

**MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS**

**FAMILIÁRIS KARDIOLÓGIAI  
KÓRKÉPEK MORFOLÓGIAI, GENETIKAI  
ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA**

**DR. SEPP RÓBERT**



**SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSI KAR  
II. SZ. BELGYÓGYÁSZATI KLINIKA ÉS  
KARDIOLÓGIAI KÖZPONT**

**2017**

# TARTALOMJEGYZÉK

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Publikációs lista</b>                                                                                                     | 9  |
| <b>Rövidítések jegyzéke</b>                                                                                                  | 15 |
| <b>1. BEVEZETÉS</b>                                                                                                          |    |
| <b>1.1 FAMILIÁRIS KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEK</b>                                                                                  |    |
| 1.1.1. HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA                                                                                         | 19 |
| 1.1.1.1. A HCM molekuláris genetikája                                                                                        | 19 |
| 1.1.1.2. HCM fenokópiák                                                                                                      |    |
| 1.1.1.2.1. Danon betegség                                                                                                    | 20 |
| 1.1.1.2.2. Fabry betegség                                                                                                    | 20 |
| 1.1.1.2.3. Transthyretin amyloidosis                                                                                         | 21 |
| 1.1.1.2.4. Mitochondriális cardiomyopathia                                                                                   | 22 |
| 1.1.2. IONCSATORNA BETEGSÉGEK                                                                                                |    |
| 1.1.2.1. Hosszú QT szindróma (long QT syndrome, LQTS)                                                                        | 23 |
| 1.1.2.2. Andersen-Tawil szindróma                                                                                            | 24 |
| 1.1.2.3. Timothy szindróma                                                                                                   | 24 |
| 1.1.2.4. Familiáris bradycardia                                                                                              | 25 |
| <b>1.2. ARITMOGÉN TÉNYEZŐK HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN</b>                                                              |    |
| 1.2.1. Életet veszélyeztető kamrai arrhythmiák és hirtelen szívhalál<br>hypertrophias cardiomyopathiában                     | 26 |
| 1.2.2. 'Myofiber disarray', intercalaris discus és gap junction                                                              | 27 |
| 1.2.3. A testfelszíni EKG repolarizációs paraméterei a hirtelen szívhalál<br>előrejelzésére hypertrophias cardiomyopathiában | 27 |
| <b>1.3. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM<br/>    ABLATIO HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN</b>                    | 28 |
| <b>2. CÉLKITŰZÉSEK</b>                                                                                                       | 32 |

### 3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1. ARRHYTHMOGÉN TÉNYEZŐK MORFOLÓGIAI ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

3.1.1. INTERCELLULÁRIS JUNKCIÓK ELTÉRÉSEINEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN 35

3.1.1.1. Betegek

3.1.1.2. Módszerek

3.1.2. REPOLARIZÁCIÓS PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN 35

3.1.2.1. Betegek

3.1.2.2. Módszerek

#### 3.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA FAMILIÁRIS ARRHYTHMOGÉN KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEKBEN

3.2.1. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN 37

3.2.1.1. Betegek

3.2.1.2. Módszerek

3.2.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA FENOKÓPIÁIBAN 39

3.2.2.1 *LAMP2* génmutációk azonosítása Danon betegség gyanúja esetén 39

3.2.2.1.1 Betegek

3.2.2.1.2 Módszerek

3.2.2.2 A *GLA* génmutációk azonosítása Fabry betegség gyanúja esetén 45

3.2.2.2.1 Betegek

3.2.2.2.2 Módszerek

3.2.2.3. A *TTR* génmutációk azonosítása transthyretin amyloidosis gyanúja esetén 46

3.2.2.3.1 Betegek

3.2.2.3.2 Módszerek

|                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>3.2.2.4. Mitochondriális génmutáció azonosítása dominálónan hypertrophiás cardiomyopathia képében megjelenő szisztémás kórképben</b>                                                                                                                                | 49 |
| 3.2.2.4.1 Beteg                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
| 3.2.2.4.2 Módszer                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
| <b>3.2.3. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA ÖRÖKLETES IONCSATORNA BETEGSÉGEKBEN</b>                                                                                                                                          | 51 |
| <b>3.2.3.1 Egy új <i>KCNJ2</i> génmutáció, Val302del, azonosítása és funkcionális jellemzése Andersen-Tawil szindrómában</b>                                                                                                                                           | 51 |
| 3.2.3.1.1 Betegek                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
| 3.2.3.1.2 Módszer                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
| <b>3.2.3.2 Timothy szindróma 1 genotípusának azonosítása syndactylia és lényegi extrakardiális manifesztációk nélkül</b>                                                                                                                                               | 52 |
| 3.2.3.2.1 Beteg                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
| 3.2.3.2.2 Módszer                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
| <b>3.2.3.3 Egy új ‘splice site’ <i>HCN4</i> génmutáció, c.1737+1 G&gt;T, azonosítása csökkent szívfrekvencia-válással, alacsonyabb chronotrop kompetenciával és megnövekedett rövid távú szívfrekvencia variabilitással jellemzett familiáris bradycardia esetében</b> | 54 |
| 3.2.3.3.1 Betegek                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
| 3.2.3.3.2 Módszer                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
| <b>3.3. MEGFIGYELÉSEK PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIOVAL (PTSMA) KAPCSOLATBAN HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN</b>                                                                                                                                |    |
| <b>3.3.1. ABNORMIS KOLLATERÁLIS ÖSSZEKÖTTETÉSEK SEPTALIS ÁGAK KÖZÖTT HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN PTSMA SORÁN</b>                                                                                                                                                  | 58 |
| 3.3.1.1 Beteg                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
| 3.3.1.2 Módszer                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
| <b>3.3.2. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS ABLATIO EREDMÉNYÉNEK MEGÍTÉLÉSE ÚJ METODIKÁKKAL</b>                                                                                                                                                                        | 59 |
| <b>3.3.2.1. Myocardiális perfúzió csökkenésének kimutatása videodenzitometrián alapuló idő-denzitás görbe segítségével PTSMA után</b>                                                                                                                                  | 59 |
| 3.3.2.1.1 Beteg                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
| 3.3.2.1.2 Módszer                                                                                                                                                                                                                                                      |    |

|                                                                                                                                        |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.3.2.2. A septalis strain változásának kimutatása PTSMA után három-dimenziós 'speckle tracking' echocardiographia segítségével</b> | <b>61</b> |
| 3.3.2.2.1 Betegek                                                                                                                      |           |
| 3.3.2.2.2 Módszer                                                                                                                      |           |

## **4. EREDMÉNYEK**

### **4.1 ARRHYTHMOGÉN TÉNYEZŐK MORFOLÓGIAI ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN**

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.1. INTERCELLULÁRIS JUNKCIÓK ELTÉRÉSEINEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN                 | 62 |
| 4.1.1.1. Standard szövettan                                                                              | 62 |
| 4.1.1.2. Az intercalaris discusok szövettani jellegzetességei a kontroll mintákban                       | 62 |
| 4.1.1.3. A dezmoszómák eloszlása a 'myofiber disarray' által érintett területeken                        | 63 |
| 4.1.1.4. Az gap junction-ök eloszlása a 'myofiber disarray' által érintett területeken                   | 64 |
| 4.1.2. REPOLARIZÁCIÓS PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN                            | 66 |
| 4.1.2.1. EKG paraméterek a HCM betegekben és kontrollokban                                               | 66 |
| 4.1.2.2. A repolarizációs paraméterek közötti korreláció HCM betegekben                                  | 67 |
| 4.1.2.3. A repolarizációs és echocardiographiás paraméterek korrelációja HCM betegekben                  | 67 |
| 4.1.2.4. A repolarizációs paraméterek és a bal kamra hypertrophia indexeinek korrelációja HCM betegekben | 68 |

### **4.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA FAMILIÁRIS ARRHYTHMOGÉN KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEKBEN**

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.1. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN | 70 |
| 4.2.1.1. MYBPC3 génmutációk azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegekben                 | 70 |

|                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.1.2. <b>MYBPC3</b> génmutációt hordozó magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegek családjainak klinikai és genetikai vizsgálata                                                                                                             | 72 |
| 4.2.1.3. A <b>MYBPC3</b> gén p.Gln1233Ter mutációjának analízise 3 hordozó családban                                                                                                                                                                          | 74 |
| 4.2.2 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA FENOKÓPIÁIBAN                                                                                                                                 | 76 |
| 4.2.2.1 <b>LAMP2</b> génmutációk azonosítása Danon betegség esetén                                                                                                                                                                                            | 76 |
| 4.2.2.2 <b>GLA</b> génmutációk azonosítása Fabry betegség esetén                                                                                                                                                                                              | 77 |
| 4.2.2.2.1 p.Ile239Met mutáció                                                                                                                                                                                                                                 | 78 |
| 4.2.2.3 <b>TTR</b> génmutációk azonosítása transthyretin amyloidosis esetén                                                                                                                                                                                   | 81 |
| 4.2.2.4 Mitochondriális génmutáció azonosítása dominálónan hypertrophiás cardiomyopathia képében megjelenő szisztémás kórképben                                                                                                                               | 82 |
| 4.2.3. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA ÖRÖKLETES IONCSATORNA BETEGSÉGEKBEN                                                                                                                                        | 83 |
| 4.2.3.1 Egy új <b>KCNJ2</b> génmutáció, Val302del, azonosítása és funkcionális jellemzése Andersen-Tawil szindrómában                                                                                                                                         | 83 |
| 4.2.3.2 Timothy szindróma 1 genotípusának azonosítása syndactylia és lényegi extrakardiális manifesztációk nélkül                                                                                                                                             | 84 |
| 4.2.3.3 Egy új 'splice site' <b>HCN4</b> génmutáció, c.1737+1 G>T, azonosítása csökkent szívfrekvencia-válással, alacsonyabb chronotrop kompetenciával és megnövekedett rövid távú szív-frekvencia variabilitással jellemzett familiáris bradycardia esetében | 86 |
| <b>4.3. MEGFIGYELÉSEK PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIOVAL (PTSMA) KAPCSOLATBAN HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN</b>                                                                                                                       |    |
| 4.3.1. ABNORMIS KOLLATERÁLIS ÖSSZEKÖTTETÉSEK SEPTALIS ÁGAK KÖZÖTT HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN PTSMA SORÁN                                                                                                                                                | 92 |
| 4.3.2. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS ABLATIO EREDMÉNYÉNEK MEGÍTÉLÉSE ÚJ METODIKÁKKAL                                                                                                                                                                      | 95 |
| 4.3.2.1. Myocardiális perfúzió csökkenésének kimutatása videodenzitometrián alapuló idő-denzitás görbe segítségével PTSMA után                                                                                                                                | 95 |
| 4.3.2.2. A septalis strain változásának kimutatása PTSMA után három-dimenziós 'speckle tracking' echocardiographia segítségével                                                                                                                               | 96 |

## 5. MEGBESZÉLÉS

### 5.1 ARRHYTHMOGÉN TÉNYEZŐK MORFOLÓGIAI ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1.1 INTERCELLULÁRIS JUNKCIÓK ELTÉRÉSEINEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN | 97 |
| 5.1.2 REPOLARIZÁCIÓS PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN            | 99 |

### 5.2 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA FAMILIÁRIS ARRHYTHMOGÉN KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEKBEN

|                                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.2.1 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN                                                                                                                                           | 101 |
| 5.2.1.1 <i>MYBPC3</i> génmutációk azonosítása magyar hypertrophias cardiomyopathiában szenvedő betegekben                                                                                                                                                    | 101 |
| 5.2.2 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA FENOKÓPIÁIBAN                                                                                                                                | 105 |
| 5.2.2.1 <i>LAMP2</i> génmutációk azonosítása Danon betegekben                                                                                                                                                                                                | 105 |
| 5.2.2.2. A <i>GLA</i> génmutációk azonosítása Fabry betegekben                                                                                                                                                                                               | 106 |
| 5.2.2.3. A <i>TTR</i> génmutációk azonosítása transthyretin amyloidosisos betegekben                                                                                                                                                                         | 108 |
| 5.2.3. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA ÖRÖKLETES IONCSATORNA BETEGSÉGEKBEN                                                                                                                                       | 110 |
| 5.2.3.1 Egy új <i>KCNJ2</i> génmutáció, Val302del, azonosítása és funkcionális jellemzése Andersen-Tawil szindrómában                                                                                                                                        | 110 |
| 5.2.3.2 Timothy szindróma 1 genotípusának azonosítása syndactylia és lényegi extrakardiális manifesztációk nélkül                                                                                                                                            | 111 |
| 5.2.3.3 Egy új 'splice site' <i>HCN4</i> génmutáció, c.1737+1 G>T, azonosítása csökkent szívfrekvencia-válással, alacsonyabb chronotrop kompetenciával és megnövekedett rövid távú szívfrekvencia variabilitással jellemzett familiáris bradycardia esetében | 115 |

|                                                                                                                                                              |         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| <b>5.3. MEGFIGYELÉSEK PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIOVAL (PTSMA) KAPCSOLATBAN HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN</b>                      |         |
| 5.3.1. ABNORMIS KOLLATERÁLIS ÖSSZEKÖTTETÉSEK SEPTALIS ÁGAK KÖZÖTT HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN PTSMA SORÁN                                               | 118     |
| 5.3.2. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS ABLATIO EREDMÉNYÉNEK MEGÍTÉLÉSE ÚJ METODIKÁKKAL                                                                     | 119     |
| <br><b>6. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS SAJÁT MEGÁLLAPÍTÁSOK</b>                                                                                                          | <br>122 |
| <br><b>7. REFERENCIÁK</b>                                                                                                                                    | <br>125 |
| <br><b>Köszönetnyilvánítás</b>                                                                                                                               | <br>140 |
| <br><b>APPENDIX I. Intercelluláris junkciók eltéréseinek vizsgálata hypertrophias cardiomyopathiában</b>                                                     | <br>141 |
| <b>APPENDIX II. Repolarizációs paraméterek vizsgálata hypertrophias cardiomyopathiában</b>                                                                   | 143     |
| <b>APPENDIX III. A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája</b>                                                                                         | 145     |
| <b>APPENDIX IV. A célzott újraszekvenálás során lefedett ioncsatorna és ioncsatorna-asszociált gének listája</b>                                             | 148     |
| <b>APPENDIX V. Az Andersen-Tawil szindrómát okozó KCNJ2 Val302del génmutáció funkcionális jellemzésének részletes metodikája</b>                             | 150     |
| <b>APPENDIX VI. A HCN4 c.1737+1 G&gt;T mutációt hordozó családtagok szívfrekvencia válaszána és szívfrekvencia variabilitás paramétereinek meghatározása</b> | 153     |
| <b>APPENDIX VII: A HCM-es betegcsoportban észlelt MYBPC3 génmutációk elektroferogramjai</b>                                                                  | 155     |
| <b>APPENDIX VIII: Az azonosított MYBPC3 génmutációt hordozó index betegek részletes kórtörténetei</b>                                                        | 157     |
| <b>APPENDIX IX: Az azonosított GLA génmutációt hordozó index betegek részletes kórtörténetei</b>                                                             | 160     |
| <b>APPENDIX X. Az Andersen-Tawil szindrómát okozó KCNJ2 Val302del génmutáció funkcionális jellemzése</b>                                                     | 162     |

