie confocale (C et D).*

Comme les mutations de *SCN5A* impliquées dans la maladie de Lenègre héréditaire, celles associées au syndrome de Brugada provoquent une perte de fonction du canal sodique alors que celles impliquées dans le syndrome du QT long de type 3 provoquent un gain de fonction (Napolitano C. et Coll. 2003). Parmi les mutations connues de *SCN5A*, la mutation

faux-sens G1408 R, peut dans une même famille, induire soit un phénotype de syndrome de Brugada, soit un phénotype de maladie de Lenègre, suggérant que des facteurs environnementaux ou génétiques, non encore identifiés, pourraient moduler l'expression phénotypique d'une même mutation (Kyndt F. et Coll. 2001). Des mutations de *SCN5A* peuvent aussi provoquer chez un même individu un syndrome de Brugada et un syndrome du QT long (Ins TGA 5537, Bezzina C. et Coll. 1999), des troubles de conduction et un syndrome du QT long (P1332L, Kehl H.G. 2004 et Coll.) ou des troubles de conduction, un syndrome de Brugada et un syndrome du QT long (4498-4500del, Grant A.O. 2002). Des mutations de *SCN5A* ont également été décrites récemment dans des formes familiales de dysfonction sinusale (Smits J.P. et Coll. J Mol Cell Cardiol. 2005) et de cardiomyopathie dilatées associées à des troubles de conduction et de la fibrillation auriculaire (Olson T.M. et Coll. 2005).

De façon intéressante, des souris transgéniques *scn5a +/-* développent des troubles de conduction progressifs similaires à ceux observés dans la maladie de Lenègre chez l'homme et ont une susceptibilité accrue aux troubles du rythme ventriculaires, comme les patients atteints de syndrome de Brugada (Charpentier F. et Coll. 2004). Ces souris présentent un ralentissement de la vitesse de conduction auriculo-ventriculaire augmentant avec l'âge de façon comparable à ce qui est observé chez les patients mutés *SCN5A* atteints de maladie de Lenègre (Royer A. et Coll. 2005, Probst V. et Coll. 2003). On observe également chez ces souris un remodelage myocardique ventriculaire avec une fibrose et une expression hétérogène de la connexine 43, sans altération de la fonction contractile du myocarde, ce qui a tendance à corroborer l'hypothèse initiale de Lenègre et Lev de l'implication d'un processus de fibrose dans la pathogénie des troubles de conduction (Royer A. et Coll. 2005). Enfin, des données récentes indiquent que les vitesses de conduction enregistrées au niveau des branches du faisceau de His sont comparables chez les souris hétérozygotes *scn5a +/-* et les souris sauvages du même âge, que les souris sauvages âgées ont une fibrose modérée du myocarde ventriculaire et que les souris hétérozygotes âgées ont une fibrose importante du myocarde ventriculaire et une altération marquée de l'expression ventriculaire de la connexine 43. Ceci montre qu'isolément la réduction de 50% du courant sodique et la fibrose liée au vieillissement affectent peu la conduction, tandis que la combinaison d'une expression réduite du canal sodique et du vieillissement s'accompagnent d'une fibrose myocardique importante et d'une désorganisation des jonctions gap qui sont associées à une altération sévère de la conduction (van Veen T.A. et Coll. 2005). Ceci a tendance à corroborer l'hypothèse émise chez l'homme en 2003 par Probst et Coll.

I.C.2.b.2. Anomalies des protéines kinases

Contrairement aux mutations dans le gène *PRKAG2* décrites plus haut, la mutation R531G a été retrouvée dans une famille chez des patients n'ayant pas de cardiopathie hypertrophique cliniquement décelable mais uniquement un syndrome de Wolff-Parkinson-White, de la fibrillation auriculaire et des troubles de conduction à type de bloc auriculo-ventriculaire (Gollob M.H. et Coll., *Circulation* 2001). Pour les auteurs, ceci suggère un rôle fonctionnel important de l'AMPK dans la régulation de canaux ioniques cardiaques. Cette mutation pourrait avoir un effet sur la conduction cardiaque en modifiant le degré de phosphorylation de canaux ioniques. En faveur de cette hypothèse, il a été montré dans un modèle d'expression cellulaire qu'une mutation entraînant une activité constitutive de l'AMPK (mutation T172D) modifiait les propriétés d'inactivation du canal sodique humain (Light P.E. et Coll. 2003).

I.C.2.b.3. Anomalies de l'oxydation des acides gras

Les anomalies de l'oxydation des acides gras sont des erreurs innées du métabolisme résultantes de défauts enzymatiques affectant le transport et le métabolisme des acides gras. Ces affections sont rares mais probablement sous-estimées. Selon le déficit enzymatique, une atteinte cardiaque peut être présente, se traduisant par une cardiomyopathie et/ou des troubles du rythme et de la conduction (Stanley C.A. 1995). Les patients ayant un défaut dans les enzymes régulant le transport mitochondrial des acides gras à chaîne longue (déficit en carnitine palmitoyl transférase de type II et déficit en carnitine-acylcarnitine translocase) ont une atteinte cardiaque caractérisée par un bloc auriculo-ventriculaire et des arythmies atriales isolées, sans atteinte cardiaque structurale (Bonnet D. et Coll. 1999, Saudubray J.M. et Coll. 1999).

La physiopathologie des troubles de conduction et des autres manifestations cliniques fait appel à l'accumulation cellulaire de métabolites d'acides gras à chaînes longues consécutive au défaut enzymatique. Ces métabolites peuvent d'une part avoir une toxicité pour le myocyte, et d'autre part affecter la fonction des canaux ioniques et des jonctions gap. Il a été montré en effet qu'ils réduisaient le courant potassique à rectification entrante et le courant sodique, qu'ils activaient les canaux calciques et qu'ils altéraient les interactions entre héli-canaux des jonctions gap (Bonnet D. et Coll. 1999). A l'exception de l'effet sur les canaux calciques, ces altérations ont un effet dépressur sur la conduction intracardiaque.

Cette atteinte simultanée du fonctionnement de nombreux type de courants ioniques pourrait représenter par ailleurs un substrat pour la survenue d'arythmies.

I.C.2.b.4. Anomalies du cytosquelette

Des anomalies de conduction peuvent être la manifestation cardiaque première et prédominante d'une cardiomyopathie dilatée ou d'une dystrophie musculaire autosomique dominante, survenant en l'absence ou avant toute atteinte de l'architecture cardiaque cliniquement détectable (Fatkin D. et Coll. 1999). On peut émettre l'hypothèse dans ces cas que des mutations dans des gènes codant pour des protéines du cytosquelette altèrent directement ou indirectement la fonction des canaux ioniques (Smits J.P. et Coll. Europace. 2005). La mise en évidence d'interactions entre certains canaux ioniques et des protéines du cytosquelette supportent cette hypothèse (Maltsev V.A. et Coll. 1997). Par exemple la syntrophine gamma 2, une protéine du cytosquelette, interagit avec la sous-unité alpha du canal sodique ; elle module son expression membranaire et ses propriétés d'activation (Ou Y. et Coll. 2003). De plus la syntrophine gamma 2 s'associe avec une protéine de la membrane cellulaire, l'ankyrine, qui elle-même, chez le rat, interagit avec les sous-unités bêta régulatrices du canal sodique (Malhotra J.D. et Coll. 2000). Ces mêmes sous-unités bêta régulatrices du canal sodique interagissent par l'intermédiaire de leur domaine extracellulaire avec les protéines de la matrice extracellulaire (Srinivasan J. et Coll. 1998). Des anomalies du cytosquelette pourraient ainsi être impliquée dans des anomalies de la conduction cardiaque, d'origine aussi bien fonctionnelle que structurale. Inversement, ces interactions pourraient être une explication au phénomène de fibrose myocardique exagérée observé chez les souris hétérozygotes *scn5a +/-*. Récemment, l'identification d'une mutation perte de fonction du gène de l'ankyrine B à l'origine du syndrome du QT long de type 4 a encore confirmé le rôle que pouvaient jouer des anomalies du cytosquelette dans les arythmies cardiaques (Mohler P.J. et Coll. 2003).

I.C.2.b.5. Polymorphisme du gène codant la connexine 40

Les connexines sont les unités constitutives des connexons des jonctions gap. Les jonctions gap, qui connectent électriquement et fonctionnellement les myocytes cardiaques, jouent un rôle déterminant dans la conduction de l'onde de dépolarisation. Deux

polymorphismes dans le gène codant pour la connexine 40, exprimée majoritairement dans l'oreillette, ont été retrouvés à l'état homozygote chez les individus atteints d'une famille de dysfonction sinusale et de troubles de conduction infra-hissiens. Ces patients avaient en outre une mutation *SCN5A* (D1275N) responsable d'une réduction du courant sodique (Groenewegen W.A. et Coll. 2003).

I.D. HISTOIRE DES TROUBLES DE CONDUCTION HEREDITAIRES

I.D.1. De la fin du XVIIIème siècle à la fin du XXème siècle : deux siècles d'observations

Nous devons la première description d'une syncope d'Adams-Stokes à l'anatomiste italien Morgagni qui, en 1761, constatait lors d'un épisode de syncope avec convulsions chez un marchand de Padoue un pouls lent à 22 pulsations/min (Morgagni G.B. 1761). Spens a fait un peu plus tard des observations similaires (Spens T. 1792), mais ce sont véritablement Adams (Adams R. 1827) puis Stokes (Stokes W. 1846) qui ont compris que ces accidents neurologiques à début et fin brusque étaient la conséquence de l'ischémie cérébrale liée à la bradycardie extrême.

Dès 1899, Wilhelm His jr (1863-1934), cardiologue et interniste suisse, a entrevu le rôle de ce qu'il a qualifié de « Herzblock » (bloc électrique) dans la genèse de la maladie d'Adams-Stokes. Au début du XXème siècle, peu après l'invention de l'électrocardiogramme par Willem Einthoven (1860-1927), le premier enregistrement ECG d'une syncope d'Adams-Stokes a été réalisé par van den Heuvel chez un patient atteint de bloc auriculo-ventriculaire congénital (Van den Heuvel G.C.J. 1908).

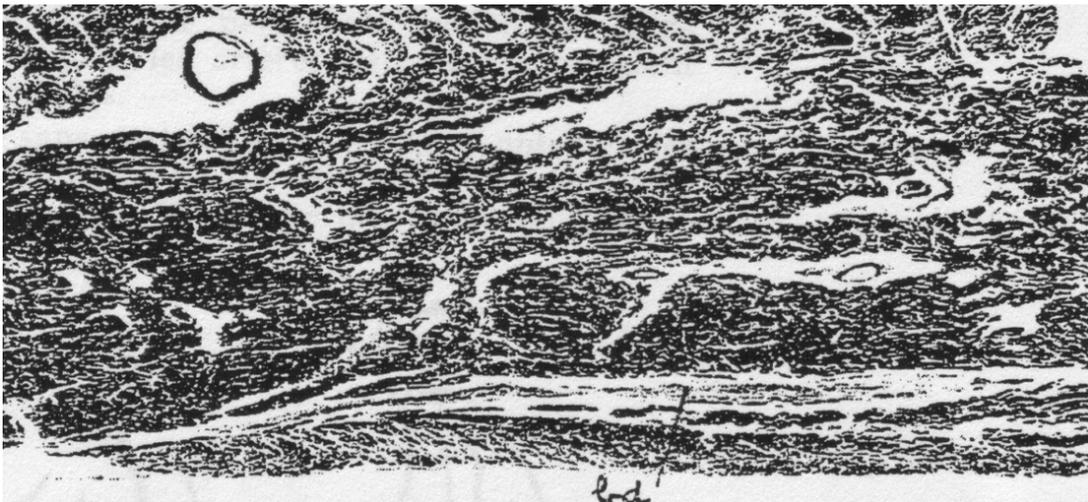


Figure 23 : coupe histologique du septum inter-ventriculaire permettant de suivre le trajet de la branche droite du faisceau de His. Celle-ci a subi une transformation scléreuse totale dans la fin de son trajet mimétique (Lenègre J, Moreau P. 1963)

Dans les années 1960, Lenegre et Lev ont recensé de nombreuses observations cliniques combinées à des enregistrements ECG et des examens anatomiques post-mortem du cœur (Lenègre J. et Coll. 1963, Lev M. 1964). Ils ont chacun retrouvé une excellente corrélation entre leurs données cliniques, électrocardiographiques et anatomiques. Toutefois, leurs constatations anatomo-pathologiques différaient légèrement : dans la maladie de Lenègre, la dégénérescence fibreuse est limitée aux voies de conduction (figure 23), alors que Lev décrit une fibrose atteignant à la fois le tissu de conduction spécialisé et le squelette fibreux du cœur. Lenègre concluait ses travaux de la façon suivante : « *le bloc cardiaque représente le plus souvent le terme d'un processus dégénératif lent ou très lent qui débute en général par un bloc de branche qu'on met sur le compte de la sénescence mais qui garde, en réalité, le secret de son origine quand il s'agit d'un sujet relativement jeune. [...]. Les observations présentées ici suggèrent bien, surtout pour les blocs primitifs, une maladie acquise de nature dégénérative ou scléreuse mais d'étiologie inconnue* » (Lenègre J. 1963). Les noms de Lenègre et Lev sont devenus par la suite synonymes de troubles de conduction isolés progressifs infra-hissien.

I.D.2. Le XXème siècle : émergence de la notion de troubles de conduction héréditaires

Les troubles de conduction sont généralement considérés comme des entités cliniques sporadiques. Cependant, dès les années 1900, Morquio, Osler puis d'autres ont attiré l'attention sur des cas de bloc auriculo-ventriculaire congénitaux survenant dans un contexte familial (Morquio L. 1901, Osler W. 1903). Bien que la plupart de ces cas étaient rapportés chez des nouveaux-nés, et donc à rapporter probablement le plus souvent à la présence d'auto-anticorps maternels de type lupiques circulants, certaines observations rapportaient au moins deux générations atteintes, suggérant dans ces cas une maladie à transmission mendélienne autosomique dominante. Ainsi, Fulton et Coll. rapportaient un bloc 3/1 chez un homme, un bloc complet chez son fils âgé de 22 mois et un bloc 2/1 chez sa fille âgée de 20 ans (Fulton Z.M.K et Coll. 1910).

Les publications descriptives d'atteintes familiales sont devenues plus nombreuses à partir des années 1950. De Forest décrivait une famille dans laquelle un bloc de branche gauche survenait chez quatre personnes sur deux générations (DeForest R.E.1956). Segall a rapporté qu'un père ainsi que son fils et sa fille avaient un bloc de branche droit, des arythmies atriales et ventriculaires et des syncopes à répétition, et que deux autres de ses enfants avaient un syndrome de Wolff-Parkinson-White asymptomatique (Segall H.N. 1961).

La première grande famille a été identifiée par Combrink et Coll. en Afrique du Sud en 1962. Dans cette famille la mère avait un bloc de branche droit complet et est décédée subitement à l'âge de 35 ans, ses deux parents étaient également décédés subitement dans leur troisième décennie et trois de ses quatre enfants ainsi qu'un de ses petits enfants avaient eux aussi un bloc de branche droit complet (Combrink J.M. et Coll. 1962, Steenkamp W.F. et Coll. 1980). En 1966, Amatller-Trias et Coll. ont décrit un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré chez un père âgé de 43 ans, son fils âgé de 19 ans et sa fille âgée de 22 ans (Amatller-Trias A. et Coll. 1966). En 1970 Simonsen et Madsen décrivaient dans une famille 4 cas de blocs de branche droit et un cas de bloc auriculo-ventriculaire répartis sur 3 générations (Simonsen E.E. et Madsen E.G 1970). En 1972, Sarachek et Leonard rapportaient leurs observations de 16 familles atteintes de troubles de conduction auriculo-ventriculaire (bloc du premier, deuxième et troisième degré) et/ou intra-ventriculaire (bloc de branche droit et hémibloc antérieur gauche). Dans 10 de ces familles les individus atteints avaient uniquement un trouble de conduction auriculo-ventriculaire et/ou intraventriculaire alors que dans 6 familles certains individus avaient également une bradycardie sinusale. Le bloc auriculo-ventriculaire était congénital dans 8 familles et apparaissait à l'âge adulte dans les 8 autres (Sarachek N.S. et Leonard J.L. 1972). La même année, Steenkamp et Coll. décrivaient une famille sud-africaine dans laquelle 6 des 17 membres examinés avaient un bloc trifasciculaire (Steenkamp W.F. 1972). En 1973, Schaal et Coll. ont décrit une grande famille dont le propositus, une femme de 69 ans, avait un bloc de branche droit complet et un hémibloc antérieur gauche puis quelque temps plus tard un bloc auriculo-ventriculaire complet. 29 de ses apparentés avaient des troubles de conduction similaires, parmi lesquels 6 ont eu un bloc complet (Schaal S.F. et Coll. 1973). La même année, Lynch a décrit une autre grande famille dans laquelle un bloc auriculo-ventriculaire progressif était transmis sur un mode autosomique dominant (Lynch H. T. et al. 1975; Lynch H. T. et al. 1973). L'allongement de l'intervalle PR débutait vers l'âge 30 ans, et l'aggravation des troubles de la conduction depuis le bloc du premier degré jusqu'au bloc du troisième degré se faisait généralement sur une longue période mais pouvait être très rapide dans de rares cas. Toujours en 1973, Godin et coll. ont répertorié dans la littérature 21 individus atteints de bloc auriculo-ventriculaire dégénératif, issus de dix familles différentes. Chez ces patients, le bloc complet était précédé de troubles de conduction de moindre degré. Une progression était observée d'un bloc du premier degré vers un bloc du deuxième degré puis un bloc complet, et d'un bloc de branche droit vers un bloc bifasciculaire. En 1975, Esscher et Coll. ont décrit une grande famille anglaise dans laquelle parmi les 91 membres examinés 20 individus répartis sur 3 générations étaient atteints de bloc de branche droit. Tous ces individus étaient des

descendants d'un homme ayant émigré de Suède au XVIIIème siècle. Ils concluaient à une probable anomalie génétique transmise sur le mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète (Esscher E. et Coll. 1975).

L'approche de Greenspahn et Coll. était différente. Ils ont comparé un groupe d'individus apparentés au premier ou deuxième degré à des patients atteints de bloc bifasciculaire chronique à un groupe contrôle apparié en âge et en sexe. Le groupe étudié avait une fréquence de troubles de conduction plus élevée que le groupe contrôle (respectivement 24/95 contre 10/95, $p < 0.02$), et cette différence était d'autant plus importante que les sujets étaient plus âgés. Ils concluaient à l'existence d'une prédisposition familiale aux troubles de conduction à révélation tardive (Greenspahn B.R. et Coll. 1976).

En 1977, Brink et Torrington ont décrit deux grandes familles sud-africaines atteintes de troubles de conduction, pour l'une à l'étage infra-hissien et pour l'autre à l'étage nodal (Brink A.J., Torrington M. 1977). Ils ont proposé de définir ces deux types de troubles de conduction héréditaires comme de nouvelles entités nosologiques :

(1) Le bloc cardiaque progressif familial de type 1 ou progressive familial heart block type I (PF-HBI) a été identifié parmi les nombreux descendants d'un ancêtre portugais ayant émigré en Afrique du Sud à la fin du XVIIème siècle. La famille initiale décrite en 1977 comptait 55 membres étudiés dont 31 étaient atteints (Brink A.J., Torrington M. 1977). L'atteinte caractéristique est un bloc de branche droit avec ou sans hémibloc gauche pouvant progresser vers un bloc auriculo-ventriculaire complet avec complexes QRS d'échappement larges qui est responsable des manifestations cliniques à type de syncopes et de mort subite. L'anomalie est transmise sur le mode autosomique dominant. L'examen histologique révèle une dégénérescence fibreuse du faisceau de His et de ses branches alors que le nœud sinusal et le nœud auriculo-ventriculaire sont normaux. Les troubles de conduction et les symptômes apparaissent souvent tôt dans la vie, chez les enfants et les adultes jeunes. Le suivi à 10 ans des membres de la famille initiale a montré une progression des troubles de conduction chez la plupart des patients atteints (Van der Merwe P.L. et Coll. 1988). Brink et Torrington ont supposé que les anomalies observées dans les familles sud-africaines décrites par Combrink et Coll. en 1962 puis par Steenkamp en 1972 étaient du même type.

(2) Le bloc cardiaque progressif familial de type 2 ou progressive familial heart block type II (PF-HBII) a été identifié dans une famille d'afrikaners. Dans cette famille décrite en 1977, 10 des 24 membres étudiés étaient considérés comme atteints. L'atteinte était définie par une bradycardie sinusale, un hémibloc postérieur gauche isolé ou un bloc auriculo-ventriculaire complet avec complexes QRS fins (Brink A.J et Torrington M. 1977). Les

manifestations cliniques, syncope et mort subite, étaient associées à la survenue d'un bloc auriculo-ventriculaire complet. Les anomalies de la conduction étaient transmises sur le mode autosomique dominant. En 2004, la réévaluation du phénotype de cette famille, avec notamment l'étude de nouveaux individus et la réalisation systématique d'une échocardiographie, a conduit à une redéfinition clinique cette entité, désormais caractérisée par une bradycardie sinusale, un hémibloc antérieur ou postérieur gauche, un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré pouvant évoluer vers un bloc complet avec complexes QRS fins et la progression possible vers une cardiomyopathie dilatée (Fernandez P. et Coll. 2004).

