

**A MYOZINKÖTŐ C FEHÉRJE GÉNT (*MYBPC3*) ÉRINTŐ MUTÁCIÓK
VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN**

A PhD értekezés tézisei

Tóth Tímea

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Szegedi Tudományegyetem

Témavezető:

Dr. med. habil. Sepp Róbert, PhD

II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ

Általános Orvosi Kar

Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ

Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2016

KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

I. **Tóth T**, Sepp R, Orosz A, Nagy V, Pálincás A, Hőgye M, Csanády M, Forster T. A myozinkötő C-fehérje gén (*MYBPC3*) mutációsűrűsége magyar hypertrophiás cardiomyopathiás betegekben. *Cardiologia Hungarica* 2009;39:318-24.

II. **Tóth T**, Sepp R, Orosz A, Nagy V, Pálincás A, Hőgye M, Csanády M, Forster T. Myozinkötő C fehérje (*MYBPC3*) génmutációt hordozó hypertrophiás cardiomyopathiás családok klinikai és genetikai analízise. *Magy Belorv Arch* 2010; 63: 35-40.

III. Csanády M, Sepp R, **Tóth T**, Orosz A, Nagy V, Hőgye M, Forster T. A myozin kötő C fehérje gén (*MYBPC3*) mutációjának azonosítása veleszületett süketnémasággal társult hypertrophiás cardiomyopathiában. *Orvostudományi Értesítő* 2008; 81:23-25.

IV. **Tóth T**, Nagy V, Faludi R, Csanády M, Nemes A, Simor T, Forster T, Sepp R. The Gln1233ter mutation of the myosin binding protein C gene: causative mutation or innocent polymorphism in patients with hypertrophic cardiomyopathy? *Int J Cardiol* 2011; 153(2):216-9.
IF: **7.078**

Az értekezés témájához kapcsolódó idézhető absztraktok:

I. Csanády M, **Tóth T**, Orosz A, Nagy V, Hőgye M, Forster T, Sepp R. A myozin kötő C-fehérje gén (*MYBPC3*) splice-site mutációjának azonosítása veleszületett süketnémasággal társult hypertrophiás cardiomyopathiában. *Cardiologia Hungarica* 2008; 38: B46.

II. **Tóth T**, Orosz A, Nagy V, Hőgye M, Csanády M, Forster T, Sepp R. A myozin kötő C-fehérje gén (*MYBPC3*) mutációanalízise hypertrophiás cardiomyopathiában. *Cardiologia Hungarica* 2008; 38: B48.

III. **Tóth T**, Orosz A, Nagy V, Hőgye M, Forster T, Csanády M, Sepp R: Mutation analysis of the myosin binding protein C gene (*MYBPC3*) in hypertrophic cardiomyopathy *Slovenska*

Kardiologija 2008; 5: 34 (FC7-10). Abstracts of 16th Annual Meeting of the Alpe Adria Association of Cardiology.

IV. **Tóth T**, Orosz A, Csanády M, Hőgye M, Forster T, Sepp R: Klinikai és genetikai szűrés veleszületett süketnémasággal társult hypertrophiás cardiomyopathiában. *Orvostudományi Értesítő* 2009;1:59.

V. **Tóth T**, Orosz A, Nagy V, Hőgye M, Forster T, Csanády M, Sepp R. Myozin kötő C fehérje (*MYBPC3*) génmutációt hordozó családok klinikai és genetikai analízise. *Cardiologia Hungarica* 2009; 39: A54.

VI. Sepp R, Losonczi L, **Tóth T**, Nagy V, Orosz A, Kádár K, Hőgye M, Fekete Gy, Csanády M, Forster T. Kóroki géneloszlás magyar hypertrophiás cardiomyopathiás betegekben. (Disease gene distribution in Hungarian patients with hypertrophic cardiomyopathy). *Cardiologia Hungarica* 2010; 40: G101.

VII. **Tóth T**, Nagy V, Faludi R, Hőgye M, Csanády M, Simor T, Forster T, Sepp R. A myozinkötő C fehérje gén (*MYBPC3*) Gln1233ter eltérése hypertrophiás cardiomyopathiában: kóroki mutáció vagy ártatlan polymorfizmus? (The Gln1233ter alteration of the myosin binding protein C gene (*MYBPC3*) in hypertrophic cardiomyopathy: causative mutation or innocent polymorphism?). *Cardiologia Hungarica* 2010; 40: G102.