## Publikációs lista

### A doktori értekezés alapját képző 'in extenso' saját közlemények

1. **Sepp R**, Severs NJ, Gourdie RG. Altered patterns of cardiac intercellular junction distribution in hypertrophic cardiomyopathy. *HEART* 76:(5) pp. 412-417. (1996)
2. Orosz A, Baczko I, Nagy V, Gavaller H, Csanady M, Forster T, Papp JG, Varro A, Lengyel C, **Sepp R**. Short-term beat-to-beat variability of the QT interval is increased and correlates with parameters of left ventricular hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY* 93:(9) pp. 765-772. (2015)
3. Tóth T, **Sepp R**, Orosz A, Nagy V, Pálincás A, Hőgye M, Csanády M, Forster T. A myozinkötő C-fehérje gén (*MYBPC3*) mutációszűrése magyar hypertrophias cardiomyopathias betegekben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 39: pp. 318-324. (2009)
4. Tóth T, **Sepp R**, Orosz A, Nagy V, Pálincás A, Hőgye M, Csanády M, Forster T. Miozinkötő C fehérje (*MYBPC3*) génmutációt hordozó hypertrophias cardiomyopathias családok klinikai és genetikai analízise. *MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM* 63:(1) pp. 3540. (2010)
5. Toth T, Nagy V, Faludi R, Csanady 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? *INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY* 153:(2) pp. 216-219. (2011)
6. Csanyi B, Popoiu A, Hategan L, Hegedus Z, Nagy V, Racz K, Hogye M, Saghy L, Ivanyi B, Csanady M, Forster T, **Sepp R**. Identification of two novel *LAMP2* gene mutations in Danon disease. *CANADIAN JOURNAL OF CARDIOLOGY* 32:(11) pp. 1355.e23-1355.e30. (2016)
7. Csányi B, Nagy V, Hategan L, Borbás J, Tringer A, Herczeg B, Forster T, **Sepp R**. Fabry-betegség szűrése többszervi érintettséget mutató hipertrófiás cardiomyopathia eseteiben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 46: pp. 158-164. (2016)
8. Csányi B, Hategan L, Nagy V, Obál I, Varga ET, Borbás J, Tringer A, Eichler S, Forster T, Rolfs A, **Sepp R**. Identification of a novel *GLA* gene mutation, p.Ile239Met, in Fabry disease with a predominant cardiac phenotype. *INTERNATIONAL HEART JOURNAL* In press: Paper 10.1536/ihj.16-361. (2017)
9. Hategan L, Csányi B, Nagy V, Kis O, Kohári M, Ágoston G, Sággy L, Varga A, Iványi B, Forster T, **Sepp R**. Transthyretin génmutáció azonosítása hipertrófiás cardiomyopathia képében megjelenő amyloidosisban. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 46:(4) pp. 225-230. (2016)

10. Tringer A, Grosz Z, Nagy V, Gál A, Csányi B, Hategan L, Borbás J, Gavallér H, Pálincás E, Forster T, Molnár MJ, **Sepp R**. Mitochondriális génmutáció igazolása dominálónan hypertrophiás cardiomyopathia képében megjelenő szisztémás kórképben [Identification of a mitochondrial gene mutation in a systemic disease manifesting primarily as hypertrophic cardiomyopathy]. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 47: pp. 135-138. (2017)
11. Ordog B, Hategan L, Kovacs M, Seprenyi G, Kohajda Z, Nagy I, Hegedus Z, Kornyei L, Jost N, Katona M, Szekeres M, Forster T, Papp JG, Varro A, **Sepp R**. Identification and functional characterisation of a novel *KCNJ2* mutation, Val302del, causing Andersen-Tawil syndrome. *CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY* 93:(7) pp. 569-575. (2015)
12. **Sepp R**, Hategan L, Bácsi A, Cseklye J, Környei L, Borbás J, Széll M, Forster T, Nagy I, Hegedűs Z. Timothy syndrome 1 genotype without syndactyly and major extracardiac manifestations. *AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART A* 173:(3) pp. 784-789. (2017)
13. Hategan L, Csányi B, Ördög B, Kákonyi K, Tringer A, Kiss O, Orosz A, Ságghy L, Nagy I, Hegedűs Z, Rudas L, Széll M, Varró A, Forster T, **Sepp R**. A novel 'splice site' *HCN4* gene mutation, c.1737+1 G>T, causes familial bradycardia, reduced heart rate response, impaired chronotropic competence and increased short-term heart rate variability. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY* 17: Paper 30089-X. (2017)
14. **Sepp R**, Pálincás A, Rigopoulus A, Ungi I, Nagy V, Ruzsa Z, Horváth T, Seggewiss H, Csanády M, Forster T. Kontraszt echokardiográfia vezérelt perkután transzluminális septalis myocardium ablatio (PTSMA) hipertrófiás cardiomyopathiában: Contrast echocardiography guided percutaneous transluminal septal myocardium ablation (PTSMA) in hypertrophic cardiomyopathy. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 37:(2) pp. 113-119. (2007)
15. Rigopoulos A, **Sepp R**, Palinkas A, Ungi I, Kremastinos D Th, Seggewiss H. Alcohol septal ablation for hypertrophic obstructive cardiomyopathy: Collateral vessel communication between septal branches. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY* 113:(2) pp. E67-E69. (2006)
16. Nemes A, Kalapos A, Sasi V, Ungi T, Ungi I, Forster T, **Sepp R**. Videodensitometric time-density curve change after alcohol septal ablation of obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *NETHERLANDS HEART JOURNAL* 23:(2) pp. 143-144. (2015)
17. Nemes A, Domsik P, Kalapos A, Gavallér H, Forster T, **Sepp R**. Quantification of changes in septal strain after alcohol septal ablation in hypertrophic obstructive cardiomyopathy-cases from the three-dimensional speckle tracking echocardiographic MAGYAR-Path study. *ECHOCARDIOGRAPHY-A JOURNAL OF CARDIOVASCULAR ULTRASOUND AND ALLIED TECHNIQUE* 30:(9) pp. E289-E291. (2013)

## A doktori értekezés témakörében megjelent 'in extenso' saját közlemények

1. Blazsó P, Kákonyi K, Forster T, **Sepp R**. Cardiomyopathia és ioncsatorna-betegek regisztere: a szegedi CardioGen regiszter [Cardiomyopathy and ion channel diseases registry: the Szeged CardioGen Registry]. *ORVOSI HETILAP* 158:(3) pp. 101-105. (2017)
2. Domsik P, Kalapos A, Chadaide S, **Sepp R**, Hausinger P, Forster T, Nemes A. Three-dimensional speckle tracking echocardiography allows detailed evaluation of left atrial function in hypertrophic cardiomyopathy-insights from the MAGYAR-Path study. *ECHOCARDIOGRAPHY-A JOURNAL OF CARDIOVASCULAR ULTRASOUND AND ALLIED TECHNIQUES* 31:(10) pp. 1245-1252. (2014)
3. Gavaller H, **Sepp R**, Csanady M, Forster T, Nemes A. Hypertrophic cardiomyopathy is associated with abnormal echocardiographic aortic elastic properties and arteriograph-derived pulse-wave velocity. *ECHOCARDIOGRAPHY-A JOURNAL OF CARDIOVASCULAR ULTRASOUND AND ALLIED TECHNIQUES* 28:(8) pp. 848-852.(2011)
4. Gavallér H, **Sepp R**, Csanády M, Forster T, Nemes A. Az aorta tágulékonyságának vizsgálata echokardiográfiával hipertrófiás cardiomyopathiás betegekben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 41:(1) pp. 8-12. (2011)
5. **Sepp R**. Hirtelen szívhalálhoz vezető öröklődő kardiológiai kórképek klinikai és molekuláris genetikája. In: Lengyel Csaba, Márton János , Török László (szerk.) Sportorvosi alapismeretek. Szeged: SZTE Általános Orvostudományi Kar, 2014. pp. 95-118. (ISBN:978-963-306-345-3)
6. **Sepp R**. Hosszú QT szindróma: az ioncsatornák hirtelen szívhalált okozó betegsége. *ORVOSTOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE* 18:(3) pp. 63-70. (2011)
7. **Sepp R**. Monogénesen öröklődő cardiovascularis betegségek. *ORVOSKÉPZÉS* 86:(2-3) pp. 107-109. (2011)
8. **Sepp R**, Tóth T, Nagy V, Sághy L, Carlo N, Józán-Jilling M, Silvia P, Csanády M, Forster T. Az első *KCNE1*-génmutáció azonosítása magyar hosszú QT-szindrómás betegben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 40:(3) pp. 197-202. (2010)
9. Nemes A, Balazs E, Soliman OI, **Sepp R**, Csanady M, Forster T. Long-term prognostic value of coronary flow velocity reserve in patients with hypertrophic cardiomyopathy: 9-year follow-up results from SZEGED study. *HEART AND VESSELS* 24:(5) pp. 352-356. (2009)
10. **Sepp R**. A szív ioncsatornáinak molekuláris biológiája. In: Fazekas T, Merkely B, Papp JGy, Tenczer J (szerk.) Klinikai szív-elektrofiziológia és aritmológia. 1120 p. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2009. pp. 47-75. (ISBN:978-963-05-8671-9)
11. Tóth T, Orosz A, Csanády M, Högye M, Forster T, **Sepp R**. Klinikai és genetikai szűrés veleszületett süketnémasággal társult hypertrophiás cardiomyopathia által érintett családban. *BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES / ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTESÍTŐ* 82: pp. 92-94. (2009)
12. Csanády M, **Sepp R**, Tóth T, Orosz A, Nagy V, Högye M, Forster T. A myozin kötő C fehérje gén (*MYBPC3*) mutációjának azonosítása veleszületett süketnémasággal társult hypertrophiás cardiomyopathiában. *BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES / ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTESÍTŐ* 81:(1) pp. 23-25. (2008)
13. Losonczy L, Kádár K, **Sepp R**, Csanády M, Fekete Gy. Hypertrophiás cardiomyopathia - genetikailag determinált szívbetegség a háziorvosi praxisban. *MAGYAR CSALÁDORVOSOK LAPJA* 1:(1) pp. 29-32. (2008)
14. Csanady M, Toth F, Hogye M, Vass A, **Sepp R**, Csanady M, Czigner J, Kiss JG, Jori J, Forster T. Hearing disturbances in hypertrophic cardiomyopathy. Is the

- sensorineural disorder neurogenic or myogenic? *INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY* 116:(1) pp. 53-56. (2007)
15. **Sepp R**, Csanády M, Napolitano C, Pálincás A, Anastasakis A, Csanádi Z, Priori SG, Schwartz PJ, Forster T. Az első *KCNQ1*-génmutáció azonosítása hosszú QT-szindrómás magyar betegben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 36: pp. 11-16. (2006)
  16. Csanády M, **Sepp R**. The long QT syndrome from the bedside to molecular genetic laboratory. The history of the first described Hungarian family: A hosszú QT-szindróma a betegágytól a molekuláris genetikai laboratóriumig. Az első magyar eset genetikai analízisének története röviden. *ORVOSI HETILAP* 146:(39) pp. 2011-2016. (2005)
  17. Csanády M, Högye M, **Sepp R**, Forster T. A cardiomyopathiák diagnosztikája és genetikája. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 34: pp. 13-32. (2004)
  18. Csanády M, Högye M, **Sepp R**. Cardiomyopathiák. In: Kardiológiai Szakmai Kollégium (szerk.) Kardiológiai Útmutató 2004: Klinikai Irányelvek Kézikönyve. Diagnosztikus és terápiás ajánlások kardiológiai kórképekben: a kardiológiai szakmai kollégium irányelvei. Budapest: Medition Kiadó, 2004. pp. 67-85.
  19. Csanády M, **Sepp R**. A familiáris dilatatív cardiomyopathia és annak genetikája. *BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES / ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTESÍTŐ* 77: pp. 137-140. (2004)
  20. Högye M, Mandi Y, Csanady M, **Sepp R**, Buzas K. Comparison of circulating levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in hypertrophic cardiomyopathy and in idiopathic dilated cardiomyopathy. *AMERICAN JOURNAL OF CARDIOLOGY* 94:(2) pp. 249-251. (2004)
  21. **Sepp R**, Csanády M, Napolitano C, Ságghy L, Pap R, Csanádi Z, Priori SG, Schwartz PJ, Forster T. Az első hosszú QT-szindrómát okozó génmutáció azonosítása magyar betegben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 34: pp. 184-188. (2004)
  22. **Sepp R**. Kóroki mutációk azonosítása örökletes kardiológiai betegségekben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 34: pp. E92-E97. (2004)
  23. Anastasakis A, Karandreas N, Stathis P, Rigopoulos A, Theopistou A, **Sepp R**, Elliott PM, Panagiotakos DB, Stefanadis C, Toutouzas P. Subclinical skeletal muscle abnormalities in patients with hypertrophic cardiomyopathy and their relation to clinical characteristics. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY* 89:(2-3) pp. 249-256. (2003)
  24. Csanády M, **Sepp R**. Genetikai tényezők szerepe a hypertrophiás cardiomyopathia prognózisában és kezelésében. *BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES / ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTESÍTŐ* 76: pp. 8-9. (2003)
  25. Högye M, Mándi Y, **Sepp R**, Borthaiser A, Csanády M. Jelentősen emelkedett interleukin-6 szint hipertrófiás cardiomyopathiában. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 33:(4) pp. 227-231. (2003)
  26. Simor T, Tóth L, **Sepp R**, Csanádi M, Papp L, Repa I. Hipertrofiás kardiomiopátia, - MRI diagnosztika, esetismertetés. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 33:(2) pp. 117-118. (2003)
  27. Nemes A, Forster T, **Sepp R**, Pálincás A, Thury A, Ungi I, Högye M, Csanády M. A transoesophagealis echocardiographiával vizsgált coronaria áramlás jellegzetességei hypertrophiás cardiomyopathia eseteiben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 32:(4) pp. 203-209. (2002)
  28. **Sepp R**, Pálincás A, Kertész E, Rampazzo A, Dongó Á, Jebelovszki É, Anastasakis A, Forster T, Danieli GA, Csanády M. Hypertrophiás cardiomyopathiát okozó génmutáció azonosítása a béta myozin nehéz lánc génben. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 30:(1) pp. 65-70. (2001)

29. **Sepp R**, Jebelovszki É, Borthaiser A, Dongó Á, Rampazzo A, Pálincás A, Forster T, Anastasakis A, Danieli GA, Csanády M. A miozinkötő C fehérje gén új mutációjának azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiás családban. *MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM* 54: pp. 170-176. (2001)
30. **Sepp R**, Csanády M. Molecular genetics of the long QT syndrome: clinical aspects: A hosszú QT-szindróma molekuláris genetikája: klinikai vonatkozások. *ORVOSI HETILAP* 140:(47) pp. 2633-2638. (1999)
31. **Sepp R**, Csanády M. Clinical and molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy: A hypertrophiás cardiomyopathia klinikai és molekuláris genetikája. *ORVOSI HETILAP* 139:(33) pp. 1965-1971. (1998)
32. **Sepp R**. Mutációanalízis hypertrophiás cardiomyopathiában. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 26:(5. suppl.) pp. 15-18. (1997)
33. Csanády M, **Sepp R**. Molekuláris kardiológia. *MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM* 49: pp. 239-240. (1996)