Stéphan a identifié en 1978 une autre grande famille de troubles de conduction (Stephan E. 1978, Stephan E. 1979). Cette famille libanaise comportait alors plus de 260 descendants d'un ancêtre polygame suspecté d'être décédé d'un bloc auriculo-ventriculaire. Le terme de « bloc de branche héréditaire » a été retenu pour désigner l'atteinte cardiaque observée dans cette famille. Les troubles de conduction observés dans cette famille sont en fait très proches de ceux associés au bloc cardiaque progressif familial de type 1 décrit par Brink, bien qu'un aspect un peu particulier de bloc de branche droit de type rR' en V1 semble être assez spécifique aux individus de la famille libanaise. Parmi les 209 membres de la famille étudiés, 32 étaient atteints. Ils avaient soit un bloc de branche droit incomplet, soit un bloc de branche droit complet associé ou non à un hémibloc antérieur ou postérieur gauche, soit un bloc complet à complexes QRS larges. L'atteinte était transmise sur le mode autosomique dominant. L'examen histologique du cœur d'un patient autopsié a montré une fibrose atteignant le tronc du faisceau de His et ses branches (Stephan E. et Coll. 1985). En 1997, Stephan et Coll. ont rapporté leurs observations de 20 années d'évolution des troubles de conduction dans cette famille (Stephan E. et Coll. 1997). Ils avaient alors étudié 396 individus, parmi lesquels 47 étaient jugés atteints et 36 de phénotype indéterminé (ils avaient un bloc de branche droit incomplet avec un aspect rsr's', rss' ou rSr' en V1). Les troubles de conduction apparaissaient généralement dans la première année de vie et 5 à 15% des individus atteints avaient une progression des anomalies de conduction allant jusqu'au bloc complet.

I.D.3. Des années 1990 à nos jours : l'ère de la biologie moléculaire

C'est la transmission sur le mode mendélien autosomique dominant de la maladie dans les familles décrites de troubles de conduction progressifs qui en a fait suspecter le caractère monogénique (Esscher E. et Coll. 1975). Le développement de la biologie

moléculaire dans les années 1990 a permis d'entreprendre des études destinées à identifier les gènes impliqués.

En 1995, le premier locus de troubles de conduction progressifs a été identifié sur le chromosome 19, en 19q13.2-13.3, dans un intervalle de liaison de 10 cM (Brink P.A. et Coll. 1994, Brink P.A. et Coll. 1995, de Meeus A. et Coll. 1995). C'est par une stratégie de clonage positionnel que les équipes de Brink et de de Meeus y sont parvenu presque simultanément, par l'étude moléculaire de leurs familles respectives (famille PF-HB1 pour Brink, famille de bloc de branche héréditaire décrite par Stéphan pour de Meeus). A ce jour, malgré l'étude de gènes candidats positionnels, l'anomalie génétique responsable, qui est probablement la même pour les deux familles, n'a pas été identifiée. Toutefois, cela a permis de montrer que la pénétrance de la maladie était différente dans les deux familles : dans la famille décrite par Stephan, la pénétrance était de 75% chez les hommes et de 50% chez les femmes, alors que Brink et Coll. retrouvaient une pénétrance de près de 100% dans les deux sexes dans leur famille.

En 1999, c'est avec une approche de clonage positionnel de type locus candidat dans une grande famille vendéenne de troubles de conduction isolés progressifs de type maladie de Lenègre que notre équipe a identifié la mutation causale IVS.22+2 T→C dans le gène *SCN5A* (Schott J.J. et Coll. 1999). Ce gène, localisé en 3p21.1, code pour la sous-unité alpha du canal sodique. Après que le locus en 19q13 et d'autres locus associés à des troubles de conduction aient été exclus par analyse de liaison, le gène *SCN5A* avait été choisi comme candidat en raison du rôle potentiel du courant sodique dans la conduction infra-nodale de l'influx cardiaque. Parmi les 41 individus répartis sur 3 générations étudiés dans cette famille, 15 étaient atteints, 4 de phénotype indéterminé et 22 étaient sains. Les anomalies présentées par les patients atteints correspondaient à la description de la maladie de Lenègre. Un bloc de branche droit complet était présent chez 5 patients, un bloc de branche gauche complet chez 2 patients, un hémibloc de branche gauche chez 2 patients et un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré chez 8 patients. Le suivi de certains patients a montré que les troubles de conduction étaient progressifs. Aucun d'entre eux n'avait d'anomalie cardiaque structurale. Ainsi, contrairement au phénotype des patients des familles décrites par Brink et Torrington (PF-HBI) et par Stéphan, tous les types de bloc de branche, y compris le bloc de branche gauche, étaient observés dans cette famille française. Par la suite, nous avons montré que chez les individus porteurs de la mutation le trouble conducteur n'apparaît généralement qu'à l'âge adulte et s'aggrave progressivement avec le vieillissement, jusqu'au bloc complet

qui n'est observé que chez les personnes âgées (Probst V. et Coll. 2003). Dans une famille hollandaise plus petite, une autre mutation de *SCN5A* (5280delG) était associée à un trouble de conduction congénital, montrant ainsi que les troubles de conduction induits par une mutation de *SCN5A* ne sont pas toujours progressifs (Schott J.J. et Coll. 1999).

En 2005, une approche de génétique de liaison de type locus candidat dans la famille sud-africaine troubles de conduction de type PF-HB2 identifiée par Brink en 1977 et cliniquement redéfinie par Fernandez en 2004 a abouti au positionnement du locus morbide en 1q32.2-q32.3 dans un intervalle de 3.9 cM. Le gène responsable n'a pas été identifié (Fernandez P. et Coll. 2005).

Dans les pages suivantes, nous décrivons la méthodologie et les résultats de l'étude de 7 familles atteintes de troubles de conduction isolés progressifs identifiées dans la région nantaise. Ce travail illustre la complémentarité des différentes structures composant l'institut du Thorax de Nantes puisque ces familles ont été identifiées et recrutées par la structure de Recherche Clinique du service de cardiologie du CHU de Nantes puis étudiées à l'échelle moléculaire au sein de l'unité de génétique moléculaire de l'unité INSERM 533.

II. MATERIEL ET METHODES

II.A. IDENTIFICATION DES FAMILLES

II.A.1. Enquêtes chez les apparentés de patients ayant une histoire familiale

De la façon la plus systématique possible, les patients atteints de maladie de Lenègre hospitalisés ou suivis en consultation dans le service de cardiologie du CHU de Nantes et ont été interrogés sur leurs antécédents familiaux. Les patients qui avaient au moins un parent au premier degré atteint de maladie de Lenègre étaient considérés comme des propositus potentiels pour une enquête familiale. En fonction notamment du nombre de cas connus au départ et de la taille de la famille, une enquête était réalisée. Nous contactons alors l'ensemble des membres de la famille, après que ceux-ci aient été prévenus par un des membres de la famille, en accord avec les recommandations françaises pour la recherche génétique et après l'accord du comité d'éthique de Nantes.

D'autre part, des cardiologues et médecins généralistes de la région ont été interrogés sur leur connaissance éventuelle de familles dans lesquelles plusieurs individus étaient atteints de maladie de Lenègre. De telles familles, si elles existaient, ont également été retenues pour une enquête familiale.

II.A.2. Approche d'épidémiologie génétique

Afin d'identifier de nouvelles familles atteintes de troubles de conduction progressifs, nous avons développé une approche basée sur l'épidémiologie génétique. L'hypothèse à la base de cette approche, est que s'il existe des formes familiales de la maladie, il doit être possible d'identifier des zones géographiques où la fréquence de la maladie sera anormalement élevée. Ces zones correspondant à des « clusters » familiaux. Afin de pouvoir développer ce type d'approche deux conditions sont essentielles. Il faut que la population étudiée soit sédentaire, ce qui est le cas dans les zones rurales de notre région et il faut disposer d'un fichier exhaustif de la maladie.

Il existe en Loire-Atlantique trois principaux centres d'implantation de stimulateurs cardiaques : l'hôpital de Nantes, l'hôpital de Saint-Nazaire et la clinique privée Saint Henri à Nantes. L'activité médicale y est quantifiée selon un codage informatique appelé PMSI

incluant notamment pour chaque patient hospitalisé le(s) diagnostic(s) et les actes thérapeutiques réalisés. Ce registre informatique a été créé en 1992 dans les hôpitaux de Nantes et Saint-Nazaire, en 2001 à la Clinique Saint Henri. Nous avons récupéré le fichier des 2906 patients de ces trois centres dont le codage répondait aux deux conditions suivantes : (1) acte thérapeutique = implantation d'un stimulateur cardiaque et (2) diagnostic = bloc auriculo-ventriculaire. Les communes de naissances ont été obtenues à partir des numéros de Sécurité Sociale (les chiffres 5 à 10 correspondant au code INSEE de la commune de naissance).

Pour avoir une idée de la répartition géographique des patients ayant eu un stimulateur cardiaque pour bloc auriculo-ventriculaire, nous avons pour chaque commune de la région rapporté le nombre total de patients recensés comme ayant eu un stimulateur cardiaque pour bloc auriculo-ventriculaire à la population de la commune. Compte tenu du fait que l'âge moyen d'implantation d'un stimulateur cardiaque est d'environ 70 ans, nous avons utilisé pour le nombre d'habitant par commune celui du recensement INSEE de 1936. Les valeurs obtenues pour chaque commune, exprimées en nombre de patients implantés par habitant de la commune, ont été reportées sur une carte géographique. Etant donné que la maladie de Lenègre représente le motif le plus fréquent d'implantation de pacemaker pour bloc auriculo-ventriculaire, nous avons utilisé cette carte pour reconnaître l'existence d'éventuels foyers de haute fréquence de la maladie de Lenègre.

Cette méthode ne prétend pas à l'exhaustivité car seules les formes les plus graves de la maladie sont identifiées et que les fichiers hospitaliers basés sur le PMSI ne sont pas toujours parfaitement remplis. Cependant, il n'existe malheureusement aucun fichier exhaustif des implantations de stimulateurs cardiaques, et notre but n'était pas d'évaluer précisément la fréquence de ces implantations mais d'identifier un effet géographique fort.

Parmi les patients identifiés comme ayant eu un stimulateur cardiaque pour bloc auriculo-ventriculaire, ceux qui étaient natifs d'une région où la fréquence des implantations était particulièrement élevée étaient des propositus potentiels. Les dossiers médicaux de ces patients ont été consultés, et parmi eux ceux qui étaient atteints de maladie de Lenègre ont été sélectionnés comme propositus pour une enquête familiale.

Une fois les zones de haute fréquence de la maladie identifiées, nous avons réalisé une recherche de généalogie ascendante à partir des patients atteints issus des communes avec la plus forte prévalence de la maladie afin d'identifier un ancêtre commun à ces patients.

II.B. ENQUETE FAMILIALE

L'enquête familiale consiste à obtenir la collaboration du patient sélectionné (propositus) et celles des différents membres de sa famille par l'intermédiaire d'un consentement écrit et signé du patient après un entretien, en accord avec les recommandations du CCPPRB du CHU de Nantes. Chaque membre de la famille devait être contacté au préalable par le patient sélectionné en accord avec un rapport de l'Ordre National des médecins sur la déontologie médicale et le diagnostic génétique. Lorsque le propositus était décédé, un de ses enfants était prévenu par son médecin traitant, puis contactait les autres membres de la famille. Seuls les individus âgés de plus de 40 ans ont été sollicités pour une enquête familiale compte tenu de la faible fréquence de la maladie de Lenègre avant cet âge. Les individus ayant accepté de participer à l'enquête ont eu un interrogatoire médical, un examen clinique général orienté vers l'appareil cardiovasculaire, un électrocardiogramme 12 dérivations et une prise de sang.

II.C. ENQUETE GENEALOGIQUE

La généalogie ascendante, descendante et horizontale des propositus sélectionnés a été systématiquement réalisée. Conformément à la législation, les renseignements généalogiques postérieurs à 1903 ont été obtenus directement auprès des participants à l'étude, et ceux antérieurs à cette date ont été apportés par l'étude des registres d'état civil et paroissiaux des mairies et des services des archives généalogiques départementales. Les recherches de généalogie ascendante ont été réalisées par le professeur Chaventré du laboratoire de génétique de population de Bordeaux.

II.D. DETERMINATION DU PHENOTYPE

Le phénotype des participants à l'enquête familiale a été établi selon des critères cliniques et électrocardiographiques. Les critères cliniques prenaient en compte la présence d'une cardiopathie pouvant rendre compte d'un trouble de conduction ainsi que l'âge des patients compte tenu de l'apparition tardive de la maladie. L'âge minimum permettant de considérer comme sain un patient ayant un électrocardiogramme normal a été déterminé pour

chaque famille en tenant compte notamment de l'âge des individus atteints. Les électrocardiogrammes de chaque patient ont chacun été interprétés par aux moins deux praticiens (Pr H. Le Marec et/ou Dr V. Probst et/ou moi-même). La fréquence cardiaque, la durée des intervalles PR, QRS, QT et QTc et l'axe de QRS ont été mesurés. Les troubles de conduction ont été définis selon les critères des conventions internationales (Rosenbaum M.B. 1970 ; Criteria committee of the New York Association. Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Disease of the Heart and Great Vessels. 6th. ed. Boston, Mass, Little, Brown & Co. 1979.). Une échocardiographie a été réalisée chez certains patients.

Chaque individu a ainsi pu être considéré comme ayant un phénotype atteint, sain ou indéterminé selon les critères suivants :

- Phénotype atteint pour les individus répondant aux deux conditions suivantes :

(1) absence de signes cliniques ou électrocardiographiques (ou échographiques, lorsqu'une échocardiographie était réalisée) témoignant d'une cardiopathie

(2) présence d'au moins un des critères électrocardiographiques suivants :

-bloc de branche gauche ou droit complet.

-hémibloc antérieur ou postérieur gauche.

-bloc auriculo-ventriculaire complet et échappement ventriculaire à complexes larges (durée de QRS > 120 ms).

-bloc pariétal (durée de QRS supérieure à 115 ms sans morphologie de bloc de branche droit ou gauche).

- Phénotype sain pour les individus répondant aux deux conditions suivantes

(1) âge supérieur à la limite inférieure fixée pour chaque famille (2) conduction auriculo-ventriculaire et intra ventriculaire normales : intervalle PR < 210 ms, durée de QRS < 100 ms, axe de QRS compris entre -30 et 90°, absence de bloc de branche incomplet droit ou gauche.

- Phénotype indéterminé dans les autres cas

Seuls les individus phénotypiquement atteints ou sains ont été pris en compte dans le calcul statistique de liaison.

II.E. DETERMINATION DU GENOTYPE

II.E.1. Marqueurs génétiques utilisés

Il existe un polymorphisme de l'ADN caractérisé par la présence de variants (allèles) au sein de nombreux locus. Un locus est dit polymorphe si l'(les) allèle(s) rare(s) y a (ont) une fréquence au moins égale à 0,01. Parmi les différents types de polymorphisme, il existe dans l'ADN non codant des séquences appelées courts tandems répétés, ou STR (*short tandem repeat*), ou microsatellites, qui sont des unités de base de 1 à 4 nucléotides répétées 3 à environ 15 fois. Les microsatellites les plus fréquents sont des répétitions en nombre variable de CA sur le brin 5' vers 3'. Ces microsatellites sont retrouvés toutes les 25 à 100 kilobases dans le génome humain et ont été répertoriés sur une carte génétique (Dib C. et Coll. 1996). Utilisés comme marqueurs génétiques, ils permettent de distinguer les allèles à un locus donné et de déterminer leur origine parentale. Les marqueurs génétiques du kit ABI PRISM™ Linkage Mapping Set MD-10 Version 2 ont été choisis parmi ceux dont le degré d'hétérozygotie est le plus élevé et de telle façon qu'ils soient distribués tous les 10 cM.

II.E.2. Extraction de l'ADN

Avant d'en amplifier sélectivement certaines séquences cibles, il est nécessaire de disposer d'une solution d'ADN génomique. Pour cela, on extrait l'ADN des lymphocytes du sang périphérique.

Pour chaque individu on prélève 15 ml de sang veineux périphérique dans des tubes contenant de l'EDTA (anticoagulant chélateur des ions Mg^{2+} empêchant l'action des DNases). Le sang est ensuite conservé à $-20^{\circ}C$ jusqu'à l'extraction. L'ADN génomique des lymphocytes est extrait avec le kit NUCLEON (Amersham LIFE SCIENCE) selon le protocole du fabricant. La concentration du flocon d'ADN obtenu est estimée visuellement puis on dissout ce flocon dans un tampon TE à 20 : 1 à température ambiante de manière à obtenir une concentration finale d'ADN de 100 ng/ μ l. Cette solution est agitée pendant 24h sur une rotatrice puis conservée à 4° .

II.E.3. Amplification par PCR

La PCR (*polymerase chain reaction*) est une technique *in vitro* permettant d'amplifier sélectivement une séquence d'ADN cible à partir de petites quantités d'ADN. Il

s'agit d'une réaction en chaîne, les brins d'ADN néoformés étant utilisés comme matrice pour la synthèse d'ADN lors du cycle suivant. Pour l'analyse de liaison, les séquences cibles amplifiées sont des marqueurs microsatellites de type (CA)_n. Pour les amplifier sélectivement, on utilise deux amorces nucléotidiques complémentaires et spécifiques des séquences flanquantes extérieures aux extrémités de la séquence cible.

Les amorces sont rendus fluorescentes à l'aide d'un fluorochrome (6-FAM (bleu) ou HEX (vert) ou NED (jaune)) et regroupées en panels suivant la couleur de leur fluorochrome et la taille des fragments amplifiés obtenus (définie par le Centre d'Etude du Polymorphisme Humain ou CEPH).

On prépare pour chaque patient et pour chaque marqueur un mélange réactionnel de 15 µl, contenant : (1) 5 µl de solution d'ADN à 20 ng/µl; (2) 1,5µl de tampon GeneAmp® 10x PCR buffer II (Tris-HCL (pH=8,3) à 100 mM et KCl à 500 mM) ; (3) 1,5 µl de MgCl₂ à 25 mM ; (4) 1,5 µl d'une solution des 4 désoxynucléotides triphosphates (dNTP) à 2,5 mM ; (5) 1 µl d'amorce sens et antisens à 10 µM; (6) 0,6 unités d'ampliTaq® GOLD DNA polymérase; et (7) 4,38 µl d'eau stérile.

Le mélange réactionnel est soumis à 30 cycles d'amplification dans un thermocycleur automatique GeneAmp® PCR System 9700 selon le protocole suivant: (1) dénaturation initiale de l'ADN pendant 12 min à 95°C (permet d'activer la Taq DNA polymérase) ; (2) 10 cycles comprenant une dénaturation de l'ADN pendant 15 sec à 94°C, une hybridation des amorces pendant 15 sec à 55°C et une synthèse d'ADN à l'aide de la Taq DNA polymérase pendant 30 sec à 72°C ; (3) 20 cycles comprenant une dénaturation de l'ADN pendant 15 sec à 89°C, une hybridation des amorces pendant 15 sec à 55°C et une synthèse d'ADN pendant 30 sec à 72°C ; (4) extension finale de 10 min à 72°C ; et (5) température finale de 4°C.

II.E.4. Résolution des allèles

Les produits d'amplification sont séparés par une migration électrophorétique en gel d'acrylamide en condition dénaturante. La taille des produits d'amplification est calculée en fonction de leur vitesse de migration.

Une solution de gel est préparée en mélangeant 30 ml de Long Ranger (acrylamide à 5%, urée à 9 M et tampon TBE 1X), 200 µl d'APS (Ammonium persulfate) à 10% et 20µl de TEMED à 100%. Cette solution est coulée entre 2 plaques de verre puis polymérise pendant 90 minutes.

Pour chaque individu, 5 µl des produits d'amplification des marqueurs de chaque panel sont mélangés. A 2 µl de ce mélange sont ajoutés 3 µl d'une solution de charge

contenant 2,5 µl de formamide, 0,5 µl d'un marqueur de taille (GS-400-HD Rox) et 0,5 µl d'un tampon de charge (bleu dextran 500 mg/ml et EDTA 25 mM)). Ce mélange est dénaturé pendant 5 minutes à 94°C puis déposé dans un des puits du gel pour chaque individu.

Les produits de PCR migrent sur un séquenceur 377 ABI PRISM® en présence de tampon TBE 1X pendant 2 heures à 51°C, 3 kV et 124 W, sous contrôle du logiciel ABI PRISM 377-96 DNA Sequencer Data Collection®. Au cours de leur migration électrophorétique les produits de PCR marqués par un des trois fluorochromes (HEX, NED, 6-FAM) sont excités par un faisceau laser à argon qui excite les fluorochromes, induisant un signal fluorescent recueilli par une caméra CCD à une vitesse de 2 400 scans/heure, et à 3 longueurs d'ondes spécifiques de chaque fluorochrome : 488nm (HEX), 514,5nm (NED) et 531nm (6-FAM).

Le gel d'électrophorèse est analysé par le programme informatique GENESCAN® qui extrait les données brutes du gel (intensité de fluorescence et temps de migration des allèles) et assigne grâce au standard de taille interne (GS-400HD Rox) une taille en paire de base à chacun des allèles. Les allèles sont ensuite numérotés selon leur taille par le logiciel GENOTYPER®.

II.F. ANALYSE DE LIAISON

L'analyse de liaison est une technique destinée à localiser le gène responsable d'une maladie monogénique dans une famille en détectant la co-ségrégation d'un allèle d'un marqueur génétique avec le phénotype pathologique. Cette stratégie permet, sans hypothèse physiopathologique, de localiser le gène responsable sur une carte génétique sans pour autant l'identifier.

