



**Karolinska  
Institutet**

Institutionen för Neurobiologi, Vårdvetenskap och Samhälle  
Sektionen för fysioterapi  
Examensarbete i klinisk medicinsk vetenskap magisterprogrammet  
VT 2016

# **Utfallsprediktorer vid genetisk diagnostik för hypertrofisk kardiomyopati**

**- en retrospektiv granskning**

# **Predictors of outcome in genetic diagnostics for hypertrophic cardiomyopathy**

**-a retrospective study**

**Författare:** Madeleine Dewerand, [madeleine.dewerand@stud.ki.se](mailto:madeleine.dewerand@stud.ki.se)

**Handledare:** Maria Nastase Mannila, MD, PhD, Hjärtkliniken och Klinisk genetik, Karolinska Universitetssjukhuset, [Maria.Nastase.Mannila@ki.se](mailto:Maria.Nastase.Mannila@ki.se)

**Bihandledare:** Eva Rudd, MD, PhD, Klinisk genetik, Karolinska Universitetssjukhuset, [Eva.Rudd@ki.se](mailto:Eva.Rudd@ki.se)

**Examinerande lärare:** Marie Iwarzon, [Marie.Iwarzon@ki.se](mailto:Marie.Iwarzon@ki.se)

# Abstrakt

## Bakgrund

Hypertrofisk kardiomyopati (HCM) är den vanligast förekommande ärftliga hjärtsjukdomen, som karakteriseras av en oförklarlig hjärtmuskelförtjockning av vänsterkammaren och som medför ökad risk för hjärtsvikt, arytmier och plötslig död. I majoriteten av fallen kan en bakomliggande sjukdomsassocierad mutation påvisas, vilket möjliggör presymtomatisk anlagsbärartestning för familjemedlemmar. Till Klinisk genetik på Karolinska Universitetssjukhuset remitteras patienter med HCM för genetisk diagnostik, men enligt uppskattning påvisas sjukdomsorsakande mutation i endast en fjärdedel av fallen, vilket delvis speglar komplexiteten i den kliniska differentialdiagnostiken för vänsterkammerhypertrofi.

## Syfte

Syftet med studien var att studera sambandet mellan patientkaraktäristika och utfall vid klinisk genetisk diagnostik för hypertrofisk kardiomyopati, för att identifiera de starkaste prediktorerna för ett positivt gentest.

## Metod

Studien är en kvantitativ, retrospektiv tvärsnittsstudie som utfördes som ett kvalitetsutvecklingsarbete, där alla patienter som under ett års tid genomförde genetisk analys för HCM-associerade mutationer, granskades avseende analysresultat och kliniska karaktäristika.

## Resultat

Studien visade att genetisk screening utföll positivt, d v s patogen/troligen patogen mutation påvisades hos endast en fjärdedel av de remitterade fallen, utan signifikanta skillnader mellan män och kvinnor. Dock hade mer än dubbelt så många män som kvinnor remitterats för genetisk screening. Diagnosåldern var något lägre i gruppen med positivt gentest, där en positiv familjehistoria, lägre BMI och lägre blodtryck var vanligare än bland övriga individer. Septumtjockleken skiljde sig inte åt mellan grupperna, men visade samtidigt att BMI och blodtryck var högre i gruppen med negativt gentest.

## Sammanfattning

Studien visade att familjehistoria för HCM och lägre BMI var de starkaste prediktorerna för positivt utfall vid genetisk diagnostik för hypertrofisk kardiomyopati.

## Nyckelord

Hypertrofisk kardiomyopati, vänsterkammerhypertrofi, genetisk screening, mutation, ärftlig

# **Abstract**

## **Background**

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most common hereditary heart disease, characterized by an unexplained hypertrophy of the left ventricle, which increases the risk of heart failure, arrhythmias and sudden death. In the majority of cases, an underlying pathogenic mutation can be detected, enabling presymptomatic carrier testing for family members. Patients with HCM are referred for genetic screening to the department of Clinical Genetics at Karolinska University Hospital, but according to estimates, a pathogenic mutation is detected in only a quarter of cases, partly reflecting the complexity of clinical differential diagnosis of left ventricular hypertrophy.

## **Aim**

The aim of this study was to investigate the relationship between patient characteristics and outcome in clinical genetic diagnostics for hypertrophic cardiomyopathy, to identify the strongest predictors of a positive genetic test.

## **Method**

The study is a quantitative, retrospective cross-sectional study that was conducted as a quality development project, where all patients performing genetic analysis for HCM associated mutations during one year, were reviewed regarding analysis outcome and clinical characteristics.

## **Results**

The study showed that genetic screening was positive, i.e. a pathogenic/likely pathogenic mutation was detected in only a quarter of cases, without significant differences between men and women. However, more than twice as many men as women were referred for genetic screening. Age at diagnosis was slightly lower in the group with positive gene test, in which a positive family history, lower BMI and lower blood pressure were more common than among the other individuals. The thickness of the septum did not differ between the groups, but it also showed that BMI and blood pressure was higher in the group with negative genetic test.

## **Conclusion**

The study showed that family history of HCM and lower BMI were the strongest predictors of positive outcome in genetic diagnostics for hypertrophic cardiomyopathy.

## **Keywords**

Hypertrophic cardiomyopathy, left ventricular hypertrophy, genetic screening, mutation, hereditary

## Ordlista

Allel	Alternativ form av ett arvsanlag, genvariant.
Compound heterozygot	Två alleler som bär på olika mutationer i samma gen.
<i>de novo</i> -mutation	Nymutation, d v s ingen av föräldrarna bär på anlaget.
Expressivitet	Varierande manifestationsgrad vid samma mutation i en gen.
Fenotyp	Egenskap hos individ, t ex sjukdomsuttryck. Fenotypen utgör resultatet av genotypens samverkan med miljön.
Genotyp	Den ärftliga konstitutionen, genuppsättningen.
HCM	Hypertrophic Cardiomyopathy =hypertrofisk kardiomyopati
Homozygot	Individ som har samma alleler i ett bestämt locus.
ICD	Implantable Cardioverter Defibrillator = implanterbar defibrillator
LIS	Laboratory Information System
LVH	Left Ventricular Hypertrophy = vänsterkammarhypertrofi
Penetrans	En gens manifestationsfrekvens, d v s i vilken mån en mutation leder till sjukdom.
Polymorfi	Normalvariation i DNA-sekvensen
SCD	Sudden Cardiac Death = plötslig hjärtdöd
VUS	Variant of Unknown Significance = oklar variant

# INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Inledning .....	1	
<b>1</b>	<b>Bakgrund .....</b>	<b>2</b>
1.1	Klinisk manifestation och morfologi .....	3
1.2	Diagnoskriterier .....	5
1.2.1	Differentialdiagnoser .....	5
1.3	Ärftlig eller sporadisk HCM .....	6
1.4	Centrala begrepp – Genetik vid HCM .....	7
1.4.1	Genetisk screening .....	7
1.4.2	Molekylärgenetik .....	8
1.4.3	Patogenicitet av variant .....	8
1.5	Problemformulering .....	10
<b>2</b>	<b>Syfte .....</b>	<b>11</b>
2.1	Frågeställning .....	11
<b>3</b>	<b>Metod .....</b>	<b>11</b>
3.1	Datainsamling .....	11
3.2	Urval .....	12
3.3	Databearbetning och analys .....	12
3.4	Etiska aspekter .....	13
<b>4</b>	<b>Resultat .....</b>	<b>13</b>
4.1	Studiepopulationens karakteristiska .....	13
4.2	Genetiska analyser .....	14
4.3	Kliniska prediktorer vid septumtjocklek och positivt gentest... ..	16
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>17</b>
5.1	Resultatdiskussion .....	17
5.2	Metodologiska överväganden .....	22
5.3	Implikationer för praxis .....	22
5.4	Implikationer för fortsatta studier .....	23
<b>6</b>	<b>Slutsats .....</b>	<b>24</b>
<b>7</b>	<b>Referenser .....</b>	<b>25</b>

## Inledning

Genetisk diagnostik vid hypertrofisk kardiomyopati (HCM) är värdefull för att identifiera sjukdomsorsakande anlag, som möjliggör anlagsbärartestning för familjemedlemmar, vilket kan bidra till att förhindra plötslig hjärtdöd. Enligt litteraturen kan en sjukdomsassocierad mutation påvisas i majoriteten av fallen, men en uppföljning av analyserna med denna frågeställning hos de patienter som remitterats till Klinisk genetik på Karolinska Universitetssjukhuset, visar ett mutationsfynd i endast en fjärdedel av fallen. Eftersom processen kring genetisk screening är tidskrävande, kostsam och oftast inkonklusiv, finns ett behov av att bättre förstå vilka faktorer som skiljer individer med och utan positiva gentester åt.

Som sjuksköterska och genetisk vägledare vid Klinisk genetik, med kardiogenetisk specialitet och delaktig i både patientutredningar och hantering av genetiska analyser, har jag engagerat mig i denna fråga och utfört ett kvalitetsutvecklingsarbete, som ligger till grund för denna uppsats.

# 1 Bakgrund

Kardiomyopatier är en heterogen grupp hjärtmuskelsjukdomar karakteriserade av strukturella och funktionella abnormaliteter. De kan orsaka rytmrubbningar och hjärtsvikt med ökad risk för plötslig hjärtdöd, vilket kan vara debutsymtomet och drabbar oftast unga personer. Diagnostiseringen baseras på läkarundersökning samt EKG (elektrokardiografi) och bilddiagnostiska metoder såsom EKO (ekokardiografi) och ev. MR hjärta (magnetkameraundersökning). Beroende på morfologisk och funktionell fenotyp, kan kardiomyopatierna delas in i hypertrofisk kardiomyopati (HCM), dilaterad kardiomyopati (DCM), restriktiv kardiomyopati (RCM), arytmogen högerkammarmarkardiomyopati (ARVC) och non-compaction kardiomyopati (LVNC) (1).