**További, a doktori értekezés témaköréhez nem kapcsolódó 'in extenso' saját közlemények**

1. Nyolczas N, Heltai K, Borbely A, Habon T, Jarai Z, Sziliczei E, Stadler P, Faludi R, Herczeg B, Papp E, Lakatos F, Nagy K, Katona A, Kovacs I, Tomcsanyi J, Nagy A, **Sepp R**. Magyar Szívelégtelenség Regiszter 2015–2016: Kezdeti eredmények [Hungarian Heart Failure Registry 2015–2016: Preliminary results]. *ORVOSI HETILAP* 158:(3) pp. 94-100. (2017)
2. **Sepp R**. A dilatatív cardiomyopathia és a hypokinetikus nem-dilatatív cardiomyopathia új definíciója - az ESC Szívizom- és Pericardium Betegségek Munkacsoportja állásfoglalása [Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practise: a position statement of the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Disease]. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 47: pp. 82-85. (2017)
3. Högye M, Csanády M, Deák J, Terhes G, Kelle B, **Sepp R**, Iványi B, Forster T. Vírusgenomok kimutatása dilatatív cardiomyopathiában endomiokardiális biopsziás mintákból. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 45:(1) pp. 12-17. (2015)
4. Kovacs LG, Nyolczas N, Habon T, **Sepp R**, Piroth Z, Hajas A, Boncz I, Tomcsanyi J, Kappelmayer J, Merkely B. Natriureticus peptidek mérése szívelégtelen betegekben: a helyes laboratóriumi és klinikai gyakorlat [Measurement of natriuretic peptides in heart failure: the good laboratory and clinical practice]. *ORVOSI HETILAP* 156:(31) pp. 1235-1245. (2015)
5. Pap R, **Sepp R**, Sággy L. Termination of persistent perimitral atrial flutter by selective contrast injection into the vein of Marshall. *JACC: CLINICAL ELECTROPHYSIOLOGY* 1:(6) pp. 596-597. (2015)
6. Ruzsa Z, Ungi I, Horvath T, **Sepp R**, Zimmermann Z, Thury A, Jambrik Z, Sasi V, Toth G, Forster T, Nemes A. Five-year experience with transradial coronary angioplasty in ST-segment-elevation myocardial infarction. *CARDIOVASCULAR REVASCULARIZATION MEDICINE* 10:(2) pp. 73-79. (2009)
7. **Sepp R**, Forster T. Genetikai vizsgálat orális antikoaguláns- és clopidogrel-kezelés esetén. *KARDIOVASZKULÁRIS PREVENCIÓ ÉS REHABILITÁCIÓ* 2:(1) pp. 11-17. (2009)
8. Tarr A, Csanády M, Högye M, Sári Gy, **Sepp R**, Forster T. Korszerű kezeléssel elért eredményeink összehasonlítása a familiáris dilatatív és sporadikus dilatatív

- cardiomyopathiás betegekben. *BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES / ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTESÍTŐ* 82: pp. 95-98. (2009)
9. Halmai L, **Sepp R**, Thury A, Gavallér H, Ungi I, Rudas L. Postpartum coronaria dissectio esete. *ORVOSI HETILAP* 149:(10) pp. 457-463. (2008)
  10. Ungi I, Palinkas A, Nemes A, Ungi T, Thury A, **Sepp R**, Horvath T, Forster T, Vegh A. Myocardial protection with enalaprilat in patients unresponsive to ischemic preconditioning during percutaneous coronary intervention. *CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY* 86:(12) pp. 827-834. (2008)
  11. Ruzsa Z, Ungi I, Pálincás A, Thury A, **Sepp R**, Forster T. Successful closure of a coronary artery fistula with a stent graft. *EUROINTERVENTION* 2:(2) Paper case7. (2006)
  12. Pálincás A, Nagy E, Varga A, Farkas A, Nemes A, **Sepp R**, Forster T. „In situ” thrombusképződés a fossa ovalisban nyitott foramen ovale nélkül: transoesophagealis echocardiographiás bizonyíték. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 35: pp. 227-229. (2005)
  13. Ruzsa Z, Ungi I, **Sepp R**, Horváth T, Tóth K, Forster T, Pálincás A. Koronária fisztula sikeres zárása stent graft alkalmazásával. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 35:(3) pp. 157-160. (2005)
  14. Pálincás A, Varga A, Nyúzó B, Gruber N, Forster T, Nemes A, Horváth T, Fogas J, Boda K, **Sepp R**, Högye M, Vass A, Csanády M. A bal pitvari fülcsé áramlás szerepe a cardioversio rövid és hosszú távú sikerességének előrejelzésében nem valvularis eredetű pitvarfibrilláció fennállásakor. *ORVOSI HETILAP* 143:(35) pp. 2035-2041. (2002)
  15. Pálincás A, Varga A, Forster T, **Sepp R**, Ruzsa Z, Ungi I, Csanády M. Koszorúér szűkület diagnózisa transthoracalis echocardiographiával. *CARDIOLOGIA HUNGARICA* 32:(2) pp. 95-96. (2002)
  16. **Sepp R**, Szabo I, Uda H, Sakamoto H. Rapid techniques for DNA extraction from routinely processed archival tissue for use in PCR. *JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY* 47:(4) pp. 318-323. (1994)
  17. Szabo I, **Sepp R**, Nakamoto K, Maeda M, Sakamoto H, Uda H. Human papillomavirus not found in squamous and large-cell lung carcinomas by polymerase chain-reaction. *CANCER* 73:(11) pp. 2740-2744. (1994)
  18. Kuwabara H, Miyaguchi M, Uda H, Krenacs T, **Sepp R**, Sakai S. Nucleolar organizer regions in human maxillary sinus squamous-cell carcinoma. *ACTA PATHOLOGICA JAPONICA (APJ)* 43:(1-2) pp. 18-21. (1993)
  19. Kuwabara H, Katanaka J, Nagai M, Uda H, Hojo W, Yamada A, Miki H, Takeuchi H, Teranishi K, Matsuda K, Uchida Y, Nakashima K, Sasaki M, **Sepp R**. Human T-lymphotropic virus type-I associated myelopathy with pulmonary and cutaneous lesions. *JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY* 46:(3) pp. 273-275. (1993)

## Rövidítések jegyzéke

AA: serum amyloid-A amyloidosis

AANF: izolált atrialis amyloidosis

ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics

*ACTC1*: alpha-cardiac actin gén

*ACTN2*: alfa actinin-2 gén

ASH: aszimmetrikus septum hypertrophia

AL: immunoglobulin light-chain amyloidosis

ALP: alkalikus phosphatase

AMP: Association for Molecular Pathology

*ANK2*: ankyrin-2 gén

APMHR: age-predicted maximum heart rate

ATS: Andersen-Tawil szindróma

ATTR: familial TTR-linked amyloidosis

AV: atrio-ventricularis

AVR: aortic valve replacement

BK: bal kamra

BKmax: maximális bal kamra fal átmérő

BMI: body mass index, testtömeg-index

*CACNA1*: *CACNA1* gén

CAPD: continuous ambulatory peritoneal dialysis

cDNA: coding deoxyribonucleic acid

CHO: Chinese hamster ovary

cHRR: corrected heart rate reserve, korrigált szívfrekvencia rezerv

CNBD: cAMP binding domain, cAMP kötő domain

CK: creatine kináz

Cx43: connexion 43

dbSNP: Single Nucleotide Polymorphism Database

DCT: decelerációs idő

DDD: két-üregi pace-maker

Del: deléción

DHPLC: denaturing high performance liquid chromatography

DSA: digitális szubsztrakción angiográfia

EDD: end-diastolic diameter, végdiasztolés átmérő

ECG: electrocardiogram

EF: ejekciós frakció

EMG: electromyográfia

EP: elektrofiziológia

ESD: end-systolic diameter, végsystolés átmérő

ExAC: Exome Aggregation Consortium

fs: frame-shift

Gb3: globotriaosyl-ceramide

GLA: lysosomal  $\alpha$ -galactosidase A gén

GOT: glutamát-oxaloacetát transzamináz

GPT: glutamát-pyruvát transzamináz

HCM: hypertrophias cardiomyopathia

HCN: hiperpolarizáció aktivált, ciklikus nukleotid kapuzott ioncsatorna

HD: hemodialysis

HGMD: Human Gene Mutation Database

HR: heart rate, szívfrekvencia

HRV: heart rate variability, szívfrekvencia variabilitás

HRR: heart rate reserve, szívfrekvencia rezerv

HTX: szívtranszplantáció

ICD: implantábilis cardioverter defibrillátor

IVS: interventrikuláris septum

JLNS: Jervell-Lange-Nielsen szindróma

*JPH2*: junctophyllin-2 gén

*KCNE1*: *KCNE1* gén

*KCNE2*: *KCNE2* gén

*KCNH2*: *KCNH2* (*HERG*) gén

*KCNJ2*: *KCNJ2* gén

*KCNQ1*: *KCNQ1* (*KvLQT1*) gén

LAD: left anterior descending coronaria

*LAMP2*: lysosome-associated membrane protein-2 gén

LBBB: bal Tawara szár blokk

LDH: laktát dehydrogenáz

LGE: late gadolinium enhancement, késői gadolinium kontraszt

LOD score: 'logarithm of odds' score

LVM: left ventricular mass, bal kamrai izomtömeg

LQTS: long QT syndrome, hosszú QT szindróma  
 LVOT: left ventricular outflow tract, bal kamra kifolyótraktus  
 NT-pro-BNP: N-terminális pro B-típusú natriuretikus peptid  
 NYHA: New York Heart Association  
 MBG: myocardial blush grade, myocardiális blush szint  
 MCE: myocardial contrast echocardiography, myocardiális kontraszt echocardiographia  
 MELAS: mitochondrialis encephalomyopathia, laktát acidózis és stroke-like epizódok  
 MRI: magnetic resonance imaging  
 mtDNS: mitochondriális DNS  
 MYBPC3: myosin binding protein C, myozin kötő C fehérje gén  
 MYH7: beta myosin heavy chain, béta myozin nehéz lánc gén  
 MYL2: regulatory myosin light chain gén  
 MYL3: essential myosin light chain gén  
 MVR: mitral valve replacement  
 OMIM: On-line Mendelian Inheritance in Man  
 PAS: periodic acid–Schiff  
 PCI: perkután coronaria intervenció  
 PCR: polymerase chain reaction, polimeráz láncreakció  
 PLN: phospholamban gén  
 PM: pace-maker  
 pNN50%: %: a vizsgált intervallumra számított NN50 szám a teljes normál RR-távolságok százalékában  
 PTSMA: percutaneous transluminal septal myocardial ablation  
 PRKAG2: AMP activated protein kinase,  $\gamma$ 2 regulatory subunit gén  
 rMSSD: az egymást követő normál RR-távolságok különbségei négyzetei átlagának négyzetgyöke  
 ROI: region of interest  
 RWS: Romano-Ward szindróma  
 QTc: korrigált QT időtartam  
 QTd: QT diszperzió  
 QT-STV: a QT távolság ütésről-ütésre számított, rövid távú variabilitása  
 QTVI: QT variabilitási index  
 QTVN: normalizált QT variabilitás  
 SAM: a mitrális billentyű anterior vitorlájának előremozdulása  
 SCD: sudden cardiac death, hirtelen szívhalál  
 SCN5A: SCN5A gén  
 SLE: szisztémás lupus erythematosus

SSA: szenilis szisztémás amyloidosis

SSCP: single strand conformation polymorphism

SSS2: sick sinus szindróma, 2-es altípus

TDC: time-density curve, idő-denzitás görbét

TdP: torsade de pointes

TIA: transiens ischémia attack

*TNNC1*: troponin C gén

*TNNI3*: troponin I gén

*TNNT2*: troponin T gén

Tpeak-Tend: a T hullám csúcsától a T hullám végéig mért távolság

*TPM1*: alpha tropomyosin gén

TS: Timothy szindróma

TTE: transz-thoracikus echocardiographia

*TTN*: titin gén

*TTR*: transthyretin gén

VAD: ventricular assist device

VES: kamrai extrasystole

VF: kamrafibrilláció

VT: kamrai tachycardia

VUS: variant/mutation of unknown significance

WPW: Wolff-Parkinson-White

WT: wild type, vad típus

# 1. BEVEZETÉS

## 1.1 FAMILIÁRIS KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEK

### 1.1.1. HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA

A hypertrophiás cardiomyopathia (HCM) a bal kamra hypertrophiájával jellemezett primer myocardium betegség, ahol a hypertrophia mértékét nem magyarázzák egyéb abnormis nyomásviszonyok.<sup>1-3</sup> A hypertrophia típusosan az interventricularis septumot érinti ('aszimmetrikus septum hypertrophia'), de a hypertrophia mértéke és lokalizációja rendkívül heterogén lehet. Jelen adatok szerint a betegség gyakoribb, mint korábban gondolták, előfordulását kb. 1/500-1000-re teszik az epidemiológiai adatok.<sup>4</sup> Klinikailag a betegek tünetmentesek lehetnek, de általánosabb a tünetek jelentkezése dyspnoe, mellkasi fájdalom, palpitáció vagy syncope formájában. Utóbbiak hátterében a betegség komplex patofiziológiai folyamatai, a disztolés diszfunkció, myocardális ischaemia és az esetlegesen meglévő bal kamra kifolyótraktus obstrukció állnak. Gyakoriak a ritmuszavarok, és a hirtelen szívhalál kockázata is fokozott.

#### 1.1.1.1. A HCM molekuláris genetikája

Genetikai vizsgálatok igazolták, hogy a HCM az esetek többségében örökletes betegség, típusosan autoszomális domináns öröklődéssel, változó penetranciával és expresszióval.<sup>5, 6</sup> Molekuláris genetikai módszerekkel specifikus, elsősorban szarkomer fehérjéket kódoló gének eltéréseit találták a betegség hátterében, többek között a béta myozin nehéz lánc (*MYH7*),<sup>7</sup> alfa tropomyozin (*TPM1*),<sup>8</sup> troponin T (*TNNT2*),<sup>8</sup> myozinkötő C fehérje (*MYBPC3*),<sup>9, 10</sup> troponin I (*TNNI3*),<sup>11</sup> esszenciális (*MYL3*) és regulatorikus myozin könnyű lánc (*MYL2*),<sup>12</sup> aktin (*ACTC1*)<sup>13</sup> és titin (*TTN*)<sup>14</sup> 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.<sup>15-17</sup> Az első *MYBPC3* génmutáció azonosítása óta közel 600 további mutációt észleltek a génben. Munkacsoportunk 2001-ben közölte az első magyar betegben észlelt *MYBPC3* génmutációt.<sup>18</sup> A *MYBPC3* mutációk megközelítőleg 2/3 része a normálisnál rövidebb, csonkolt fehérjét eredményez.<sup>19</sup> 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.<sup>19-21</sup>

### 1.1.1.2. HCM fenokópiák

A sarcomer géneket érintő mutációk a HCM-es betegek 40-60%-ban fordulnak elő. Az esetek 5-10%-ban a mutációk más, nem-sarcomer géneket érintenek, ekkor HCM fenokópiákról beszélünk, olyan betegségekről, melyek morfológiailag HCM képében jelennek meg, de a létrejövő bal kamra hypertrophia etiológiai és pathofiziológiai tényezői alapvetően különböznek a 'sarcomer-HCM'-étől.<sup>22</sup> A HCM fenokópiák öröklődésének módja, a betegség természetes lefolyása és kezelése alapvetően eltér a sarcomer mutációk által okozott HCM-es betegektől, ezért ezekben az esetekben az etiológiai diagnózis rendkívüli nagy jelentőségű.<sup>23</sup> Utóbbi nemcsak a pontos diagnózis felállításához nélkülözhetetlen, de a genetikai tanácsadás, prognosztikus megítélés és a megfelelő klinikai kezelés szempontjából is alapvető fontosságú. A legfontosabb HCM fenokópiák közé a Danon betegség, a Fabry betegség, a transthyretin amiloidózis és a mitochondriális cardiomyopathiák tartoznak.