VIII. Sepp R, Losonczi L, **Tóth T**, Nagy V, Orosz A, Kádár K, Hőgye M, Fekete Gy, Csanády M, Forster T. Prevalence of sarcomeric gene mutations in Hungarian patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Kardiol* 2010; 17 (Suppl A): 15.

IX. **Tóth T**, Nagy V, Faludi R, Hőgye M, Csanády M, Simor T, Forster T, Sepp R. The Gln1233ter alteration of the myosin binding protein C gene (*MYBPC3*) in hypertrophic cardiomyopathy: causative mutation or innocent polymorphism? *J Kardiol* 2010; 17 (Suppl A): 15.

1. BEVEZETÉS

1.1. Hypertrophiás cardiomyopathia

A hypertrophiás cardiomyopathia (HCM) a myocardium primer betegsége, melyet a bal kamra hypertrophiája jellemez, elsősorban az interventricularis septum érintettségével. A bal kamra ürege típusosan szűk, de normális nagyságú is lehet. Jelen adatok szerint a betegség gyakoribb, mint korábban gondolták, előfordulása kb. 1/500-1000. Klinikailag a betegek tünetmentesek lehetnek, de általánosabb a tünetek jelentkezése dyspnoe, mellkasi fájdalom, palpitáció vagy syncope formájában. Ritmuszavarok gyakoriak, s a hirtelen szívhalál kockázata is fokozott.

1.2. A hypertrophiás cardiomyopathia molekuláris genetikája

Genetikai vizsgálatok igazolták, hogy a HCM az esetek többségében örökletes betegség, típusosan autoszomális domináns öröklődéssel, változó penetranciával és expresszióval. Molekuláris genetikai módszerekkel specifikus, elsősorban szarkomer fehérjéket kódoló gének eltéréseit találták a betegség hátterében, többek között a béta myozin nehéz lánc (*MYH7*), alfa tropomyozin (*TPM1*), troponin T (*TNNT2*), myozinkötő C fehérje (*MYBPC3*), troponin I (*TNNI3*), esszenciális (*MYL3*) és regulatorikus myozin könnyű lánc (*MYL2*), aktin (*ACTC*) és titin (*TTN*) gén érintettségével. Mindezek alapján a HCM-et manapság a szarkomer betegségének tekintjük.

Bár a HCM genetikai szempontból heterogén betegség, a HCM-et okozó génelváltozások közül a myozinkötő C fehérje gén (*MYBPC3*) mutációi fordulnak elő az egyik leggyakrabban. Nagyszámú HCM-es betegpopulációk szűrésekor irodalmi adatok szerint 15-25%-ban lehet kimutatni a *MYBPC3* gént érintő mutációk előfordulását. Az első *MYBPC3* génmutáció azonosítása óta közel 600 további mutációt észleltek a génben. Munkacsoportunk az első magyar betegben észlelt *MYBPC3* génmutációt 2001-ben közölte.

A *MYBPC3* mutációk megközelítőleg 2/3 része a normálisnál rövidebb, csonkolt fehérjét eredményez. Utóbbi egy részről ú.n. „splice-site” mutációknak, másrésztől nukleotid inzerció vagy delécióknak tulajdonítható, amelyek a leolvasási keret eltolódását okozhatják, s ezáltal értelmetlen kódoló szekvenciák épülnek be, melyeket korai stop-kodon aktiváció zár le. Emellett számos missense mutáció is azonosításra került, amelyek eredményeképpen egyetlen aminosav cseréje következik be.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Tanulmányunkat megelőzően nem volt ismert a *MYBPC3* génmutációk előfordulási aránya, prevalenciája, eloszlása magyar HCM betegekben. Hasonlóképpen, nem volt hozzáférhető információ lehetséges specifikus genotípus-fenotípus összefüggésekről, penetrancia arányokról vagy specifikus expresszióról magyar HCM betegcsoportban.