HCM är den vanligast förekommande ärftliga hjärtsjukdomen, med en prevalens på 1:500 i befolkningen. Sjukdomen är global och lika vanligt förekommande hos kvinnor som hos män (2). Det är en heterogen sjukdom som uppvisar stor genotyp-fenotyp variation, d v s genetisk uppsättning kontra sjukdomsmanifestation (3). HCM kan debutera under hela livet, från tidig barndom till sent i vuxenlivet, men i genomsnitt ställs diagnosen vid drygt 40 års ålder. Troligen föreligger det en underdiagnostik av sjukdomen, pga. att många patienter är asymtomatiska och nyligen publicerad data talar för att prevalensen av mutationsbärare kan vara så hög som 1:200 (4).

I drygt hälften av fallen är HCM ärftligt och nedärvningsmönstret är oftast autosomt dominant, vilket innebär 50 % risk för barn att ärva anlaget. Sjukdomen uppvisar både variabel expressivitet, d v s den kliniska sjukdomsbilden varierar både inom och mellan familjer, och inkomplett åldersberoende penetrans, vilket innebär att majoriteten av anlagsbärarna utvecklar sjukdomen med tiden (5).

En bakomliggande, sjukdomsorsakande mutation kan påvisas i upp till 60 % av fallen, enligt guidelines från Europeiska Kardiologföreningen (European Society of Cardiology, ESC) (6). Men det finns även data som talar för att andelen genetiska utredningar med positivt genfynd varierar mellan 30-65 %, beroende på patienturval och analyspanel (1, 7). I de fall mutation inte identifieras, är orsakerna till det inte helt klarlagda och ärftlighet kan därför ändå inte uteslutas. En förklaring skulle kunna vara att en mutation inte upptäckts, då den ligger i en gen som ännu inte är associerad med HCM och därför inte analyserad. Det kan också vara blandad etiologi eller multifaktoriella orsaker som leder till vänsterkammarmhypertrofi, d v s en kombination av genetik och miljö, istället för en enskild faktor. Vänsterkammarmhypertrofi kan även utvecklas sekundärt till följd av andra sjukdomar eller tillstånd (7).

## 1.1 Klinisk manifestation och morfologi

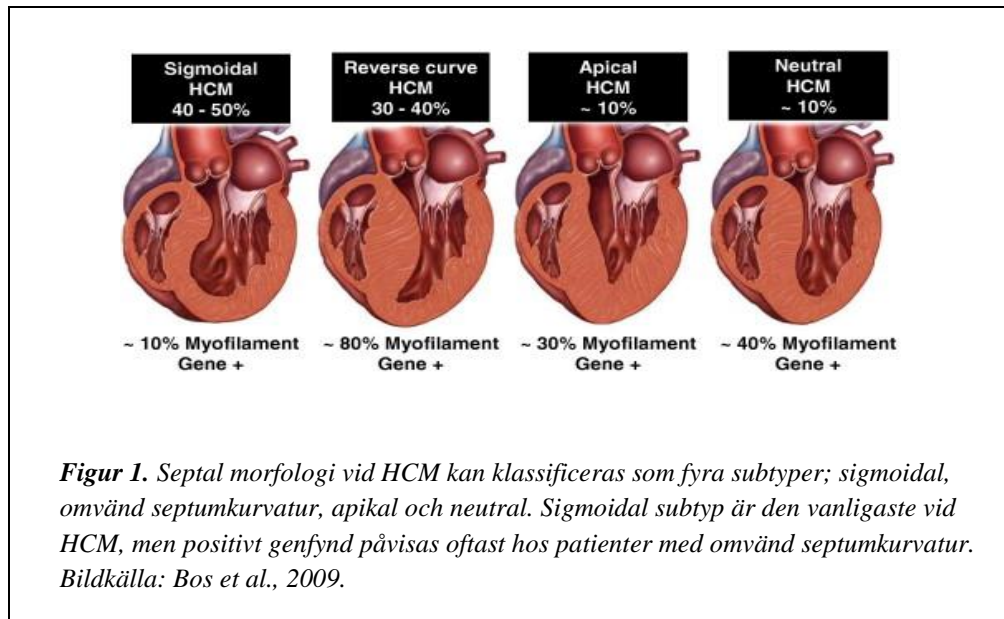
De kliniska manifestationerna vid HCM är mycket varierande, från symtomfrihet med normal livslängd till svår hjärtsvikt eller plötslig död. I de fall symtom förekommer är dyspné vanligast, följt av bröstsmärta, palpitationer, yrsel eller presyncope/syncope. Majoriteten av fallen (75-95 %) har patologiska EKG-förändringar och det är inte ovanligt att diagnosen upptäcks av en tillfällighet när man tar EKG, t ex preoperativt eller inför mönstring (8).

Förmaksflimmer är fyra gånger vanligare hos patienter med HCM, jämfört med normalpopulationen. Arytmin ökar risken för hjärtsvikt och stroke, men det finns ingen evidens för att förmaksflimmer som enskild faktor ökar risken för plötslig död (9). Risken för allvarlig arytm, som ventrikeltakykardi och ventrikelflimmer, ökar under fysisk ansträngning och plötslig död kan ibland vara första sjukdomsmanifestationen. HCM är den vanligaste bakomliggande orsaken till plötslig död hos unga idrottare (10).

Den förväntade överlevnaden visar stor individuell variation och den årliga mortaliteten har sagts variera mellan 1 och 6 % beroende på riskprofil. Enligt en stor samhällsbaserad studie skulle endast 23 % av patienterna uppnå en normal livslängd (11). Senare studier har dock gett en mer nyanserad och benign bild av sjukdomen där förbättrade behandlingsmöjligheter, som ICD (implantable cardioverter-defibrillator), kirurgisk septal myektomi, alkoholablation och pacemakerstöd, har minskat den årliga mortaliteten till cirka 0.5 % (12, 13). Den årliga mortaliteten hos dem som diagnostiseras efter 50 års ålder skiljer sig inte från den i en åldersmatchad population, men den förväntade överlevnaden är betydligt lägre hos patienter med tidigare sjukdomsmanifestation (11).

Sjukdomen karaktäriseras av en vänsterkammarhypertrofi (left ventricular hypertrophy, LVH), som inte kan förklaras av hemodynamiska orsaker som hypertoni eller klaffsjukdom. Hypertrofin är oftast asymmetrisk, d v s mer uttalad inom septum, skiljeväggen mellan kamrarna, än i övriga kammarsegment (14). Den septala morfologin vid HCM varierar och kan klassificeras på fyra olika sätt; sigmoidal, omvänd septumkurvatur, apikal och neutral (Fig.1).





I en stor studie där genotyp-fenotyp korrelationer studerades konstaterades att sigmoidal (47%) och omvänd septumkurvatur (35%) var de vanligaste anatomiska subtyperna vid HCM. Ett positivt genfynd påvisades huvudsakligen hos patienter med omvänd septumkurvatur HCM (80%), men endast hos 10% av fallen med sigmoidal HCM. Den septala morfologin var i denna studie den starkaste prediktorn för ett positivt utfall vid genetisk testning (15).

Den systoliska vänsterkammarmfunktionen, ejektionsfraktionen (EF), brukar vara normal, medan diastolisk dysfunktion är obligat. Hypertrofisk obstruktiv kardiomyopati (HOCM) är en HCM variant där patienterna uppvisar utflödesobstruktion i vila och/eller vid effort. Obstruktionen orsakas av den septala hypertrofin i kombination med en systolisk anterior rörelse av mitralisklaffen, s.k. SAM-fenomen (14). Hypertrofi i basala septum är ofta förenligt med SAM-fenomen och utflödesobstruktion, medan hypertrofi i mellansegmentet av septum kan orsaka midventrikulär obstruktion. Apikal hypertrofi anses vara benignare, men kan ibland associeras med apikala aneurysm (10-31 % jämfört med 2 % i hela HCM-populationen) (16).

Många patienter med HCM utvecklar myokardiell fibros vilket kan påvisas med MR hjärta, och ger en ökad risk för ventrikulära arytmier och plötslig hjärtdöd (17). Fibrosutveckling är dock inte patognomont för HCM då det är vanligt vid vänsterkammarmhypertrofi oavsett orsak och antas vara kopplat till graden av vänsterkammarmodellering, snarare än den bakomliggande etiologin (18). Exempelvis har fibros i myokardiet identifierats hos patienter med hypertoni i större utsträckning än vad som tidigare antagits och kan finnas hos >50% (19). Avsaknad av fibros kan däremot vara ett sätt att särskilja idrottshjärta från HCM (6).

Sammantaget löper patienter med HCM ökad risk för hjärtsvikt, arytmier och plötslig död, men befintliga diagnos- och riskstratifieringsverktyg är suboptimala. En förbättrad klinisk diagnostik torde möjliggöra identifiering av individer med störst risk för morbiditet och mortalitet (16). Molekylärgenetisk diagnostik utförd på adekvat fenotyperade patienter, där sekundära orsaker till vänsterkammarmhypertrofi uteslutits, kan tänkas bidra till riskstratifieringen då forskning visat att vissa mutationer är associerade med ökad arytmibenägenhet (20).

## 1.2 Diagnoskriterier

Europeiska kardiologföreningen, ESC, definierar HCM som ett tillstånd med ökad väggjocklek på  $\geq 15$  mm i någon del av vänster kammare, utan samtidig hypertoni eller klaffsjukdom som skulle kunna förklara hypertrofin. I denna definition inkluderas även de fall där HCM förekommer som ett delfenomen vid olika syndrom, t ex Noonans syndrom eller vid inlagringssjukdomar, t ex amyloidos. Om två nära släktingar uppfyller dessa kriterier så betraktas sjukdomen som ärftlig. Vid den ärftliga formen av HCM räcker det sedan med  $\geq 13$  mm väggjocklek för att ställa diagnosen hos övriga släktingar (6).

### 1.2.1 Differentialdiagnoser

*Hypertoni och klaffsjukdom*, framförallt aortastenosis, är båda vanliga differentialdiagnostiska orsaker till vänsterkammarmhypertrofi. Dessa tillstånd leder till ett ökat systoliskt tryck i vänsterkammaren med myokardiell hypertrofi som följd. Vänsterkammarmhypertrofi ses hos  $>30$  % av patienter med hypertoni. Sekundär hypertrofi är ofta symmetrisk och väggjockleken blir vanligtvis inte  $>15$  mm. Hos vissa patienter med afrikansk bakgrund, särskilt i kombination med njursvikt, är det dock inte ovanligt med septumtjocklek  $>15-20$  mm. (6). Då hypertoni är vanligt förekommande i befolkningen, kan ärftlig HCM och hypertoni föreligga samtidigt (16).