#### 1.1.1.2.1. Danon betegség

A Danon betegség (OMIM# 300257) egy ritka, X-kromoszómához kötött öröklődő betegség, melyet cardiomyopathia, vázizom myopathia és mentális retardáció triálsa jellemez.<sup>24, 25</sup> A vázizom myopathia általában enyhe lefolyású, míg a mentális retardáció súlyossága változatos lehet. A klinikai képet a hypertrophiás cardiomyopathia dominálja és a betegség prognózisát is ez utóbbi határozza meg.<sup>26</sup> A nők enyhébb formában érintettek, mint a férfiak, a betegség lefolyása késő felnőttkorban jelentkezik és lassabb progressziót mutat.<sup>27</sup>

A Danon betegséget a lizoszóma-kapcsolt membrán protein-2 (lysosome-associated membrane protein-2, LAMP-2) rendellenessége okozza, melynek hátterében a LAMP-2 fehérjét kódoló, az Xq24 kromoszóma régióban található *LAMP2* gén mutációi állnak.<sup>25</sup> A gén kódoló része 1,233 nukleotidból áll, mely 410 aminosavat kódol. A károsodott LAMP2 fehérje következtében kisméretű autofág vacuolumok szaporodnak fel az izomrostokban, maltáz deficienciához hasonló excesszív glycogén akkumulációval kísértén.<sup>28</sup> A Danon betegség molekuláris diagnózisa a LAMP-2 protein hiányának kimutatásából áll a váz-, illetve szívizomban, vagy a *LAMP2* gén mutációinak azonosításából.

#### 1.1.1.2.2. Fabry betegség

A Fabry betegség (OMIM# 301500) X-kromoszómához kötött recesszíven öröklődő ritka kórkép, melyet az  $\alpha$ -galaktozidáz A enzim ( $\alpha$ -gal A; GLA; EC 3.2.1.22) hibás működése okoz.<sup>29</sup> Az enzim hidrolizálja a glikolipidekből és glikoproteinekből származó terminális alfa-galaktozil molekuláris részeket, nem megfelelő működése következtében intralizoszómális glikoszíngolipid lerakódás történik, mely vagy szisztémás vagy szerv-specifikus Fabry betegséghez vezet. A hemizigóta érintetteknél a betegség elsősorban acroparesthesia,

angiokeratoma, hypohidrosis, cornealis és lenticularis elváltozások formájában maniszfesztlódik, illetve progresszív vaszkuláris károsodás jön létre a vesében, szívben és az agyban. Első tünetek gyermekkorban vagy a serdülőkor korai szakaszában jelentkeznek. Kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris érintettségre utaló tünetek általában a negyedik dekádban alakulnak ki. A szív érintettsége bal kamra hypertrophia, hypertrophiás cardiomyopathia, vezetési zavarok formájában a Fabry betegek 60%-ban mutatható ki. Veseelégtelenség, szívégtelenség és/vagy szívinfarktus, stroke a leggyakoribb halálokok az érben lerakódott és felhalmozódott lipid lebontási termékek, a globotriaosylceramid (GL-3) miatt.

A humán  $\alpha$ -galaktozidáz A enzimet a *GLA* (OMIM#300644) gén kódolja, mely az X kromoszómán található (Xq21.3-q22). A gén legfőbb transzkriptuma 1318 bázispárból áll, 7 exont és 6 intront tartalmaz, mely egy 429 aminosavból álló homodimer glikoproteint kódol. Jelenleg az irodalomban 664 *GLA* gént érintő mutáció ismert, melyek összefüggésbe hozhatók Fabry betegség kialakulásával.

#### 1.1.1.2.3. Transthyretin amyloidosis

Az amyloidosis olyan betegségek összefoglaló elnevezése, melyet egymáshoz nagyon hasonló, morfológiailag megkülönböztethetetlen, gyűjtőnévükön amyloidnak nevezett extracelluláris lerakódások okoznak. A prekursor fehérje a szérumban abnormális formában és mennyiségben lehet jelen, de pontosan nem tisztázott, hogy mi teszi ezeket a fehérjéket amyloidogénné. Az amyloid depozíció sokféle szövetet, szervet érinthet, leggyakrabban a vesét, májat, szívet, a vegetatív idegrendszert, akár együttesen több szervet vagy izoláltan egy-egy szervet.<sup>30</sup>

A szív érintettsége az amyloidosis három formájában a leggyakoribb. Az AL amyloidosisban immunglobulin könnyűlánc lerakódás jön létre, míg az SSA (senile systemic amyloidosis) amyloidosisban vad típusú transthyretin fehérje, az ATTR amyloidosisban mutáns transthyretin fehérje akkumulációja történik.<sup>31</sup> Ezeken kívül még külön csoportba soroljuk a szérum-amyloid-A eredetű amyloidosist (AA) és az izolált pitvari amyloidosist (AANF).<sup>32, 33</sup> A vad típusú transthyretin lerakódása által okozott szenilis amyloidosis esetén tipikusan 70-80 éves korban, míg az örökletes típusú amyloidosis esetében 60 éves korban jelentkezik a betegség. A transthyretin amyloidosis típusosan két szervrendszert érint, mely alapján két domináló fenotípusban jelentkezik a betegség: örökletes amyloid polineuropathiában a fenotípust a neuropathia dominálja, míg familiáris szív amyloidosisban a cardiomyopathia a lényegi morfológiai eltérés. Mindazonáltal a két fő fenotípus között lényegi átfedés lehetséges, és fentiekén túl okulo-meningeális formák is ismertek.<sup>34</sup>

A családi öröklődést mutató TTR-kapcsolt amyloidosis (ATTR) autoszomális domináns öröklésmenetű betegség, inkomplett penetranciával, amelyet a transthyretint kódoló *TTR* gént érintő mutáció okoz. A *TTR* gén (TTR; MIM# 176300) a 18-as kromoszómán található

(18q12.1), legfőbb transzkriptuma 957 bázispárból áll, 4 exont és 3 intront tartalmaz, mely egy homotetramer transthyretin fehérjét kódol.

#### 1.1.1.2.4. Mitochondriális cardiomyopathia

A primer mitochondriális betegségek több szervrendszert érintő ritka multisztémás betegségek, melyeket a mitochondrium optimális működéséért felelős gének: a mitochondriális genom (mtDNS) és kb. 1500 nukleáris gén hibája okoz. A kórkép bármely szervet érintheti, jelentős morbiditással jár.<sup>35</sup> Az mtDNS-t érintő betegségek prevalenciája 1:5000-hez.<sup>36</sup> Mivel az egyes szövetek energiaigényüktől függően eltérő mennyiségben tartalmaznak mitochondriumokat, az mtDNS mutációi elsősorban azokat a szerveket károsítják, amelyek működése különösen energiaigényes. Ennek megfelelően elsősorban az idegrendszert (görcsrohamok, ataxia, dementia, encephalopathia formájában), a vázizomzatot (gyengeség, fáradékonyság, myopathia formájában) és a szívet (cardiomyopathia, vezetési zavar formájában) érinti,<sup>37</sup> de számos más megjelenési formája ismert. A betegség első tünetei különböző életkorban jelentkezhetnek. Típusos esetben a stroke-szerű neurológiai gócjelek már a második évtizedben megjelenhetnek. A heteroplazmia jelensége (a mtDNS betegségben szenvedő egyén sejtjeiben a vad típusú és mutáns mtDNS-molekulák különböző arányban, együtt vannak jelen) magyarázza a szervspecifikus manifesztációkat, melynek súlyossága nem mindig korrelál a heteroplazmia arányával. A mitochondriális DNS betegségekre maternális öröklődés jellemző, ennek oka, hogy csak a petesejt mitochondriumai kerülnek az embrióba.

A mitochondriális DNS zárt, cirkuláris, kettősláncú DNS, melyet 16569 bázis alkot, szekvenciája 37 gént kódol. Az mtDNS rendkívül gazdaságos, nincsenek benne intronok és csak minimális nem-kódoló DNS szakaszt tartalmaz. A legjellemzőbb mtDNS génvariáns, az m.3243A>G variáns, a MELAS szindrómás (mitochondriális encephalomyopathia, laktát acidózis és stroke-like epizódok) esetek több, mint 80%-ért felelős.<sup>38</sup> Az m.3243A>G variáns egy pontmutáció, ami az MT-TL1 gént érinti, és a mitochondriális transzfer RNS egyik leucinjét károsítja [tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>]. Ezzel a mitochondriális transzlációs folyamat megszakad, amely a légzési lánc károsodásához, és az aerob metabolizmusban csökkent ATP termelődéshez vezet. Bár a MELAS betegek többségükben az m.3243A>G variánst hordozzák, ez a mutáció nem specifikus MELAS szindrómára, hiszen más betegségekben, úm. progresszív ophtalmoplegia externában (PEO), cardiomyopathiában, sensorineurális sükettségben és anyai öröklődést mutató diabetes mellitusban is megtalálható.<sup>35</sup> Bár a m.3243A>G mutációhordozó betegek klinikai képét általában a neurológiai tünetek dominálják, fenti betegek nagy többségében a normális echocardiographiás leletek ellenére szív MRI vizsgálattal korán megjelenő abnormis kardiális funkció mutatható ki, melynek foka jól korrelál a vázizomban megtalálható mutáns mtDNS arányával.

A mitochondriális betegségekben észlelt cardiomyopathia típusos esetben hypertrophiás cardiomyopathia, de dilatatív cardiomyopathia is lehet. Hypertrophiás cardiomyopathia

esetén diagnosztikus „red flag”-ek, vészjelzők hívhatják fel figyelmünket mitochondriális cardiomyopathia lehetőségére. Utóbbiak közül a tanulási nehézség, mentális retardáció, hallászavar, látászavar, izomgyengeség, ptosis, bal kamra falmozgászavar, rövid PQ intervallum, AV block emelendők ki.<sup>23</sup>

## 1.1.2. IONCSATORNA BETEGSÉGEK

### 1.1.2.1. Hosszú QT szindróma

A hosszú QT szindróma (long QT syndrome, LQTS) a testfelszíni elektrokardiogram (EKG) szívfrekvenciára korrigált QT időtartamának (QTc) megnyúlásával jellemzett aritmogén kórkép, mely típusosan halmozottan ismétlődő eszméletvesztéses rohamok (syncope) képében jelentkezik. A betegséget dominálónan ioncsatornákat kódoló gének mutációi okozzák, melyek celluláris szinten a szívizomsejtek következményesen megnyúlt repolarizációjához vezetnek. Utóbbi ritmuszavarokra, specifikusan 'torsade de pointes' típusú polimorf kamrai tachycardiára (TdP VT) hajlamosít, mely hirtelen szívhalálhoz vezethet.

A szindrómát elsőként Jervell és Lange-Nielsen írta le 1957-ben, kik egy norvég családban négy veleszületett süketiségben szenvedő gyermeket észleltek, EKG-jukon megnyúlt QT tartammal. Az érintett gyermekekben többször fordult elő eszméletvesztéssel járó rosszullet és a négy gyermek közül három meghalt 10 éves kor előtt.<sup>39</sup> Később, 1963-ban Romano, ill. 1964-ben Ward észlelt olyan hallászavar nélküli családokat, ahol a nyugalmi EKG-n látott QT megnyúláshoz kamrafibrilláció és következményes eszméletvesztés társult.<sup>40, 41</sup> A Ward által észlelt családban az érintett testvérpár édesanyjának szintén megnyúlt QT tartama volt, ill. anyai nagynénjüknél hasonlóképpen eszméletvesztéses rohamokat észleltek, melyek hirtelen szívhalálhoz vezettek 30 éves korában. A betegséget Magyarországon először 1972-ben írták le, a Szegedi Orvostudományi Egyetemen (Csanády és Kiss).<sup>42</sup>

Az LQTS a szív ioncsatornáinak betegsége. Ezidáig mintegy tizenhárom, főként kálium, nátrium és kalcium csatornát kódoló gén érintettségét mutatták ki LQTS okaként. Az érintett gének alapján LQT alcsoportokat határozunk meg. Közülük a *KCNQ1* (*KvLQT1*) génmutációk által okozott LQT1 altípus,<sup>43</sup> a *KCNH2* (*HERG*) génmutációk által okozott LQT2 altípus,<sup>44</sup> ill. az *SCN5A* génmutációk által okozott LQT3 alcsoport<sup>45</sup> a legjelentősebb. Az LQT1 alcsoport a betegek 40-55%-ban, az LQT2 alcsoport a betegek 35-45%-ban, az LQT3 a betegek 2-8%-ban fordul elő. A többi LQT alcsoport előfordulása sokkal ritkább. A *KCNQ1* és *KCNE1* gének a kifelé irányuló, egyenirányító lassú kálium ( $I_{Ks}$ ) csatornát; a *KCNH2* és *KCNE2* gén a kifelé irányuló, egyenirányító gyors kálium ( $I_{Kr}$ ) csatornát, az *SCN5A* gén a szív nátrium csatornáját ( $I_{Na}$ ) kódolja. Az mutációk által érintett  $I_{Ks}$  és  $I_{Kr}$  ioncsatornák strukturális vagy funkcionális károsodása a repolarizáló, kifelé irányuló  $K^+$  áramot késleltetik, míg az *SCN5A* gén mutációi a szívizom depolarizációját elindító  $Na^+$  csatorna késői inaktiválódását és újranyílását okozzák. Mindezen eltérések hatására a szívizom repolarizációja megnyúlik, ami az EKG-n a QT szakasz meghosszabbodásában

jelentkezik. A megnyúlt repolarizáció celluláris szinten ún. korai utódepolarizáció kialakulását teszi lehetővé, mely a kamrai ritmuszavar kialakulásának celluláris elektrofiziológiai triggere.

A már korábban említett, receszíven öröklődő és a QT megnyúlás mellett veleszületett süketséggel jellemzett Jervell-Lange-Nielsen szindróma (JLNS) ill. az autoszomális domináns Romano-Ward szindróma (RWS) mellett az LQTS további két szindróma asszociált formája ismeretes. Az egyik az Andersen-Tawil szindróma (ATS, LQT7), melyet a *KCNJ2* gén mutációi okoznak, a másik a Timothy szindróma (TS, LQT8), melyet a  $\text{Ca}^{++}$  csatorna alfa alegységét kódoló *CACNA1* gént érintő mutációk hoznak létre.