Lors de la méiose se produisent des événements de recombinaison homologue. Il s'agit d'un échange de matériel chromosomique homologue entre les 2 chromosomes d'une même paire. Les allèles présents à deux locus d'un même chromosome vont être transmis ensemble s'il n'y a pas de recombinaison ou un nombre pair de recombinaison entre eux, et séparément s'il se produit un nombre impair d'événements de recombinaison entre eux. La probabilité de recombinaison entre deux locus est d'autant plus faible qu'ils sont proches l'un de l'autre. Ainsi, les allèles présents à 2 locus d'un chromosome vont tendre à être hérités ensemble si les recombinaisons entre eux sont rares, et de façon indépendante si les recombinaisons entre eux sont fréquentes (figure 24). Par définition, une probabilité de recombinaison de 1% entre deux locus correspond à une distance génétique entre ces deux points de 1 centimorgan (1 cM).

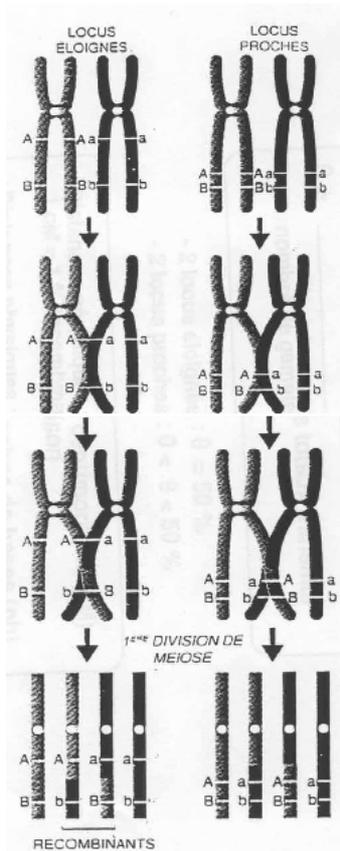


Figure 24 : Principe de liaison génétique.

La liaison entre deux locus dépend de la fréquence des recombinaisons méiotiques entre eux.

Soit B la proportion de gamètes recombinés (Ab et aB dans l'exemple de la figure 24) sur l'ensemble des gamètes produits. Lorsque $B = 1/2$, tous les types de gamètes ont la même probabilité, ce qui revient à dire que les allèles des 2 locus se transmettent de façon indépendante ou qu'ils ne sont pas liés. Si $B < 1/2$, les 2 locus sont liés. Plus les 2 locus sont proches, plus B est petit.

Au sein d'une famille, soit H_0 l'hypothèse d'une non liaison génétique entre 2 locus définie par $B = 1/2$ et H_1 l'hypothèse d'une liaison génétique entre ces 2 locus définie par une valeur de B égale à B_1 ($B_1 < 1/2$).

Soit $L(B = 1/2)$ et $L(B = B_1)$ les probabilités respectives de H_0 et H_1 .

Le Lod Score $Z(B_1)$ en B_1 est le logarithme décimal du rapport de la probabilité de liaison opposée à la probabilité de non liaison :

$$Z(B_1) = \text{Log} (L(B = B_1)/L(B = 1/2)).$$

Si $Z(B_1) = 3$, la probabilité que les 2 locus soient liés selon $B = B_1$ est mille fois plus grande qu'ils soient indépendants. On peut conclure à l'existence d'une liaison entre deux locus si le Lod Score est supérieur à 3, et d'une absence de liaison si le Lod Score est inférieur à -2. Un Lod Score compris entre -2 et 3 ne permet pas de conclure quand à l'existence ou non d'une liaison entre deux locus.

Dans chaque famille étudiée, le calcul du Lod Score a été réalisé par le logiciel d'analyse de liaison génétique des maladies autosomiques dominantes M-LINK.

Avant d'entreprendre l'étude de liaison proprement dite, l'informativité génétique d'une famille est évaluée par le calcul du Lod score théorique maximal qui doit être au moins égal à 3 pour un marqueur théorique situé à 0 cM du gène recherché.

III. RESULTATS

III.A. FAMILLES IDENTIFIEES PAR UNE NOTION D'HISTOIRE FAMILIALE

III.A.1. Etude de la famille B.

III.A.1.a. Etude phénotypique de la famille B.

Un membre de la famille B., un homme âgé de 80 ans a été hospitalisé dans l'unité de soins intensifs de cardiologie du CHU de Nantes pour un bloc auriculo-ventriculaire complet entrant dans le cadre de maladie de Lenègre et a bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque. L'interrogatoire de ce patient a révélé que deux membres de sa famille avaient bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque avant lui. Ceci a été le point de départ d'une enquête familiale. La famille B. est une grande famille puisqu'elle se compose d'environ 150 personnes, parmi lesquelles nous avons pu examiner 59 personnes âgées de plus de 45 ans.

Six membres de la famille avaient bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque pour des troubles de conduction isolés progressifs : les individus II-3, II-4 et II-5, toujours en vie lors de l'étude de la famille, et les individus II-1, II-12 et II-13, décédés au moment de l'étude.

Au terme de l'enquête, nous comptons dans cette famille 10 individus atteints de troubles de conduction progressifs (figures 25). Ces anomalies de conduction étaient un bloc de branche droit complet chez 2 patients (II-5 et III-20), un bloc de branche droit complet associé à un hémibloc antérieur gauche chez 3 patients (II-4 , II-18 et II-24) (figure 26), un hémibloc antérieur gauche chez 2 patients (II-23 et III-1) et un bloc pariétal chez 2 patients (III-12 et III-39). Pour le patient II-3 qui était électro-entraîné en permanence pour un bloc auriculo-ventriculaire, il n'a pas été possible de déterminer les anomalies de la conduction à l'étage intraventriculaire. Trois de ces patients avaient en plus un allongement de la durée de l'intervalle PR. Les paramètres échocardiographiques des patients atteints étaient dans les limites de la normale.

Sept autres membres de la famille ont été considérés comme ayant un phénotype indéterminé. Ils avaient des anomalies mineures de la conduction qui incluait un bloc

incomplet de la branche droite dans 5 cas et une déviation axiale gauche ne remplissant pas les critères pour un hémibloc antérieur gauche dans 2 cas.

Les 32 autres membres de la famille âgés de plus de 45 ans étaient indemnes de troubles de conduction et considérés comme phénotypiquement sains.

Les anomalies de la conduction étaient transmises comme un trait mendélien autosomique dominant dans cette famille.

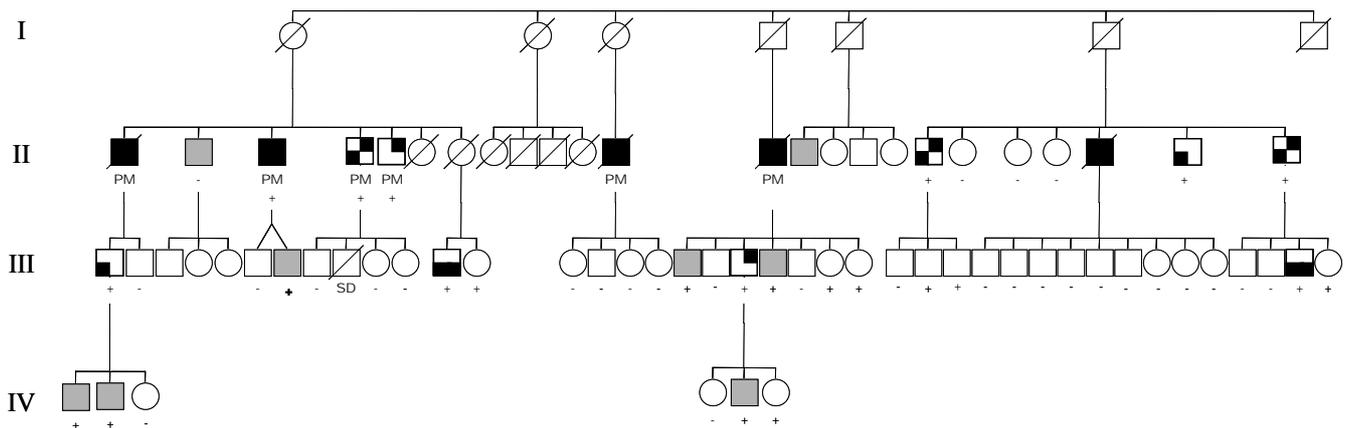


Figure 25 : *Arbre généalogique de la famille B.*

Symboles: carré = homme, rond = femme, barré = individu décédé, PM = pacemaker (stimulateur cardiaque), SD = sudden death (mort subite), blanc = phénotype inconnu pour les individus décédés, phénotype sain pour les individus vivants, gris = phénotype indéterminé, ■ = individus atteints de troubles de conduction sans que nous puissions connaître le type de trouble de conduction intraventriculaire, ◻ = bloc de branche droit complet, ◻ = bloc de branche droit complet et hémibloc antérieur gauche, ◻ = hémibloc antérieur gauche, ◻ = bloc pariétal. Les patients marqués d'une croix sont porteurs de l'haplotype morbide sur le chromosome 16.

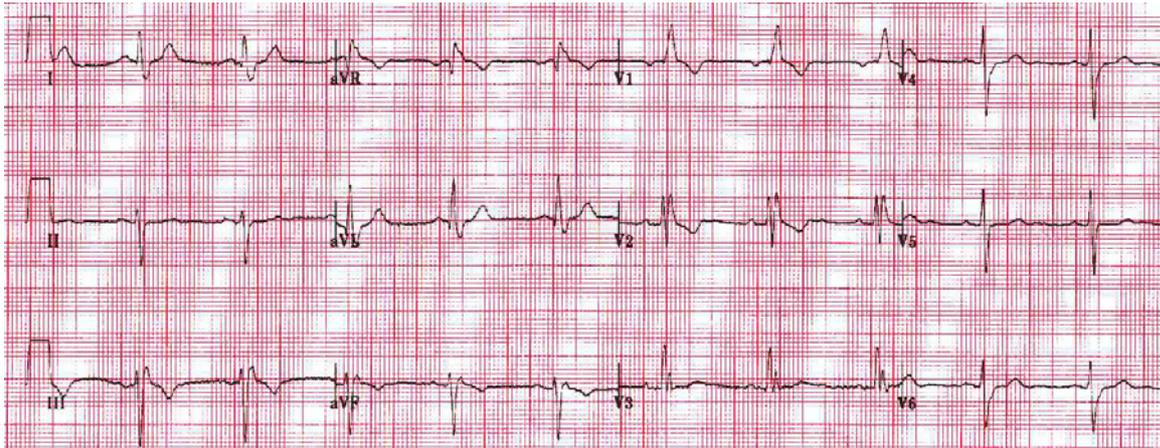


Figure 26 : ECG du patient II-18 à l'âge de 70 ans.

Bloc de branche droit complet et hémibloc antérieur gauche.

III.A.1.b. Etude génétique de la famille B.

L'étude génétique de la famille B. a été réalisée avec une approche de type clonage positionnel. Pour l'analyse de liaison génétique, étant donné l'aspect progressif et la pénétrance incomplète de la maladie chez les sujets jeunes, seuls les patients âgés de plus de 60 ans parmi ceux ayant un phénotype sain ont été inclus dans l'analyse initiale.

Dans un premier temps, une approche de type locus candidat a permis d'exclure les locus déjà identifiés de troubles de conduction isolés en 19q13 et 3p21 (*SCN5A*), des locus associés à d'autres maladies cardiaques ainsi que les différents locus des connexines cardiaques.

Une analyse de liaison à l'échelle du génome entier a ensuite été réalisée. Nous avons utilisé une technique particulière de regroupement des ADN qui a consisté à regrouper sept ADN de sujets atteints qui ont été amplifiés par PCR simultanément et analysés sur un gel de génotypage et comparés à sept ADN de sujets sains de cette famille traités en parallèle de la même façon. Cette technique était basée sur le principe que l'allèle associé à la maladie devait être majoritaire chez le groupe de sujets atteints comparé au groupe de sujets sains et a permis de sélectionner initialement une cinquantaine de marqueurs génétiques potentiellement liés à la maladie.

Le génotypage de ces marqueurs chez l'ensemble des membres de la famille a permis de mettre en évidence une liaison génétique pour les marqueurs D16S516 et D16S3091 avec des Lod Scores à 0 % de recombinaison de 4,21 et 6,82 respectivement. Le génotypage des marqueurs flanquant et une analyse de liaison multipoint a permis de définir un intervalle de liaison de 19 cM en 16q23.3-16q24, entre les marqueurs D16S518 et D16S402 (figures 27 et

28). L'analyse génétique sur l'ensemble des membres de la famille a montré que tous les sujets considérés comme atteints partageaient l'haplotype morbide. Sept individus de statut indéterminé partageaient également cet haplotype, parmi lesquels six étaient âgés de moins de 60 ans et le septième (patient II-14) avait une déviation axiale gauche sans hémibloc antérieur gauche. Enfin, huit individus phénotiquement sains avaient également l'haplotype morbide. Parmi eux, 7 étaient âgés de moins de 60 ans et une patiente (III-13) âgée de 65 ans avait un électrocardiogramme strictement normal. Elle a été considérée comme non pénétrante pour la maladie.

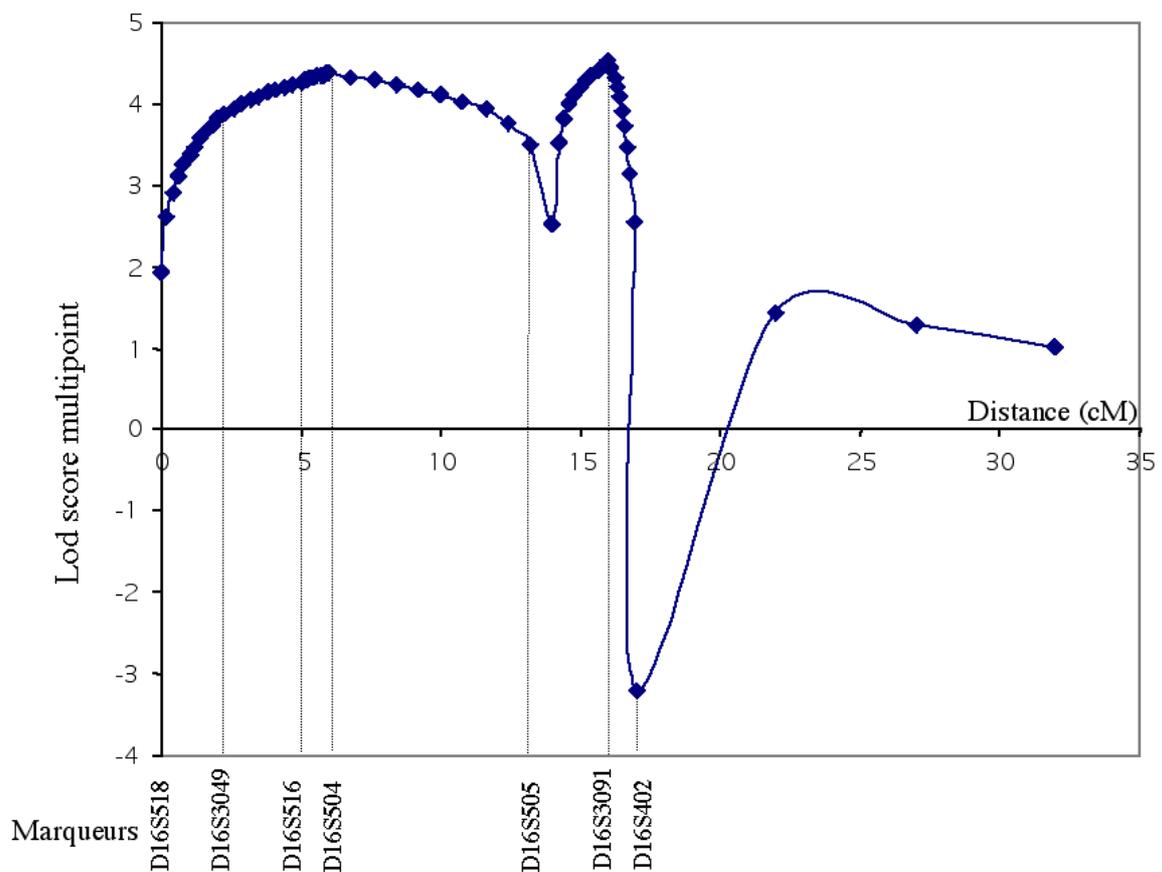


Figure 27 : Locus de troubles de conduction progressifs sur le chromosome 16. Une analyse de liaison multipoint a été réalisée en comparant la ségrégation du phénotype et 7 marqueurs microsatellites. La distance séparant les marqueurs (en cM) est indiquée en abscisse et les valeurs de Lod Score sont indiquées en ordonnées.

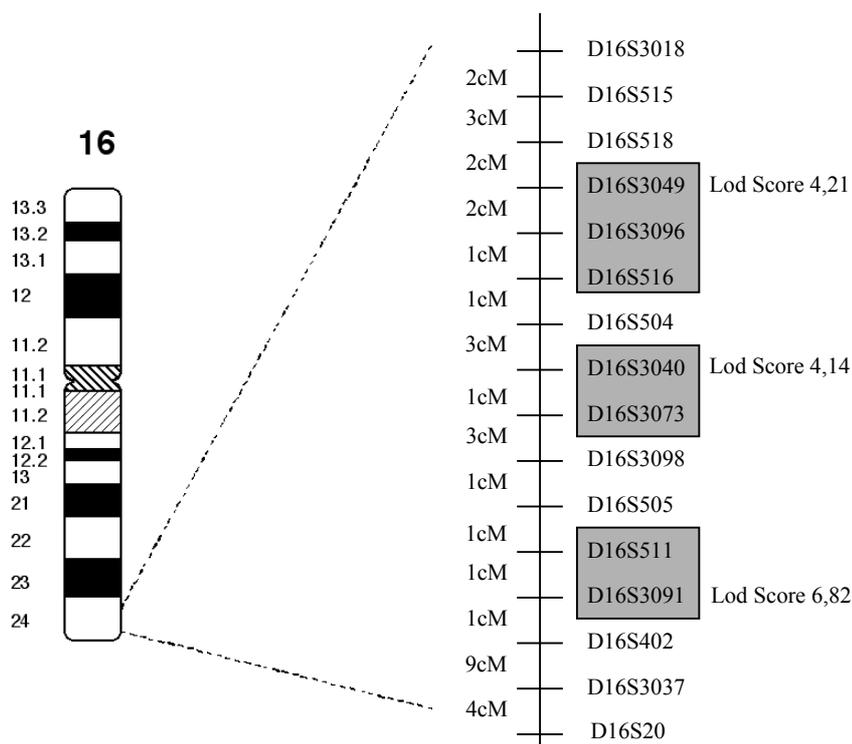


Figure 28 : Représentation schématique du chromosome 16 et des marqueurs microsatellites utilisés pour l'analyse de liaison génétique ainsi que les distances génétiques séparant ces marqueurs. Des Lod Scores de 4,21, 4,14 et 6,82 ont été trouvés à 0% de recombinaison pour les marqueurs D16S3049, D16S3040 et D16S3091 respectivement. Les marqueurs encadrés sont liés pour l'ensemble de la famille.

De façon surprenante une des branches de cette famille (descendants de l'individu I-6) aurait présenté un simple recombinaison entre les marqueurs D16S3018 et D16S3049 et deux doubles recombinaisons à l'intérieur de la zone de liaison entre les marqueurs D16S516 et D16S3040 et entre les marqueurs D16S3073 et D16S511 (figure 28). Nous n'avons pas d'explication claire à ce sujet. Il pourrait exister trois régions potentiellement liées à la maladie. La reconstitution des haplotypes des parents de la première génération n'écarte pas le fait que ces individus aient été apparentés, atteints tous les deux de la même maladie, et qu'ils auraient l'un et l'autre transmis l'allèle délétère. Une enquête généalogique ascendante n'a cependant pas permis de trouver un lien de parenté entre ces deux individus. Il en est de même pour la conjointe de l'individu I-6.

On peut également envisager que la région chromosomique située entre les marqueurs D16S3018 et D16S402 ait été transmise entièrement à tous les individus atteints porteurs de la mutation, et que ceux n'ayant pas l'haplotype complet soient des phénocopies. En faveur de cette hypothèse, la reconstitution des haplotypes de l'individu décédé II-22 à partir des

haplotypes de ses enfants montre clairement qu'il n'avait pas l'haplotype morbide et qu'il s'agirait donc d'une phénocopie.

Plusieurs gènes potentiellement candidats étaient situés dans l'intervalle de liaison génétique initialement constitué de 3 blocs respectivement bornés par les marqueurs D16S518 et D16S504, D16S504 et D16S3098; et D16S505 et D16S402. En raison de leur implication potentielle dans les mécanismes de conduction de l'influx cardiaque, les régions codantes de trois gènes à expression cardiaque ont fait l'objet d'un séquençage direct.

Le premier gène code une protéine de 414 acides aminés contenant deux domaines WW du côté amino-terminal et une région de forte homologie avec la chaîne courte des enzymes de la famille déhydrogénase/réductase (*WWOX*). Il est localisé entre les marqueurs D16S518 et D16S3040. Le séquençage des régions codantes des neuf exons de ce gène n'a pas permis d'identifier de mutation.

Le deuxième gène étudié code une protéine de 713 acides aminés, la cadhérine 13 (*CDH13*). Il est localisé entre les marqueurs D16S505 et D16S3037. La cadhérine 13 est une protéine fortement exprimée au niveau du cœur dont la fonction exacte n'est pas connue. Cependant il a été montré que les cadhérines, qui sont des glycoprotéines d'adhésion cellulaire dépendant du calcium, participeraient à la formation des jonctions communicantes et moduleraient les fonctions des canaux jonctionnels (connexines). Des répétitions de dinucléotides (CA)_n polymorphes, présentes dans l'intron 1 du gène *CDH13* (*CDH13*(CA)_n), ont été testées sur l'ensemble de la famille et recombinent dans une branche de la famille (descendants de l'individu I-6). Les 14 exons de ce gène ont été séquencés aucune mutation n'a été retrouvée.