*Idrottshjärta*, dvs långvarig och intensiv träning kan leda till en fysiologisk adaptation med dilatation av vänstersidiga hjärtrum och ibland även med hypertrofi av kammarväggarna. Knappt 2 % av manliga elitidrottare har en septumtjocklek på 13-15 mm, dvs i gränzonen mellan HCM och fysiologisk vänsterkammarmhypertrofi (21). En väggjocklek på  $>16$  mm talar för HCM, då det anses vara den övre gränsen för fysiologisk hypertrofi, oavsett etnicitet. Det som talar för idrottshjärta är avsaknad av fibros samt att hypertrofin ofta är symmetrisk och att den går i regress efter upphörande av den intensiva träningen (16). De avvikande EKG-förändringar med djupa T-våginverteringar som kan ses vid HCM, är sällsynta vid idrottshjärta (21). Även hos individer med genetiskt verifierad HCM kan elitidrottande ha stor påverkan på graden av hypertrofi. En fallrapport beskriver en 18-årig pojke som tränade ishockey på hög nivå och som i samband med klinisk hjärtscreening visade sig ha en uttalad

apikal hypertrofi på 25 mm. Genetisk screening kunde inte oväntat påvisa en patogen *de novo*, d v s nymutation i *MYH7*-genen. Det som är anmärkningsvärt är, att efter att pojken upphörde med elitträningen gick den apikala hypertrofin i regress till maxtjocklek på 12 mm (3).

*Övervikt* är en stor riskfaktor för kardiovaskulära sjukdomar i västvärlden och det finns idag stark evidens för ett samband mellan övervikt och vänsterkammahypertrofi. BMI verkar enligt vissa studier till och med vara starkare associerad med vänsterkammahypertrofi än hypertoni (22, 23). En stor populationsbaserad studie med drygt 5000 patienter, rapporterade ett starkt samband mellan övervikt och symmetrisk vänsterkammahypertrofi (24). En annan studie omfattande 242 patienter med klinisk HCM diagnos, en minoritet var genetiskt screenade, rapporterade att obesa patienter med BMI  $\geq 30$  uppvisade en signifikant ökad vänsterkammarmassa, som främst berodde på en förtjockad vänsterkammavägg posterioert, septum uppvisade ingen skillnad (25). Komorbiditet i form av hypertoni gör denna association ännu tydligare (26). Viktnedgång hos överviktiga patienter leder nästan alltid till en tillbakagång av hypertrofin och detta samband tycks vara starkare än den minskade hypertrofi som kan ses hos hypertensiva patienter efter blodtrycksnormalisering (27).

### 1.3 Ärftlig eller sporadisk HCM

Ärftlig HCM bedöms föreligga om indexfallet har  $\geq 1$  förstegradssläkting med sjukdomen eller plötslig hjärtdöd (SCD), alternativt bekräftad patogen mutation. Vid sporadisk HCM saknas en positiv familjehistoria, åldern vid diagnos är ofta högre, prognosen bättre och det är ovanligare med genetiska fynd. Skillnaderna mellan ärftlig och sporadisk HCM förklaras delvis av osäker familjeanamnes. Men ärftlig och sporadisk HCM utgör i vissa fall en och samma sjukdom, där skillnaderna i genetiska fynd, ålder vid diagnos och familjehistoria, troligen beror på att till synes sporadiska former orsakas av lågpenetranta *de novo* mutationer i gener som vanligtvis inte associeras med ärftlig HCM (28).

Det finns idag inga säkra kliniska kännetecken som särskiljer sporadiska och familjära fall, men några faktorer som är associerade med ett positivt utfall vid genetisk screening är;

- ung ålder vid diagnos (< 45 år)
- väggjocklek >20 mm
- känt fall av HCM eller plötslig hjärtdöd i släkten
- frånvaro av hypertoni
- uttalad asymmetrisk hypertrofi på EKO och/eller MR hjärta, framförallt omvänd septumkurvatur (29).

Tidigare studier har visat att vuxna individer som är genotyp-positiva, oftare har fler och allvarligare kliniska manifestationer än de som är genotyp-negativa (29). Samtidigt har några mindre retrospektiva studier indikerat att genotyp-positiva / fenotyp-negativa individer, har låg risk för plötslig död och mindre sannolikhet för manifest sjukdom (30). En minoritet (3-5 %) av individerna med HCM har >1 mutation (homozygot eller compound heterozygot) vilket ger en allvarligare klinisk fenotyp, indikerande en gendos-effekt (17). Multipla mutationer påvisas oftare hos individer som diagnostiseras som barn/ungdomar (11 %) än hos de som fått sin diagnos i vuxen ålder (1 %), vilket ytterligare styrker teorin om gendos-effekt (29).

Med tanke på att genetiska utredningar är förenade med konsekvenser som sträcker sig över enskild individnivå, är det fundamentalt viktigt att rätt patientgrupp blir aktuell för molekylärgenetisk diagnostik. En mer uttalad hypertrofi, positiv familjehistoria och yngre ålder vid diagnos har associerats med högre detektionsfrekvens av en sjukdomsorsakande mutation (15).

## **1.4 Centrala begrepp – Genetik vid HCM**

### **1.4.1 Genetisk screening**

Genetisk screening utförs för att om möjligt bekräfta en klinisk diagnos, men framförallt för att kunna erbjuda patientens förstagrads släktingar (barn, syskon, föräldrar) presymtomatisk anlagsbärartestning. Avsikten med det är att identifiera riskindivider innan kliniska symtom uppkommit, för att kunna erbjuda dem uppföljning i kontrollprogram och ev. initiera förebyggande behandling. För nya bekräftade mutationsbärare utvidgas screeningen till deras förstagrads släktingar och så vidare, s k genetisk kaskadscreening. När mutation inte detekteras hos indexpatienten är resultatet inte konklusivt, då ärftlighet varken kan bekräftas eller uteslutas (2) och då blir uppföljning av förstagrads släktingar med klinisk hjärtscreening aktuell, om det inte redan initierats.

Internationella riktlinjer rekommenderar genetisk kaskadscreening i familjer med monogena, hereditära hjärtsjukdomar, för att reducera och förebygga hjärthändelser, vilket också har visat sig vara kostnadseffektivt jämfört med att enbart följa upp familjemedlemmar kliniskt (31). Även i Sverige har familjeutredningar med klinisk och/eller genetisk screening fått en hög prioritet i Socialstyrelsens nyligen uppdaterade nationella riktlinjer för hjärtsjukvård (32). Starka incitament utgörs av att det råder underdiagnostik av ärftliga hjärtsjukdomar som är förenade med ökad risk för plötslig död, vilket ofta drabbar unga och i övrigt friska individer. Samtidigt kan morbiditet och risk för plötslig död minskas markant med adekvat behandling och förebyggande åtgärder insatta i god tid.

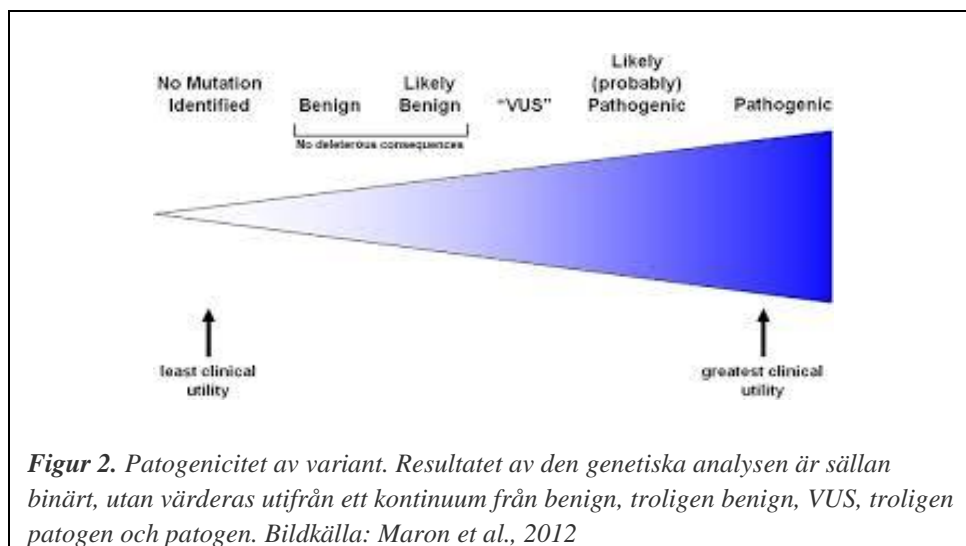
### 1.4.2 Molekylärgenetik

1990 påvisades den första patogena mutationen som kunde kopplas till HCM i *MYH7*-genen ( $\beta$ -myocins tunga kedja) och 1995 identifierades första mutationen i *MYBPC3*-genen (myocinbindande protein C). Sedan dess har över 1500 mutationer i cirka 15 gener identifierats och den absoluta majoriteten av dessa kodar för sarkomerproteiner (30). Mutationer i någon av dessa gener förklarar enligt litteraturen sjukdomen hos cirka 60 % av individerna med HCM. I övriga fall påvisas ingen mutation alternativt en oklar förändring (33).

Mutationer i *MYBPC3*- och *MYH7*-generna utgör cirka 70 % av fynden, medan andra gener inkluderande bl. a *TNNT2* (troponin T), *TNNI3* (troponin I), *MYL2* och *MYL3* ( $\beta$ -myocins lätta kedja), *TPMI* ( $\alpha$ -tropomyocin) och *ACTC* (aktin) står för vardera 1-5 % av mutationsfynden. Majoriteten (90 %) av de patogena mutationer som påvisas är missense-mutationer, där en aminosyra är utbytt mot en annan. Övriga mutationer utgörs av frameshift- och nonsense-mutationer. En frameshift-mutation orsakas av en insertion eller deletion av en eller flera nukleotider, vilket skapar en läsrämsförskjutning, som ofta leder till ett trunkeerat protein. Nonsense-mutationer kodar för ett translationsstopp, vilket ger upphov till ett förkortat protein (2).