#### 1.1.2.2. Andersen-Tawil szindróma

Az Andersen-Tawil szindróma (ATS) periodikus paralízis, kamrai aritmiák és fejlődési rendellenességek triászával jellemzett ritka kórkép.<sup>46</sup> A fejlődési rendellenességeket koponya-, arc- és vázizomzat elváltozások jellemzik, ú.m. alacsonyan ülő fülek, mélyen ülő szemek, hypertelorizmus, magas homlok, magasan álló orrhát, micrognathia és alacsony termet. Az ATS betegekben a kardiális érintettséget QT prolongáció, prominens U hullámok, kamrai extrasystolia és típusos esetben bidirekcionális kamrai tachycardia jellemzi.<sup>47</sup> Az ATS autoszomális domináns módon öröklődik és a legtöbb esetben a *KCNJ2* génben előforduló mutációk okozzák.<sup>48</sup> A *KCNJ2* gén dominálón a szívben, vázizmokban és epitheliumban expresszálódik. A gén a 17-es kromoszómán található és két exonból áll. A *KCNJ2* gén produktuma a Kir2.1-es alegység, mely a fő pórus formáló alegység a befelé egyenirányító  $\text{K}^+$  csatornában, melyen keresztül az  $\text{I}_{\text{K1}}$  transzmembrán kálium áram folyik. Az  $\text{I}_{\text{K1}}$  ionáram a szív akciós potenciáljának terminális fázisához járul hozzá és kulcsszerepe van a nyugalmi membránpotenciál stabilizálásában.<sup>49</sup>

#### 1.1.2.3. Timothy szindróma

A Timothy szindróma (TS) egy több szervrendszert érintő rendkívül ritka genetikai rendellenesség.<sup>50</sup> Klinikailag két jellegzetes megjelenési formája van. Az 1-es típusú Timothy szindrómát (TS1) QT prolongáció, szívfejlődési rendellenességek (nyitott ductus arteriosus, foramen ovale, kamrai septum defektus), faciális eltérések (mélyen álló orrhát, kisebb felső állkapocs, alacsonyan ülő fülek, kisebb vagy hiányzó fogak), epizódikus hypoglycaemia és neurológiai tünetek jellemzik, mint pl. fejlődésben történő elmaradás, autizmus, görcsrohamok, és intellektualitás hiány.<sup>51</sup> A TS1 morfológiai jellemzői közül kiemelendő a syndactylia, mely az irodalomban közölt esetek 100%-ban jelen volt.<sup>51-58</sup> A 2-es típusú Timothy szindrómában (TS2) szenvedő betegeknél nincs syndactylia, azonban hordozzák a többi szervrendszert érintő manifesztációkat.<sup>59-63</sup> A TS-s betegekben az extrém QT prolongáció miatt kamrai tachycardia/fibrilláció (VT/VF), ill. hirtelen szívhalálhoz

vezető szívmegállás alakulhat ki. A több szervrendszert érintő rendellenességek komplikációi gyakran korai életkorban halálhoz vezethetnek.

A TS1 predomináns genetikai okát 2004-ben azonosították, egy kanonikus 'de novo' heterozigóta misszensz mutáció formájában.<sup>51</sup> Utóbbi a szív fő L-típusú kalcium csatornáját ( $Ca_v1.2$ .) kódoló *CACNA1C* gén alternatív módon splice-olódó 8A exonját érintette, egy p.Gly406Arg mutáció formájában. A TS2-es eseteiben, egy identikus p.Gly406Arg és egy további p.Gly402Ser mutációt azonosítottak a *CACNA1C* gén 8-as exonjában.<sup>63</sup> A *CACNA1C* gén 8-as és 8A exonjainak splicing-ja alternatív, egymást kölcsönösen kizáró módon történik, azonban az esetek többségében a 8-as exon a domináló isoforma. Nemrégiben további mutációkat is leírtak TS páciensekben, melyek mind a *CACNA1C* gént érintik.<sup>64-66</sup>

#### 1.1.2.4. Familiáris bradycardia

A sinus csomó specializált sinoatriális myocytái kulcsszerepet játszanak a normál sinus ritmus generálásában és a szívfrekvencia (heart rate, HR) autonóm regulációjában. A HR szabályzásának egyik legfontosabb molekuláris tényezői közé tartoznak a hiperpolarizáció aktivált, ciklikus nukleotid kapuzott (HCN) ioncsatornák, amelyek egy befelé irányuló kevert kation áramot vezetnek, amelyet a hiperpolarizáció aktivál és a cAMP megkötése modulál. Ez a pacemaker, 'funny' áram ( $I_f$ ) a pacemaker sejtek korai diasztolés depolarizációjához járul hozzá, és meghatározza a szívfrekvenciát.

Az f-csatornákat a *HCN* géncsalád kódolja. Az eddig ismert négy *HCN* alegység közül a *HCN4* expresszálódik legnagyobb mértékben az emlősök sinoatriális csomójában. Az első *HCN4* gént érintő mutációt, mely sick sinus szindrómát okozott (SSS2, OMIM #163800) 2003-ban;<sup>67</sup> míg a betegség familiáris formáját, a familiáris bradycardiát 2006-ban írták le.<sup>68</sup> Mindezidáig hozzávetőlegesen 20 olyan *HCN4* génmutációt publikáltak a szakirodalomban, melyek szívbetegségekkel társulnak.<sup>69, 70</sup> Utóbbiak közé familiáris bradycardia,<sup>67, 68, 71-74</sup> atrioventricularis blokk,<sup>75</sup> korai megjelenésű pitvarfibrilláció,<sup>76</sup> Brugada szindróma,<sup>77</sup> hosszú QT szindróma,<sup>74</sup> bal kamrai non-compact cardiomyopathia<sup>78-80</sup> és aorta ascendens dilatációja tartozik.<sup>81</sup> Fenti betegségek mindegyike hátterében a *HCN4* gén funkció-vesztéses ('loss of function') mutációja áll. Nemrégiben a gén egy funkció-nyeréses ('gain of function') mutációját is azonosították, mely 'inappropriate' sinus tachycardiát okozott.<sup>82</sup>

## 1.2. ARITMOGÉN TÉNYEZŐK HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

### 1.2.1. Életet veszélyeztető kamrai arrhythmikiák és hirtelen szívhalál hypertrophias cardiomyopathiában

A hirtelen szívhalál (sudden cardiac death, SCD) jelensége, mint a HCM rettegett szövödménye, már a betegség első leírása idején dokumentálásra került.<sup>83</sup> Bár az SCD a HCM-es betegek csak egy relatíve kis hányadát érinti, az a tény, hogy főképp fiatalok HCM betegekben, minden előzetes figyelmeztető tünet vagy jel nélkül jelentkezik, az SCD-t mindig is a HCM egy kiemelt figyelmet érdemelő vonásává tette. A HCM ICD terápiája óta ismert, hogy az SCD háttérében nem meglepő módon malignus kamrai ritmuszavar, primer kamrai tachycardia és/vagy kamrafibrilláció áll.<sup>84</sup> HCM-es betegek ICD regisztere alapján a malignus kamrai ritmuszavart megfelelő módon megszüntető ICD shock-ok aránya kb. 4%/év primer prevenció céljából beültetett, jórészt tünetmentes betegekben, és 11%/év szekunder prevenció céljából beültetett, abortált szívhalálon átesett HCM betegek körében.<sup>85</sup> A HCM-ben meglévő arrhythmogén szubsztát komplexitása miatt a megfelelő ICD működés ideje és formája lényegében megjósolhatatlan HCM-es betegekben. Az ICD implantáció és az esetleges tényleges ICD működés között akár 5-10 év, vagy még több idő is eltelhet, és ismertek olyan esetek is, ahol az abortált szívhalált követően évtizedeken keresztül nem jelentkezett második malignus esemény.<sup>85</sup> A megfelelő ICD működés random napszaki eloszlást mutat, mindenféle cirkadián ritmus nélkül, gyakran fizikai megterheléstől függetlenül vagy alvás közben.<sup>86</sup>

Fentiek alapján az SCD tekintetében nagy rizikójú HCM betegek kiválasztása és ezáltal a primer profilaktikus ICD implantáció indikációjának felállítása rendkívül komplex. Az SCD bekövetkeztének valószínűségét a klinikai gyakorlatban rizikóbecsléssel próbáljuk felmérni, klinikai rizikófaktorok azonosítása alapján.<sup>2, 3</sup> A legprediktívabb rizikófaktorok közé az abortált szívhalál és a spontán tartós kamrai tachycardia tartozik. További major rizikófaktorok számításba a hirtelen szívhalál előfordulása a családi anamnézisben; syncope jelentkezése, különösen, ha ismétlődő, terhelés alatt vagy fiatal korban jelentkezik; a súlyos, 30 mm-t meghaladó maximális bal kamra falvastagság; a terhelés alatt észlelt abnormis, lapos, vagy hypotenzív vérnyomás válasz; valamint a 24-órás EKG monitorizálás alatt detektált nem tartós kamrai tachycardia. Legújabb rizikó stratifikációs modellek az öt-éves SCD rizikó százalékos valószínűségét próbálják megállapítani. Amennyiben az így számított öt-éves SCD rizikó a 6%-ot meghaladja, ICD implantáció javasolt, míg ha 4% alatt van, ICD beültetésre valószínűleg nincs szükség.<sup>2</sup>

A rizikófaktorok klinikai hasznosíthatóságát megnehezíti, hogy bár negatív prediktív értékük magas, tehát az adott rizikófaktor hiánya esetén az SCD bekövetkeztének esélye alacsony, de pozitív prediktív értékük nagyon alacsony, mely szerint a rizikófaktor jelenléte csak alacsony specificitással és szenzitivitással jelzi előre az SCD bekövetkeztét. Utóbbi tény az is jól jelzi, hogy konvencionális SCD rizikófaktorral nem rendelkező HCM-es betegekben is előfordulhat SCD.<sup>87</sup> Fentieknek megfelelően jelen SCD rizikóstratifikációs

algoritmusok távolról sem tarthatók teljesek, melyek addicionális SCD rizikófaktorok azonosításának szükségességére hívják fel a figyelmet.

### 1.2.2. 'Myofiber disarray', intercalaris discus és gap junction

A HCM egy jellegzetes kórszövettani elváltozása a 'myofiber disarray'.<sup>88-90</sup> A kóros elváltozást mutató szívizomzatban ilyenkor kiterjedt területeken a normálisan párhuzamos lefutást mutató szívizomrostok helyett a hypertrophizált, olykor bizarr alakú szívizomsejtek rendezetlen, kaotikus elrendeződését lehet megfigyelni, a különálló szívizomsejtek abnormis kapcsolódásával. Egyes esetekben kereszt, vagy háromszög alakú szívizomsejt struktúrák jönnek létre, vagy kötőszövetes centrum körül kialakuló, több szívizomsejtből álló gyűrűszerű szívizomrost képződmények. A 'myofiber disarray' típusosan az interventricularis septumban a legkifejezettebb, de a bal és a jobb kamra szabad falában is megfigyelhető. Tekintettel arra, hogy a 'myofiber disarray' más veleszületett és szerzett szívbetegségben is kialakulhat,<sup>91, 92</sup> jelenléte nem tekinthető specifikusnak HCM-re, de a nagy területet érintő, kiterjedt és kifejezett 'myofiber disarray' jelenléte igen.<sup>88-90</sup> A 'myofiber disarray' meglétét már régóta összefüggésben állónak gondolják a HCM patofiziológiai és klinikai jellegzetességeivel, de ennek direkt bizonyítékai mindeddig hiányoznak.

A kamrai munkaizomzat szívizomsejtjeit specializált szarkolemma struktúrák, az intercalaris discus-ok kapcsolják össze.<sup>93, 94</sup> Mindegyik discus számos intercelluláris kapcsoló struktúrát tartalmaz, melyek három formája ismert: a fascia adherens, a dezmoszóma és a gap junction. Mind a fascia adherens, mind a dezmoszóma -melyek egymással szorosan korreláló elhelyezkedést mutatnak- a szívizomsejtek mechanikus kapcsolódásáért felelősek, valamint a kontraktilis filamentumok és a cytoskeleton rögzítéséért az egymással kapcsolódó plazmamembránok között.<sup>95</sup> A gap junction-ök a szívizomsejtek között alacsony ellenállású kapcsolatok biztosításával az akciós potenciál gyors és rendezett tovafutásához járulnak hozzá, mely nélkülözhetetlen a szívizomsejtek összehangolt összehúzódása céljából.<sup>93</sup>

### 1.2.3. A testfelszíni EKG repolarizációs paraméterei a hirtelen szívhalál előrejelzésére hypertrophias cardiomyopathiában

A testfelszíni EKG repolarizációs paraméterei egyszerű vizsgálhatóságuknál fogva ideális markernek tűnnek a hirtelen szívhalál non-invazív prognosztikus markereiként. A korrigált QT távolság (QTc) megnyúlását és a QT diszperzió (QTd, a repolarizációs heterogenitás térbeli jellemzője) növekedését már igazolták HCM-es betegekben,<sup>96-98</sup> de sem a QTc, sem a QTd nem bizonyult prediktívnek az SCD előre jelzése szempontjából.<sup>98, 99</sup> A T hullám csúcsától a T hullám végéig mért Tpeak-Tend távolság, egy szintén a repolarizáció térbeli (részben transzmurális) diszperzióját jelző paraméter,<sup>100</sup> egyes közlések szerint jobban előre jelezte a torsade de pointes (TdP) kamrai tachycardia bekövetkeztét veleszületett<sup>101</sup> vagy

szerzett hosszú QT szindrómában.<sup>102</sup> A Tpeak-Tend távolság megnyúlása az Oregon Sudden Unexpected Death Study tanulmányban is prediktívnek bizonyult SCD előre jelzésére.<sup>103</sup> Kisszámú, troponin I génmutációt hordozó HCM-es betegben a Tpeak-Tend távolság SCD-vel való kapcsolatát igazolták.<sup>104</sup> A repolarizáció térbeli diszperziójának megnövekedése mellett a repolarizáció időbeli variabilitásának (QT variabilitás) megnövekedését is kapcsolatba hozták a kamrai arrhythmiákra való fokozott hajlammal és az SCD kialakulásával számos kardiális kórképben.<sup>105-107</sup> A QT távolság ütésről-ütésre számított, rövid távú variabilitása (QT-STV) egy olyan új EKG paraméternek tűnik, mely megbízhatóbb módon jelzi előre a súlyos kamrai ritmuszavarokat mind klinikai, mind experimentális adatok szerint.<sup>108</sup>

### **1.3. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIO HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN**

A HCM az esetek mintegy 25%-ban obstruktív formában jelentkezik, mely esetben nyomásgradiens detektálható a bal kamra kifolyótraktusában (left ventricular outflow tract, LVOT) a bal kamraüreg csúcsa és a subaortikus régió között.<sup>109, 110</sup> A subaortikus obstrukciót a mitrális billentyű anterior vitorlájának előremozdulása (systolic anterior motion, SAM) és a septummal való összeérése okozza, mely mechanikus akadályt képez a bal kamrai systoles ejekcióval szemben.<sup>111, 112</sup> Utóbbi jelenség az obstruktív HCM-es betegekben szinte kivétel nélkül megfigyelhető mitrális regurgitációért is felelős. A LVOT nyomásgradiens következményeképp a bal kamrai végdiasztolés nyomás és bal kamrai falfeszülés nő, a diasztolés diszfunkció és a myocardiális ischaemia súlyosbodik. Bár a HCM-ben megfigyelhető obstrukció klinikai jelentőségét sokáig vitatták, legújabb adatok arra utalnak, hogy a LVOT obstrukció jelenléte prognosztikai jelentőséggel bír. Nagyszámú HCM-es betegcsoport vizsgálatával igazolták, hogy 30 Hgmm-t meghaladó nyugalmi szisztolés LVOT csúcsgradiens a HCM-es betegek mortalitásnak, a betegség NYHA stádiumának, a szívelégtelenségbe való progresszióknak és a stroke előfordulásának független prediktora.<sup>109</sup>

Tekintettel arra, hogy az obstruktív HCM-es betegek gyakran optimális gyógyszeres kezelés ellenére sem válnak tünetmentessé, az obstrukció csökkentésére alternatív megoldásokat dolgoztak ki. Az obstrukció sebészi úton, myectomiával való megszüntetése (Morrow műtét), mely során a gradiens morfológiai alapját képező hypertrophizált septum részt kimetszik,<sup>113</sup> sokáig az obstruktív HCM kezelésének „gold standard”-ja volt. A nyomásgradiens DDD pacemaker beültetéssel való csökkentése nem váltotta be a hozzá fűzött reményeket.<sup>114-116</sup>

A perkután transzkoronáriás septalis myocardium ablatio ötlete, mint az obstruktív HCM kezelésének alternatívája, 1989-ban merült fel, miután hasonló septalis ablatiot sikeresen alkalmaztak kamrai tachycardia kezelésekként.<sup>117</sup> A kezdeti megfigyelések HCM-ben azt mutatták, hogy a septalis ág időleges, felfűjt ballonnal való okkludálása a LVOT gradiens csökkentéséhez vezethet. A beavatkozás során, mely leginkább a perkután transzluminális

septalis myocardium ablatio (PTSMA) néven ismeretes, a hypertrophizált septalis myocardiumban az adott myocardium részt ellátó septalis artériába juttatott abszolút alkohollal művi nekrozist idéznek elő. A nekrotizált szívizomzat a későbbiekben fibrotizálódik, mely csökkenti a hypertrophia mértékét,<sup>118</sup> ezáltal növeli az LVOT tágasságát,<sup>119</sup> csökkenti a SAM-ot, a kiáramlási gradienst és a mitrális regurgitációt.<sup>120, 121</sup> Sigwart 1995-ben közölte az első hat HCM-es betegen végzett alkoholos septalis ablatio eredményét.<sup>122</sup> Az eljárás hamarosan elterjedté vált, elsősorban a Bad Oynhausen-i csoport úttörő munkája által,<sup>120, 121, 123, 124</sup> s napjainkra mintegy 3000 ilyen beavatkozást végeztek el a világon, kb. ugyanannyit, mint sebészi myectomyt 40 év alatt.<sup>125</sup> Ezzel a PTSMA a kiáramlási obstrukcióval bíró HCM-es betegekben az LVOT gradiens csökkentésére napjainkra a sebészi myectomy alternatívájává vált. Az első magyarországi alkoholos septum ablatióról Apró és mtsai. számoltak be előadásukban,<sup>126</sup> míg kontraszt echocardiographia vezérelt PTSMA-t munkacsoportunk alkalmazott először Magyarországon.