Fentiek alapján PhD munkámban a következő célkitűzéseim voltak:

1. Myozinkötő C fehérje gén (*MYBPC3*) mutációk azonosítása magyar HCM betegekben;
2. A *MYBPC3* génmutációk előfordulási arányának meghatározása magyar HCM betegpopulációban;
3. *MYBPC3* génmutációt hordozó betegek családjainak klinikai és genetikai analízise;
4. Magyar HCM betegpopulációban azonosított *MYBPC3* mutációk genotípus-fenotípus összefüggéseinek elemzése;
5. Egyes, magyar HCM betegekben azonosított speciális *MYBPC3* génmutációk jellemzése.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Betegek

3.1.1. *MYBPC3* génmutációk azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegekben

Negyvenöt, nem rokon hypertrophiás cardiomyopathiás beteget vizsgáltunk. A betegeknél minden esetben anamnézis és státusz felvétel, a rendelkezésre álló klinikai dokumentáció áttekintése, 12 elvezetési testfelszíni EKG készítése és transzthoracalis echocardiographia történt. Indokolt esetben intézeti felvétel keretében részletes kardiológiai kivizsgálást végeztünk (24 órás Holter monitorizálás, terhelési vizsgálat, fekvőkerékpár stressz echocardiographia, szív MRI, coronarographia, hemodinamikai vizsgálat). A HCM diagnózisa minden esetben nemzetközileg elfogadott diagnosztikus kritériumokon alapult.

3.1.2. *MYBPC3* génmutációt hordozó magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegek családjainak klinikai és genetikai vizsgálata

Öt különböző, specifikus *MYBPC3* génmutációt hordozó index beteg családtagjait vizsgáltuk, kikben 5 különböző *MYBPC3* génmutációt azonosítottunk korábbi vizsgálatunkban [c.3697C>T (p.Gln1233Ter); c.821+1G>A; c.2864_2865delCT (p.Pro955ArgfsTer95)];

c.1776_1777delGT (p.Ser593ProfsTer11); c.3407_3409delACT (p.Tyr1136del)]. A c.431_432delGT (p.Gly144AlafsTer8) mutációt hordozó beteg családtagjai nem voltak elérhetőek a vizsgálathoz.

Összesen 62 családtagot (30 férfi, 32 nő, életkor: 40±18 év) vizsgáltunk az öt családban. A klinikai szűrés a 3.1.1 alatt leírtak szerint történt. A HCM diagnózisa minden esetben nemzetközileg elfogadott diagnosztikus kritériumokon alapult, a családtagoknál a McKenna kritériumok figyelembe vételével.

3.2. Módszerek

3.2.1. Genetikai analízis

A minta DNS-ekből a *MYBPC3* gén teljes kódoló szekvenciáját (1-35 exonok) polimeráz láncreakcióval (PCR) amplifikáltuk (Mastercycler Gradient, Eppendorf AG, Hamburg, Németország), az irodalomban közölt specifikus primer párokkal. A mintákat általában 25µl térfogatú PCR reakcióban, 100 ng templát DNS-t használva, egyedi, optimalizált PCR protokollal amplifikáltuk. A PCR produktumokat 'single strand conformation polymorphism' (SSCP) vagy 'denaturing high performance liquid chromatography' (DHPLC) chromatographiás mutációanalitikai módszerrel vizsgáltuk, mely az eltérő bázispárt tartalmazó (mutáns) DNS minta eltérő hőmérsékletfüggő szeparációján alapul. Mindegyik abnormis chromatogramot mutató mintát megszekvenáltunk, az ABI PRISM 310 automata szekvenáló segítségével.

4. EREDMÉNYEK

4.1. *MYBPC3* génmutációk azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegekben

4.1.1. Azonosított mutációk

A 45 vizsgált HCM-es betegben 6 (13%) különböző kóroki *MYBPC3* mutációt azonosítottunk. A hat mutáció közül egy nonszensz (stop kodon) mutáció volt a gén 33-as exonjában (c.3697C>T, p.Gln1233Ter). Egy splice site mutációt észleltünk a 7-es exon/intron határán (c.821+1G>A). Három mutáció két bázispárból álló mikrodélécio volt a 27-es, 18-as és 4-es exonban, melyek az olvasási keret eltolódásával („frameshift”) jártak [exon 27: c.2864_2865delCT (p.Pro955ArgfsTer95; exon 18: c.1776_1777delGT

(p.Ser593ProfsTer11); exon 4: c.431_432delGT, (p.Gly144AlafsTer8)]. A hatodik mutáció egy, a 31-es exont érintő, három bázispárból álló mikrodéláció volt, mely az olvasási keretet nem tolta el, egy aminosav deletálódásával járt (c.3407_3409delACT, p.Tyr1136del). Mindegyik mutáció heterozigóta formában volt jelen. A mutációk közül három a szakirodalomban korábban már közölt mutáció (p.Gln1233ter, c.821+1G>A, c.2864_2865delCT), míg a másik három új, 'novel' mutáció.