### 1.4.3 Patogenicitet av variant

Över 80 miljoner genetiska varianter har rapporterats i det mänskliga genomet (34). Hos en frisk individ kan i snitt över 200 ovanliga, potentiellt sjukdomsorsakande varianter och 12-20 tidigare rapporterade varianter identifieras, vilket belyser vikten av korrekt säkerställd diagnos innan en molekylärgenetisk utredning initieras. Att identifiera kliniskt signifikanta genvarianter är komplicerat och kan bli problematiskt om den kliniska fenotypen är inkorrekt klassificerad. Resultatet av den genetiska analysen är därför sällan binärt (ja eller nej), utan bedömningar görs i ljuset av klinisk kontext och utifrån ett kontinuum från benign till VUS (variant of unknown significance), troligen patogen och patogen variant (30) (Fig.2).



Bedömning av variantens patogenicitet baseras på flera faktorer,

- 1) den segregerar med sjukdomsfallen i familjen
- 2) den har tidigare påvisats och rapporterats som sjukdomsorsakande hos flera obesläktade individer med HCM
- 3) den har inte påvisats i matchad kontrollgrupp (populationsdatabas)
- 4) den är belägen i en evolutionärt konserverad region, känslig för förändring (2).

En patogen variant bedöms som sjukdomsorsakande och kan användas för anlagsbärartestning i familjen. En troligen patogen variant talar för att den sannolikt är orsak till sjukdomen, men det bör värderas i varje enskilt fall om den kan användas för prediktiv testning i familjen. VUS är en oklar förändring där patogenicitet varken kan bekräftas eller uteslutas. Den kan inte användas för anlagsbärartestning på friska familjemedlemmar. Finns det däremot fler fall av HCM i släkten kan segregationsanalys göras, för att se om varianten segregerar med sjukdomsfallen. Detta görs som ett led i att stärka eller avfärda sannolikheten att varianten är orsaken till sjukdomen. Benigna varianter eller polymorfier (normalvarianter) förekommer hos > 0.5 – 1 % av normalpopulationen, påverkar inte aminosyrasekvensen och är därmed inte sjukdomsorsakande (35).

Att värdera en variants patogenicitet har blivit ett växande dilemma, då genpanelerna utökas och i vissa fall ersätts med exom- och helgenomsekvensering. Följden blir att fler fynd identifieras och den oklara gruppen VUS:ar blir allt större, med uppskattad frekvens på mellan 5-50 %. Dessutom kan patogeniciteten av en variant förändras över tid, allteftersom ny information blir tillgänglig. En VUS kan exempelvis både uppgraderas till patogen och nedgraderas till benign. Även tidigare bedömda patogena

mutationer kan nedgraderas till VUS eller benign variant. Svårigheten ligger i att bevaka detta och skapa strategier för hur, när och av vem det ska göras (2). Das et al. (36) föreslår att periodisk omprovning av varianter bör utföras av ett multidisciplinärt team bestående av kardiolog, klinisk genetiker, sjukhusgenetiker och genetisk vägledare. Omprovning av variants patogenicitet bör ske med ett intervall på 1-2 år (30). Det laboratorium Karolinska Universitetssjukhuset anlitar för genetiska analyser av hjärtpaneler utvärderar kontinuerligt varianter via ett *variant review team* (37).

## 1.5 Problemformulering

HCM är den vanligast förekommande ärftliga hjärtsjukdomen och den är förenad med en betydande morbiditet och mortalitet. Enligt Socialstyrelsen är hereditära hjärtsjukdomar underdiagnostiserade i Sverige idag. Samtidigt kan en korrekt klinisk fenotypering, med åtföljande genetisk screening ledande till molekylärgenetisk diagnosbekräftelse, möjliggöra genetisk kaskadscreening vilket, förutom att det räddar liv, är kostnadseffektivt och renderar därmed långtgående konsekvenser från individ till samhällsnivå.

Enligt litteraturen kan en sjukdomsorsakande mutation påvisas hos majoriteten av patienterna med HCM vilket står i kontrast till den kliniska verkligheten för de patienter som remitterats till Klinisk Genetik på Karolinska Universitetssjukhuset, där majoriteten av gentesterna är negativa. Detta speglar i första hand den differentialdiagnostiska komplexiteten vid vänsterkammarmhypertrofi. Eftersom familjeutredningar är tidskrävande, kostsamma och alltför ofta genererar oklara fynd som leder till att en del familjer felaktigt inkluderas i kostsamma kliniska kontrollprogram, finns ett behov av att skärpa upp den kliniska diagnostiken innan en patient kan bli aktuell för genetisk screening. För detta behövs en ökad kunskap och förståelse för de kliniska faktorer som karakteriserar patienter med ärftlig och icke ärftlig form av vänsterkammarmhypertrofi.

## 2 Syfte

Syftet med studien var att studera sambandet mellan patientkaraktistika och utfall vid klinisk genetisk diagnostik för hypertrofisk kardiomyopati, för att identifiera de starkaste prediktorerna för ett positivt genterest.

### 2.1 Frågeställning

- Vilka av de för klinisk handläggning av HCM, mest relevanta patientkaraktistiska såsom kön, ålder vid diagnos, familjehistoria, septumtjocklek, BMI, hypertoni, aortstenos, fibros på MR, EKG-förändringar, förmaksflimmer, diabetes, symtom och förekomst av ICD, är associerade med ett positivt genterest?

## 3 Metod

Detta är en kvantitativ, retrospektiv tvärsnittsstudie, utförd som ett kvalitetsutvecklingsarbete vid Klinisk genetik på Karolinska Universitetssjukhuset i Solna under hösten 2015, efter godkännande av verksamhetschef Magnus Nordenskjöld.

Studiens upplägg var att granska alla patienter som under ett års tid genomgått genetisk utredning på HCM-indikation, för att jämföra deras resultat från den genetiska screeningen med den kliniska karakteristikan de uppvisar.

### 3.1 Datainsamling

Sökning gjordes i LIS (Laboratory Information System) StarLims på alla patienter som genomfört screening med *Core Cardiomyopathy Panel*, utförande laboratorium Blueprint Genetics (BpG) i Helsingfors, Finland. Genomiskt DNA isolerat från patienterna har analyserats med denna testpanel som inkluderar 72 gener, vilket täcker in ett brett spektrum av gener som kan associeras med kardiomyopati (HCM, DCM, RCM, LVNC och ARVC). BpG har med denna analyspanel rapporterat ett diagnostiskt utbyte på 37 % i ett icke selekterat material från olika länder, med stor variation mellan olika kliniker (38). Mutationerna klassificeras enligt internationella riktlinjer, ACMG Guidelines (35), i kombination med laboratoriets egna metoder, såsom genomgång av befintlig litteratur, jämförelser med referensdatabaser som *1000 Genomes* (39), *NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP)* (40), *Exome Aggregation Consortium (ExAC)* (41) och *in silico* variant prediktionsverktyg som *SIFT* (42), *PolyPhen* (43) och *Mutation Taster* (44).



En mutation klassificeras som (1) benign, (2) troligen benign, (3) VUS, (4) troligen patogen och (5) patogen. Testresultatet rapporteras som positiv om patogena/troligen patogena mutationer (klass 4-5) påvisats och negativ för övriga varianter eller inget fynd (klass 1-3).

För datainsamling av patienternas kliniska variabler användes journalsystemet Take Care. De variabler som granskades var kön, ålder vid diagnos, positiv familjehistoria (kriterier  $\geq 1$  förstegradssläkting med HCM eller SCD), septumtjocklek (max mm), BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), blodtryck (max/min), förekomst av aortastenosis, fibros på MR, EKG-förändringar (typiska, ospecifika, ua), förmaksflimmer, diabetes mellitus, symptom och förekomst av ICD. Valet av variabler baseras på faktorer relevanta vid klinisk handläggning av HCM, inklusive faktorer som kan orsaka sekundär vänsterkammerhypertrofi och därmed orsaka differentialdiagnostiska svårigheter.

Kvalitetsuppföljningen dokumenterades i patienternas journal med texten; *”Journal öppnad i samband med kvalitetsuppföljning av hypertrof kardiomyopati, detta efter samråd med verksamhetschef Magnus Nordenskjöld, Klinisk genetik.”*

## 3.2 Urval

Alla patienter som under drygt ett års tid, fr. o m 2014-09-01 t o m 2015-09-30, genomgått genetisk screening med analyspanelen *Core Cardiomyopathy Panel* listades från LIS StarLims. Sökningen gav 106 träffar och av dessa exkluderades 40 individer som screenades på annan indikation än HCM (framförallt DCM, ARVC och LVNC). Övriga 66 patienter screenades på HCM-indikation och kunde inkluderas i studien.

## 3.3 Databearbetning och analys

Kategorisk data presenteras som antal (procent %) individer per grupp och kontinuerlig data presenteras som median (första och tredje kvartilen). Gruppjämförelser för kvantitativa variabler utfördes med Mann-Whitneys U test (två grupper) och för kvalitativa variabler har  $\chi^2$ -test och Fisher's exakta test (när antalet individer per grupp varit  $< 5$ ) använts. För att identifiera de oberoende variabler associerade med septumtjocklek har robust regressionsanalys använts, då metoden inte är lika känslig för datadistributionen och förekomst av extremvärden som vanlig regressionsanalys. Från dessa analyser erhöles betakoefficienter (95 procents konfidensintervall, KI). För att undersöka vilka variabler som associeras med positiv vs negativ gentest har multivariat logistisk regressionsanalys med framåtval utförts. Från dessa analyser erhöles oddskvoter (95 procents konfidensintervall, KI) och i slutmodellen lämnades endast signifikanta variabler justerade för ålder och kön. Ett p-värde på  $< 0.05$  ansågs

vara statistiskt signifikant. Data analyserades med SAS 9.4 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

### **3.4 Etiska aspekter**

Då studien genomfördes som ett kvalitetsutvecklingsarbete i syfte att utvärdera rutiner för genetisk screening, har ingen ansökan till Etikprövningsnämnden gjorts. Verksamhetschefen på Klinisk genetik, Magnus Nordenskjöld, godkände utförandet av studien med stöd av KI:s regler för etikprövning av studentarbeten (45). Det är enbart författaren själv som har inhämtat alla uppgifter och detta har dokumenterats i varje öppnad patientjournal. För den enskilde patienten skulle dock det faktum att författaren granskat studierelevanta journaluppgifter, utan skriftligt godkännande från patienten, kunna uppfattas som integritetskränkande och utgöra ett etiskt dilemma. Alla patienter i studien har dock remitterats till Klinisk genetik för genetisk utredning och de granskade journaluppgifterna har tidigare blivit granskade i samband med remissbedömningen, varför detta kan ses som en re-granskning. Författaren omfattas även av offentlighets- och sekretesslagen, OSL (2009:400) och har således tystnadsplikt. De granskade variablerna sammanställdes i ett Excel-program, där patienterna kodades med nummer, vilket gör att informationen inte kan kopplas till den enskilde individen. Excel-filen sparades på ett USB-minne som har förvarats inlåst. Resultatet av denna studie kan således inte härledas till någon enskild individ och anses därför inte kunna orsaka men för patienten.