PTSMA a New York Heart Association (NYHA) III-IV ill. Canadian Cardiac Society (CCS) III funkcionális stádiumban lévő betegekben indikált, kik az optimális gyógyszeres kezelés ellenére sem válnak tünetmentessé, vagy gyógyszer mellékhatás ill. intolerancia miatt konzervatív terápiával optimálisan nem kezelhetőek.<sup>2, 3</sup> A beavatkozás hemodinamikai kritériuma a szignifikáns ( $>30$  Hgmm nyugalmi és/vagy  $>100$  Hgmm provokálható), SAM következtében kialakuló LVOT gradiens jelenléte. Szelektált esetekben NYHA II stádiumú betegekben is elvégezhető a beavatkozás, amennyiben a gradiens mellett más objektív limitáló tényezők, mint pl. ismétlődő terhelés indukálta syncope, terhelésre bekövetkező vérnyomásesés, paroxizmális pitvarfibrilláció igazolható. A beavatkozás morfológiai kritériuma a SAM kontaktus helyén lévő, hypertrophizált septum részt ellátó, megfelelően fejlett septális ág megléte. Amennyiben más, sebészi megoldást igénylő eltérés igazolható (kiterjedt coronaria betegség, billentyű betegség, a mitrális billentyű/papilláris izmok morfológiai abnormalitása) inkább myectomy indikált.

Sikeres PTSMA során a LVOT gradiens szignifikáns mértékben csökken már közvetlenül a beavatkozást követően, vélhetően myocardiális „stunning” következtében. A gradiens csökkenése gyakran kétfázisú lefolyást mutat, mely során a közvetlenül a beavatkozás után lecsökkent gradiens a beavatkozást követő napokban az intervenció előtti érték 50%-ra emelkedik vissza (valószínűleg a septum oedemája következtében), melyet egy fokozatos gradiens csökkenés követ, mely remodelling következtében 6-12 hónap múlva éri el végleges mértékét.<sup>127-130</sup> A sikeres septalis ablatiót követően számos kedvező strukturális és funkcionális változásról számoltak be. Echocardiographiás vizsgálattal a bal kamrai remodelling jeleként a bal kamrai hypertrophia regresszióját lehetett kimutatni, mely nemcsak az ablált septális szegmenst, hanem az indukált nekrozistól távolabb eső bal kamrai szegmenseket is érintette.<sup>118</sup> A beavatkozás következményeként normalizálódott a bal kamrai végdiasztolés nyomásérték, csökkent a systoles túlterhelés. A betegek funkcionális

stádiuma szignifikáns mértékben javult,<sup>118, 128, 131, 132</sup> hasonlóképpen futószőnyeg terheléssel ill. spiroergometriával objektívizálható módon javult terhelhetőségük is.<sup>118, 131, 133</sup>

A beavatkozás mortalitása kezdetben 1-4% között volt,<sup>134</sup> ez az érték tapasztalt centrumokban jelenleg 1% alatt van. A beavatkozás leggyakoribb peri- és postoperatív komplikációja a teljes AV blokk v. trifascikuláris blokk, mely mintegy 60%-ban fordulhat elő, de az esetek többségében átmeneti. Jelenleg a beavatkozást követően permanens pacemaker beültetésére mintegy 5%-ban van szükség.<sup>128, 132, 135</sup> Magasabb fokú AV blokk mellett szárblokk az esetek mintegy 50%-ban alakul ki, mely típusosan jobb Tawara szár blokk (ellentétben a myectomy után típusosan kialakuló bal Tawara szár blokkal).<sup>136, 137</sup> Major ritmuszavar kialakulása a beavatkozás alatt vagy után ritka. Az egyéb közölt komplikációk közé a szubakut kamrai septum defektus, agyembólia, ramus descendens anterior vagy bal közös törzs disszekció, heveny mitrális insufficiencia kialakulása, ill. jobb és/vagy bal kamra szabad fal infarktusz tartozik.

A PTSMA technikájának egyik legjelentősebb módosítása a myocardiális kontraszt echocardiographia (myocardial contrast echocardiography, MCE) intraoperatív használatának bevezetése volt.<sup>123</sup> Kezdetben hemodinamikai úton, az adott septalis ág ballonos okklúziója alatt észlelt gradiens csökkenés alapján választották ki az ablálni kívánt septalis ágat. Mindazonáltal, a gradiens dinamikus jellegéből eredendően ez utóbbi nem megbízható, s a kezdeti beavatkozások alatt magas volt a non-responderek aránya.<sup>129</sup> A MCE-t 1996-ban vezették be a PTSMA vezérlésére, s alkalmazásával a siker arány növekedett, a komplikációk aránya, főként a permanens teljes AV blokk előfordulása pedig csökkent. A MCE segítségével az ablálni kívánt septalis area tökéletesen vizualizálható, s amennyiben adott septalis ágba jutott kontraszt nem az ablálni kívánt lokalizációban jelenik meg, más septalis ág, esetlegesen atípusosan eredő septalis ág választható az alkohol bejuttatására. Amennyiben ilyen septalis ág MCE-vel nem azonosítható, az alkoholos ablatio kontraindikált. Más esetekben kontraszttelődés igazolható MCE-vel az ablálni kívánt septalis területen kívül, úm. a papilláris izmokban, a jobb és/vagy bal kamra szabad falában.<sup>138</sup> Kimutatták, hogy az első septalis ág az esetek mintegy 20%-ban a jobb kamra szabad falához is ad ágakat, ill. a septum basalis részét csak az esetek mintegy 40%-an látja el egymagában.<sup>139</sup> Ezekben az esetekben az alkoholos ablatio utóbbi struktúrák nekrozisát is előidézheti, azok minden potenciális szövődményével (szabad kamrafal ruptúra, papilláris izom ruptúra, akut mitrális/tricuspidális regurgitációval). Értelemszerűen a PTSMA ezekben az esetekben is kontraindikált. Az MCE használatának további előnye az indukált septalis nekrozis méretének optimalizálása.<sup>140</sup> Amennyiben MCE alapján az alkohol beadása után a célzott septumrész teljes mértékben opacifikációt mutat, a beavatkozás abbahagyható. Utóbbi miatt a korábbinál lényegesen kevesebb alkohol alkalmazása szükséges jelen metodika mellett, mely részben kisebb infarktus indukálásához vezet, részben nagyobb arányban sikeres a beavatkozás.

A PTSMA hosszútávú sikerességének prediktorait sok tanulmány vizsgálta. A beavatkozás után közvetlenül észlelt gradiens csökkenés, valamint a létrejövő CK emelkedés csúcsértéke

az egy éves utánkövetéskor észlelt hemodinamikai siker független prediktorai voltak egy korai vizsgálatban.<sup>141</sup> A Mayo Klinikáról származó nemrég vizsgálat szerint az idősebb életkor ( $>65$  év), alacsonyabb LVOT gradiens ( $<100$  Hgmm), kevésbé súlyos septalis hypertrophia ( $\leq 18$  mm) és kisebb bal pitvari átmérő ( $<40$  mm) voltak a hosszú távú klinikai sikeresség prediktorai.<sup>142</sup> Az operátor gyakorlata ( $>50$  elvégzett beavatkozás) hasonlóképpen a tünetmentes túlélés független prediktora volt. A mitrális billentyű vagy a septum morfológiája, a beadott alkohol mennyisége, a kezelt erek száma, vagy a septalis ág átmérője nem mutatott összefüggést a klinikai kimenetellel.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

### 2.1. ARRHYTHMOGÉN TÉNYEZŐK MORFOLÓGIAI ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

#### 2.1.1. INTERCELLULÁRIS JUNKCIÓK ELTÉRÉSEINEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

Hypertrophias cardiomyopathiában a 'myofiber disarray' egyértelmű, kifejezett morfológiai elváltozásokhoz vezet a szívizom struktúrájában, de korábban még nem vizsgálták, hogy az intercelluláris junkciók remodellációja vagy mennyiségi változása társul-e ehhez a folyamathoz. Célkitűzésünk ezért az volt, hogy immunhisztokémia és konfokális mikroszkópos vizsgálat segítségével vizsgáljuk az intercelluláris junkciók elváltozásait 'myofiber disarray'-t mutató HCM-es szívekben, különös tekintettel a gap junction-ök elváltozásaira, melyek az esetleges pro-arrhythmias szubsztrát kialakításában játszhatnak szerepet.

#### 2.1.2. REPOLARIZÁCIÓS PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

A korrigált QT távolság (QTc) megnyúlását és a QT diszperzió (QTd, a repolarizációs heterogenitás térbeli jellemzője) megnövekedését már igazolták HCM-es betegekben, de sem a QTc, sem a QTd nem bizonyult prediktívnek az SCD előre jelzése szempontjából. A QT távolság ütésről-ütésre számított, rövid távú variabilitása (QT-STV) egy olyan új EKG paraméternek tűnik, mely korábbi markereknél megbízhatóbb módon jelzi előre a súlyos kamrai ritmuszavarokat mind klinikai, mind experimentális adatok szerint. Tekintettel arra, hogy a QT-STV-t legjobb tudomásunk szerint korábban nem vizsgálták még HCM-es betegekben, vizsgálatunk célja az volt, hogy az EKG konvencionális repolarizációs paraméterei mellett a QT-STV-t értékeljük HCM-es betegekben és egészséges kontrollokban, és hogy analizáljuk, hogy fennáll-e kapcsolat a QT-STV és a bal kamra hypertrophiát jellemző, echocardiographias vagy MRI vizsgálatok útján jellemzett morfológiai paraméterek között.

## 2.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA FAMILIÁRIS ARRHYTHMOGÉN KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEKBEN

### 2.2.1. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

Magyarországon először Klinikánkon indult el a hypertrophiás cardiomyopathiás betegek genetikai vizsgálata, és munkacsoportunk azonosította az első kóroki mutációkat magyar HCM betegekből.<sup>18, 143</sup> Tanulmányunkat megelőzően azonban nem volt ismert a HCM betegekből leggyakrabban észlelt *MYBPC3* génmutációk előfordulási aránya, prevalenciája, eloszlása magyar HCM betegekből. Hasonlóképpen, nem volt hozzáférhető információ lehetséges specifikus genotípus-fenotípus összefüggésekről, penetrancia arányokról vagy specifikus expresszióról magyar HCM betegcsoportban.

Fentiek alapján célkitűzésünk az volt, hogy myozinkötő C fehérje gén (*MYBPC3*) mutációk azonosításával meghatározzuk a *MYBPC3* génmutációk előfordulási arányát magyar HCM betegpopulációban; a *MYBPC3* génmutációt hordozó betegek családjainak klinikai és genetikai analízisével elemezzük a magyar HCM betegpopulációban azonosított *MYBPC3* mutációk genotípus-fenotípus összefüggéseit, és jellemezzük egyes, magyar HCM betegekből azonosított speciális *MYBPC3* génmutációkat.

### 2.2.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA FENOKÓPIÁIBAN

Vizsgálatainkat megelőzően nem volt ismert a HCM fenokópiák előfordulási gyakorisága a magyar hypertrophiás cardiomyopathiás betegpopulációban. Tekintettel arra, hogy a HCM fenokópiák öröklődésének módja, a betegség természetes lefolyása és kezelése alapvetően eltér a sarcomer mutációk által okozott HCM-es betegektől, ezért ezekben az esetekben az etiológiai diagnózis rendkívüli nagy jelentőségű. Utóbbi nemcsak a pontos diagnózis felállításához nélkülözhetetlen, de a genetikai tanácsadás, prognosztikus megítélés és a megfelelő klinikai kezelés szempontjából is alapvető fontosságú. Célunk ezért az volt, hogy olyan HCM-es betegeket vizsgáljunk, kiknél HCM fenokópiára utaló többszervi érintettség is megfigyelhető volt. Közvetlen célkitűzésünk az volt, hogy kóroki mutációkat azonosítsunk a lizoszóma-kapcsolt membránprotein-2 (*LAMP2*) génben Danon betegség gyanúja esetén; az  $\alpha$ -galaktozidáz A (*GLA*) génben Fabry betegség gyanúja esetén; a transthyretin (*TTR*) génben felmerülő transthyretin amyloidosis gyanúja esetén; a mitochondriális genomban felmerülő mitochondriális cardiomyopathia esetén; valamint, hogy a *LAMP2*, *GLA* és *TTR* gének mutációit hordozó betegek családtagjainak klinikai és genetikai szűrésével genotípus-fenotípus összefüggéseket állapítsunk meg.

### 2.2.3. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA ÖRÖKLETES IONCSATORNA BETEGSÉGEKBEN

Korábbi munkáinkban Magyarországon munkacsoportunk azonosított elsőként kóroki mutációkat örökletes hosszú QT szindrómában szenvedő magyar betegekben a *KCNQ1*, *KCNH2* és *KCNE1* génekben.<sup>144-147</sup> Tekintettel a munkacsoportunk által szisztematikusan szűrt, regiszterben követett örökletes ioncsatorna betegekben szenvedő magyar betegek nagy számára, lehetőségünk nyílt a betegpopuláció kiterjesztett vizsgálatára.