Le troisième gène est un gène codant une protéine de 1252 acides aminés exprimée dans le cœur, la phosphatidylinositol-phospholipase C gamma 2 (*PLCG2*). Il est situé entre les marqueurs D16S3073 et D16S3098. Les 20 exons codants de ce gène ont été séquencés et aucune mutation n'a été trouvée.

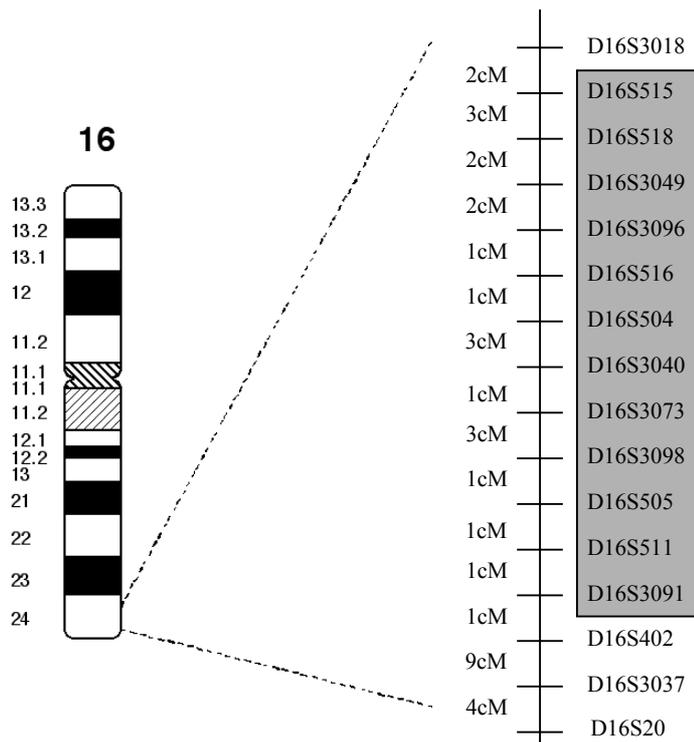


Figure 29 : Représentation schématique du chromosome 16 et des marqueurs microsatellites utilisés pour l'analyse de liaison génétique ainsi que les distances génétiques séparant ces marqueurs. Les marqueurs encadrés sont liés pour l'ensemble de la famille sauf pour la branche issue de l'individu I-6. Le locus que nous prenons en considération en 2005 est constitué de l'ensemble du bloc borné par les marqueurs D16S3018 et D16S402.

L'étude des gènes candidats positionnels n'est toutefois pas terminée. En effet, puisque nous pensons maintenant que le locus est plus vraisemblablement constitué d'un seul bloc borné par les marqueurs D16S3018 et D16S402 (figure 29), les gènes situés entre les marqueurs D16S415 et D16S3049, entre les marqueurs D16S516 et D16S3040 et entre les marqueurs D16S3073 et D16S511 peuvent être pris en compte dans le choix de ces gènes candidats positionnels. C'est le cas du gène *PKD1L2* codant la protéine polycystine-1 exprimée dans le cœur. Ce gène est constitué de 43 exons localisés entre les marqueurs D16S3073 et D16S3098. La polycystine-1 forme avec la polycystine-2, codée par le gène *PKD2*, un canal ionique non sélectif à la surface cellulaire. *PKD1L2* est l'un des gènes associé chez l'homme à la polykystose rénale autosomique dominante, pathologie fréquemment associée à des anomalies cardiovasculaires à type d'hypertension artérielle, de prolapsus valvulaire mitral et anévrismes intracrâniens. D'autre part, des souris invalidées pour ce gène meurent *in utero* avec des anomalies du développement cardiovasculaire incluant une désorganisation de l'architecture myocardique et des anomalies de septation

atrio-ventriculaire (Boulter C. et Coll. 2001). Nous envisageons actuellement de réaliser le séquençage direct des régions codantes de ce gène.

III.A.2. Etude de la famille R.

III.A.2.a. Etude phénotypique de la famille R.

C'est à l'occasion d'une syncope inaugurale que le diagnostic de maladie de Lenègre a été posé chez la patiente III-16, alors âgée de 75 ans. Son électrocardiogramme montrait un bloc auriculo-ventriculaire complet avec un échappement ventriculaire à 25/min à complexes larges (figure 30) et elle n'avait pas de cardiopathie décelable à l'échocardiographie. Cette patiente a bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque.

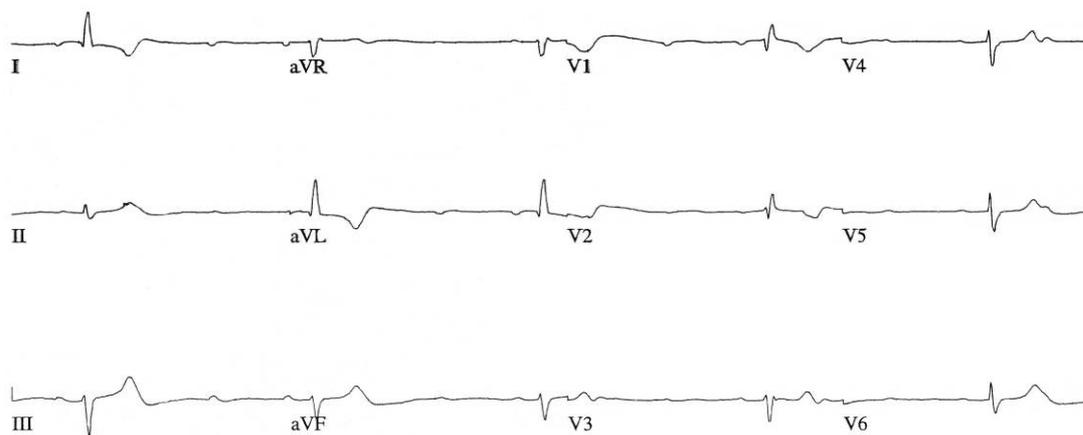


Figure 30 : ECG de l'individu III-16 enregistré à l'âge de 78 ans.

Bloc auriculo-ventriculaire complet. Echappement ventriculaire à complexes larges à type de retard droit axe gauche.

L'interrogatoire de cette patiente ayant révélé une histoire familiale d'implantation de stimulateurs cardiaques, une enquête familiale a été réalisée, à laquelle 22 personnes ont participé (figure 31).

Parmi ces individus, 4 étaient atteints de troubles de conduction (3 hommes et une femme), 7 avaient un phénotype indéterminé et 11 étaient sains. La nature des troubles conductifs observés dans cette famille n'était pas homogène. En effet, parmi les 4 patients atteints, 2 avaient un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré (l'individu II-5 qui avait un intervalle PR mesuré à 240 ms a bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque en raison de syncopes d'Adams-Stokes suspectes de bloc complet paroxystique ; et l'individu

III-14 avait un intervalle PR mesuré à 340 ms) et 2 avaient un aspect électrocardiographique de maladie de Lenègre, avec pour l'un un bloc auriculo-ventriculaire complet à QRS larges (le propositus III-16) et pour l'autre un bloc de branche droit complet avec un intervalle PR de durée limite mesuré à 200 ms (IV-3). Parmi les 7 individus de phénotype indéterminé, 4 avaient un intervalle PR de durée limite mesurée à 200 ms avec des complexes QRS fins (III-1, III-4, III-15, IV-2 ; l'individu III-15 a bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque en raison d'un syndrome du sinus carotidien), 1 avait un intervalle PR normal et un bloc incomplet droit (IV-1), 1 avait un intervalle PR limite à 200 ms et un bloc incomplet droit (IV-4) et 1 a bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque mais nous ne disposons pas d'électrocardiogramme pour cet individu (III-13). Parmi les individus décédés au moment de l'enquête, 2 avaient eu un stimulateur cardiaque pour des troubles de conduction (II-2 et II-7), mais, n'ayant pu obtenir d'électrocardiogrammes pour ces deux patients, nous ne connaissons pas leur phénotype précis.

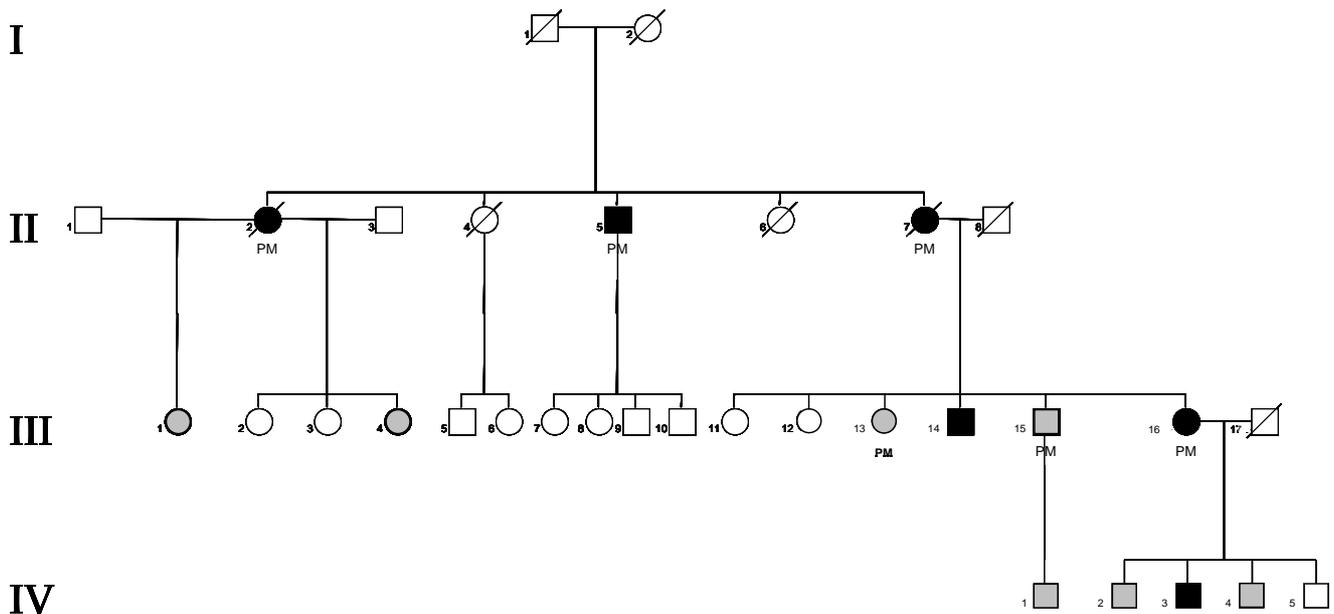


Figure 31 : Arbre généalogique de la famille R.

Symboles: carré = homme, rond = femme, vide = phénotype inconnu pour génération I, phénotype sain pour la génération I, phénotype sain pour les générations II, III et IV, noir = phénotype atteint, gris = phénotype indéterminé, barré = individu décédé, PM = pacemaker (stimulateur cardiaque).

III.A.2.b. Etude génétique de la famille R.

Dans la famille R., les troubles de conduction étaient compatibles avec un trait mendélien autosomique dominant.

Dans un premier temps, des gènes candidats ont été testés par étude de ségrégation (et/ou par séquençage direct). Le gène *SCN5A* (3p21) a ainsi été exclu par analyse de liaison, puis par séquençage direct. Les autres locus déjà identifiés de troubles de la conduction cardiaque isolés progressifs, en 19q13.2-q13.3 et en 1q32 (locus PF-HBII) ont également été testés et exclus par une étude de liaison. Les marqueurs utilisés se sont révélés non informatifs pour le locus en 16q24 identifié dans la famille B. décrite plus haut. Les locus des connexines cardiaques 45 (17q21), 43 (6q21-23) et 40 (1q21.1), protéines ayant un rôle physiologique important dans la conduction cardiaque, ont été testés et exclus par l'étude de liaison génétique. Le locus du gène *SCN6A* (2q21), codant pour une isoforme neuronale de sous-unité alpha de canal sodique également exprimée dans le cœur, s'est aussi avéré être non lié au phénotype dans cette famille. Le séquençage direct du gène *ATF3*, codant pour un facteur de transcription dont l'expression cardiaque chez la souris provoque des troubles de conduction et une dysfonction myocardique, n'a pas retrouvé d'anomalies.

Les gènes et locus candidats ayant été exclus, l'informativité statistique de la famille a été évaluée par le calcul du Lod Score théorique maximal qui était de 3,37 à 0 cM et 100% de pénétrance. Les critères d'informativité pour une étude de liaison génétique étant remplis, nous avons entrepris une analyse de liaison à l'échelle du génome entier. Cette analyse de liaison ne nous a pas permis à ce jour de mettre en évidence une zone de liaison. Toutefois, certaines régions du génome restent non informatives, notamment en raison du caractère peu polymorphe des marqueurs utilisés à ces locus. L'utilisation de marqueurs plus polymorphes permettra de rendre ces régions informatives concernant l'existence ou non d'une liaison génétique avec les troubles de conduction observés chez les individus de cette famille.

L'absence d'homogénéité du phénotype dans cette famille est également un point à considérer, puisque deux individus atteints ont un bloc de siège probablement nodal (II-5, III-13) et deux autres ont un bloc infra-hissien (III-5, IV-3). A ce jour les gènes ayant été associés aux troubles de conduction nodaux (locus en 1q32) et ceux associés aux troubles de conduction infra-hissiens (*SCN5A* et locus en 19q13) ne sont pas les mêmes. Bien que ceci n'exclue pas que la mutation génétique en cause dans la famille R. puisse se manifester par les deux phénotypes, il est possible que seule l'un des deux soit associée à la mutation (le phénotype « bloc nodal » semble majoritaire au vu du phénotype des patients ayant un phénotype indéterminé) et que les patients n'ayant pas ce phénotype soient des phénocopies.

Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait considérer comme atteint uniquement les patients ayant un bloc nodal ou uniquement ceux ayant un bloc infra-hissien, et les autres comme ayant un phénotype indéterminé. Toutefois, pour réaliser cette étude de liaison, il faudrait impérativement reprendre l'enquête familiale pour agrandir la famille car celle-ci ne serait plus, telle qu'on la connaît aujourd'hui, génétiquement informative.

III.A.3. Etude de la famille C.

III.A.3.a. Etude phénotypique de la famille C.

En 1998, on diagnostiquait chez une femme âgée de 61 ans des troubles de conduction. Elle avait alors un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré, un bloc de branche droit complet et un hémibloc antérieur gauche (figure 32). Elle n'avait pas d'anomalie cardiaque structurale.

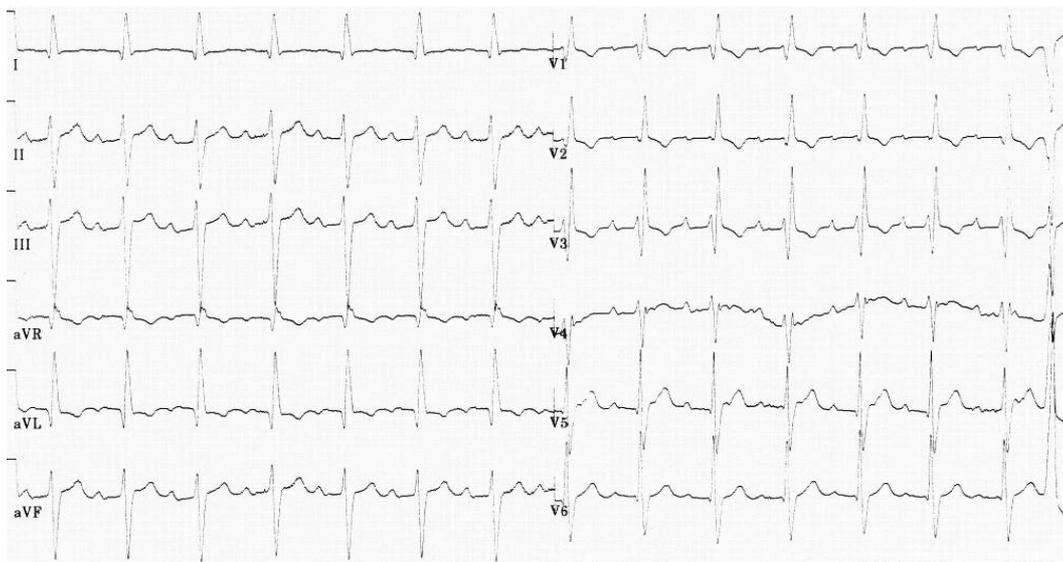


Figure 32 : ECG de l'individu III-9 enregistré à l'âge de 61 ans.

Bloc auriculo-ventriculaire du premier degré, bloc de branche droit complet et hémibloc antérieur gauche.

En 2001, alors âgée de 64 ans, cette patiente avait un bloc auriculo-ventriculaire complet avec un échappement ventriculaire lent à complexes larges (figure 33), justifiant l'implantation d'un stimulateur cardiaque. Le caractère isolé, bas situé du bloc de conduction et son évolutivité dans le temps ont fait retenir le diagnostic de troubles de conduction isolé progressif de type maladie de Lenègre.

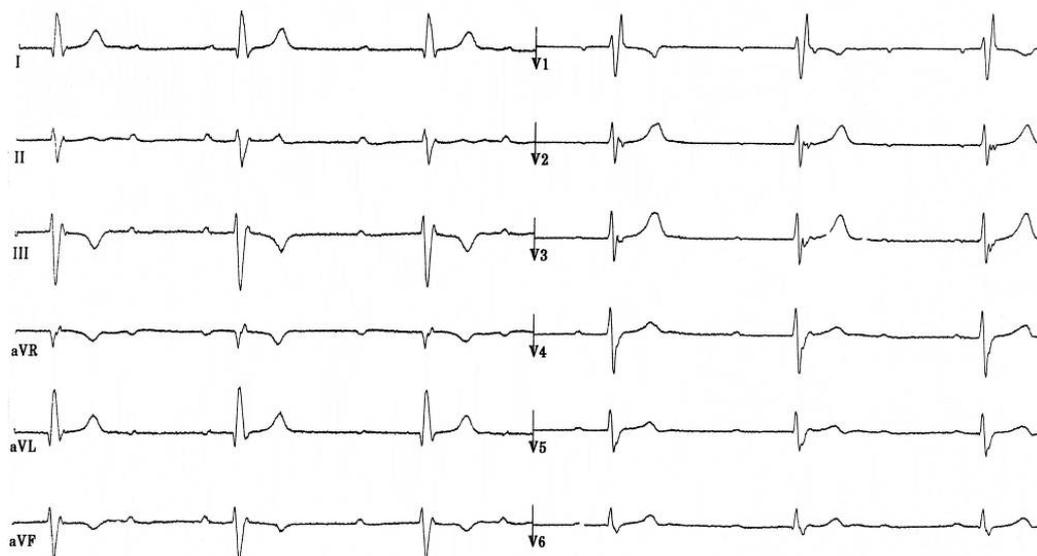


Figure 33 : ECG de l'individu III-9 enregistré à l'âge de 64 ans.

Bloc auriculo-ventriculaire complet. Echappement ventriculaire à complexes larges à type de retard droit axe gauche.

Compte tenu d'une notion d'atteinte familiale à l'interrogatoire de cette patiente, une enquête familiale a été réalisée, à laquelle 23 individus ont participé (figure 34). Parmi eux, 12 individus étaient atteints de troubles de conduction dont 5 ont bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque (II-1, II-4, II-8, III-9 et III-10). Les anomalies de conduction observées étaient un bloc de branche droit associé à un hémibloc antérieur gauche (7 individus : II-1, II-4, II-12, III-2, III-7, III-9 et III-10, la patiente II-4 avait également un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré), un bloc de branche droit complet sans atteinte de la branche gauche (3 individus : III-11, IV-1 et IV-3), un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré associé à un bloc de branche gauche complet (1 individu : II-7) et un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré associé à un bloc de branche droit incomplet (1 individu : II-8). Le phénotype d'un individu (IV-2), âgé de 47 ans, a été considéré comme indéterminé en raison d'un bloc de branche droit incomplet isolé. Les 10 autres individus avaient un phénotype sain. D'autre part, nous savons qu'un individu décédé au moment de l'étude (II-2) était atteint de troubles de conduction, sans précisions.

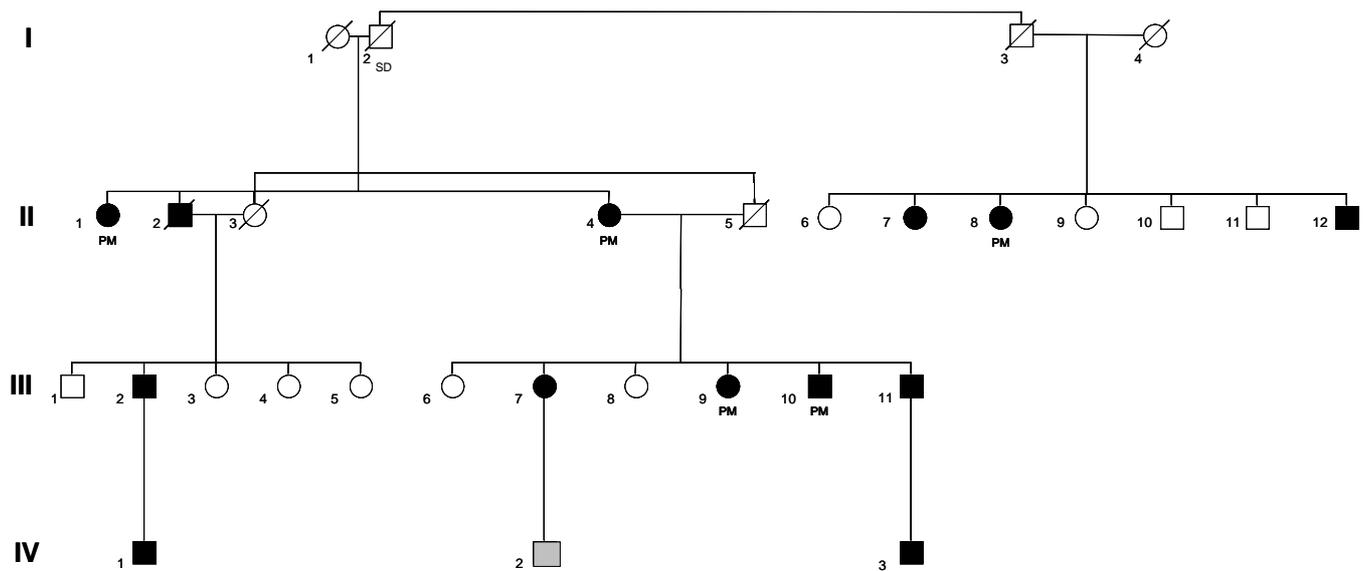


Figure 34 : Arbre généalogique de la famille C.