## **4 Resultat**

### **4.1 Studiepopulationens karakteristiska**

Totalt 66 patienter med, enligt remittent, HCM diagnos eller stark misstanke därom, har inkluderats i studien och deras karakteristiska presenteras i Tabell 1. Majoriteten av patienterna var män (68%). Patienternas medianålder vid diagnos var 53 (40-62) år och kvinnorna var något äldre än männen 57 (41-67) respektive 51 (40-58) år. En positiv familjehistoria för HCM framkom hos 27% av patienterna och var vanligare hos kvinnor (33%) än hos män (24%). Septumtjockleken var 19 (16-22) mm och skiljde sig inte nämnvärt mellan könen ( $p = 0.585$ ). Majoriteten var överviktiga med BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> (55%), hälften hade hypertoni (systoliskt blodtryck  $\geq 140$  mmHg) och 8% hade aortastenosis. Endast 40% av patienterna hade undersökts med MR hjärta och av dessa uppvisade 63% tecken på lokal eller diffus fibros i myokardiet. EKG med för HCM typiska förändringar har beskrivits hos 34% av patienterna, 29% hade förmaksflimmer och 12% hade diabetes mellitus. Tre fjärdedelar hade symtom som föranledde hjärtutredning och HCM diagnos, eller stark misstanke därom. Primär- eller sekundärpreventiv ICD hade implanterats hos 20% av patienterna.

**Tabell 1.** Karakteristika för patienter med misstänkt eller klinisk säkerställd HCM diagnos som mellan 2014-2015 genomgått genetisk screening

Variabel	Kvinnor n = 21	Män n = 45	P-värde
Ålder vid diagnos, år, median (interkvartiler)	57 (41-67)	51 (40-58)	0.156
Familjehistoria	7 (33)	11 (24)	0.450
Septum, mm, median (interkvartiler)	20 (17-21)	19 (16-22)	0.585
BMI, kg/m <sup>2</sup> , median (interkvartiler)	26 (22-29)	27 (24-30)	0.418
Hypertoni	11 (52)	22 (49)	0.792
Aortastenos	3 (14)	2 (4)	0.317
Fibros på MR	5 (71)	12 (60)	0.678
EKG	6 (38)	13 (33)	0.721
Förmaksflimmer	4 (19)	15 (34)	0.256
Diabetes	2 (10)	6 (13)	1
Symtom	13 (72)	34 (79)	0.739
ICD	4 (19)	9 (20)	1

Värden presenteras som n (%) om inte annat anges. P-värde anges för gruppjämförelser från  $\chi^2$ -test eller Fisher's exakta test (kategorisk data) och Mann-Whitney U test (kontinuerlig data)

## 4.2 Genetiska analyser

Mutationer påvisades i 33 olika gener, där de vanligaste generna var *MYBPC3* (27%), *MYH7* (7%) och *MYH6* (5%). Patogena och troligen patogena mutationer identifierades hos 12% respektive 14% av patienterna. Alla troligen patogena mutationerna fanns i *MYBPC3* genen, medan de patogena mutationerna fanns i *MYBPC3* (n=3), *MYH7* (n=2), *TNNI3* (n=1), *TNNT* (n=1), och *TPMI* (n=1). Hos 23 (35%) av patienterna hittades ingen mutation medan 26 (39%) bar på varianter av oklar klinisk betydelse, s.k. VUS. Totalt 13 patienter (20%) hade mutationer i 2 gener associerade med HCM (Tabell 2).

Ålder vid diagnos var signifikant lägre bland patienter med mutationer i två gener jämfört med patienter med mutation i en gen eller utan mutation [41 (24-47) respektive 56 (43-64), p=0.003] och så även BMI [23 (21-28) respektive 27 (24-31), p=0.036], medan septumtjockleken inte skiljde sig åt mellan grupperna, [19 (16-25) respektive 19 (16-22), p= 0.97]. Ingen signifikant skillnad noterades mellan dessa två grupper med avseende på förekomst av familjehistoria (p=0.319), hypertension (p=0.215), typiska EKG-förändringar (p=0.104), ICD (p=0.709), aortastenos (p=0.574), förmaksflimmer (p=0.499) och fibros vid undersökning med MR hjärta (p=0.621). Endast 3 av patienterna med mutationer i två gener hade en patogen eller troligen patogen mutation.

**Tabell 2.** Antal (N) mutationer i HCM-associerade gener och deras motsvarande klassificering, detekterade i denna studie

N	GEN 1		GEN 2	
	Gen	Klass	Gen	Klass
1	<i>ACTN2</i>	3	-	-
1	<i>CSRP3</i>	3	-	-
1	<i>CTF1</i>	3	<i>MIB1</i>	3
1	<i>DES</i>	3	-	-
1	<i>DMD</i>	3	-	-
1	<i>DMD</i>	3	<i>TAZ</i>	3
1	<i>DSC2</i>	3	-	-
1	<i>DSC2</i>	3	<i>DTNA</i>	3
1	<i>DSP</i>	3	-	-
1	<i>EYA4</i>	3	-	-
1	<i>FHL2</i>	3	-	-
1	<i>GLA</i>	3	-	-
1	<i>LAMA4</i>	3	<i>CTNNA3</i>	3
1	<i>LAMP2</i>	3	-	-
1	<i>LAMP2</i>	3	<i>MYL3</i>	3
3	<i>MYBPC3</i>	5	-	-
7	<i>MYBPC3</i>	4	-	-
1	<i>MYBPC3</i>	3	-	-
1	<i>MYBPC3</i>	4	<i>RYR2</i>	3
1	<i>MYBPC3</i>	4	<i>TRIM63</i>	3
1	<i>MYBPC3</i>	3	<i>MYH7</i>	3
1	<i>MYH6</i>	3	-	-
1	<i>MYH6</i>	3	<i>LDB3</i>	3
1	<i>MYH7</i>	5	-	-
1	<i>MYH7</i>	5	<i>TTN</i>	3
1	<i>MYH7</i>	3	<i>MYH6</i>	3
1	<i>PRKAG</i>	3	<i>ABCC9</i>	2
1	<i>RBM20</i>	3	-	-
1	<i>RYR2</i>	3	-	-
1	<i>TNNI3</i>	5	-	-
1	<i>TNNT2</i>	5	-	-
1	<i>TNNT2</i>	2	-	-
1	<i>TNNT2</i>	3	<i>VCL</i>	3
1	<i>TPM1</i>	5	-	-
1	<i>TXNRD2</i>	3	-	-

### 4.3 Kliniska prediktorer vid septumtjocklek och positivt gentest

Vid regressionsanalys justerad för ålder och kön var BMI och en positiv familjehistoria för HCM de faktorer som var starkast associerade med septumtjocklek, betakoefficient: 0.242 (95% KI: 0.037 - 0.447),  $p = 0.021$  respektive betakoefficient: 2.299 (95% KI: 0.031 - 4.567),  $p = 0.047$ .

Gruppjämförelser mellan patienter med positiva och negativa gentest har utförts. Septumtjockleken skiljde sig inte signifikant mellan grupperna ( $p = 0.848$ ). Förekomst av familjehistoria för HCM var vanligare bland patienter med positivt gentest ( $p=0.001$ ). Patienter med positivt gentest var yngre vid diagnostillfället jämfört med de med negativt gentest, 49 (40 - 57) respektive 53 (41 - 64) år, men skillnaden var inte statistiskt signifikant. Dessa patienter hade mindre ofta hypertoni ( $p = 0.049$ ), lägre BMI ( $p=0.045$ ) och fler hade erhållit ICD ( $p=0.029$ ) jämfört med övriga patienter (Tabell 3).

**Tabell 3.** Karakteristika för patienter med negativ och positiv gentest

Variabel	Gentest		
	Negativ	Positiv	P-värde
Kön, antal kvinnor/män	17/32	4/13	0.549
Ålder vid diagnos, år, median (interkvartiler)	53 (41-64)	49 (40-57)	0.301
Familjehistoria	8 (16)	10 (59)	<b>0.001</b>
Septum, mm, median (interkvartiler)	20 (16-22)	19 (17-21)	0.850
BMI, kg/m <sup>2</sup> , median (interkvartiler)	28 (24-31)	24 (22-28)	<b>0.045</b>
Hypertoni	28 (57)	5 (29)	<b>0.049</b>
Aortastenos	5 (10)	0 (0)	0.317
Fibros på MR	9 (53)	8 (80)	0.231
EKG	12 (29)	7 (50)	0.195
Förmaksflimmer	17 (35)	2 (12)	0.118
Diabetes	8 (16)	0 (0)	0.101
Symptom	32 (73)	15 (88)	0.311
ICD	6 (12)	7 (41)	<b>0.029</b>

Värden presenteras som n (%) om inte annat anges. P-värde anges för gruppjämförelser från  $\chi^2$ -test eller Fisher's exakta test (kategorisk data) och Mann-Whitney U test (kontinuerlig data)

För att identifiera de patientkaraktistika starkast associerade med positivt gentest har multivariat logistisk regressionsanalys med framåtval utförts, där kovariater såsom kön, ålder, familjehistoria, septumtjocklek, BMI, hypertension, förmaksflimmer, diabetes och ICD inkluderats. Resultatet av denna analys visar att BMI och positiv familjehistoria för HCM är de starkaste oberoende prediktorerna för utfall vid genetisk screening (Tabell 4).