4.2. MYBPC3 génmutációt hordozó magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegek családjainak klinikai és genetikai vizsgálata

4.2.1. Mutáció adatok

A 62 vizsgált családtag közül 30 családtagban (48%) igazoltunk mutáció hordozó státuszt (p.Gln1233Ter: 3/7, c.821+1G>A: 7/20, p.Pro955ArgfsTer95: 15/30, p.Ser593ProfsTer11: 2/2, p.Tyr1136del: 3/3). Mindegyik családtagban heterozigóta formában fordult elő a mutáció.

4.2.2. Klinikai adatok

A 30 mutáció hordozó családtag közül, az index betegeket is beleértve, 10 (33%) családtagban lehetett klinikailag HCM meglétét igazolni. A H 11 családban a hét mutáció hordozó közül 5 családtagban, a H 65 családban 15 mutáció hordozó közül pedig két esetben lehetett HCM-et kimutatni. A többi három családban (H 16, H 76, H 92) az index betegeken kívül klinikailag manifeszt HCM-es beteget nem találtunk. A klinikailag is érintett mutáció hordozók közül legkorábban 27 éves korban, legkésőbb 76 éves korban állítottuk fel a HCM diagnózisát. Kilenc esetben 40 éves kor felett, hat esetben 50 éves kor felett diagnosztizáltuk a betegséget. A klinikailag is érintett mutációhordozó családtagok diagnóziskori átlagéletkora szignifikánsan magasabb volt, mint a klinikailag nem érintett mutáció hordozó családtagok életkora (51 ± 13 vs. 38 ± 17 év, $p=0.028$). A klinikailag érintett 10 mutáció hordozóban a 10 ± 8 éves (medián: 8 év) után követés során 6 haláleset történt, átlagosan 58 ± 10 éves korban, átlag 9 ± 4 évvel a diagnózis felállítása után. A 6 haláleset közül 4 esetben hirtelen szívhalál, 1 esetben stroke, ill. 1 esetben HCM-től független ok miatt (gyomorrák) következett be a halál. A klinikailag nem érintett 20 mutáció hordozó között haláleset nem történt.

4.3. Kifejezett fenotipikus variabilitás igazolása a *MYBPC3* c.821+1G>A mutáció esetén

A *MYBPC3* c.821+1G>A mutációt hordozó H 11 családban 5 manifeszt HCM-es beteget észleltünk. A családtagokban a *MYBPC3* c.821+1G>A mutáció kifejezett fenotipikus variabilitását észleltük, a korai életkorban bekövetkezett hirtelen szívhalállal, dilatatív fázisba való progresszióval ill. bakteriális endocarditisszel szövődött malignus megjelenéstől a tünetmentes mutációhordozó státuszig.

4.4. A *MYBPC3* gén p.Gln1233Ter mutációjának analízise 3 hordozó családban

A *MYBPC3* gén p.Gln1233Ter mutációját a későbbiekben két további (a már részletezett H 16 családdal együttesen összesen három), látszólag nem rokon családban is észleltük. A három család klinikai és genetikai szűrővizsgálata a 19 vizsgált családtag között, a probandokat is figyelembe véve, 8 mutáció hordozó családtagot azonosított. A 8 mutáció hordozó családtag közül 5 családtagban a HCM klinikai diagnózisa egyértelműen felállítható volt. Érintettről-érintettre való transzmisszió a három család közül kettőben volt igazolható. Haplotípus analízis nem igazolt 'alapító' effektust. A mutáció nem volt kimutatható 149 normál kontroll mintában (és további 218 dilatatív cardiomyopathiában, 97 további HCM-ben szenvedő betegen, összesen 928 kromoszómán).