Symboles: carré = homme, rond = femme, vide = phénotype inconnu pour les générations I et II, phénotype sain pour les générations III et IV, noir = phénotype atteint, gris = phénotype indéterminé, barré = individu décédé, PM = pacemaker (stimulateur cardiaque), SD = sudden death (mort subite). Les individus II-3 et II-5 sont issus d'une même fratrie.

III.A.3.b. Etude génétique de la famille C.

Les anomalies de la conduction observées dans la famille C. étaient compatibles avec un caractère mendélien transmis sur le mode autosomique dominant. Dans un premier temps, nous avons par une approche de type locus candidat recherché une liaison avec les différents locus déjà identifiés de troubles de conduction isolés (19q13.2-q13.3 et le gène *SCN5A* en 3p21) ainsi que le locus en 16q24 décrit plus haut dans l'étude de la famille B. et les locus des connexines cardiaques (connexines 45 (17q21), 43 (6q21-23) et 40 (1q21.1)). Ces locus ont été exclus par l'analyse de liaison.

L'informativité statistique de la famille a été évaluée par le calcul du Lod Score théorique maximal, qui était de 4,61 à 0 cM et 100% de pénétrance. La famille étant génétiquement informative d'un point de vue statistique, une analyse de liaison à l'échelle du génome entier a été réalisée. Elle n'a pas mis en évidence de zone de liaison significative. Cependant, certaines zones se sont révélées non informatives pour les marqueurs génétiques utilisés.

L'analyse de liaison à l'échelle du génome entier n'ayant pas abouti dans sa première tentative à l'identification du locus morbide dans cette famille (bien que des zones soient restées non informatives), le phénotype des patients a été réexaminé. Dans cette famille, le phénotype des patients était remarquablement homogène puisque 10 des 12 individus initialement considérés comme atteints avaient un bloc de branche droit complet associé ou non à un hémibloc antérieur gauche. Deux patients n'avaient pas cet aspect, l'individu II-7 qui avait un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré et un bloc de branche gauche complet et l'individu II-8 qui avait un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré et un bloc de branche droit incomplet. En émettant l'hypothèse que l'anomalie génétique coupable soit à l'origine d'une atteinte préférentielle de la branche droite et de l'hémibranche antérieure gauche du faisceau de His, comme c'était le cas pour les familles décrites par Brink et Coll. et Stéphan, les individus II-7 et II-8 n'ayant pas ces caractéristiques électrocardiographiques ont été considérés comme ayant un phénotype indéterminé.

Le Lod Score théorique maximale de la famille C. a été recalculé en tenant compte de ces changements dans la détermination du phénotype des patients II-7 et II-8. Il était de 3.44 à 0 cM et 80% de pénétrance (figure 35).

Project:	CHAIL_PROJECT	Inheritance:	Dominant	Theta	Average ELOD	Standard deviation	Minimal ELOD	Maximal ELOD
Family name:	TOTALS	Common allele:	99.90 %	0.000	1.864049	1.100891	-3.265187	3.443683
Replications:	100	Disease allele:	0.10 %	0.050	1.720339	0.923276	-1.149991	3.133239
REC val/incr/fin:	0.000/0.050/0.500	Penetrance wt/mt:	80.00 %	0.100	1.544816	0.813034	-0.682680	2.809943
Number of marker alleles:	4	Penetrance mt/mt:	80.00 %	0.150	1.353944	0.707937	-0.433896	2.473192
% studies with ELOD >1/>2/>3:	73.0/52.0/16.0	Phenocopy rate:	0.00 %	0.200	1.150741	0.602722	-0.277703	2.122442

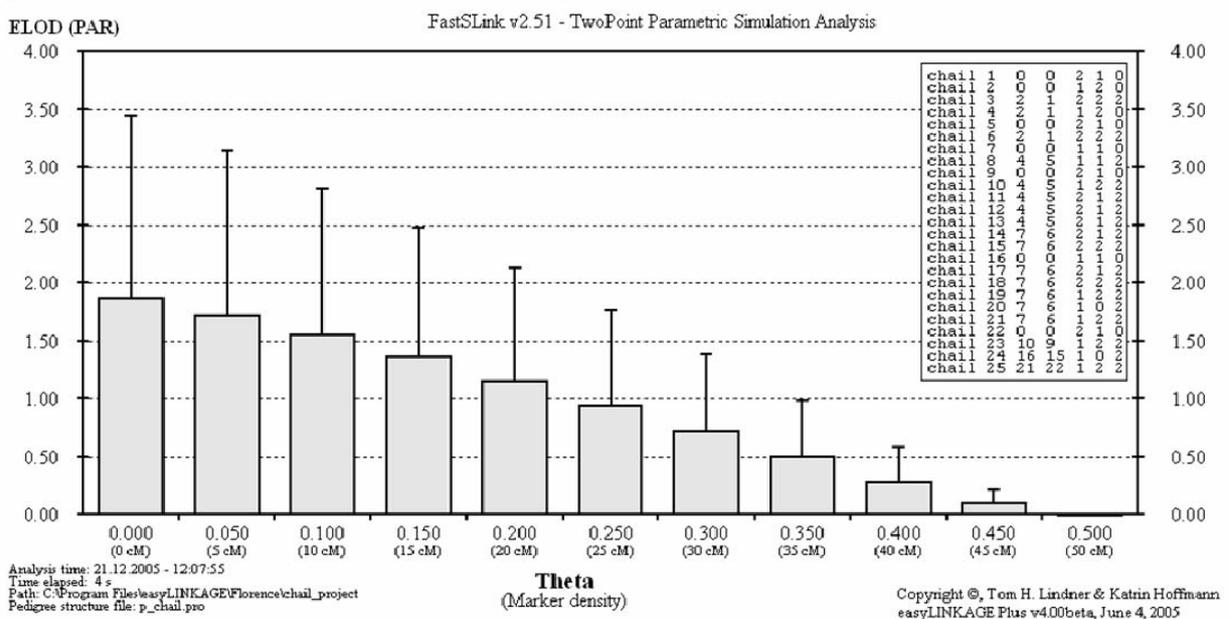


Figure 35: Lod Score théorique 2 points de la famille C. pour une pénétrance de la maladie de 80% (données de 2005).

Le Lod Score théorique maximal à 0 cM est de 3,44.

La famille C. restant statistiquement informative sur le plan génétique, les haplotypes de l'ensemble des marqueurs du kit ABI PRISM™ Linkage Mapping Set MD-10 Version 2 ont été réanalysés sur la base des phénotypes reconsidérés. Ceci n'a pas abouti à la mise en évidence d'une zone de liaison génétique significative. Cependant, certaines régions du génome restent non informatives. En utilisant d'autres marqueurs génétiques plus polymorphes ces zones pourront devenir informatives. En l'état actuel de nos travaux, nous ne pouvons donc pas conclure quand à l'existence ou non d'une zone de liaison génétique dans cette famille atteinte de troubles de conduction progressifs.

III.A.4. Etude de la famille G.

III.A.4.a. Etude phénotypique de la famille G.

La famille G. comprenait 27 membres ayant participé à l'enquête familiale (figure 36). 8 individus étaient atteints (5 femmes et 3 hommes), 5 de phénotype indéterminé et 14 sains. Quatre patients ont bénéficié de l'implantation d'un pacemaker (III-3, III-4, III-7 et III-8). Parmi les individus décédés, 2 (I-1 et IV-7) étaient morts subitement. Les anomalies de la conduction étaient un bloc pariétal pour 4 individus (III-3 qui avait également un intervalle PR allongé à 280 ms, III-4 qui avait un PR allongé à 210 ms, III-6 (figure 37) et IV-23 qui avait un PR limite à 200 ms), un hémibloc antérieur gauche pour 2 individus (III-5, III-8), un bloc de branche gauche pour 2 individus (l'individu III-1 qui avait aussi un intervalle PR allongé à 220 ms et l'individu III-7). Parmi les 5 individus de phénotype indéterminé, 3 avaient un intervalle PR limite à 200 ms (III-9, IV-9, IV-10), 1 avait un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré (PR 210 ms) avec des complexes QRS fins (IV-6) et 1 avait un discret trouble de conduction intraventriculaire non systématisé avec une durée de QRS mesurée à 100 ms (IV-4).

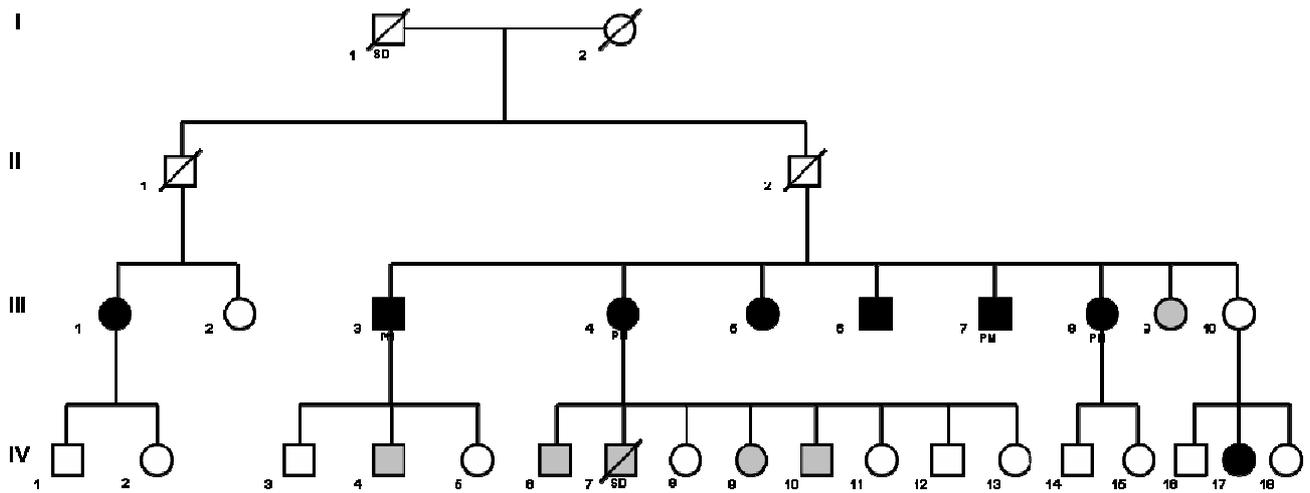


Figure 36 : *Arbre généalogique de la famille G.*

Symboles: carré = homme, rond = femme, vide = phénotype inconnu pour les générations I et II, phénotype sain pour les générations III et IV, noir = phénotype atteint, gris = phénotype indéterminé, barré = individu décédé, PM = pacemaker (stimulateur cardiaque), SD = sudden death (mort subite).

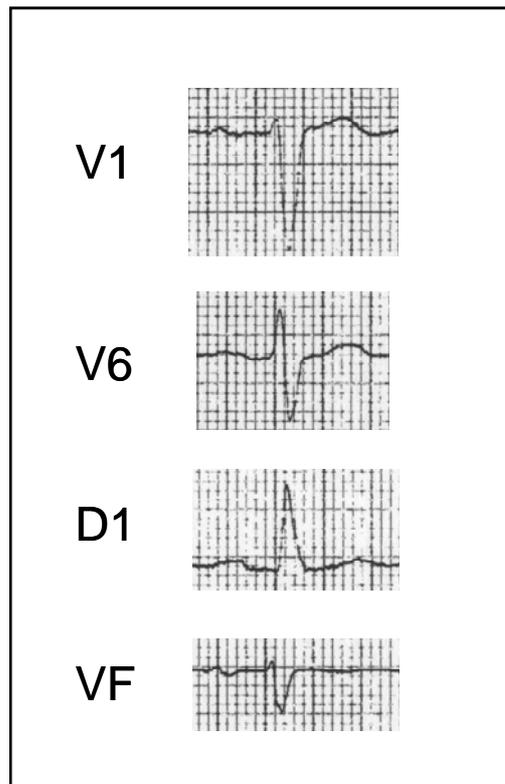


Figure 37 : *ECG du patient III-6 enregistré à l'âge de 64 ans.*

Bloc pariétal et déviation axiale gauche.

III.A.4.b. Etude génétique de la famille G.

La distribution des troubles de conduction chez les individus atteints de la famille G. était compatible avec un trait mendélien à transmission autosomique dominante.

Les locus connus pour être associés à des troubles de conduction isolés progressifs héréditaires ont été testés par analyse de liaison. Les marqueurs des locus en 19q13 et 16q24 se sont avérés non liés. Les marqueurs du locus contenant *SCN5A* en 3p21 étaient non informatifs. Une liaison avec les locus des connexines 45 (17q21), 43 (6q21-23) et 40 (1q21.1) a été exclue par le génotypage.

L'informativité de la famille a été évaluée par le calcul du Lod Score. Celui-ci était de 3.55 à 0 cM et 100% de pénétrance. Compte tenu des résultats de l'analyse génétique réalisée dans d'autres familles ayant une valeur de Lod Score similaire, nous avons considéré que l'informativité de la famille était à peine suffisante pour entreprendre une étude de liaison génétique à l'échelle du génome entier. En effet, le risque de non identification d'une liaison vraie avec une zone dont les marqueurs s'avèreraient statistiquement non informatifs et/ou d'identification à tort une fausse liaison due au hasard ne sont pas négligeables dans ce cas.

D'autre part, les marqueurs associés au gène *SCN5A* s'étant avérés non informatifs, nous allons réaliser un séquençage direct de ce gène chez un des patients atteints de la famille.

III.A.5. Etude de la famille N.

III.A.5.a. Etude phénotypique de la famille N.

Au terme de l'enquête familiale, 30 membres de la famille N. avaient été examinés (figure 38). Parmi eux, 5 individus (5 hommes) étaient atteints, 5 avaient un phénotype indéterminé et 20 étaient sains. Deux patients (III-4 et IV-18) avaient bénéficié de l'implantation d'un pacemaker. Les troubles de la conduction étaient un bloc de branche droit complet dans 2 cas (IV-15 et IV-18) (figure 39), un hémibloc antérieur gauche dans 2 cas (III-4 et V-9) et un bloc pariétal dans 1 cas (IV-14). Parmi les patients décédés au moment de l'étude, 1 était atteint de bloc pariétal et avait bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque (III-10) et 3 étaient morts subitement (IV-5, IV-6 et IV-10).

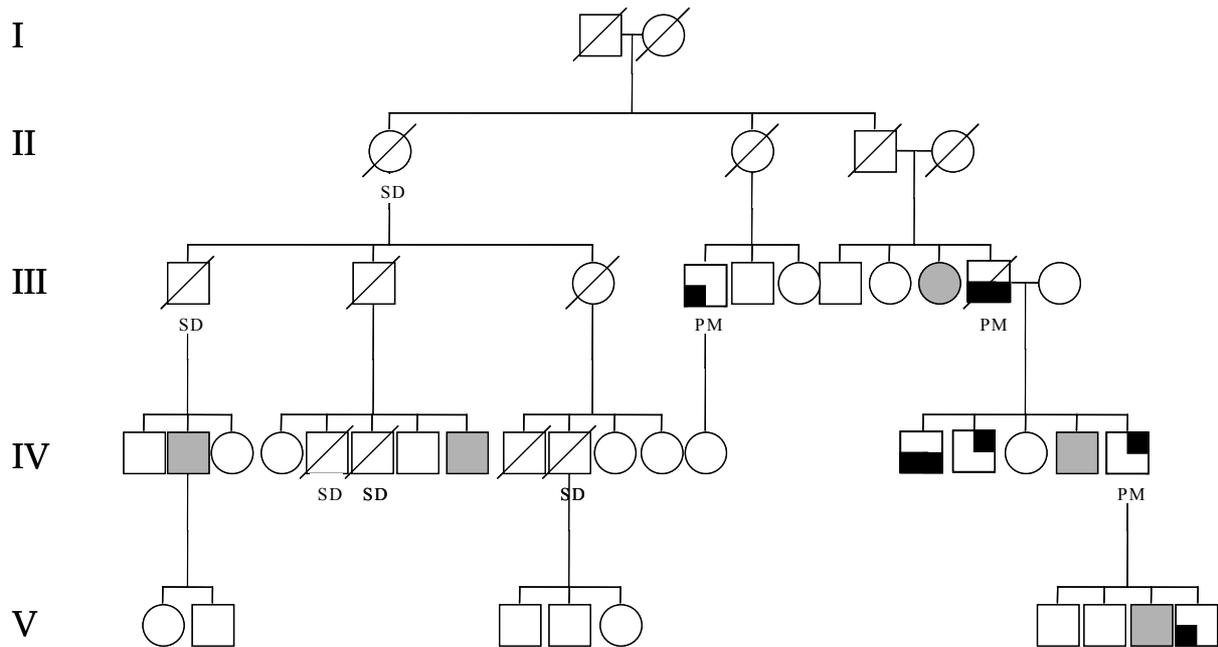


Figure 38 : Arbre généalogique de la famille N.

Symboles: carré = homme, rond = femme,  = bloc de branche droit complet,  = bloc de branche gauche complet,  = hémibloc antérieur gauche,  = bloc pariétal, gris = phénotype indéterminé blanc = phénotype inconnu pour les générations I et II, phénotype sain pour les générations III, IV et V, barré = individu décédé, PM = pacemaker (stimulateur cardiaque), SD = sudden death (mort subite).

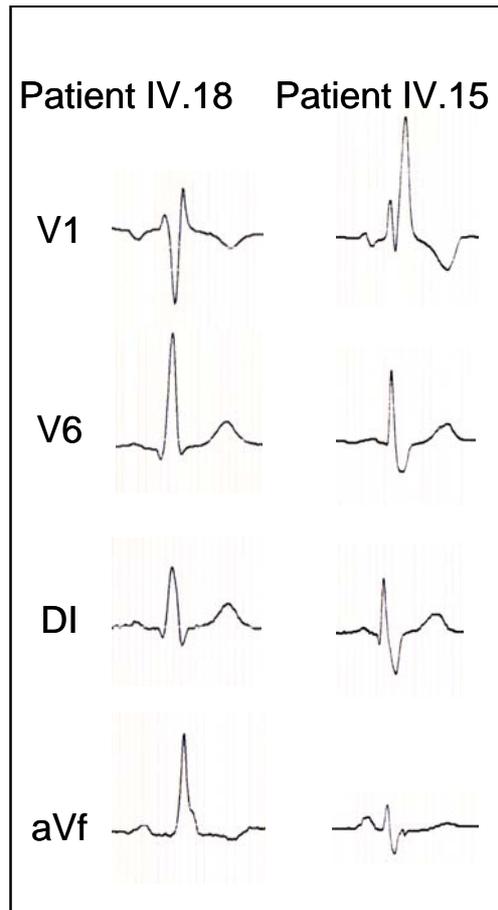


Figure 39 : ECG typiques de la famille N.

ECG du patient IV.18 enregistré à l'âge de 55 ans et du patient IV.15 enregistré à l'âge de 44 ans montrant tous les deux un bloc de branche droit complet

III.A.5.b. Etude génétique de la famille N.

Malgré l'absence de femmes atteintes dans cette famille, la transmission des troubles de conduction était compatible avec le mode mendélien autosomique dominant puisque des cas de transmission de père à fils (III-10 à IV-14, IV-15 et IV-18 et IV-18 à V-10) écartaient la possibilité d'un mode de transmission lié à l'X.

Le locus préalablement décrit de troubles de conduction en 19q13 ainsi que le locus identifié dans la famille B. en 16q24 ont été exclus par génotypage. Le gène *SCN5A* a été exclu par séquençage direct d'un individu atteint. Le locus du gène *SCN6A* ainsi que les locus des connexines 45 (17q21), 43 (6q21-23) et 40 (1q21.1) ont été exclus par génotypage.

La taille de la famille N était insuffisante pour permettre la réalisation d'une analyse de liaison sur l'ensemble du génome. La poursuite de l'enquête familiale et généalogique permettra peut-être d'identifier de nouvelles branches permettant de rendre la famille plus

informative. Toutefois, cette famille pourra être utilisée telle qu'elle est actuellement pour tester la ségrégation d'un éventuel locus identifié dans une autre famille.

III.A.6. Etude de la famille M.

III.A.6.a. Etude phénotypique de la famille M.

L'enquête réalisée auprès des médecins généralistes et cardiologues de la région nous a révélé l'existence de la famille M. Cette famille est originaire d'une commune située à l'est du département de la Loire-Atlantique. Avant l'enquête familiale nous avions la connaissance que 4 membres de la famille (dont 2 décédés) apparentés au premier ou deuxième degré étaient atteints de maladie de Lenègre. Dans cette famille, nous avons considéré comme sains uniquement les patients âgés de plus de 49 ans n'ayant pas de troubles de conduction à l'électrocardiogramme.