**Tabell 4.** Utfallsprediktorer vid genetisk HCM-diagnostik

Variabler	Oddsquot (95% konfidensintervall)	P-värde
Ålder vid diagnos	1.02 (0.98 - 1.07)	0.328
Kön	4.85 (0.83 - 28.38)	0.080
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0.84 (0.71 - 0.99)	<b>0.035</b>
Familjehistoria	14.13 (2.81 - 70.97)	<b>0.001</b>

## 5 Diskussion

### 5.1 Resultatdiskussion

I denna studie har kliniska karakteristika relevanta vid klinisk diagnostik och handläggning av vänsterkammarmhypertrofi, studerats i syfte att identifiera faktorer som predikterar utfall vid genetisk diagnostik för HCM. Av de granskade variablerna *kön, ålder vid diagnos, familjehistoria, septumtjocklek, BMI, hypertoni, aortastenosis, fibros på MR, EKG-förändringar, förmaksflimmer, diabetes, symptom* och *ICD*, visade studien att familjehistoria och BMI var de starkaste utfallsprediktorerna vid genetisk diagnostik för HCM.

#### **Familjehistoria**

Förekomst av positiv familjehistoria, d v s  $\geq 1$  förstgradssläkting med HCM eller plötslig hjärtdöd, framkom som den starkaste prediktorn för positivt gentest. Associationen mellan en positiv familjehistoria och ökad sannolikhet att identifiera en sjukdomsorsakande mutation vid HCM, är helt i linje med litteraturen (46). Fyndet överensstämmer också väl med att HCM är en dominant nedärvd sjukdom, där släkträdet ofta uppvisar ett tydligt nedärvningsmönster med flera drabbade individer, vilket stärker betydelsen av en grundlig familjeanamnes vid utredningen av dessa patienter. De korrekta diagnoserna i släkten är inte alltid kända och därför bör, förutom anamnes på HCM och SCD, även familjehistoria på ospecificerad hjärtsvikt, hjärttransplantation, pacemaker och ICD uppmärksammas. Begreppet "hjärtinfarkt" bör inte avfärdas eftersom det kan vara ett uttryck för plötslig hjärtdöd av oklar orsak, där HCM relaterad fatal arytm inte kan uteslutas.

## **BMI**

Studien visade att ökande BMI korrelerade till ökad septumtjocklek medan sannolikheten för ett positivt gentest minskade, vilket indikerar att vänsterkammahypertrofi hos överviktiga beror på själva övervikten och inte på ärftlig HCM. Detta stöds av att viktnedgång nästan alltid leder till en regress av vänsterkammahypertrofin (27). Bland HCM patienter undersökta med MR hjärta, i syfte att karakterisera skillnader mellan olika viktgrupper, skiljde sig inte den absoluta vägg tjockleken åt mellan normalviktiga ( $< 25 \text{ kg/m}^2$ ), överviktiga ( $25\text{-}30 \text{ kg/m}^2$ ) och obesa ( $>30 \text{ kg/m}^2$ ) (26). Förekomst av övervikt/fetma påverkade inte heller de två klassiska fenotyperna som kan användas vid differentiering mellan HCM och sekundära former av vänsterkammahypertrofi, d v s den asymmetriska vänsterkammahypertrofin och den regionala hypertrofin som oftast karakteriserar HCM patienterna (47). Däremot är fetma vid HCM associerad med patologisk vänsterkammarmodellering, hjärtsvikt och sämre prognos (26) och därmed extra viktig att undvika. Ekokardiografisk visualisering vid övervikt försvåras ofta av nedsatta transmissionsförhållanden, med ökad risk för inkorrekta mätningar (48), medan undersökning med MR hjärta erbjuder, tack vara skarpare upplösning, en bättre vävnadskarakterisering och säkrare estimering av vänsterkammardimensioner och bör således användas oftare (17). Det påvisade sambandet mellan BMI och utfall vid genetisk diagnostik för HCM i denna studie, är av stort värde med direkt klinisk implikation för utredningsstrategier, där överviktiga patienter med vänsterkammahypertrofi, utan positiv familjehistoria, bör rekommenderas viktnedgång med efterföljande MR hjärta och om hypertrofin går i regress kan genetisk diagnostik avstås.

## **Kön**

I studien noterades inga signifikanta skillnader mellan könen hos patienter med positivt gentest. Däremot konstaterades en anmärkningsvärd stor skillnad i remitteringsfrekvens mellan kvinnor och män. Mer än dubbelt så många män (68%) som kvinnor (32%) hade remitteras till genetisk utredning, trots icke signifikanta skillnader i vänsterkammarens vägg tjocklek och autosomt dominant nedärvning. Liknande skillnad i remitteringsfrekvens mellan män och kvinnor har rapporterats i en betydligt större studie (n=2912), där motsvarande resultat visade 66% män och 34% kvinnor. I studien noterades även att en positiv familjehistoria för HCM var vanligare hos kvinnor (43%) än hos män (34%), vilket också stämmer väl överens med fynden i denna studie. Därtill var sannolikheten för positivt gentest högst bland kvinnor med en positiv familjehistoria (56%), vilket skiljde sig signifikant från männen ( $p<0.001$ ) (46). Resultaten i denna studie talar för att kvinnor genomgår en stringentare klinisk fenotypering där sekundära former av vänsterkammahypertrofi oftare utesluts innan remittering till genetisk diagnostik görs. Skillnaden i remitteringsfrekvens mellan könen kan även bero på att kvinnors symtom oftare (miss)uppfattas som mer diffusa och av icke kardiell genes, varför färre kvinnor utreds med t ex EKO (49). Någon könsskillnad i HCM prevalens har dock inte rapporterats i

litteraturen och det borde således inte finnas någon skillnad i remitteringsfrekvens. Den markanta genusskillnaden bland patienterna som aktualiserats på Klinisk genetik och som utgör urvalet i denna studie, var både oväntad och oacceptabel. Fyndet utgör ett starkt incitament för utbildning av kliniker involverade i HCM utredningar, för att uppnå en likvärdig vård för både kvinnor och män.

### ***Ålder***

Patienter med positivt gentest var något yngre vid insjuknande, 49 år jämfört med 53 år för övriga patienter, men det var inga signifikanta skillnader. Däremot visade studien att insjuknandeåldern för patienter med mutationer i två gener var cirka 15 år lägre än för de med mutation i en gen eller utan mutation. Detta fynd är i linje med teorin om gendos-effekt, men med tanke på det modesta antalet (n=3) patienter där en patogen eller troligen patogen mutation detekterades, har inte några ytterligare analyser med fokus på dessa bedömts vara rimliga.

### ***Septumtjocklek***

Den genetiska utredningen har varit inkonklusiv hos majoriteten (74%) av patienterna då deras gentest utföll negativt eller påvisande oklar variant. Detta kan bero på att nuvarande kunskapsläge avseende genetisk etiologi som orsak till HCM är inkomplett. Resultaten i denna studie tyder på att ett enda diagnoskriterium för sjukdomen, dvs en vägg-tjocklek på  $\geq 15$  mm i någon del av vänster kammare, är otillräckligt. Den ökande gruppen av genotyp-positiva / fenotyp-negativa individer, oftast identifierade vid genetisk kaskadscreening, talar för att vilken vägg-tjocklek som helst kan vara förenlig med HCM. Detta är i linje med resultatet av denna studie, som visar att patienter utan mutationer hade högre BMI och blodtryck men lika tjockt myokardium, som patienter med patogena/troligen patogena mutationer. Resultaten visar således att även en uttalad septumhypertrofi kan ha multifaktoriell och komplex genetisk bakgrund.

### ***Hypertoni***

Hypertoni sågs oftare hos patienter med negativt gentest, vilket i första hand talar för att vänsterkammarehypertrofin hos dessa patienter uppkommit sekundärt till tryckbelastningen. Differentialdiagnostiken är dock utmanande, då >30 % av hypertonikerna kan uppvisa vänsterkammarehypertrofi, samtidigt som primär HCM och hypertoni kan föreligga tillsammans. Fysiologisk eller sekundär hypertrofi är, som beskrivits tidigare (6), ofta symmetrisk till skillnad från HCM, som oftast uppvisar asymmetrisk morfologi, vilket kan påvisas med MR hjärta eller EKO.



### ***Aortastenosis***

Aortastenosis beskrevs hos 8% av patienterna, men inte hos någon av dem utföll gentestet positivt. Aortastenosis är en differentialdiagnostisk orsak till vänsterkammarmyokard hypertrofi och trots det begränsade antalet individer i denna studie, understryker resultatet betydelsen av att följa riktlinjerna för att undvika inadekvata utredningar.

### ***Fibros på MR***

Knappt hälften av patienterna (40%) hade genomgått MR hjärta före den genetiska screeningen. Majoriteten hade fibros i myokardiet, något som kan vara associerat med ökad risk för ventrikulära arytmier och plötslig hjärtdöd. Fibros är dock vanligt förekommande hos patienter med vänsterkammarmyokard hypertrofi oavsett etiologi (19) och bör betraktas som en patofysiologisk konsekvens, snarare än en utfallsprediktor vid genetisk diagnostik för HCM. Vid granskning av MR-utlåtandena inför denna studie noterades att de sällan innehöll information om den septala morfologin, som enligt litteraturen har ett starkt samband med positivt genfynd (15). Information avseende vägghypertrofins lokalisering kan således vara värdefull att ha inför beslut om genetisk screening, vilket kliniska fysiologer bör informeras om. Eftersom resultaten i denna studie visar att endast en minoritet av patienterna undersöktes med MR hjärta, skulle en bättre beskrivning av vänsterkammarmorfologin med EKO vara önskvärt.

### ***EKG***

EKG-förändringar, typiska för HCM, beskrevs hos 34% av alla patienter och hos 50% av de med positivt gentest. Enligt litteraturen (8) kan så mycket som 75-95% av patienter med HCM ha patologiska EKG-förändringar. Majoriteten av dessa förändringar är dock sekundära till histopatologiska och hemodynamiska förändringar vid HCM. Sådana förändringar kan även förekomma vid andra tillstånd, såsom belastning sekundär till hypertoni och aortastenosis. Med tanke på detta är inte EKG-bilden, möjligen med undantag för den som är typisk för HCM, en lämplig utfallsprediktor vid genetisk testning för HCM.