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. *MYBPC3* génmutációk azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegeknél

Irodalmi adatok szerint a *MYBPC3* gén a leggyakrabban érintett kóroki gén HCM-ben. Kezdeti vizsgálatok 13-26%-os prevalenciát állapítottak meg a *MYBPC3* gén mutációinak előfordulási gyakoriságát illetően HCM-es betegpopulációkban, majd későbbi tanulmányok nagyobb betegcsoportokon hasonló, 10-35%-os előfordulási arányt írtak le. Jelen munkánkban a *MYBPC3* génmutációk előfordulási arányát 13%-nak találtuk magyar HCM-es betegpopulációban, mely adat jól korrelál a nemzetközi irodalomban található adatokkal. Korábbi eredményeinket is figyelembe véve, mely szerint a béta myozin nehéz lánc gén (*MYH7*) mutációk arányát magyar betegpopulációban kb. 5%-nak észleltük, troponin I (*TNNI3*) és troponin T (*TNNT2*) mutációt pedig nem találtunk mintegy 100 magyar HCM-es

betegben, a *MYBPC3* gén a leggyakrabban érintett génnek tűnik a magyar HCM-es betegpopulációban.

A 7-es exon-intron határát érintő c.821+1G>A pontmutáció klasszikus splice-site mutáció, melynek következtében szintén rejtett stop kodon aktiváció és következményes csonkolt fehérje képződés következik be, hasonlóképpen a p.Gln1233Ter pontmutációhoz, mely egy stop kodon mutáció. A stop kodon aktiváció következtében a fehérjelánc transzlálódása ezen a ponton leáll, a stop kodontól disztálisan elhelyezkedő exonok nem íródnak át, s a fehérje C terminális része hiányozni fog. A p.Tyr1136del mutáció kivételével az összes mutáció feltételezhető hatása a gén disztális részének, a protein myozin és titin kötő funkciójáért felelős részének csonkolódása. Ennek direkt bizonyítékát a szívizomzatból preparált mRNS analízise adhatná, de mivel natív szívizomszövet nem állt rendelkezésünkre, ezt közvetlenül igazolni nem lehetett. A negyedik mikrodéláció, egy „in-frame” deláció, mely egyetlen aminosav deletálódásával (p.Tyr1136del) jár. A cMyBP-C fehérjében a 1135-1136 pozíciókban, mely a C9 motif része, két Tyr helyezkedik el. Mindkettő az evolúció során megőrzött aminosav, mely fontos funkcionális szerepre utal.

Az általunk igazolt mutációk közül hármat korábban már közöltek a szakirodalomban (p.Gln1233Ter, c.821+1G>A, p.Pro955ArgfsTer95). Az további három mutáció korábban még nem közölt mutáció (p.Ser593ProfsTer11, p.Gly144AlafsTer8, p.Tyr1136del). Bár a p.Ser593ProfsTer11 mutációt korábban még nem publikálták, ismert a szakirodalomból utóbbi mutációval egy csaknem identikus, p.Val592fs mutáció is. Utóbbit több japán családban mutatták ki, és igazolták, hogy „founder” mutációról van szó. Érdekes módon, a mutációhordozó 30 manifeszt HCM-es beteg közül 23%-ban tapasztaltak végstádiumú, dilatatív formába való átmenetet. Az általunk észlelt p.Ser593ProfsTer11 mutációhordozó betegnél hasonlóképpen dilatatív fázisba való progressziót, pitvarfibrilláció kifejlődését és hirtelen szívhalál bekövetkeztét tapasztaltunk.

5.2. *MYBPC3* génmutációt hordozó magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegek családjainak klinikai és genetikai vizsgálata

Myozinkötő C fehérje génmutációt hordozó hypertrophiás cardiomyopathiás családok vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy összességében a 62 szűrt családtag közül 30 betegben, az esetek 48%-ban sikerült mutációhordozó státuszt kimutatnunk, mely arány összhangban

van az öröklődés autoszomális domináns jellegével. A mutációhordozók közül az index betegeket is beleszámítva, összesen 10 betegben, 33%-ban észleltük a HCM kialakulását.

A *MYBPC3* génmutációk klinikai megjelenését illetően korai publikációk nem kifejezett bal kamra hypertrophiáról, enyhe tünetekről és jó prognózisról számoltak be. Későbbi közlemények már nem találtak lényegi különbséget a *MYBPC3* mutációhordozó és más HCM-mutációhordozó betegek között. Egy nem régi meta-analízis szerint, mely genotípus-fenotípus összefüggéseket vizsgált, Lopés és mtsai. 18 közleményből származó 2559 beteg adatait összesítették. Azt találták, hogy a sarcomer génmutációk jelenléte a HCM szignifikánsan korábbi életkorban való megjelenésével (38.4 vs. 46.0 év), a HCM gyakoribb családi halmozódásával (50.6% vs. 23.1%), a hirtelen szívhalál gyakoribb családi előfordulásával (27.0% vs. 14.9%) és nagyobb maximális bal kamra fal vastagsággal (21.0 vs. 19.3 mm) járt. A két leggyakrabban érintett *MYBPC3* és *MYH7* gének által okozott fenotípus összehasonlítása során lényegi különbséget nem észleltek.