Au stade actuel de l'enquête familiale, nous avons obtenu la participation de 25 membres de la famille (figure 40). Parmi eux, 5 individus étaient phénotypiquement atteints (3 hommes et 2 femmes), 13 sains (8 femmes et 5 hommes) et 7 de phénotype indéterminé (3 femmes et 4 hommes). Une patiente phénotypiquement atteinte était porteuse d'un stimulateur cardiaque implanté dans les suites d'une syncope (III-2). Les troubles de conduction observés dans la famille étaient un bloc de branche droit complet associé à un hémibloc antérieur gauche (2 patients : III-2 et III-8), un hémibloc antérieur gauche sans atteinte de la branche droite (2 patients : IV-1 et IV-12) et un bloc de branche droit complet sans déviation axiale (1 patient : IV-3). Parmi les 7 individus de phénotype indéterminé, 3 avaient un bloc de branche droit incomplet, 1 avait un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré sans trouble de conduction intraventriculaire et 3 avaient un électrocardiogramme normal mais étaient âgés de moins de 49 ans. Parmi les membres de la famille décédés, nous avons eu la connaissance que 3 d'entre eux étaient atteints de maladie de Lenègre (II-1, II-4, III-6) parmi lesquels 1 avait été porteur d'un stimulateur cardiaque (II-1).

L'enquête familiale est actuellement en cours dans cette grande famille dont un certain nombre d'individus n'ont pas encore participé à l'enquête familiale.

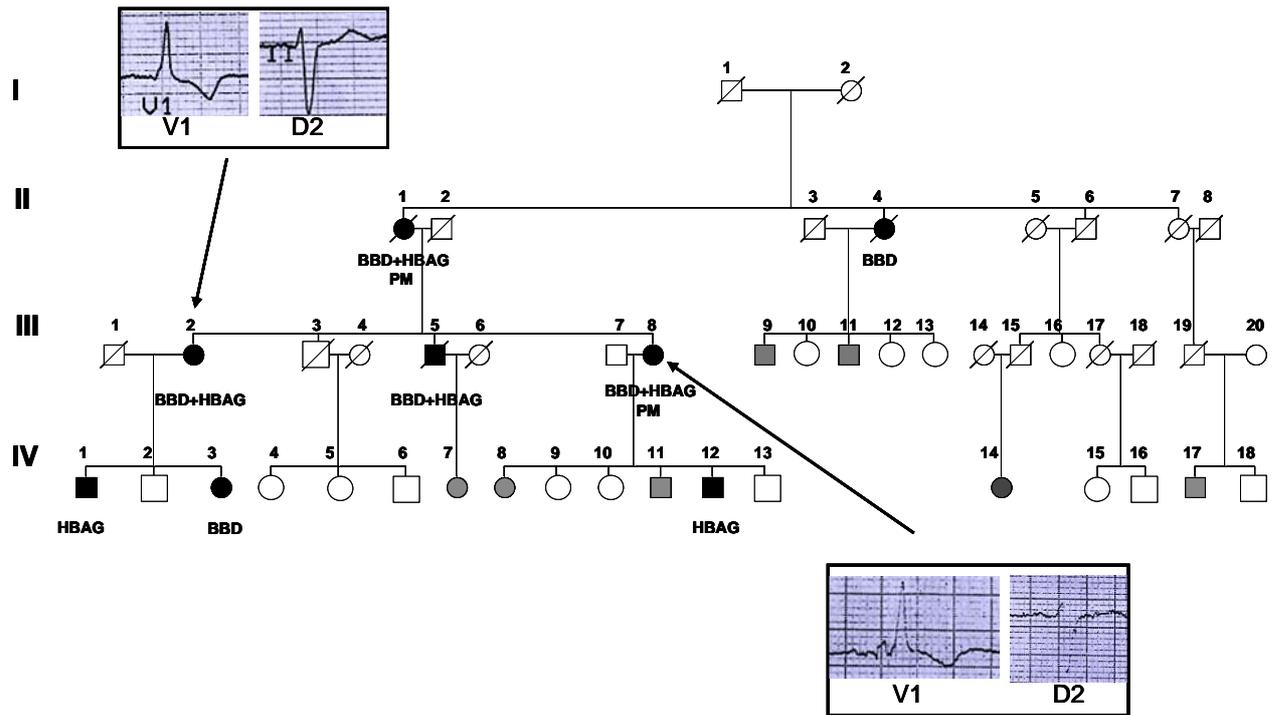


Figure 40 : Arbre généalogique de la famille M.

Symboles: carré = homme, rond = femme, blanc = phénotype inconnu pour les générations I et II et les individus III-7 et III-20, phénotype sain pour les autres individus des générations III et IV, noir = phénotype atteint, gris = phénotype indéterminé, barré = individu décédé, BBD = bloc de branche droit complet, BBG = bloc de branche gauche, HBAG = hémibloc antérieur gauche, BAV3 = bloc auriculo-ventriculaire complet, PM = pacemaker (stimulateur cardiaque). Encadrés : ECG de l'individu III-2 à l'âge de 80 ans (bloc de branche droit et hémibloc antérieur gauche) et de l'individu III-8 à l'âge de 83 ans (bloc de branche droit et hémibloc antérieur gauche).

III.A.6.b. Etude génétique de la famille M.

La ségrégation du phénotype dans cette famille était compatible avec un mode de transmission autosomique dominant. Toutefois, la famille n'atteignait pas tout à fait les critères d'informativité génétique : le Lod Score théorique maximal était calculé à 2,91 à 0 cM et 90% de pénétrance.

Les locus connus de troubles de conduction en 19q13, 3p21 et 16q24 ont été testés par génotypage. Le locus en 16q24 a pu être exclu, tandis que les marqueurs génétiques utilisés se sont révélés non informatifs en 19q13 et 3p21. Ceci est le fait de la faible

informativité génétique de la famille, dont les membres atteints appartiennent tous à la même branche familiale.

Compte tenu de l'informativité génétique limitée de la famille, et donc du risque d'identifier à tort une liaison due au hasard ou de ne pas identifier une liaison génétique vraie, nous n'avons pas effectué pour l'instant d'analyse de liaison à l'échelle du génome entier dans la famille M. L'informativité génétique de la famille sera réévaluée une fois l'enquête familiale terminée.

III.B. FAMILLES IDENTIFIEES PAR UNE APPROCHE D'EPIDEMIOLOGIE GENETIQUE

III.B.1. Répartition de l'origine géographique des patients implantés d'un stimulateur cardiaque

La carte établie à partir des fichiers des centres d'implantation a montré une répartition géographique non aléatoire des implantations de stimulateurs cardiaques pour bloc auriculo-ventriculaire dans la région nantaise (figure 41). A titre de référence, pour Nantes et Saint-Nazaire, les deux agglomérations principales du département, le nombre d'implantations de stimulateurs cardiaques pour 1000 habitants était respectivement de 1,54 (299 implantations / 195185 habitants) et 1,53 (59 implantations / 38350 habitants). Le taux d'implantation le plus élevé (23 pour 2867 habitants soit 8,02 pour 1000 habitants) était retrouvé dans la zone R., une zone rurale constituée de 4 communes dans un cercle de 5 km de rayon .

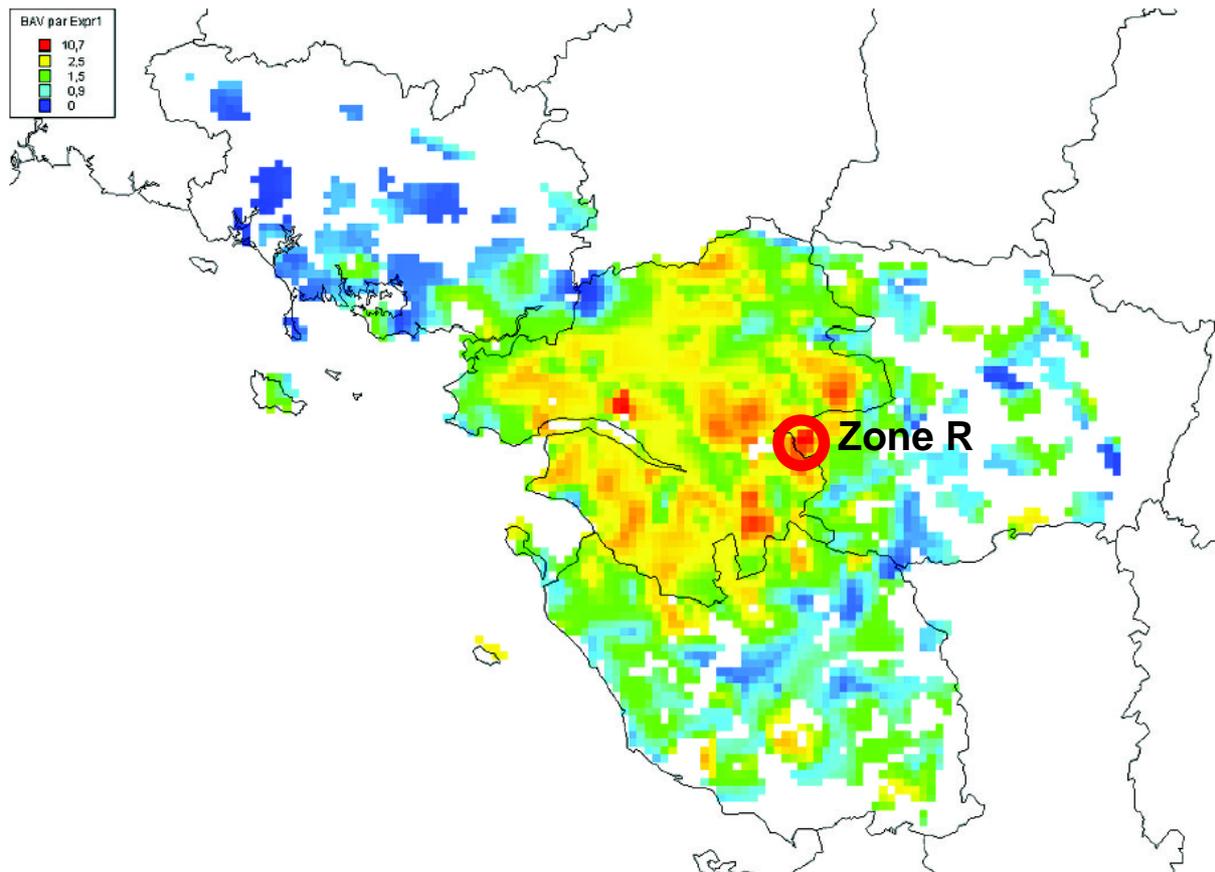


Figure 41 : Répartition géographique de la fréquence des implantations de stimulateurs cardiaques pour bloc auriculo-ventriculaire dans la région Nantaise. Localisation géographique de la zone R. Nombre d'implantations de stimulateurs cardiaques pour 1000 habitants : bleu foncé = 0 à 0,9, bleu clair = 0,9 à 1,5, vert = 1,5 à 2,5, jaune = 2,5 à 10,7, rouge = supérieur à 10,7.

III.B.2. Enquêtes familiales réalisées dans la zone R.

Les dossiers médicaux des 23 patients implantés natifs de la zone R. ont été étudiés. Parmi eux, 19 patients avaient un bloc de conduction infra-hissien sans cardiopathie associée, 3 avaient un bloc de conduction nodal et 1 avait un bloc de conduction infra-hissien et un rétrécissement aortique calcifié serré. Les 19 patients qui avaient un bloc de conduction infra-hissien isolé ont été sélectionnés comme propositus pour une enquête familiale. Douze d'entre eux étaient décédés avant le début de l'étude. Une enquête familiale a pu être réalisée chez les apparentés de 17 des 19 propositus sélectionnés, en raison du refus de deux d'entre eux de participer à l'étude.

Ainsi, 83 individus (45 femmes et 38 hommes), dont 5 des 19 propositus sélectionnés au départ et 78 apparentés à un de ces 19 propositus de départ ont été inclus dans l'étude. Parmi ces individus, 22 (8 femmes et 14 hommes) avaient un phénotype atteint, 52 (28 femmes et 24 hommes) un phénotype sain et 9 (4 femmes et 5 hommes) un phénotype indéterminé selon les critères énoncés en Matériel et Méthodes (n'ont été retenus comme phénotypiquement sains que les individus âgés de plus de 49 ans ayant un électrocardiogramme normal. Ceux ayant un électrocardiogramme normal mais âgés de moins de 49 ans ont été considérés comme ayant un phénotype indéterminé).

Au stade actuel de l'enquête généalogique, des liens de parentés ont été retrouvés entre 5 des propositus, et les 83 individus recrutés représentent 13 familles. Il n'a pas été retrouvé de lien de parenté entre ces 13 familles à 5 générations.

III.B.3. Etude de la famille Br.

III.B.3.a. Etude phénotypique de la famille Br.

Parmi les familles de la région R., la famille Br. remplissait les critères d'informativité génétique et a été retenue pour la réalisation d'une analyse de liaison aux locus déjà identifiés et en cas d'exclusion de ces locus à l'échelle du génome entier.

La famille Br. (figure 42) telle que nous la connaissons actuellement est constituée de 4 noyaux familiaux dont le lien a été retrouvé par l'enquête généalogique en identifiant un couple d'ascendants communs nés vers 1810. Elle comporte 31 membres (13 femmes et 18 hommes), dont 10 individus phénotypiquement atteints (3 femmes et 7 hommes), 18 individus sains (9 femmes et 10 hommes) et 3 individus de phénotype indéterminé (2 hommes et 1 femme). Trois membres de la famille ont bénéficié de l'implantation d'un stimulateur cardiaque en raison d'une syncope ou d'une bradycardie sévère (VII-2, VII-13 et VII-17). Parmi les individus atteints, les troubles de conduction observés étaient un hémibloc antérieur gauche (6 patients : VI-2, VI-13, VI-19, VII-18, VII-19 et VII-23), un bloc de branche droit complet associé à un hémibloc antérieur gauche (1 patient : VII-17), un bloc de branche droit incomplet associé à un hémibloc antérieur gauche (1 patient : VII-10), un bloc auriculo-ventriculaire du premier degré associé à un bloc de branche gauche complet (1 patient : VII-12) et un bloc auriculo-ventriculaire complet avec complexes d'échappement ventriculaire larges (1 patient : VII-13). Parmi les individus de phénotype indéterminé, 1 (VII-2) avait un bloc de branche droit et un hémibloc antérieur gauche mais également une cardiopathie ischémique pouvant rendre compte des anomalies de conduction, 1 avait un

trouble de conduction intraventriculaire non systématisé avec une durée de QRS à 110 ms (VI-16) et une patiente âgée de 42 ans (VIII-1) avait un bloc de branche droit incomplet. Les autres individus avaient un électrocardiogramme dans les limites de la normale. Deux individus décédés (VI-5 et VI-14) avaient été atteints de maladie de Lenègre et porteurs d'un stimulateur cardiaque.

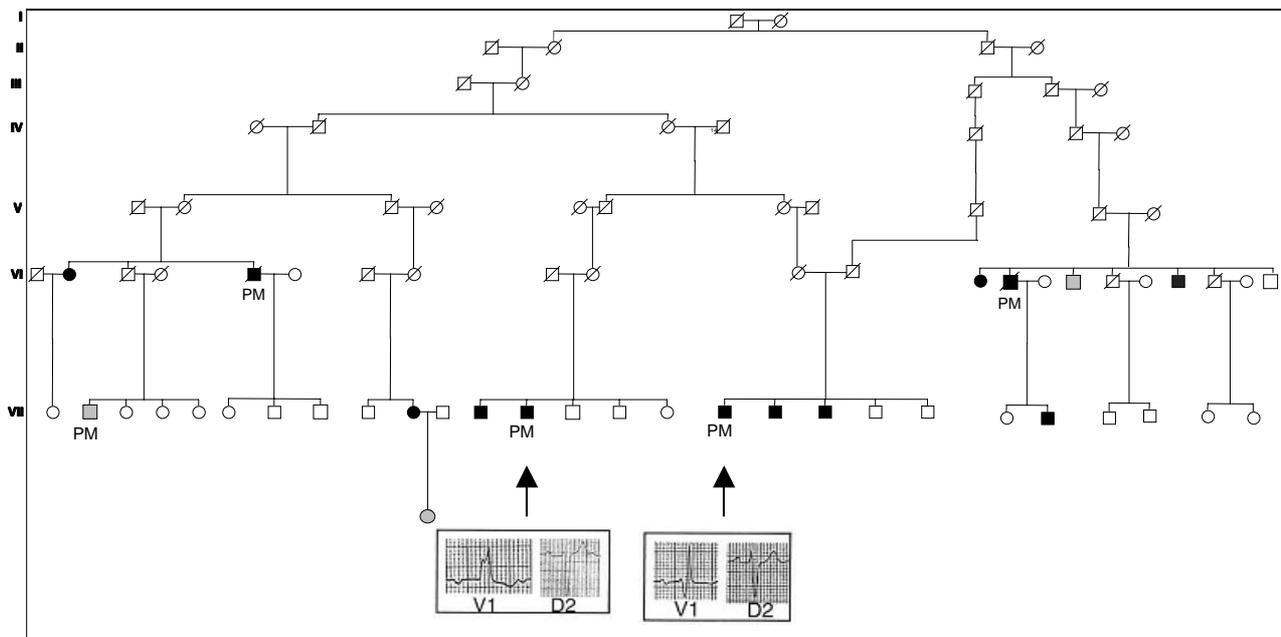


Figure 42 : Arbre généalogique de la famille Br.

Symboles: carré = homme, rond = femme, vide = phénotype inconnu pour les générations I à V, phénotype sain pour les générations VI et VII, noir = phénotype atteint, gris = phénotype indéterminé, barré = individu décédé, PM = pacemaker (stimulateur cardiaque). Encadrés : ECG des individus VII-13 à l'âge de 64 ans (BAV complet avec échappement à QRS larges) et VII-17 à l'âge de 69 ans (bloc de branche droit complet et hémibloc antérieur gauche).

III.B.3.b. Etude génétique de la famille Br.

La répartition des troubles de conduction dans la famille Br. était compatible avec un trait mendélien transmis sur le mode autosomique dominant. Les critères d'informativité génétique étaient satisfaits, puisque le Lod Score théorique maximal de la famille était de 5,31 pour un marqueur situé à 0 cM du gène recherché et pour une pénétrance de la maladie fixée à 80% (figure 43).

Project:	GENOME	Inheritance:	Dominant	Theta	Average ELOD	Standard deviation	Minimal ELOD	Maximal ELOD
Family name:	BR1	Common allele:	99.90%	0.000	2.667748	1.055629	-0.936401	5.314047
Replications:	100	Disease allele:	0.10%	0.050	2.344511	0.871079	0.187950	4.609071
REC val/incr/fin:	0.000/0.050/0.500	Penetrance wt/mt:	80.00%	0.100	1.983004	0.743722	0.289388	3.897065
Number of marker alleles:	4	Penetrance mt/mt:	80.00%	0.150	1.617366	0.621200	0.283883	3.185044
% studies with ELOD > 1/2/3:	96.0/78.0/37.0	Phenocopy rate:	0.00%	0.200	1.261781	0.499952	0.174679	2.483835

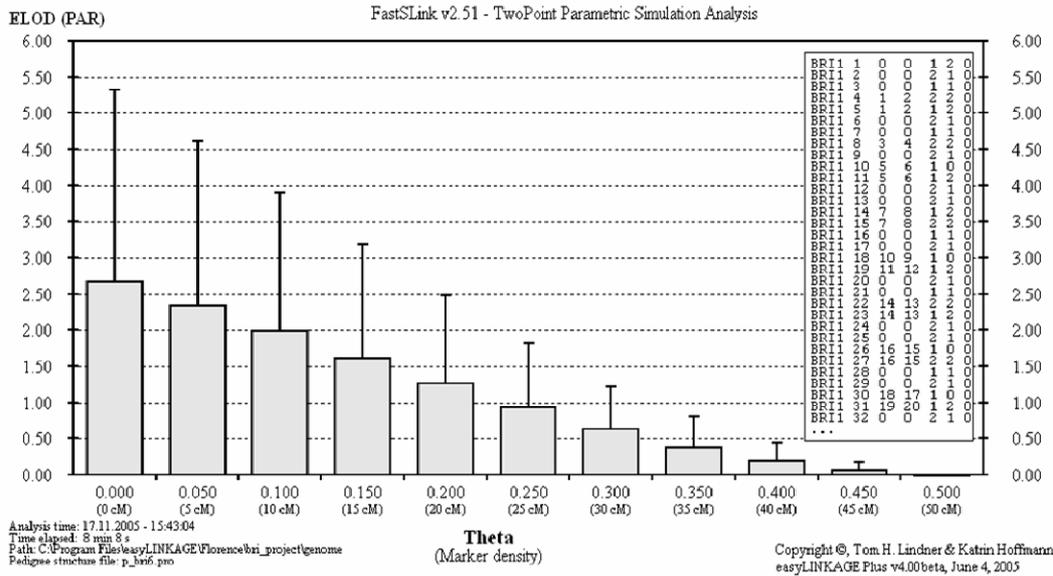


Figure 43 : *Lod Score théorique maximal 2 points de la famille Br. pour une pénétrance de la maladie de 80%.*

Le Lod Score théorique maximal à 0 cM est de 5.31

Trois locus déjà identifiés de troubles de conduction isolés progressifs, en 19q13.2-13.3, 3p21.1 et 16q24, ont été exclus par l'analyse de liaison des marqueurs habituellement utilisés à ces locus.