### ***Förmaksflimmer***

Förmaksflimmer (paroxysmalt eller kroniskt) fanns beskrivet hos 29% av patienterna och i gruppen med positivt gentest hade 12% förmaksflimmer. Enligt Patientregistret fick totalt 307 747 personer i Sverige diagnosen förmaksflimmer under åren 2005–2010. Det motsvarar 2,9% av Sveriges vuxna ( $\geq 20$  år) befolkning och utgör prevalensen av sjukhusdiagnostiserade fall av förmaksflimmer (50). Bland patienterna som granskades i denna studie var det således 10 gånger vanligare med förmaksflimmer jämfört med prevalensen i den allmänna befolkningen  $\geq 20$  år (29% vs 2.9%). Då förmaksflimmer fanns beskrivet hos 12% av individerna med positivt gentest, var det alltså 4 gånger vanligare med förmaksflimmer i denna grupp jämfört med den allmänna

befolkningen (12% vs 2.9%), vilket överensstämmer väl med vad som rapporterats i litteraturen (9).

### ***Diabetes***

Av de 66 patienter som granskades i studien var åtta diagnostiserade med diabetes mellitus. De utgjorde en så liten grupp varför inga säkra slutsatser kunnat dras, men det kan konstateras att ingen av patienterna med diabetes påvisades med positivt gentest. Koncentrisk vänsterkammarhypertrofi kan ofta observeras hos patienter med diabetes mellitus typ 2 och orsaken till det är inte helt klarlagd (51). Men avsaknad av mutationsfynd bland diabetespatienterna i nuvarande studie talar ändå för att glukometabola rubbningar vid diabetes utgör den bakomliggande orsaken till hypertrofin hos dessa patienter.

### ***Symtom***

De symtom som fanns beskrivna hos majoriteten (77%) av patienterna varierade från inga symtom till dyspne, bröstsmärta, palpitationer, trötthet, konditionsnedsättning och presyncope/syncope. Hos några av patienterna beskrevs flera symtom. Utifrån det begränsade urvalet och den varierande symtombilden, bedömdes det vara svårt att kategorisera dessa och utföra statistiska analyser.

### ***ICD***

Familjehistoria på plötslig hjärtdöd vid HCM har stor betydelse vid riskstratifiering av patienter inför ställningstagande till ICD implantation. ICD kan ges till patienter med HCM som bedöms ha ökad risk för plötslig hjärtdöd eller har överlevt ett hjärtstopp (6). Totalt 13 patienter i denna studie hade utrustats med ICD och andelen ICD-bärare var signifikant högre bland patienterna med positivt gentest. ICD kan inte anses vara en prediktor för utfall vid genetisk diagnostik, likvärdig med de andra granskade variablerna. Däremot kan förekomsten av ICD hos en patient tala för allvarligare fenotyp, vilket i sig ökar chansen att påvisa en bakomliggande, sjukdomsorsakande mutation i sarkomergen.

### ***Konklusion***

Denna studie visar att positiva genfynd utgör en minoritet vid genetiska utredningar, vilket belyser vikten av väl utarbetade riktlinjer och kriterier för vilka patienter som bör genomgå genetisk screening. Detta kräver en grundlig förståelse av vilka patientkaraktistika som är viktigast när det gäller att särskilja individer med sekundära orsaker till vänsterkammarhypertrofi. Studien visar att en känd hereditet för HCM samt BMI främst predikterar resultatet vid genetisk diagnostik, men den konstaterar också en oacceptabel skillnad i remitteringsfrekvens mellan kvinnor och män. Resultatet av studien anses ha klinisk betydelse eftersom det belyser behovet av stringentare selektionskriterier innan beslut om genetisk utredning tas. Det finns även förhoppning om att

resultatet av studien kan bidra till en jämlikare vård genom att kliniker medvetandegörs om de orimliga genusskillnader som härmed rapporterats.

## 5.2 Metodologiska överväganden

Vid planering av studieupplägg bestämdes att urvalet skulle bestå av de patienter som utfört genetisk screening på HCM-indikation mellan september 2014 till september 2015, då datainsamlingen påbörjades. Anledningen till vald tidsperiod var att Klinisk genetik under september 2014 övergick till det nya LIS:et StarLims och sökningen skulle underlättas om den gjordes från ett enda system. En tid innan skedde dessutom en övergång till den beställningspanel som nu används för genetisk screening (Core Cardiomyopathy Panel från BpG) inkluderande 72 gener, från tidigare panel omfattande endast 18 gener. Beslutet att endast inkludera patienter som utfört analys med samma screeningpanel gör att resultaten blir jämförbara. Svagheter med urvalet är det begränsade antalet patienter som inkluderats, vilket gör det svårt att generalisera resultaten. Det faktum att det för flera av resultaten i denna studie finns stöd i litteraturen, tyder på att granskningen varit både noggrann och korrekt utförd.

Det modesta antalet individer/grupp har gjort analyserna svårare och därför har grupperingar gjorts för att maximera den statistiska säkerheten. I analyser som logistisk regression har exempelvis inte fibros på MR tagits med då endast 40% av patienterna undersökts med MR hjärta. Om den variabeln hade inkluderats skulle inte övriga 60% kunnat tagits med i analysen, vilket hade gett otillförlitliga resultat. Avvägningar mellan vilka variabler som borde tas med i beräkningarna kontra hur många individer som då skulle förloras, har gjorts kontinuerligt.

Tidpunkten för när variablerna dokumenterats torde också spela roll. BMI och blodtryck är inte alltid tagna i samband med diagnos och därför är det svårt att avgöra om dessa värden kan ha förändrats och i vilken utsträckning de kan ha påverkat resultatet. EKO och MR är oftast utförda vid olika tidpunkter, vilket kan ge olika resultat beroende på när i sjukdomsförloppet undersökningen gjordes.

## 5.3 Implikationer för praxis

Studien har genomförts i syfte att bygga en plattform för att kunna förbättra processen vid genetiska utredningar av HCM-patienter och resultatet har därför en nära klinisk förankring.

Studien visade att patogen eller troligen patogen mutation påvisades i 26% av fallen, vilket är ett betydligt lägre utfall jämfört med litteraturen (6). Detta belyser behovet av bättre klinisk fenotypering och stringentare

selektionskriterier innan beslut tas om genetisk screening. Studien visade också att BMI korrelerar med septumtjockleken och att sannolikheten att påvisa en HCM-associerad mutation hos överviktiga patienter är lägre, vilket man bör ha i åtanke vid bedömningen. Positiv familjehistoria för HCM var den starkaste oberoende prediktorn för positivt genetiskt utfall och är ett av de viktigaste bedömningskriterierna inför genetisk screening. En noggrann anamnes med upprättande av släkträd där diagnoser eftersöks och verifieras med hjälp av genetiska vägledare med specialistkunskaper inom hjärtsjukdomar, är således av stor vikt för att kunna erbjuda patienter och deras familjer en adekvat vård. Något överraskande visade studien också på stora genusskillnader i vilka patienter som remitteras för genetisk utredning och det är något som är värt att informera klinikerna om för att bidra till en jämlikare vård för denna patientgrupp.

Både den interna och externa validiteten begränsas av den modesta storleken på urvalet och av att studien utfördes under en begränsad tidsperiod, men kan ändå utgöra viktig information för vår verksamhet och även vara av intresse för andra kardiogenetiska mottagningar i Sverige. Urvalsprocessen och kontexten har noggrant beskrivits, vilket underlättar bedömningen av resultaten och generaliserbarheten på motsvarande verksamheter.

## **5.4 Implikationer för fortsatta studier**

Studien har visat flera kliniskt relevanta resultat, som skulle vara värdefulla att följa upp i ett större urval och över en längre tidsperiod. Denna studie skulle kunna ses som en pilotstudie i syfte att välja ut lämpliga variabler, inför en kommande större studie. Några variabler skulle kunna läggas till och andra eventuellt tas bort, för att göra studien så komplett, men samtidigt även så specifik som möjligt. Skulle våra resultat kvarstå eller skulle andra prediktorer för positivt utfall vid genetisk screening identifieras?

Ett intressant fynd i studien var de genusskillnader som identifierades, där mer än dubbelt så många av patienterna som remitterades för genetisk screening var män, trots att det enligt litteraturen inte föreligger någon könsskillnad i prevalens vid HCM, vilket sannolikt förklarar varför detektionsfrekvens av patogena/troligen patogena mutationer inte skiljde sig åt mellan kvinnor och män. Vad orsakar denna diskrepans? Detta fynd skulle vara intressant att undersöka vidare för att försöka förstå bakomliggande orsaker och belysa dessa skillnader.

Det kan också tänkas vara värdefullt att kartlägga huruvida den utvidgade genpanelen inkluderande 72 gener resulterat i detektion av fler positiva gentest jämfört med den betydligt mindre genpanelen med 18 gener, som tidigare användes, eller om det istället bidrar till fler oklara svar och en ökad kostnad och/eller tidsineffektivitet i samband med genetiska utredningar avseende HCM.

## 6 Slutsats

Sammanfattningsvis visade studien att de starkaste prediktorerna för positivt utfall vid klinisk genetisk diagnostik för HCM var positiv familjehistoria och lägre BMI. Mer än dubbelt så många män som kvinnor hade remitterats för genetisk screening, medan gentestet utföll positivt i en fjärdedel av fallen, utan signifikanta skillnader mellan män och kvinnor. Åldern vid diagnos var något lägre i gruppen med positivt gentest, där en positiv familjehistoria, lägre BMI och lägre blodtryck var vanligare än bland övriga individer. Septumtjockleken skiljde sig inte åt mellan grupperna, men BMI och blodtryck var högre i gruppen med negativt gentest, vilket talar för att septumhypertrofi kan ha multifaktoriell och komplex genetisk bakgrund. Slutligen belyser studien betydelsen av noggrann klinisk fenotypering inför beslut om genetisk screening.