Betegcsoportunkban kifejezetten malignus megjelenést észleltünk a 10 klinikailag érintett mutációhordozót illetően, kik között 6 haláleset történt, átlagosan 58 éves korban. A 6 haláleset közül 5 volt HCM-hez köthető, 4 esetben hirtelen szívhalál, egy esetben stroke formájában. Két további betegben súlyos, HCM-hez köthető progresszív kórképet észleltünk dilatatív fázisba való átmenettel ill. endocarditis kifejlődésével. A 20 klinikailag nem manifeszt mutációhordozó panasz és tünetmentesnek mutatkozott, közöttük haláleset nem fordult elő. Utóbbi azt is jelzi, hogy nem maga a mutációhordozó státusz ténye, hanem a HCM klinikai megjelenése és jellemzői a meghatározóak a prognózis szempontjából.

Érdekes módon, a *MYBPC3* génmutációt hordozó betegekben viszonylag későn, 50 éves kor felett lehetett csak diagnosztizálni a HCM-et, mely elhúzódó klinikai manifesztációra vagy hosszú tünetmentes stádiumra utal. A *MYBPC3* génmutációk ezen késői manifesztációja jól dokumentált a szakirodalomban. Niimura és mtsai 16 család 212 mutációhordozó tagját vizsgálva azt találták, hogy 50 éves kor alatt a mutációhordozók 58%-ában lehetett csak HCM-et igazolni, és a mutáció penetranciája 60 év felett sem érte el a 100%-ot. Mindez éles kontrasztban volt a béta myozin nehéz lencsén gén vagy troponin T gén mutációk által okozott HCM-mel, ahol 30 éves korra már csaknem teljesen penetráns volt a betegség. Betegcsoportunkban mi is észleltünk 5 ötven év feletti és 2 hatvan év feletti mutációhordozó családtagot, kiknél a HCM még nem alakult ki; a légkésőbbi életkor, mikor is HCM-et diagnosztizáltunk, 76 év volt. Mindezek klinikai relevanciája az, hogy még fiatal felnőttkorban sem lehet kijelenteni azt, hogy egy családtag nem örökölte a betegséget, hiszen

ha *MYBPC3* génmutációt hordoz, lehet, hogy még később, esetlegesen idős korban manifesztálódik csak a betegség. Utóbbi családtagokban 3-5 évente, ill. panaszok esetén javasolt a kardiológiai szűrővizsgálat megismétlése.

5.3. Kifejezett fenotipikus variabilitás igazolása a *MYBPC3* c.821+1G>A mutáció esetén

A *MYBPC3* c.821+1G>A mutációt hordozó családban kifejezett fenotipikus variabilitást észleltük, a korai életkorban bekövetkezett hirtelen szívhalállal, dilatatív fázisba való progresszióval ill. bakteriális endocarditisszel szövődött malignus megjelenéstől a tünetmentes mutációhordozó státuszig. Ugyanezen c.821+1G>A mutációt elsőként Niimura és mtsai közölték (az eltérő exon számozás miatt Int8DSG+1A formában), egy kétgenerációs családban, ahol 9 mutációhordozót figyeltek meg, kik közül 5 volt klinikailag érintett. A családban HCM-hez köthető haláleset nem fordult elő. Erdmann és mtsai. által vizsgált családokban szintén leírásra került ez a mutáció, 2 nem rokon német családban, ahol 5 mutációhordozót találtak. A betegekben 24-59 éves korban jelent meg a betegség, bal kamrafal vastagságuk 19-24 mm volt, a családtagok között 1 myectomy, 1 ICD beültetés és 2 alkoholos septum ablatio történt. A betegekben mRNS analízisével két aberráns transzkriptumot sikerült kimutatni, az egyikben a 7-es exon, a másikban a 7/8-as exon kiesésével, egy rejtett stop kodon aktiválódásával a 9-es exonban. A két látszólag nem rokon német családról haplotípus analízissel igazolható volt, hogy szintén közös „alapító” haplotípust hordoznak. A Mayo Klinika anyagában is megfigyelték a mutációt.