Une analyse de liaison sur l'ensemble du génome a ensuite été entreprise. Les 404 marqueurs dinucléotidiques du kit ABI PRISM Linkage Mapping Set MD-10 Version 2 ont été testés. Aucun d'entre eux n'a montré de liaison significative avec le phénotype. Une liaison a été exclue avec une grande partie du génome. Cependant, en décembre 2005, 3 zones restent non informatives. La première est une zone de 11 cM en 1p36, dont le Lod Score maximal est de 0.87 à 0 cM et 80% de pénétrance. La deuxième est une zone très étroite de moins de 1 cM en 2p25 dont le Lod Score maximal est de 0.51 à 0 cM et 80% de pénétrance. La troisième, localisée en 18p11 dans un intervalle de 7 cM a un Lod Score maximal de 0.5 à 0 cM et 80% de pénétrance.

L'étude d'autres marqueurs génétiques dans ces zones est nécessaire pour obtenir l'information de liaison ou non liaison génétique. Ces trois zones sont susceptibles de contenir le locus du gène morbide. Toutefois, il est possible que l'étude de nouveaux marqueurs exclue une liaison avec le génome entier. Dans ce cas, une relecture du phénotype s'avérerait nécessaire, mais une difficulté difficilement contournable vient de la possibilité de

phénocopies parmi les individus atteints de la famille, compte tenu de la relative fréquence de la pathologie.

IV. DISCUSSION

Les troubles de conduction isolés progressifs sont une maladie fréquente dans la population générale, en particulier chez les sujets âgés de plus de 70 ans. Ils ont un coût élevé en termes de santé publique, ce coût allant en augmentant avec le vieillissement de la population. A l'heure actuelle, bien que les conséquences les plus dramatiques (syncopes, mort subite) de la maladie puissent être prévenues par l'implantation au moment opportun d'un stimulateur cardiaque, il n'existe pas de traitement médical permettant d'éviter son évolution. Ceci est d'autant plus regrettable que la stimulation cardiaque définitive n'est pas dénuée d'une certaine morbi-mortalité (complications mécaniques liées à la procédure, complications infectieuses précoces et tardives, augmentation du risque de fibrillation auriculaire et d'insuffisance cardiaque). Cependant, la mise au point d'un traitement médical passe au préalable par la connaissance de la physiopathologie de la maladie hors celle-ci reste mal connue : longtemps considérée comme la conséquence d'une fibrose progressive du tissu de conduction liée au vieillissement, sans que l'on sache exactement pourquoi seuls certains individus étaient affectés, l'identification de formes familiales de la maladie a fait clairement apparaître que des anomalies génétiques participaient, dans certains cas au moins, à la pathogénie.

La génétique est une approche prometteuse pour tenter d'élucider les mécanismes physiopathologiques à l'origine de la maladie. En effet, même si elles ne représentent qu'une minorité des patients atteints, les formes familiales monogéniques peuvent donner l'opportunité d'identifier les gènes impliqués, préambule indispensable à des études fonctionnelles permettant de retracer les voies physiopathologiques de la maladie. Le premier pas a été fait lorsque notre équipe a identifié une mutation causale dans le gène *SCN5A* dans une famille de maladie de Lenègre à transmission autosomique dominante. Par la suite, l'étude de souris hétérozygotes *scn5a +/-* a permis d'établir le lien entre le défaut dans le canal sodique, la fibrose du tissu de conduction et les anomalies de la conduction. L'étude d'autres familles a permis de localiser, sans les identifier, deux autres gènes responsables de formes autosomiques dominantes de troubles de conduction isolés, l'un en 19q13 dans deux familles de troubles de conduction de siège infra-hissien (De Meeus et Coll. 1995, Brink et Coll. 1995) et l'autre récemment en 1q32 dans une famille de troubles de conduction de siège nodal (Fernandez et Coll. 2005). Ceci illustre l'hétérogénéité phénotypique et génotypique de la maladie, comme c'est le cas pour la plupart des maladies monogéniques, mais montre aussi les difficultés à identifier les gènes impliqués.

L'objectif de notre travail était d'identifier de nouvelles familles atteintes de troubles de conduction isolés progressifs dans le but d'améliorer nos connaissances des gènes impliqués dans cette pathologie.

Dans un premier temps, nous avons adopté une approche conventionnelle consistant à explorer par une enquête familiale les apparentés d'individus atteints signalant lors de l'interrogatoire une histoire familiale. Cette approche nous a permis d'identifier les familles B., R., C., N., G. et M.

L'étude de la famille B. a abouti à l'identification d'un troisième locus de troubles de conduction progressifs héréditaires en 16q23.3-24. A ce jour le séquençage de gènes candidats contenus dans l'intervalle de liaison génétique n'a pas abouti à l'identification du gène responsable. Toutefois il existe une branche de cette famille dans laquelle les individus atteints ne possèdent pas l'haplotype morbide complet, posant un problème pour la définition précise des bornes du locus. Nous avons actuellement des arguments pour penser que dans cette branche les troubles de conduction ne sont pas liés à l'anomalie génétique présente dans le reste de la famille. Ceci nous fait donc considérer comme potentiellement incluses dans l'intervalle de liaison les zones que nous avons précédemment considérées comme non liées, entre les marqueurs D16S3018 et D16S3040 et entre les marqueurs D16S3073 et D16S511, ce qui ouvre la possibilité d'étudier de nouveaux candidats positionnels en choisissant parmi les gènes localisés dans ces zones.

L'étude des familles R., C., N., G. et M., plus petites, n'a pas abouti à la mise en évidence d'une zone de liaison génétique. Bien que l'étude de ces familles a confirmé l'hétérogénéité génétique de la maladie, permettant de penser qu'il existerait au moins un cinquième gène impliqué, elle a montré également les limites de l'analyse génétique réalisée dans des petites familles. En effet, l'étude de petites familles avec une stratégie de clonage positionnel ne permet pas d'avoir une puissance statistique suffisante pour explorer de façon informative l'ensemble du génome.

En l'absence de possibilités évidentes d'agrandissement des familles déjà identifiées, il était nécessaire pour nous d'identifier de nouvelles grandes familles pour poursuivre l'identification des bases moléculaires de la maladie de Lenègre. Cependant, une difficulté pour la recherche des gènes impliqués dans cette pathologie provient de l'apparition tardive du phénotype pathologique (pénétrance tardive), qui contraint à ne prendre en compte que le phénotype des patients âgés, ce qui limite les possibilités d'agrandissement d'une famille dans le sens vertical. Une autre approche dont le but est de disposer de grandes familles

informatives consiste à agrandir de façon horizontale des noyaux familiaux en les reliant à un ancêtre commun : dans une région où la population est restée sédentaire, la descendance d'un ancêtre porteur de la mutation sera retrouvée dans une zone géographique limitée. Si cette région est faiblement peuplée et que la descendance de l'ancêtre malade est nombreuse, et étant donné l'absence de facteurs environnementaux connus pouvant engendrer des troubles de conduction, l'incidence de la maladie dans cette région sera plus élevée que dans la population générale. La stratégie d'épidémiologie génétique que nous avons appliquée dans le but d'identifier ces familles consiste à effectuer le chemin inverse, en identifiant d'abord les zones géographiques où la fréquence de la maladie est la plus élevée, puis en recherchant le lien de parenté entre les individus issus de ces zones par une étude de généalogie ascendante. En 2003, cette stratégie a permis à notre équipe de réduire la zone d'incertitude du locus des valvulopathies myxoïdes précédemment identifié en Xq28 dans une famille française. La réduction du nombre de gènes candidats positionnels a permis d'aboutir rapidement à la mise en évidence de la mutation responsable dans le gène codant pour une protéine du cytosquelette, la filamine.

Les informations apportées par l'étude des fichiers doivent cependant être interprétées avec prudence, car ceux-ci n'incluent que les formes sévères, et ne permettent donc pas de connaître la répartition géographique réelle des patients atteints de maladie de Lenègre. Toutefois, il n'existe pas de fichier exhaustif et nous pensons que cette méthode peut permettre d'identifier des isolats géographiques. D'autre part, l'étude de la répartition géographique des troubles de conduction ne permet pas d'avoir la certitude d'identifier des formes familiales monogéniques. En effet, une fréquence élevée de la maladie dans une région n'est pas forcément la conséquence d'une fréquence élevée d'une même mutation génétique, mais peut être le fait de facteurs multigéniques ou environnementaux, qui sont difficiles à apprécier.

L'étude des fichiers hospitaliers a retrouvé une répartition géographique non aléatoire des troubles de conduction dans la région nantaise. La fréquence d'implantation de stimulateurs cardiaques était la plus élevée dans la zone R. L'enquête familiale et l'étude généalogique réalisées dans les familles des propositus de la zone R. ont permis d'identifier la famille Br., composée au départ de 4 noyaux familiaux ne se connaissant pas de lien de parenté, reliés à 4 générations grâce à l'enquête de généalogie ascendante des propositus. Les troubles de conduction observés dans cette famille étaient compatibles avec une transmission sur le mode autosomique dominant. Ceci nous a conforté dans l'idée que des anomalies génétiques peuvent être surreprésentées dans des foyers géographiques limités. Le rôle de facteurs d'environnement est également possible, mais le fait que des membres de la famille

Br. phénotypiquement atteints, identifiés par l'enquête familiale, ne vivent plus ou n'aient jamais vécu dans la région n'appuie pas cette hypothèse.

La stratégie ultérieure dépendra des résultats de l'analyse de liaison sur le génome entier dans la famille Br. Si un locus est identifié, les gènes candidats positionnels, choisis au vu des hypothèses physiopathologiques actuelles, seront testés par séquençage. Si le locus ne contient pas de gènes candidats probants ou que le séquençage des gènes candidats ne met pas en évidence de mutation, la famille devra être agrandie dans le but de réduire la taille de l'intervalle de liaison pour faciliter le choix d'autres gènes candidats a priori moins évidents. S'il n'y a pas de locus identifié, la poursuite de la généalogie ascendante des propositus de la région R. permettra peut-être de relier d'autres familles de la région à la famille Br., ce qui pourrait augmenter la puissance de l'analyse statistique de la famille.

D'autres difficultés sont directement liées à l'approche utilisée pour l'analyse génétique des familles, gène candidat ou clonage positionnel.

Nous savons que de multiples facteurs interviennent dans les mécanismes de propagation de l'influx cardiaque, parmi lesquelles les caractéristiques anatomiques et électriques des cellules et des tissus, l'amplitude du potentiel d'action, la variation du potentiel en fonction du temps, le potentiel de membrane de repos. Ainsi de nombreuses hypothèses physiopathologiques peuvent être avancées concernant les gènes pouvant être impliqués dans les troubles de conduction : anomalies des canaux ioniques, des jonctions gap, du cytosquelette, de la morphogénèse embryonnaire du tissu de conduction...

Pour l'étude de nos familles, la technique d'analyse de liaison, qui permet de localiser un gène sans hypothèse physiopathologique de départ, a été préférée à l'approche gène candidat car ceux-ci sont nombreux et qu'aucune hypothèse n'est a priori plus vraisemblable que les autres.

Toutefois, l'analyse de liaison ne peut être efficace que s'il y a peu d'individus non pénétrants et de phénocopies. L'apparition tardive du phénotype pathologique dans la maladie de Lenègre représente une difficulté car parmi les individus ayant un phénotype sain, seuls les patients âgés peuvent être pris en compte. Les phénocopies sont difficiles à identifier car il n'y a pas de critères cliniques qui permettent de distinguer les formes sporadiques des formes génétiques de maladie de Lenègre. Il est toutefois possible d'identifier les troubles de conduction qui sont secondaires à une cardiopathie. Pour ce faire, nous avons utilisé des critères cliniques, électrocardiographiques et, mais de façon non systématique, échocardiographiques. Pour affiner la détermination du phénotype des patients, nous

envisageons de compléter l'examen clinique et électrocardiographique par la réalisation systématique d'une échocardiographie qui permettra notamment de vérifier l'absence de cardiomyopathie qui n'aurait pas été décelée autrement.

Si, malgré tout, ces troubles de conduction échappaient à l'approche de génétique inverse, une approche gène candidat bien que lourde, pourrait être envisagée, notamment grâce à l'amélioration progressive des connaissances des gènes pouvant être impliqués dans les phénomènes de la conduction cardiaque. En particulier, l'amélioration actuelle de la compréhension des voies de signalisation impliquées dans la spécification et la maturation du système de conduction représente une perspective intéressante pour l'étude de gènes candidats. Par la suite, dans l'hypothèse où une mutation serait identifiée dans un gène, la validation de l'implication de ce gène passerait obligatoirement par des études fonctionnelles *in vitro*.

Un compromis satisfaisant entre les approches de type clonage positionnel et gène candidat pourrait être d'associer la stratégie gène candidat à une approche de génétique inverse, ce qui permettrait de valider tout variant identifié par une étude de la ségrégation avec le phénotype à l'intérieur des familles.

A côté de l'approche de génétique familiale, on pourrait également envisager d'identifier des gènes de prédisposition aux troubles de conduction par la réalisation d'études d'association sur de grandes cohortes de patients. Bien que séduisantes, ces études sont toutefois plus lourdes à réaliser notamment en raison de la nécessité de disposer d'une grande population atteinte et d'une population de témoins appariée en âge et en sexe.

En conclusion, nous pensons que le point clé de la réussite est conditionné par notre capacité à identifier des grandes familles. C'est pour cette raison que nous poursuivons l'activité de génétique clinique en association avec des généalogistes. Les formes familiales de maladie de Lenègre sont probablement rares et difficiles à identifier. Cependant, l'identification de ces formes mendéliennes rares devrait permettre l'identification des bases moléculaires permettant de comprendre les mécanismes physiopathologiques de la maladie, à l'image de la famille présentant un défaut dans le canal sodique cardiaque.

V. CONCLUSION

Les troubles de conduction sont la manifestation clinique de dysfonctionnements des mécanismes complexes qui normalement permettent la transmission rapide et simultanée de la commande de l'influx sinusal aux ventricules. En cela, les troubles de conduction ont des conséquences délétères sur la fonction cardiaque normale qui est d'assurer en permanence un débit cardiaque adapté aux besoins métaboliques de l'organisme.

Les troubles de conduction peuvent avoir des conséquences aussi graves et immédiates que la mort subite lorsqu'un bloc auriculo-ventriculaire complet « paralyse » la fonction de pompe cardiaque, mais aussi à plus long terme lorsque l'asynchronisme de fonctionnement des cavités cardiaques qui en résulte vient provoquer ou aggraver une insuffisance cardiaque.

Lorsqu'ils ne sont pas associés à une anomalie de l'architecture cardiaque, les troubles de conduction auriculo-ventriculaires semblent être une anomalie primitive, autonome, du fonctionnement du cœur. C'est le cas de la maladie de Lenègre, dont les conséquences se manifestent plus volontiers au niveau des branches de division du faisceau de His et du réseau de Purkinje, mais aussi celui des blocs de conduction affectant électivement le nœud auriculo-ventriculaire.

Nous savons que les troubles de conduction peuvent répondre de plusieurs mécanismes difficiles à intégrer dans une classification dichotomique génétique ou environnementale. En fait, chez la majorité des patients atteints de troubles de conduction, ceux-ci sont probablement le fait de facteurs multigéniques et multienvironnementaux. Toutefois, l'existence de familles dans lesquelles des anomalies de la conduction sont manifestement transmises comme des anomalies monogéniques offrent l'opportunité exceptionnelle d'accéder « facilement » aux mécanismes moléculaires qui sous-tendent la transmission normale de l'influx cardiaque des oreillettes aux ventricules.

Le fait de pouvoir retracer précisément ces mécanismes moléculaires pourrait permettre d'identifier des éléments clés potentiellement accessibles à de nouvelles thérapies qui seraient au plus près de la physiologie.

Pour améliorer l'efficacité de notre activité, compte tenu des limites de l'analyse statistique lorsque l'on étudie des petites familles, nous développons une approche plus appliquée à l'identification de grandes familles. Cette approche nous a déjà permis

d'identifier une grande famille dans laquelle des troubles de conduction sont transmis comme un caractère mendélien autosomique dominant. Nous pensons que cette stratégie se concrétisera par l'identification de nouveaux gènes impliqués dans les mécanismes physiopathologiques des troubles de la conduction cardiaque.

VI. REFERENCES

Adams R. Cases of Diseases of the Heart, Accompanied with Pathological Observations. Dublin Hospital Reports, 1827, 4: 353-453.

Amatller-Trias A, Periz-Sague A, Loran-Lleo JA, Oses H. Bloqueo auriculo-ventricular de primer grado de tipo familiar. Med. Clin. 1966 ; 46: 27-34.

Arad M, Benson DW, Perez-Atayde AR, McKenna WJ, Sparks EA, Kanter RJ, McGarry K, Seidman JG, Seidman CE. Constitutively active AMP kinase mutations cause glycogen storage disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest. 2002 ; 109(3) : 357-62.

Arad M, Moskowitz IP, Patel VV, Ahmad F, Perez-Atayde AR, Sawyer DB, Walter M, Li GH, Burgon PG, Maguire CT, Stapleton D, Schmitt JP, Guo XX, Pizard A, Kupersmidt S, Roden DM, Berul CI, Seidman CE, Seidman JG. Transgenic mice overexpressing mutant PRKAG2 define the cause of Wolff-Parkinson-White syndrome in glycogen storage cardiomyopathy. Circulation. 2003 10 ; 107(22) : 2850-6.

Bezzina C, Veldkamp MW, van Den Berg MP, Postma AV, Rook MB, Viersma JW, van Langen IM, Tan-Sindhunata G, Bink-Boelkens MT, van Der Hout AH, Mannens MM, Wilde AA. A single Na(+) channel mutation causing both long-QT and Brugada syndromes. Circ Res. 1999 3-17 ; 85(12) : 1206-13.

Bezzina CR, Rook MB, Groenewegen WA, Herfst LJ, van der Wal AC, Lam J, Jongsma HJ, Wilde AA, Mannens MM. Compound heterozygosity for mutations (W156X and R225W) in SCN5A associated with severe cardiac conduction disturbances and degenerative changes in the conduction system. Circ Res. 2003 7; 92(2) : 159-68.

Blair E, Redwood C, Ashrafian H, Oliveira M, Broxholme J, Kerr B, Salmon A, Ostman-Smith I, Watkins H. Mutations in the gamma(2) subunit of AMP-activated protein kinase cause familial hypertrophic cardiomyopathy: evidence for the central role of energy compromise in disease pathogenesis. Hum Mol Genet. 2001 15 ; 10(11) : 1215-20.

Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, Becane HM, Hammouda EH, Merlini L, Muntoni F, Greenberg CR, Gary F, Urtizbera JA, Duboc D, Fardeau M, Toniolo D, Schwartz K. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genét.* 1999 ; 21(3) : 285-8.

Bonnet D, Martin D, Pascale De Lonlay, Villain E, Jouvet P, Rabier D, Brivet M, Saudubray JM. Arrhythmias and conduction defects as presenting symptoms of fatty acid oxidation disorders in children. *Circulation.* 1999 30 ; 100(22) : 2248-53.

Boulter C, Mulroy S, Webb S, Fleming S, Brindle K, Sandford R. Cardiovascular, skeletal, and renal defects in mice with a targeted disruption of the *Pkd1* gene. *Proc Natl Acad Sci.* 2001 ; 98(21) : 12174-9

Boutjdir M, Chen L, Zhang ZH, Tseng CE, DiDonato F, Rashbaum W, Morris A, el-Sherif N, Buyon JP. Arrhythmogenicity of IgG and anti-52-kD SSA/Ro affinity-purified antibodies from mothers of children with congenital heart block. *Circ Res.* 1997 ; 80(3) : 354-62.

Brink AJ, Torrington M. Progressive familial heart block - two types. *S AfrMedJ* 1977; 52: 53-59.

Charpentier F, Demolombe S, Escande D. Cardiac channelopathies: from men to mice. *Ann Med.* 2004 ; 36 Suppl 1 : 28-34.

Brink PA, Moolman JC, Ferreira A, De Jager T, Weymar HW, Martell R W Torrington M, Van der Merwe PL, Corfield VA. Genetic linkage studies of progressive familial heart block, a cardiac conduction disorder. *S. Afr. J. Med. Sci.* 1994 ; 90 : 236-240.

Brink PA, Ferreira A, Moolman JC, Weymar HW, Van Der Merwe PL, Corfield VA. Gene for progressive familial heart block type I maps to chromosome 19q13. *Circulation* 1995 ; 91 : 1633-40.

Combrink JMD, Snyman HW. Familial bundle branch block. *Am Heart J.* 1962 ; 64 : 397-400.

Criteria committee of the New York Association. Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Disease of the Heart and Great Vessels. Sth. ed. Boston, Mass, Little, Brown & Co. 1979.

DeForest RE. Four cases of 'benign' left bundle branch block in the same family. Am Heart J. 1956 ; 51 : 398-404.

De Meeus A, Stephan E, Debrus S, Jean MK, Loiselet J, Weissenbach J, Demaille J, Bouvagnet P. An isolated cardiac conduction disease maps to chromosome 19q. Circ. Res. 1995 ; 77 : 735-740.

Dib C, Faure S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A, Millasseau P, Marc S, Hazan J, Seboun E, Lathrop M, Gyapay G, Morissette J, Weissenbach J. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. Nature. 1996 ; 380 : 152-54.

Eriksson P, Hansson PO, Eriksson H, Dellborg M. Bundle-branch block in a general male population: the study of men born 1913. Circulation. 1998 ; 98 : 2494-500.

Esscher E, Hardell LI, Michaelsson M. Familial, isolated, complete right bundle-branch block. Br Heart J. 1975 ; 37(7) : 745-7.

Fatkin D, MacRae C, Sasaki T, Wolff MR, Porcu M, Frenneaux M, Atherton J, Vidaillet HJ Jr, Spudich S, De Girolami U, Seidman JG, Seidman C, Muntoni F, Muehle G, Johnson W, McDonough B. Missense mutations in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease. N Engl J Med. 1999 2 ; 341(23) : 1715-24.