Fentiek alapján célkitűzésünk az volt, hogy kóroki mutációkat azonosítsunk ritka örökletes ioncsatorna betegségekből és a mutációt hordozó betegek családtagjainak klinikai és genetikai szűrésével genotípus-fenotípus összefüggéseket állapítsunk meg, különös tekintettel mindeztől eddig világszerte is ritkaságnak tartott kórképekben, úm. Andersen-Tawil szindrómában, Timothy szindrómában és familiáris bradycardiában.

### 2.3. MEGFIGYELÉSEK PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIOVAL (PTSMA) KAPCSOLATBAN HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

Az obstruktív HCM kezelésére alkalmazott kontraszt echocardiographia vezérelt PTSMA-t munkacsoportunk vezette be és alkalmazta először Magyarországon. A folyamatosan végzett beavatkozásoknak köszönhetően alkalmunk nyílt olyan egyedi megfigyelésekre, mint abnormis kollaterálisok kimutatása septalis ágak között és ennek az anatómiai variánsnak a kezelésére PTSMA alatt.

Fentiekén túl célunk volt a PTSMA közvetlen eredményességének megítélése olyan új metodikákkal, mint a myocardiális perfúzió csökkenésének kimutatása videodenzitometrián alapuló idő-denzitás görbe segítségével ill. a septalis strain változásának kimutatása három-dimenziós 'speckle tracking' echocardiographia alkalmazásával.

### 3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1. ARRHYTHMOGÉN TÉNYEZŐK MORFOLÓGIAI ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

##### 3.1.1. INTERCELLULÁRIS JUNKCIÓK ELTÉRÉSEINEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

###### 3.1.1.1. Betegek

Hat, a Szegedi Tudományegyetem Patológiai Intézetében vagy a Haynal Imre Orvostovábbképző Egyetem Patológiai Intézetében kórboncolásra került szívét vizsgáltunk (koreloszlás 23-78 év, három nő, három férfi eset). Négy esetben négy különböző régióból történt mintavételezés (interventricularis septum, elülső és hátsó bal kamrai szabad fal, és jobb kamra szabad fal); de minden esetben legalább két különböző régiót vizsgáltunk, 'myofiber disarray' által érintett vagy nem érintett területeket. A szövetminták rutin fixálásra és beágyazásra kerültek. Kor- és nemi eloszlásban egyező normál, szívbetegség által nem érintett, és aorta stenosis vagy hypertonia miatt hypertrophizált szívekből származó minták szolgáltak kontrollként.

###### 3.1.1.2. Módszerek

A dezmoszómák jelölésére dezmozoplakin-ellenes, a gap junction-ök jelölésére a szívizomzat fő connexin fehérjéje, a connexin 43-ellenes polyclonális antitesteket használtunk. A dezmoszómák és gap junction-ök lokalizációjának vizsgálata egyes ill. kettős jelölésű immunhisztokémiával történt. A megfestett metszeteket konvencionális epifluorescens vagy konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk Leica TCS 4D konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal a gyártó ajánlása szerint (Leica Lasertechnik GmbH, Heidelberg, Germany). A vizsgálatban használt antitestek specifikációját és az immunhisztokémiai módszerek részleteit az Appendix-ben adjuk meg (Appendix I. Intercelluláris junkciók eltéréseinek vizsgálata hypertrophias cardiomyopathiában).

##### 3.1.2. REPOLARIZÁCIÓS PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

###### 3.1.2.1. Betegek

Harminchét konsekutív HCM-ben szenvedő beteget választottunk be a vizsgálatba. A HCM diagnózisa nemzetközi ajánlások alapján történt.<sup>2, 3</sup> A HCM betegek főbb demográfiai, klinikai és echocardiographiás paramétereit a 1. táblázat tartalmazza. A 37 beteg közül 24 beteg béta blokkolót, 8 beteg verapamilt szedett a betegség első vonalbeli terápiájaként.

Három beteg szedett ismert QT távolságot nyújtó szert (kettő amiodaront és egy propafenont).

Harminchét kor- és nemi eloszlásban azonos, szívbetegségben nem szenvedő önkéntes (átlagéletkor  $43 \pm 12$  év, férfi/nő 21/16) szerepelt kontrollként a vizsgálatban. A testtömeg-index (body mass index, BMI) szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll csoportban ( $25 \pm 4$  vs.  $28 \pm 6$  kg/m<sup>2</sup>,  $p=0.007$ , 1. táblázat). Mind a HCM betegek, mind a kontrollok kaukázusi eredetűek voltak.

1. táblázat. A HCM és kontroll csoport főbb demográfiai, klinikai és echocardiographiás paraméterei

|                                                      | Kontroll    | HCM              |
|------------------------------------------------------|-------------|------------------|
| n                                                    | 37          | 37               |
| Nem (férfi/nő)                                       | 21/16       | 21/16            |
| Kor (év)                                             | $43 \pm 12$ | $48 \pm 15$      |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )                             | $25 \pm 4$  | $28 \pm 6^*$     |
| BMI $\geq 30 / \geq 25 / < 25$ kg/m <sup>2</sup> (n) | 5/13/19     | 11/16/10         |
| NYHA osztály 0/1/2/3 (n)                             | 19/18/0/0   | 0/5/26/6****     |
| EF (%)                                               | $68 \pm 6$  | $69 \pm 9$       |
| BKEDD (mm)                                           | $48 \pm 4$  | $46 \pm 7$       |
| BKESD (mm)                                           | $30 \pm 4$  | $27 \pm 7^*$     |
| IVS (mm)                                             | $9 \pm 1$   | $20 \pm 6^{***}$ |
| PW (mm)                                              | $9 \pm 1$   | $11 \pm 2^{***}$ |

*Az értékek átlag  $\pm$  szórás formában vannak kifejezve. A kontroll csoporttal való összehasonlításban statisztikailag különböző értékeket \* jelzi [ $p < 0.05$  (\*),  $p < 0.001$  (\*\*\*),  $p < 0.0001$  (\*\*\*\*)]. HCM: hypertrophiás cardiomyopathia; BMI: body mass index; NYHA: New York Heart Association; EF: bal kamrai ejekciós frakció; BKEDD: bal kamrai vég-disztolés átmérő; BKESD: bal kamrai vég-szisztolés átmérő; IVS: interventricularis septum vastagság; PW: posterior fal vastagság.*

### 3.1.2.2. Módszerek

A betegeken öt perc időtartamú, folyamatos, 12-elvezetéses EKG regisztrálása történt fekvő állapotban, a mozgási műtermékek kiszűrése céljából. Mindegyik elvezetés EKG jele 2000 Hz-es mintavételi sebességgel digitalizálásra került egy többcsatornás, számítógéphez kötött adatfeldolgozó rendszerrel (Cardiosys A01 software, Experimetria Ltd., Budapest, Hungary; MDE Heidelberg GmbH, Heidelberg, Germany). A repolarizációs paraméterek közül a következőket elemeztük: 1) a szívfrekvenciára korrigált QT távolság (QTc), melyet a Bazett, a Fridericia, a Framingham és Hodges formulákkal korrigáltunk; 2) QT diszperzió (QTd), 3) PQ és QRS intervallum; 4) a T hullám csúcsától a T hullám végéig számított T hullám terminális része (Tpeak-Tend) és 5) a QT intervallum rövid távú variabilitása (QT-STV). Az összes HCM betegben és kontrollban transthoracikus echocardiographia történt. Standard képalkotó síkokból hagyományos morfológiai és funkcionális paraméterek meghatározása

történt meg. A maximális bal kamra falvastagság (left ventricular wall thickness, LVmax) a bármely bal kamrai szegmentumban mért legnagyobb fal átmérőként lett meghatározva. Az LVmax értékét a testfelszínre normalizáltuk (LVmax BSA). A HCM-es betegcsoport echocardiographiás paramétereit az 1. táblázat tartalmazza. Minden HCM-es betegben szív mágneses rezonancia (MRI) vizsgálat történt a bal kamrai izomtömeg (left ventricular mass, LVM) meghatározása céljából, melyet planimetriával, a manuálisan meghatározott endo- és epicardiális határok megrajzolásával végeztünk, rövid-tengelyi felvételekből, a bal kamra teljes hosszában. A papilláris izmok nem kerültek beszámításra a bal kamrai izomtömegbe. Az LVM-et szintén normalizáltuk a testfelszínre. A vizsgálat részletes módszertanát és a statisztikai elemzés részleteit az Appendix-ben adjuk meg (Appendix II: Repolarizációs paraméterek vizsgálata hypertrophiás cardiomyopathiában).

## **3.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA FAMILIÁRIS ARRHYTHMOGÉN KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEKBEN**

### **3.2.1. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN**

#### **3.2.1.1. Betegek**

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 transzthoracikus 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.<sup>2,3</sup> A betegek demográfiai jellemzőit, betegségük lefolyásának főbb adatait, valamint főbb echoparamétereiket a 2. táblázat tartalmazza. A betegeknél észlelt átlagos maximális bal kamrafal vastagság  $22 \pm 6$  mm volt, 40 esetben típusos asszimmetrikus septum hypertrophiát, 3 esetben apikális HCM-et észleltünk. Tizenöt esetben volt jelen szignifikáns ( $30 \text{ Hgmm}$ -nél magasabb gradienst) nyugalmi bal kamra kifolyótraktus obstrukció. Az átlag  $8 \pm 7$  éves (medián: 6 év) utánkövetés alatt a 45 vizsgált probandban 9 haláleset történt, 8 esetben hirtelen szívhalál formájában. ICD implantáció 6 betegben, DDD pace-maker beültetés 2 esetben, perkután transluminális septalis myocardium ablatio (PTSMA) 3 esetben, sebészi myectomy 2 esetben történt. Egy esetben, dilatatív fázisba átment HCM esetében szívtranszplantációra került sor.

Családszűrés során az index betegeknél azonosított öt különböző, specifikus MYBPC3 génmutációt hordozó [c.3697C>T (p.Gln1233Ter); c.821+1G>A; c.2864\_2865delCT

2. táblázat. A MYBPC3 génmutációra szűrt HCM-es betegpopuláció főbb demográfiai, klinikai és echocardiographiás paraméterei

|                                           |                              |
|-------------------------------------------|------------------------------|
| <b>betegszám, n (%)</b>                   | 45 (100%)                    |
| <b>férfi, n (%)</b>                       | 27 (60%)                     |
| <b>átlagéletkor (diagnóziskor, év)</b>    | 38±15                        |
| <b>igazolt familiaritás, n (%)</b>        | 18 (40%)                     |
| <b>haláleset, n (%)</b>                   | 9 (20%)                      |
| <b>halálok, n (%)</b>                     |                              |
| hirtelen szívhalál                        | 8 (89%)                      |
| egyéb (öngyilkosság)                      | 1 (11%)                      |
| <b>pitvarfibrilláció, n (%)</b>           | 11 (24%)                     |
| <b>beavatkozás</b>                        |                              |
| ICD beültetés, n (%)                      | 6 (13%)                      |
| Pace-maker implantáció, n (%)             | 2 (4%)                       |
| PTSMA, n (%)                              | 3 (7%)                       |
| PCI, n (%)                                | 2 (4%)                       |
| Myomectomy, n (%)                         | 2 (4%)                       |
| HTX, n (%)                                | 1 (2%)                       |
| <b>Echocardiographiás adatok</b>          |                              |
| Maximális bal kamra fal vastagság (mm)    | 22±6                         |
| hypertrophia lokalizáció, n               | ASH: 40, apicalis: 3, más: 2 |
| bal pitvari átmérő, mm                    | 45±11                        |
| BKEDD, mm                                 | 45±11                        |
| BKESD, mm                                 | 28±13                        |
| EF, %                                     | 61±12                        |
| LVOT gradiens nyugalomban, Hgmm           | 26±29                        |
| LVOT gradiens nyugalomban >30 Hgmm, n (%) | 15 (30%)                     |

ICD: implantábilis cardioverter defibrillátor, PTSMA: perkután transzluminális septalis myocardium ablatio, PCI: perkután coronaria intervenció, HTX: szívtranszplantáció, BK: bal kamra, ASH: aszimmetrikus hypertrophia, BKEDD: bal kamrai végdiasztolés átmérő, BKESD: bal kamrai végszisztolés átmérő, EF: ejekciós frakció, LVOT: bal kamra kifolyótraktus.

(p.Pro955ArgfsTer95); c.1776\_1777delGT (p.Ser593ProfsTer11); c.3407\_3409delACT (p.Tyr1136del)] proband családtagjait vizsgáltuk. A hatodik azonosított mutációt [c.431\_432delGT (p.Gly144AlafsTer8)] 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 3.2.1.1 alatt leírtak szerint történt. A HCM diagnózisa minden esetben nemzetközileg elfogadott diagnosztikus kritériumokon alapult, a családtagoknál a McKenna kritériumok figyelembe vételével.<sup>148</sup>

### 3.2.1.2. Módszerek

A genetikai analízis a *MYBPC3* gén teljes kódoló szekvenciájának (1-35 exonok) és szomszédos intronikus régióinak mutációanalízisével történt. A PCR produktumokat 'single strand conformation polymorphism' (SSCP) vagy 'denaturing high performance liquid chromatography' (DHPLC) chromatographiás mutációanalitikai módszerrel vizsgáltuk. Mindegyik abnormis chromatogramot mutató mintát megszekvenáltunk, az ABI PRISM 310 automata szekvenáló segítségével. A genetikai vizsgálat módszertanának részleteit az Appendix-ben adjuk meg (Appendix III: A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája).

### 3.2.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA FENOKÓPIÁIBAN

Munkánk ezen részében olyan betegeket vizsgáltunk, kiknél HCM fenokópia gyanúja merült fel. A 3.2.1.1. pont alatt részletezettekhez hasonlóan a betegeknél minden esetben anamnézis és státusz felvétel, fizikai vizsgálat, a rendelkezésre álló klinikai dokumentáció áttekintése, 12 elvezetéses testfelszíni EKG készítése és transzthoracalis echocardiographia történt. Indokolt esetben intézeti felvétel keretében részletes kardiológiai kivizsgálást végeztünk (24 órás Holter monitorizálás, terheléses vizsgálat, fekvőkerékpár stressz echocardiographia, szív MRI, coronarographia, hemodinamikai vizsgálat). A HCM diagnózisa minden esetben nemzetközileg elfogadott diagnosztikus kritériumokon alapult.<sup>2, 3</sup>

#### 3.2.2.1 *LAMP2* génmutációk azonosítása Danon betegség gyanúja esetén

##### 3.2.2.1.1 Betegek

Két nem rokon beteget és családjukat vizsgáltuk, kiknél HCM morfológiai képe volt megfigyelhető és felmerült Danon betegség gyanúja (izomsorvadás jelei, mentális retardáció) is.