A genotípus-fenotípus összefüggésekre vonatkozó korai megfigyelések HCM-ben a fenotípusos variabilitás magas fokát kezdetben a genetikai heterogenitásra (azaz különböző gének érintettségére) vezették vissza. Egyes géneket ill. bizonyos mutációkat ‘malignusnak’ írtak le, melyek a hirtelen szívhalál kifejezett kockázatával jártak (pl. *TNNT2* mutációk vagy *MYH7* p.Arg403Gln mutáció); enyhe bal karma hypertrophiával (*TNNT2* mutációk) vagy késői megjelenéssel társultak (*MYBPC3* mutációk). Későbbi tanulmányok, melyek már egyedi betegcsoportokon és nem családvizsgálatokon alapultak, már sokkal heterogénebb klinikai megjelenésről számoltak be azonos érintett gének vagy mutációk esetén. Jelenleg rendelkezésekre álló adatok szerint a legtöbb mutáció esetén nincs világos és koherens összefüggés a mutáció és a kialakított fenotípus között. Azokban a betegekben, kik többszörös génmutációt hordoznak, általánosságban súlyosabb formában vagy korábbi életkorban jelenik meg betegség, melyet a gén-dózis hatás magyarázhat. Utóbbi számos családvizsgálat és egy nagyobb tanulmány is valószínűsíti. Végül, bizonyos adatok arra utalnak, hogy nem egy adott

gén mutációja, hanem általában egy sarcomer gén érintettsége jár a kardiovaszkuláris események bekövetkeztének magasabb rizikójával, különösképpen szívelégtelenség kifejlődésével, azokkal a betegekkel szemben, kik sarcomer génmutációt nem hordoznak.

5.4. A *MYBPC3* gén p.Gln1233Ter mutációjának analízise 3 hordozó családban

The *MYBPC3* p.Gln1233Ter mutáció kórokisága vitatott volt a szakirodalomban. A mutáció jelentőségét azon alapon kérdőjelezték meg, hogy érintettről-érintettre való átörökítést nem észleltek az eddig leközölt esetekben és bizonyos kontroll populációkban is észlelték előfordulását. Vizsgálatunkban a p.Gln1233Ter *MYBPC3* mutációt három általunk észlelt családban is azonosítottuk, és érintettről-érintettre való transzmisszió a három család közül kettőben volt igazolható. A mutáció nem volt kimutatható nagyszámú kontroll mintában, összesen 928 kromoszómán. Fentiek alapján valószínűsítettük, hogy a *MYBPC3* p.Gln1233Ter mutáció egy valódi kóroki mutáció HCM-ben, mert érintettről-érintettre való transzmisszió volt igazolható két családban is és a mutáció nem volt kimutatható nagyszámú kontroll mintában. Továbbá, a mutáció stop kodon jellege is kórokiságot valószínűsített. A korábbi vizsgálatok kontroll populációiban azonosított mutációhordozók valószínűsíthetően tünetmentes génhordozók lehettek, kikben még nem fejlődött ki a betegség. Utóbbi jelenséget mi is észleltük, hiszen a 8 mutációhordozó családtag közül háromban, 18–37 éves kor között még nem jelent meg a betegség.

A *MYBPC3* p.Gln1233Ter variáns jelenleg “with pathogenic allele” bejegyzéssel szerepel a dbSNP adatbázisban, és ‘pathogenic’ bejegyzéssel a NCBI ClinVar adatbázisban. Az ExAC (ExAc Aggregated Populations) adatbázisban, mely 60,706 nem rokon egyén populációs vagy betegség-specifikus genetikai vizsgálatának adatait tartalmazza, a variáns allélfrekvenciája 0.000008%, mely szerint fenti variáns gyakorlatilag nincs jelen az átlagpopulációban, mely tovább valószínűsíti kóroki szerepét.

6. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. Munkánkban új és ismert myozinkötő C fehérje gén mutációkat azonosítottunk magyar HCM-es betegekben.