Fernandez P, Corfield VA, Brink PA. Progressive familial heart block type II (PFHBII): a clinical profile from 1977 to 2003. Cardiovasc J South Afr 2004; 15:129-132.

Fernandez P, Moolman-Smook J, Brink P, Corfield V. A gene locus for progressive familial heart block type II (PFHBII) maps to chromosome 1q32.2-q32.3. Human Genet. 2005 ; 118(1) : 133-7.

Fulton ZMK, Judson CF, Noms GW. Congénital heart bloc occurring in a father and two children, one an infant. Am J Med Sci. 1910 ; 140 :339-48.

Godin J. F., Nicolas G., Bouhour J. B., Horeau J. [Familial form of atrio-ventricular conduction disorders. Apropos of a case of syncopal atrioventricular block in a 21-month-old child. Pacemaker implantation]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*, 1973, 22: 331-37.

Gollob MH, Seger JJ, Gollob TN, Tapscott T, Gonzales O, Bachinski L, Roberts R. Novel PRKAG2 mutation responsible for the genetic syndrome of ventricular preexcitation and conduction system disease with childhood onset and absence of cardiac hypertrophy. *Circulation*. 2001 18 ; 104(25) : 3030-3.

Gollob MH, Green MS, Tang AS, Gollob T, Karibe A, Ali Hassan AS, Ahmad F, Lozado R, Shah G, Fananapazir L, Bachinski LL, Roberts R. Identification of a gene responsible for familial Wolff-Parkinson-White syndrome. *N Engl J Med*. 2001 14 ; 344(24) : 1823-31.

Grant AO, Carboni MP, Neplioueva V, Starmer CF, Memmi M, Napolitano C, Priori S. Long QT syndrome, Brugada syndrome, and conduction system disease are linked to a single sodium channel mutation. *J Clin Invest*. 2002 ; 110(8) : 1201-9.

Greenspahn BR, Deens P, Daniel W, Rosen KM. Chronic bifascicular block : evaluation of familial factors. *Ann. Intern. Med*. 1976 ; 84: 521-25.

Groenewegen WA, Firouzi M, Bezzina CR, Vliex S, van Langen IM, Sandkuijl L, Smits JP, Hulsbeek M, Rook MB, Jongasma HJ, Wilde AA. A cardiac sodium channel mutation cosegregates with a rare connexin 40 genotype in familial atrial standstill. *Circ Res*. 2003 10 ; 92(1) : 14-22.

Heinritz W, Shou L, Moschik A, Froster UG. The human TBX5 gene mutation database. *Hum Mutat*. 2005 ; 26(4) : 397.

Herfst LJ, Potet F, Bezzina CR, Groenewegen WA, Le Marec H, Hoorntje TM, Demolombe S, Baro I, Escande D, Jongasma HJ, Wilde AA, Rook MB. Na⁺ channel mutation leading to loss of function and non-progressive cardiac conduction defects. *J Mol Cell Cardiol*. 2003 ; 35(5) : 549-57.

Hershberger RE, Hanson EL, Jakobs PM, Keegan H, Coates K, Bousman S, Litt M. A novel lamin A/C mutation in a family with dilated cardiomyopathy, prominent conduction system disease, and need for permanent pacemaker implantation. *Am Heart J.* 2002 ; 144(6) : 938-40.

Kehl HG, Haverkamp W, Rellensmann G, Yelbuz TM, Krasemann T, Vogt J, Schulze-Bahr E. Images in cardiovascular medicine. Life-threatening neonatal arrhythmia: successful treatment and confirmation of clinically suspected extreme long QT-syndrome-3. *Circulation.* 2004 11 ; 109(18) : e205-6.

Kyndt F, Probst V, Potet F, Demolombe S, Chevallier JC, Baro I, Moisan JP, Boisseau P, Schott JJ, Escande D, Le Marec H. Novel SCN5A mutation leading either to isolated cardiac conduction defect or brugada syndrome in a large french family. *Circulation.* 2001 ; 104 : 3081-86.

Lenègre J, Moreau PH. Le bloc auriculaire chronique. Étude anatomique, clinique et histologique. *Arch. Mal. Cœur.* 1963 ; 56 : 867-88.

Lev M. Anatomic basis for atrioventricular block. *Am. J. Medicine.* 1964 ; 37 : 742-48.

Light PE, Wallace CH, Dyck JR. Constitutively active adenosine monophosphate-activated protein kinase regulates voltage-gated sodium channels in ventricular myocytes. *Circulation.* 2003 22 ; 107(15) : 1962-5.

Lynch HT, Mohiuddin S, Sketch MH, Krush AJ, Carter S, Runco V. Hereditary progressive atrioventricular conduction defect. A new syndrome? *JAMA.* 1973 Sep 17;225(12):1465-70.

Lynch HT, Mohiuddin S, Moran J, Kaplan A, Sketch M, Zencka A, Runco V. Hereditary progressive atrioventricular conduction defect. *Am J Cardiol.* 1975 Sep;36(3):297-301.

Maisch B, Ristic AD. Immunological basis of the cardiac conduction and rhythm disorders. *EurHeart J.* 2001 ; 22(10) : 813-24.

Malhotra JD, Kazen-Gillespie K, Hortsch M, Isom LL. Sodium channel beta subunits mediate homophilic cell adhesion and recruit ankyrin to points of cell-cell contact. *J Biol Chem.* 2000 14 ; 275(15) : 11383-8.

Maltsev VA, Undrovinas AI. Cytoskeleton modulates coupling between availability and activation of cardiac sodium channel. *Am J Physiol.* 1997 ; 273(4 Pt2) :H1832-40.

Marinov A, Koev P, Mirchev N. Electrocardiographic studies of patients with acute hellebore (*Veratrum album*) poisoning. *Vutr Boles* 1987;26(6):36-9.

McElhinney DB, Geiger E, Blinder J, Benson DW, Goldmuntz E. NKX2.5 mutations in patients with congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2003 5 ; 42(9) : 1650-5.

Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, Dilly KW, Guatimosim S, duBell WH, Song LS, Haurogne K, Kyndt F, Ali ME, Rogers TB, Lederer WJ, Escande D, Le Marec H, Bennett V. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature.* 2003 6 ; 421(6923) : 587, 589-90.

Morgagni GB: *De sedibus, et causis morborum per anatomen indagatis libri quinque.* 2 volums. in 1. Venetis, typ. Remondiniana 1761. His classical descriptions of mitral stenosis and heart block in the ninth letter, volume 1, page 70. Reprinted in English translation in Willius & Keys, *Cardiac Classics*, 1941, pp. 177-182.

Morquio L. Sur une maladie infantile et familiale caracterisée par des modifications permanentes du pouls, des attaques syncopales et epileptiformes et la mort subite. *Arch. Med. Enfants.* 1901 ; 4 : 467-475.

Osler W. On the so-called Stokes-Adams disease. *Lancet* 1903 ; II : 516-524.

Napolitano C, Rivolta I, Priori SG. Cardiac sodium channel diseases. *Clin Chem Lab Med.* 2003 ; 41 : 439-444.

Olson TM, Michels VV, Ballew JD, Reyna SP, Karst ML, Herron KJ, Horton SC, Rodeheffer RJ, Anderson JL. Sodium channel mutations and susceptibility to heart failure and atrial fibrillation. *JAMA.* 2005 26 ; 293(4) : 491-3.

Ou Y, Strege P, Miller SM, Makielski J, Ackerman M, Gibbons SJ, Farrugia G. Syntrophin gamma 2 regulates SCN5A gating by a PDZ domain-mediated interaction. *J Biol Chem.* 2003 17 ; 278(3) : 1915-23.

Probst V, Kyndt F, Potet F, Trochu JN, Mialet G, Demolombe S, Schott JJ, Baro I, Escande D, Le Marec H. Haploinsufficiency in combination with aging causes SCN5A-linked hereditary Lenegre disease. *J Am Coll Cardiol.* 2003 19 ; 41(4) : 643-52.

Qu Y, Xiao GQ, Chen L, Boutjdir M. Autoantibodies from mothers of children with congenital heart block downregulate cardiac L-type Ca channels. *J Mol Cell Cardiol.* 2001 ; 33(6) : 1153-63.

Rosenbaum MB. The hemiblocks: diagnosis criteria and clinical significance. *Mod. Concepts Cardiovasc. Dis.* 1970 ; 39 : 141-46.

Royer A, van Veen TA, Le Bouter S, Marionneau C, Griol-Charhbili V, Leoni AL, Steenman M, van Rijen HV, Demolombe S, Goddard CA, Richer C, Escoubet B, Jarry-Guichard T, Colledge WH, Gros D, de Bakker JM, Grace AA, Escande D, Charpentier F. Mouse model of SCN5A-linked hereditary Lenegre's disease: age-related conduction slowing and myocardial fibrosis. *Circulation.* 2005 12; 111(14) : 1738-46.

Sanna T, Dello Russo A, Toniolo D, Vytopil M, Pelargonio G, De Martino G, Ricci E, Silvestri G, Giglio V, Messano L, Zachara E, Bellocchi F. Cardiac features of Emery-Dreifuss muscular dystrophy caused by lamin A/C gene mutations. *Eur Heart J.* 2003 ; 24(24) : 2227-36.

Sarachek NS, Leonard JL. Familial heart block and sinus bradycardia: classification and natural history. *Am. J. Cardiol.* 1972 ; 29 : 451-58.

Saudubray JM, Martin D, de Lonlay P, Touati G, Poggi-Travert F, Bonnet D, Jouvret P, Boutron M, Slama A, Vianey-Saban C, Bonnefont JP, Rabier D, Kamoun P, Brivet M. Recognition and management of fatty acid oxidation defects: a series of 107 patients. *J Inherit Metab Dis.* 1999 ; 22(4) : 488-502.

Schaal SF, Seidensticker J, Goodman R, Wooley CF. Familial right bundle-branch block, left axis deviation, complete heart block, and early death. A heritable disorder of cardiac conduction. *Ann Intern Med.* 1973 ; 79(1) : 63-6.

Schott JJ, Benson DW, Basson CT, Pease W, Silberbach GM, Moak JP, Maron BJ, Seidman CE, Seidman JG. Congenital heart disease caused by mutations in the transcription factor NKX2-5. *Science.* 1998 3 ; 281(5373) : 108-11.

Schott JJ, Alshinawi C, Kyndt F, Probst V, Hoorntje TM, Hulsbeek M, Wilde AA, Escande D, Mannens MM, Le Marec H. Cardiac conduction defects associate with mutations in SCN5A. *Nat Genet.* 1999 ; 23(1) : 20-1.

Scott JS, Maddison PJ, Taylor PV, Esscher E, Scott O., Skinner RP. Connective-tissue disease, antibodies to ribonucleoprotein, and congenital heart block. *N Engl J Med.* 1983 28 ; 309(4) : 209-12.

Segall HN. Congenital arrhythmias and conduction abnormalities in a father and four children. *Can. Med. Assoc. J.* 1961 ; 84 : 1283-96.

Simonsen EE, Madsen EG. Four cases of right-sided bundle-branch block and one case of atrioventricular block in three generations of a family. *Br Heart J.* 1970 ; 32(4) : 501-4.

Smits JP, Veldkamp MW, Wilde AA. Mechanisms of inherited cardiac conduction disease. *Europace.* 2005 ; 7(2) : 122-37.

Smits JP, Koopmann TT, Wilders R, Veldkamp MW, Opthof T, Bhuiyan ZA, Mannens MM, Balsler JR, Tan HL, Bezzina CR, Wilde AA. A mutation in the human cardiac sodium channel (E161K) contributes to sick sinus syndrome, conduction disease and Brugada syndrome in two families. *J Mol Cell Cardiol.* 2005 ; 38(6) : 969-81.

Spens T: History of a case in which there took place a remarkable slowness of the pulse. [Andrew Duncan's] *Medical and Philosophical Commentaries*, Edinburgh, 1792. volume 7, pp. 458-65.

Srinivasan J, Schachner M, Catterall WA. Interaction of voltage-gated sodium channels with the extracellular matrix molecules tenascin-C and tenascin-R. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998 22 ; 95(26) : 15753-7.

Stanley CA. Disorders of fatty acid oxidation. In: Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G, editors. *Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment*. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1995. p. 133-43.

Steenkamp WF, Combrink JM, Myburgh DP. Familial right bundle-branch block. *S Afr Med J*. 1980 Sep 6 ; 58(10) : 393.

Steenkamp WF. Familial trifascicular block. *Am Heart J*. 1972 ; 84 : 758-760.

Stephan E. Hereditary bundle branch system defect: Survey of a family with four affected generations. *Am Heart J*. 1978 ; 95: 89-95.

Stephan E, Aftimos G, Allam C. Familial fascicular block: histologic features of Lev's disease. *Am Heart J*. 1985 ; 109(6) : 1399-401.

Stephan E, de Meeus A, Bouvagnet P. Hereditary bundle branch defect: right bundle branch blocks of different causes have different morphologic characteristics. *Am Heart J*. 1997 Feb ; 133(2) : 249-56.

Stokes W. Observations on some cases of permanently slow pulse. *Dublin Quarterly Journal of Medical Science*, 1846, 2: 73-85. Reprinted in *Medical Classics*, 1939, 3: 727-738.

Tan HL, Bink-Boelkens MT, Bezzina CR, Viswanathan PC, Beaufort-Krol GC, van Tintelen PJ, van den Berg MP, Wilde AA, Balser JR. A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature*. 2001 22 ; 409(6823) : 1043-7.

Van den Heuvel GCJ. *De ziekte van Stokes-Adams en een geval van aangeboren hart blok*. Groningen 1908.

Van der Merwe PL, Weymar HW, Torrington M, Brink AJ. Progressive familial heart block (type I). A follow-up study after 10 years. *S Afr Med J*. 1988 5 ; 73(5) : 275-6.

Van Veen TA, Stein M, Royer A, Le Quang K, Charpentier F, Colledge WH, Huang CL, Wilders R, Grace AA, Escande D, de Bakker JM, van Rijen HV. Impaired impulse propagation in Scn5a-knockout mice: combined contribution of excitability, connexin expression, and tissue architecture in relation to aging. *Circulation*. 2005 27 ; 112(13) : 1927-35.

Wang DW, Viswanathan PC, Balser JR, George AL Jr, Benson DW. Clinical, genetic, and biophysical characterization of SCN5A mutations associated with atrioventricular conduction block. *Circulation*. 2002 22 ; 105(3) : 341-6.

Wood MA, Ellenbogen KA. Cardiology patient pages. Cardiac pacemakers from the patient's perspective. *Circulation*. 2002 May 7 ; 105(18) : 2136-8.

VII. ANNEXES

**COMITE CONSULTATIF DE PROTECTION DES PERSONNES
DANS LA RECHERCHE BIOMEDICALE N° 2
REGION DES PAYS DE LA LOIRE - NANTES**

Tél. 02 40 08 72 48 - Poste 87 248 Télécopie 02 40 08 72 48

DD/MTG CCPRB N°305/2003

Nantes, le 8 Avril 2003

Monsieur le Professeur LE MAREC
Clinique Cardiologique
Hôpital G et R LAENNEC
Boulevard Jacques Monod
44093 - SAINT HERBLAIN

OBJET : Information complémentaire
Protocole 13/01 séance du 6 Mars 2001

Mon Cher Collègue,

J'accuse réception au courrier de votre promoteur en date du 2 avril dernier, m'informant de la prolongation du protocole de recherche intitulé :

**"VARIABILITE PHENOTYPIQUE GENETIQUE ET FONCTIONNELLE DES BAV
PROGRESSIFS ET DES SYNDROMES DE BRUGADA : LOCALISATION ET IDENTIFICATION DE
NOUVEAUX GENES - SBID"**

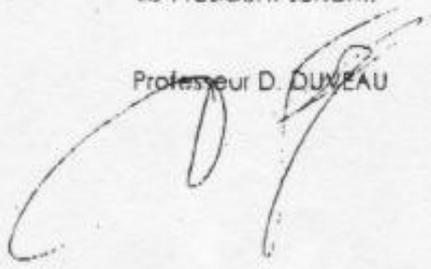
qui a reçu un Avis Favorable lors de la séance en date du 6 Mars 2001, par le Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale des Pays de la Loire n°2 siégeant à NANTES, qui l'a examiné. Ce protocole est SANS bénéfice individuel direct, et le Centre Hospitalier Universitaire de NANTES se porte promoteur.

Je prends bonne note que la recherche précédemment citée est prolongée au 1^{er} avril 2004 et que l'assurance est prévue en conséquence.

Veillez agréer, Mon Cher Collègue, l'assurance de mes sentiments dévoués.

Le Président sortant,

Professeur D. DUVEAU



CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES
HOPITAL GUILLAUME ET RENE LAENNEC
Boulevard Jacques Monod – 44 093 NANTES CEDEX 01

CLINIQUE CARDIOLOGIE ET DES MALADIES VASCULAIRES

CONSENTEMENT DE PARTICIPATION A UNE
ENQUETE GENETIQUE SUR UNE MALADIE CARDIAQUE FAMILIALE
« Variabilité phénotypique génétique et fonctionnelle des BAV progressifs et du
syndrome de Brugada : localisation et identification de nouveaux gènes »

de Madame, Monsieur, (nom, prénom)

Adresse :

Le Docteur m'a proposé de participer à une enquête génétique sur une maladie cardiaque dont je suis atteint(e) ou un des membres de ma famille. Il m'a précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser. J'ai reçu et j'ai bien compris les informations contenues dans le formulaire d'information qui m'a été remis.

J'accepte de participer à cette recherche dans les conditions précisées dans le formulaire d'informations.
Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.

J'accepte de faire don d'un prélèvement sanguin à des fins de recherche et je consens au recueil, saisie et au traitement des données contenues dans mon dossier médical par des personnes tenues au secret professionnel. Les données qui me concernent resteront strictement confidentielles. Je n'en autorise la consultation qu'aux personnes qui collaborent à la recherche, désignées par l'organisateur, Le Professeur H. Le Marec, et éventuellement à un représentant des autorités de Santé. Je pourrai à tout moment demander à être retiré de la recherche et à cette fin les données concernant mon dossier devront être détruites.

Conformément à la loi Informatique et Libertés, je peux exercer mon droit d'accès aux données qui me concernent par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

En accord avec les articles L209-9, L209-17 R 2039 et R2046 du code de la santé publique, les personnes participant à cette étude seront inscrits sur le fichier national des personnes qui se prêtent à des études biomédicales sans bénéfice individuel direct et j'aurai la possibilité de vérifier auprès du titulaire de l'autorisation de lieu de recherches ou du ministre chargé de la santé de l'exactitude des données me concernant présentes dans le fichier et la destruction de ces données au terme du délai prévu à l'article R2045 du code de la santé publique.

Je respecte la période d'exclusion au cours de laquelle je ne pourrai pas participer à une autre recherche biomédicale sans bénéfice individuel direct.

L'assurance responsabilité civile contractée par le CHU de Nantes est conforme au texte en vigueur (loi du 27 juillet 1994).

Je suis informé(e) que les résultats des recherches envisagées n'ont pas de retombées immédiates qui concerneraient ma santé. Les résultats de ces recherches n'étant pas interprétables au niveau individuel, ils ne me seront pas communiqués. Je pourrai par contre demander que les résultats de ces études me soient expliqués.

Cette étude a été validée par le Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la recherche biomédicale N°2 Régions des Pays de la Loire siégeant à Nantes en date du

*Date et signature de l'investigateur ou
de la personne qui le représente :*

Date et Signature

Titre de Thèse : **Troubles de conduction isolés progressifs héréditaires :
Etude clinique et moléculaire de familles.**

RESUME

La maladie de Lenègre est une maladie fréquente après 70 ans. La découverte de formes familiales de cette maladie en a fait suspecter l'influence de facteurs génétiques. La fréquence des formes familiales n'est cependant pas connue et leurs bases génétiques ne sont pas univoques. Il existerait au moins 2 gènes impliqués. Le gène *SCN5A* est le seul identifié à ce jour. Un autre gène, localisé sur le chromosome 19 mais non encore identifié, témoigne de l'hétérogénéité génétique de la maladie. Le but de l'étude était d'identifier de nouvelles familles de maladie de Lenègre héréditaire et le cas échéant de réaliser une étude génétique moléculaire de ces familles.

Deux méthodes ont été utilisées pour l'identification de familles. La première méthode consistait à réaliser une enquête familiale autour de patients atteints de maladie de Lenègre. La deuxième, plus systématique, a consisté à étudier la répartition géographique de la maladie de Lenègre puis à réaliser des enquêtes familiales et généalogiques auprès des propositus issus des régions de haute fréquence de la maladie.

Six familles ont été identifiées par la réalisation d'enquêtes familiales. Dans une de ces familles les troubles de conduction ségréguaient avec un locus localisé en 16q23.3-16q24. Une autre grande famille a été mise à jour par une approche d'épidémiologie génétique: à l'intérieur d'une région dans laquelle les troubles de conduction avaient une fréquence élevée, nous avons identifié la famille Br. qui remplissait les critères d'informativité génétique. Dans cette famille, les locus précédemment identifiés de troubles de conduction ont été exclus par génotypage et une analyse de liaison à l'échelle du génome entier est actuellement en cours.

Compte tenu de la grande fréquence de la maladie de Lenègre et de l'apparition tardive de la maladie, une approche de génétique familiale classique pourrait surprendre. Toutefois le déterminisme génétique de la maladie de Lenègre n'est plus contesté et la plupart des gènes restent à identifier. La difficulté principale consiste à identifier des grandes familles, c'est pourquoi une approche d'épidémiologie génétique peut constituer une approche intéressante.

MOTS-CLES

Génétique

Troubles de conduction

Maladie de Lenègre

Analyse de liaison

Epidémiologie génétique