## 7 Referenser

1. Roma-Rodrigues C, Fernandes AR. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy: advances and pitfalls in molecular diagnosis and therapy. The application of clinical genetics. 2014;7:195-208.
2. Maron BJ, Maron MS, Semsarian C. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy after 20 years: clinical perspectives. Journal of the American College of Cardiology. 2012;60(8):705-15.
3. Kebed KY, Bos JM, Anavekar NS, Mulvagh SL, Ackerman MJ, Ommen SR. Hypertrophic Cardiomyopathy, Athlete's Heart, or Both: A Case of Hypertrophic Cardiomyopathy Regression. Circulation Cardiovascular imaging. 2015;8(7):e003312.
4. Semsarian C, Ingles J, Maron MS, Maron BJ. New perspectives on the prevalence of hypertrophic cardiomyopathy. Journal of the American College of Cardiology. 2015;65(12):1249-54.
5. Lundin C, Platonov P, Kristoffersson U. Hereditary risk of sudden cardiac death - genetic investigation of the family. Läkartidningen. 2009;106(15-16):1089-93.
6. Authors/Task Force m, Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, Borggreffe M, Cecchi F, et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: the Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). European heart journal. 2014;35(39):2733-79.
7. Kramer CM, Appelbaum E, Desai MY, Desvigne-Nickens P, DiMarco JP, Friedrich MG, et al. Hypertrophic Cardiomyopathy Registry: The rationale and design of an international, observational study of hypertrophic cardiomyopathy. American heart journal. 2015;170(2):223-30.
8. Nordenskjöld M. Genetiska sjukdomar. Stockholm: Liber AB; 2011. 326 p.
9. Maron BJ, Maron MS. Hypertrophic cardiomyopathy. Lancet (London, England). 2013;381(9862):242-55.
10. Bos JM, Towbin JA, Ackerman MJ. Diagnostic, prognostic, and therapeutic implications of genetic testing for hypertrophic cardiomyopathy. Journal of the American College of Cardiology. 2009;54(3):201-11.
11. Maron BJ, Casey SA, Hauser RG, Aeppli DM. Clinical course of hypertrophic cardiomyopathy with survival to advanced age. Journal of the American College of Cardiology. 2003;42(5):882-8.
12. Maron BJ, Rowin EJ, Casey SA, Link MS, Lesser JR, Chan RH, et al. Hypertrophic Cardiomyopathy in Adulthood Associated With Low Cardiovascular Mortality With Contemporary Management Strategies. Journal of the American College of Cardiology. 2015;65(18):1915-28.
13. Veselka J, Jensen MK, Liebrechts M, Januska J, Krejci J, Bartel T, et al. Long-term clinical outcome after alcohol septal ablation for obstructive hypertrophic cardiomyopathy: results from the Euro-ASA registry. European heart journal. 2016.
14. Hensley N, Dietrich J, Nyhan D, Mitter N, Yee MS, Brady M. Hypertrophic cardiomyopathy: a review. Anesthesia and analgesia. 2015;120(3):554-69.

15. Binder J, Ommen SR, Gersh BJ, Van Driest SL, Tajik AJ, Nishimura RA, et al. Echocardiography-guided genetic testing in hypertrophic cardiomyopathy: septal morphological features predict the presence of myofilament mutations. *Mayo Clinic proceedings*. 2006;81(4):459-67.
16. Weissler-Snir A, Crean A, Rakowski H. The role of imaging in the diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2016;14(1):51-74.
17. Noureldin RA, Liu S, Nacif MS, Judge DP, Halushka MK, Abraham TP, et al. The diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy by cardiovascular magnetic resonance. *Journal of cardiovascular magnetic resonance : official journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*. 2012;14:17.
18. To AC, Dhillon A, Desai MY. Cardiac magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *JACC Cardiovascular imaging*. 2011;4(10):1123-37.
19. Rudolph A, Abdel-Aty H, Bohl S, Boye P, Zagrosek A, Dietz R, et al. Noninvasive detection of fibrosis applying contrast-enhanced cardiac magnetic resonance in different forms of left ventricular hypertrophy relation to remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009;53(3):284-91.
20. Pasquale F, Syrris P, Kaski JP, Mogensen J, McKenna WJ, Elliott P. Long-term outcomes in hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the cardiac troponin T gene. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2012;5(1):10-7.
21. Caselli S, Maron MS, Urbano-Moral JA, Pandian NG, Maron BJ, Pelliccia A. Differentiating left ventricular hypertrophy in athletes from that in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *The American journal of cardiology*. 2014;114(9):1383-9.
22. Sundstrom J, Lind L, Valind S, Holmang A, Bjorntorp P, Andren B, et al. Myocardial insulin-mediated glucose uptake and left ventricular geometry. *Blood pressure*. 2001;10(1):27-32.
23. Wu L, Zhang L, Ai Z, Zou L, Zhu Y, Bao Y, et al. Association between risk factors and left ventricular remodeling in middle-aged and aged population: a community-based study. *Journal of hypertension*. 2012;30(9):1862-73.
24. Turkbey EB, McClelland RL, Kronmal RA, Burke GL, Bild DE, Tracy RP, et al. The impact of obesity on the left ventricle: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *JACC Cardiovascular imaging*. 2010;3(3):266-74.
25. Canepa M, Sorensen LL, Pozios I, Dimaano VL, Luo HC, Pinheiro AC, et al. Comparison of clinical presentation, left ventricular morphology, hemodynamics, and exercise tolerance in obese versus nonobese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *The American journal of cardiology*. 2013;112(8):1182-9.
26. Olivotto I, Maron BJ, Tomberli B, Appelbaum E, Salton C, Haas TS, et al. Obesity and its association to phenotype and clinical course in hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62(5):449-57.
27. Aurigemma GP, de Simone G, Fitzgibbons TP. Cardiac remodeling in obesity. *Circulation Cardiovascular imaging*. 2013;6(1):142-52.
28. Brito D, Richard P, Komajda M, Madeira H. Familial and sporadic hypertrophic myopathy: differences and similarities in a genotyped population.

- A long follow-up study. *Revista portuguesa de cardiologia : orgao oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia = Portuguese journal of cardiology : an official journal of the Portuguese Society of Cardiology*. 2008;27(2):147-73.
29. Loar RW, Bos JM, Will ML, Ommen SR, Ackerman MJ. Genotype-phenotype Correlations of Hypertrophic Cardiomyopathy When Diagnosed in Children, Adolescents, and Young Adults. *Congenital heart disease*. 2015;10(6):529-36.
  30. Ingles J, Burns C, Barratt A, Semsarian C. Application of Genetic Testing in Hypertrophic Cardiomyopathy for Preclinical Disease Detection. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2015;8(6):852-9.
  31. Ingles J, McGaughan J, Scuffham PA, Atherton J, Semsarian C. A cost-effectiveness model of genetic testing for the evaluation of families with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart (British Cardiac Society)*. 2012;98(8):625-30.
  32. Nationella riktlinjer för hjärtsjukvård [Internet]. Stockholm: Socialstyrelsen; 2015 [updated 2015-11-05; cited 2016 04-14]. Available from: <http://www.socialstyrelsen.se/nationellariktlinjerhjartsjukvard/sokiriktlinjerna/familjarhyperkolesterolemi-fam>.
  33. Agarwal A, Yousefzai R, Jan MF, Cho C, Shetabi K, Bush M, et al. Clinical application of WHF-MOGE(S) classification for hypertrophic cardiomyopathy. *Global heart*. 2015;10(3):209-19.
  34. Sudmant PH, Rausch T, Gardner EJ, Handsaker RE, Abyzov A, Huddleston J, et al. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature*. 2015;526(7571):75-81.
  35. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2015;17(5):405-24.
  36. Das KJ, Ingles J, Bagnall RD, Semsarian C. Determining pathogenicity of genetic variants in hypertrophic cardiomyopathy: importance of periodic reassessment. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2014;16(4):286-93.
  37. Variant classification [Internet]. Helsingfors: Blueprint Genetics; 2016 [cited 2016 04-01]. Available from: <http://blueprintgenetics.com/what-we-do/variant-classification/>.
  38. Core Cardiomyopathy Panel [Internet]. Helsingfors: Blueprint Genetics; 2016 [cited 2016 02-27]. Available from: <http://cardiology.blueprintgenetics.com/panels/core-cardiomyopathy-panel/>.
  39. IGSR: The international genome sample resource [Internet]. Cambridge: EMBL-EBI; [updated 2015-06-30; cited 2016 02-27]. Available from: <http://www.1000genomes.org/data>.
  40. NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP) [Internet]. Drupal; [cited 2016 02-27]. Available from: <https://esp.gs.washington.edu/drupal/>.
  41. ExAC Browser (Beta) Exome Aggregation Consortium [Internet]. Cambridge MA: ExAC; 2014 [updated 2016-03-14; cited 2016 02-27]. Available from: <http://exac.broadinstitute.org/>.
  42. SIFT [Internet]. J. Craig Venter Institute; 2011 [cited 2016 02-27]. Available from: <http://sift.jcvi.org/>.



43. PolyPhen-2 [Internet]. [updated 2012-03-08; cited 2016 02-27]. Available from: <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/index.shtml>.
44. Mutation t@sting [Internet]. NCBI 37 / Ensembl 69; 2014 [cited 2016 02-27]. Available from: <http://www.mutationtaster.org/>.
45. Etikprövning av studentarbeten [Internet]. Stockholm: Karolinska Institutet; 2015 [updated 2015-09-07; cited 2016 03-19]. Available from: <https://internwebben.ki.se/sv/etikprovning-av-studentarbeten>.
46. Alfares AA, Kelly MA, McDermott G, Funke BH, Lebo MS, Baxter SB, et al. Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: expanded panels offer limited additional sensitivity. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2015;17(11):880-8.
47. Olivotto I, Cecchi F, Poggesi C, Yacoub MH. Developmental origins of hypertrophic cardiomyopathy phenotypes: a unifying hypothesis. *Nature reviews Cardiology*. 2009;6(4):317-21.
48. Siadecki SD, Frasure SE, Lewiss RE, Saul T. High Body Mass Index is Strongly Correlated with Decreased Image Quality in Focused Bedside Echocardiography. *The Journal of emergency medicine*. 2016;50(2):295-301.
49. Schenk-Gustafsson KR. *Kvinnohjärtan -hjärt- och kärlsjukdomar hos kvinnor*. Lund: Studentlitteratur; 2003. 326 p.
50. Friberg L, Bergfeldt L. Atrial fibrillation prevalence revisited. *Journal of internal medicine*. 2013;274(5):461-8.
51. Levelt E, Mahmood M, Piechnik SK, Ariga R, Francis JM, Rodgers CT, et al. Relationship Between Left Ventricular Structural and Metabolic Remodeling in Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2016;65(1):44-52.