A 45 vizsgált magyar HCM betegben hat kóroki myozinkötő C fehérje gén mutációt azonosítottunk. Az irodalmi adatokhoz hasonlóan a mutációk többsége valószínűsíthetően a normálisnál rövidebb, csonkolt fehérje kialakulásához vezetett. A mutációk klinikai megjelenése heterogén volt, magas mortalitási aránnyal az index betegekben.

2. Megállapítottuk, hogy magyar hypertrophiás cardiomyopathiás betegpopulációban a myozinkötő C fehérje gén mutáció 13%-ban, a HCM-et okozó génmutációk közül a leggyakrabban fordul elő.

A 45 magyar betegben észlelt 6 kóroki *MYBPC3* mutáció 13%-os előfordulási aránynak felel meg magyar HCM betegpopulációban. Korábbi adataink figyelembe vételével a magyar HCM-es betegek kóroki géneloszlásáról, a *MYBPC3* gén tűnik a leggyakrabban érintett kóroki génnek magyar HCM betegekben.

3. Igazoltuk, hogy a *MYBPC3* mutációk által okozott hypertrophiás cardiomyopathia idősebb korban manifesztálódhat és fiatalabb korban nem típusos a megjelenése. Amint kialakult a betegség, prognózisa a korábbi közlésekkel szemben nem jóindulatú, magas mortalitással, a hirtelen szívhalál és egyes esetekben a dilatatív formába való progresszió kifejezett rizikójával járhat.

Adataink szerint a *MYBPC3* mutációk által okozott hypertrophiás cardiomyopathia főként idősebb korban manifesztálódik és fiatalabb korban nem típusos a megjelenése. Több betegben 40 éves életkor felett, nem egy esetben 50 éves életkor felett tapasztaltuk a betegség kialakulását. A már manifesztálódott HCM egyes esetekben kifejezetten malignus lefolyású lehet. Utóbbi azt is jelzi, hogy nem maga a mutációhordozó státusz ténye, hanem a HCM klinikai megjelenése és jellemzői a meghatározóak a prognózis szempontjából.

4. A myozinkötő C fehérje gén c.821+1G>A mutációja esetén kifejezett fenotipikus variabilitást figyeltünk meg.

A *MYBPC3* c.821+1G>A mutációt hordozó családban kifejezett fenotipikus variabilitást észleltük, a korai életkorban bekövetkezett hirtelen szívhalállal, dilatatív fázisba való progresszióval ill. bakteriális endocarditisszel szövődött malignus megjelenéstől a tünetmentes mutációhordozó státuszig.

5. Valószínűsítettük, hogy a myozinkötő C fehérje gén p.Gln1233Ter mutációja kóroki génmutációnak tartható, mert az általunk vizsgált három családban érintettről-érintettre való öröklődés volt kimutatható; és nagyszámú kontrollban nem fordult elő.

Vizsgálatunkban a p.Gln1233Ter *MYBPC3* mutációt három általunk észlelt családban is azonosítottuk, és érintettről-érintettre való transzmisszió a három család közül kettőben volt igazolható. A mutáció nem volt kimutatható nagyszámú kontroll mintában, összesen 928 kromoszómán. Fentiek alapján valószínűsítettük, hogy a *MYBPC3* p.Gln1233Ter mutáció egy valódi kóroki mutáció HCM-ben.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani a PhD dolgozatomhoz szükséges munkában minden közreműködő és segítséget nyújtó személynek.

Köszönöm témavezetőm, Sepp Róbert tanár úr folyamatos, lelkes támogatását és értékes javaslatait, melyek alapvető mértékben hozzájárultak a dolgozat illetve a tudományos közlemények megszületéséhez.

Hálás köszönet illeti Forster Tamás és Csanády Miklós professzor urakat, a II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ jelenlegi és korábbi igazgatóját, támogatásukért és tanácsaikért, és azért a lehetőségért, hogy intézetükben biztosították a kutatásaimhoz szükséges feltételeket.

Köszönöm a Molekuláris Genetikai Laboratórium munkatársainak, diáktársaimnak a segítő közreműködését, a hosszas konzultációkat, ötleteiket, javaslataikat.

Külön köszönöm Molnár Jánosné Klári, a Molekuláris Genetikai Laboratórium vezető asszisztensének segítségét, kinek mindennapi szakértői segítsége nélkül a dolgozat és közlemények alapjául szolgáló eredmények nem születhettek volna meg.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családom, szüleim és mamám odaadó szeretetét és folyamatos támogatását.