##### 'A' család

Az 'A' család index betege, egy román kisfiú, (1. ábra, III:1 családtag), 12 éves korában szívzöreje miatt került először észlelésre. EKG-ján (2. ábra, panel A) sinus ritmus és rövid PQ távolság mellett széles QRS komplexumok voltak megfigyelhetőek Wolff-Parkinson-White (WPW) szindrómára emlékeztetően. Echocardiographia súlyos aszimmetrikus bal kamra hypertrophiát igazolt, legkifejezettebben a szabad falon (interventricularis septum vastagság: 30 mm, BK szabad fal vastagság: 39 mm), megtartott BK ejekciós frakcióval (BKEF: 64%), a mitrális billentyű SAM jelenségével, kifejezett bal karma kifolyótraktus obstrukcióval (nyugalmi szisztolés csúcsgradiens: 178 Hgmm) és súlyos mitrális insufficienciával (2. ábra, panel C és 3. táblázat). A hypertrophia a jobb kamrát is érintette. A beteg 14 éves korában progresszív izomgyengeség jelentkezett. Fizikális vizsgálattal

astheniás testalkatot (testtömeg index: 16,14) és a scapulohumeralis izmok proximális atrophiját lehetett észlelni. Mérsékelt fokú mentális retardáció állt fenn 48-as IQ-val (Raven skála), affektív és kognitív éretlenséggel. Neurológiai vizsgálata proximális motoros deficitet, deltoid és triceps pseudohypertrophiával kísért súlyos izomatrophiát, bilaterális talus varust és osteotendinosus hyporeflexiát igazolt. Laborleleteiben emelkedett transzamináz [GPT: 183 U/l (normál tartomány: 2–41 U/l), GOT: 376 U/L (normál tartomány: 2–38 U/l)], kreatin foszfokináz (CK): 1236 UI/l (normál tartomány: 24–270 U/L), és laktát dehidrogenáz (LDH): 833 U/l (normál tartomány: 40–300 U/l) szinteket lehetett észlelni. Fentiek alapján limb-girdle izomdisztrófiát diagnosztizáltak.

A beteg 15 éves korában, még megtartott bal kamra funkció mellett (BKEF: 62%), implantábilis cardioverter defibrillátor (ICD) beültetés történt SCD primer profilaxis céljából. Három évvel később, cardioverzióval konvertálható pitvari flutter jelentkezett. A 11 éves utánkövetés utolsó évében, a beteg 23 éves korában dilatatív fázisba való progressziót lehetett megfigyelni, bal kamra dilatáció jeleivel (BKEDD 30 mm-ről 41 mm-re nőtt) és az ejekciós frakció csökkenésével (64%-ról 35%-ra). Echocardiographiás vizsgálattal bal pitvari és bal kamrai thrombus is kimutatható volt, mely miatt orális anticoaguláns terápia indult. A betegnél jelenleg pitvarfibrilláció észlelhető, 61/min kamrai frekvenciával.

A beteg családtagjainak klinikai szűrése számos érintett családtagot azonosított. A beteg **anyai nagyanyja** (1. ábra, I:2 családtag) New York Heart Association (NYHA) III funkcionális stádiumú és krónikus pitvarfibrillációval járó non-obstruktív HCM-ben szenvedett. Anti-bradycardia indikációval 44 éves korában VVI pace-maker beültetés történt, szívelégtelenség miatt, 60 éves korában exitált. Az index beteg **édesanyja** (1. ábra, II:1 családtag) EKG-ján V4-6 elvezetésekben negatív T hullámok látszanak, de a Danon betegség klinikai tüneteitől mentes. Az **anyai féltestvérnél** (1. ábra, III:6 családtag) non-obstruktív HCM-et és izomdystrophiát (emelkedett GOT: 360 U/l, GPT: 373 U/l, CK: 1739 U/l, CK-MB: 11,7 ng/ml, és LDH: 1004 U/l) állapítottak meg 20 éves korában. Huszonöt éves korában primer SCD profilaxis és alacsony (24–36/min) kamrai frekvenciával járó pitvarfibrilláció miatt ICD beültetés történt. Huszonkilenc éves korában, progresszív szívelégtelenség és stroke miatt halt meg. A beteg **nagybátyjánál** (1. ábra, II:3 családtag) non-obstruktív HCM-et, pitvarfibrillációt, szívelégtelenséget, majd 23 éves korában III fokú AV blokkot állapítottak meg, mely miatt pace-maker beültetés történt. Progreáló szívelégtelenség miatt 34 éves korában exitált. A beteg **nagynénjénél** (1. ábra, II:6 családtag) 18 éves kora óta volt ismert non-obstruktív HCM. Hat évvel később, pitvarfibrilláció, LBBB és súlyos szívelégtelenség alakult ki bal kamra dilatációval

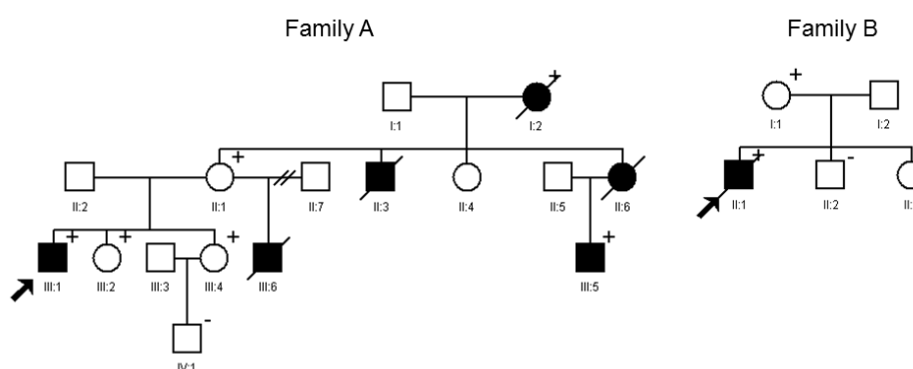
3. táblázat. A LAMP2 génmutációkat hordozó családtagok demográfiai és klinikai jellemzői

| Család | Családtag | Nem   | Életkor<br>(év)* | Betegség<br>miatti<br>halálozás | Klinikailag<br>érintett | Genetikailag<br>érintett | Kardiális<br>fenotípus | BKmax<br>(mm) | Klinikai lefolyás                                                                             |
|--------|-----------|-------|------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| A      | I:2       | nő    | 44/60            | igen                            | igen                    | igen                     | HCM                    | 15.4          | PF, PM implantáció, exitus SZE miatt                                                          |
| A      | II:1      | nő    | NA/44            | nem                             | nem                     | igen                     | normál                 | 12            | negatív T hullámok V4–V6-ban                                                                  |
| A      | II:3      | férfi | 23/34            | igen                            | igen                    | NA                       | HCM                    | 25            | PF, AVB, PM implantáció, 34 évesen exitus                                                     |
| A      | II:6      | nő    | 18/24            | igen                            | igen                    | NA                       | HCM                    | 18            | PF, dilatatív fázisba való progresszió, exitus<br>SCD miatt                                   |
| A      | III:1     | férfi | 12/20            | nem                             | igen                    | igen                     | HCM                    | 39            | limb-girdle izom dystrophia, mentális<br>retardáció, PF, ICD implantáció                      |
| A      | III:2     | nő    | NA/25            | nem                             | nem                     | igen                     | normál                 | 10.7          |                                                                                               |
| A      | III:4     | nő    | NA/21            | nem                             | nem                     | igen                     | normál                 | 11.2          |                                                                                               |
| A      | III:5     | férfi | 13/14            | nem                             | igen                    | igen                     | HCM                    | 40            | limb-girdle izom dystrophia, mentális<br>retardáció                                           |
| B      | I:1       | nő    | NA/48            | nem                             | nem                     | igen                     | normál                 | 10            | RF abláció pitvari flutter miatt                                                              |
| B      | II:1      | férfi | 14/20            | igen                            | igen                    | igen                     | HCM                    | 28            | CK emelkedés, PSVT, akcesszórius köteg,<br>ICD implantáció, exitus intraktábilis SZE<br>miatt |
| B      | II:2      | férfi | NA/12            | nem                             | nem                     | nem                      | normál                 | 8             |                                                                                               |

\*diagnózis/utolsó utánkövetés vagy halál idején; BKmax: maximális bal kamra fal vastagság; NA: nincs adat; HCM: hypertrophiás cardiomyopathia; PF: pitvarfibrilláció; AVB: magas fokú AV block, PM: pace-maker; SCD: sudden cardiac death, hirtelen szívhalál; ICD: implantábilis cardioverter defibrillátor; RF: radio-frekvenciás; CK: kreatin kináz; PSVT: paroxysmalis supraventricularis tachycardia; SZE: szívelégtelenség

és csökkent ejekciós frakcióval (BKEDD: 59 mm, BKEF: 25%). DDD pace-maker beültetést terveztek, de a beteg hirtelen szívhalállal meghalt.

A beteg **unokatestvérénél** (1. ábra, III:5 családtag) 13 éves kora óta ismert obstruktív hypertrophiás cardiomyopathia, mentális retardáció és limb–girdle típusú izomdystrophia. Echocardiographiás vizsgálata súlyos bal kamra hypertrophiát mutatott, a szabad falon nagyobb mértékben, mint a septumon (interventricularis septum vastagság: 25 mm, bal kamra szabad fal vastagság: 40 mm), és 57 Hgmm gradienssel járó bal kamra kifolyótraktus obstrukciót (2. ábra, D panel és 3. táblázat). Laborleleteiben emelkedett transzamináz, CK és LDH (GOT: 234 U/l, GPT: 360 U/l, LDH: 1254 U/l, és CK: 1329 U/l) értékek voltak megfigyelhetők. Szív MRI vizsgálata megerősítette a súlyos bal kamra hypertrophia meglétét (BK szabad fal: 42 mm, interventricularis septum: 30 mm; 2. ábra, E és F panel). Gadolinium kontraszt késői fokális halmozást mutatott a septum bazális és apikális szegmensében, valamint a bal kamra szabad falában. A 4 éves utánkötése utolsó évében, dilatatív fázisba való progressziót lehetett megfigyelni, szisztolés diszfunkcióval (BKEDD 25 mm-ről 56 mm-re nőtt, BKEF 88%-ról 45%-ra csökkent).

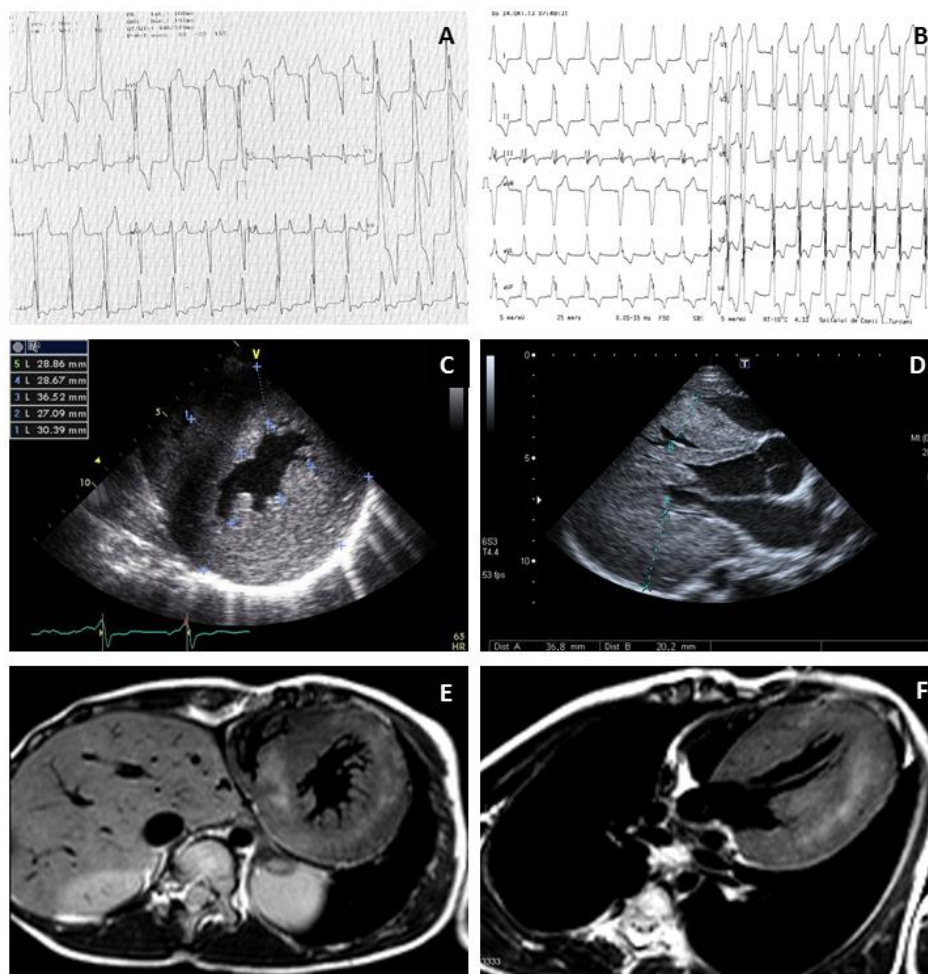


1. ábra. A LAMP2 mutációt hordozó családok családfái. A férfiakat négyzet, a nőket kör jelöli, a klinikailag egészséges családtagokat üres, a betegeket kitöltött szimbólum reprezentálja. Az index betegekre nyíl mutat. Az elhalálozott családtagokat áthúzás jelöli. A mutáció hordozó státuszt + vagy – jel jelzi.

### ‘B’ család

A ‘B’ családban az index beteg egy magyar kisfiú volt (1. ábra, II:1 családtag, ‘B’ család), aki 14 éves korában került először intézeti észlelésre tachycardia miatt. EKG-ja sinus ritmust, rövid PQ távolságot és bal kamra hypertrophia jeleit mutatta. Echocardiographia non-obstruktív hypertrophiás cardiomyopathiát igazolt, 16 mm-es maximális BK fal vastagsággal és megtartott ejekciós frakcióval (BKEF: 73%). Laborleleteiben emelkedett enzim szinteket lehetett észlelni (CK: 729 U/l; LDH: 1149 U/l), normális CK MB frakcióval (41 U/l, 5.6%) és emelkedett transzamináz értékekkel (GOT: 240 U/l, GPT: 190 U/l).

Utánkötése során emelkedett CK értékei perzisztáltak a 650-1200 U/l tartományban, normális MB frakció és troponin értékek mellett, de izomvesztés vagy izomgyengeség



2. ábra. A Danon betegség EKG és morfológiai megjelenése. Az 'A' család index betegének (III:1 családtag, panel A) és unokatestvérének (III:5 családtag, panel B) 12-elvezetéses nyugalmi EKG felvétele, mely sinus ritmust, rövid PQ intervallumot, és I, aVL, V4-6 elvezetésekben delta hullámokat mutat, Wolff-Parkinson-White szindrómára emlékeztetően. Papírsebesség 25 mm/s, kalibráció 5 mm/mV. Panel C: Az 'A' család index betegének (III:1 családtag) parasternalis rövid-tengelyű transthoracikus echocardiographiás felvétele, mely extrém koncentrikus bal kamra hypertrophiát mutat, 27-36 mm bal kamra fal vastagsággal, legkifejezettebben a bal kamra szabad falánál. Panel D: Az index beteg unokatestvérének (III:5 családtag) parasternalis hossz-tengelyi transthoracikus echocardiographiás felvétele, mely extrém koncentrikus bal kamra hypertrophiát mutat, 20-36 mm bal kamra fal vastagsággal, dominálón a bal kamra szabad falánál. Panel E és F: Az index beteg unokatestvérének (III:5 családtag) szív MRI felvétele, mely masszív bal kamra hypertrophiát mutat (BK szabad fal: 42 mm, interventricularis septum: 30 mm) késői gadolinium kontraszt halmozással a septum bazális és apikális szegmensében, valamint a bal kamra szabad falában.

tünetei nem alakultak ki. Echocardiographiával a BK fal vastagság növekedését lehetett észlelni az idők során (BK fal vastagság: 26-28 mm). Audiometria bal oldali enyhe hallásvesztést mutatott, ophthalmologia lényegi eltérést nem igazolt. Enyhe mentális retardáció volt jelen.

A beteg 15 éves korában enyhe terhelésre bekövetkező szívmegállás jelentkezett, kamrafibrilláció miatt (a mentők által észlelt első EKG ritmus), mely sikeres defibrillációra került. Szekunder SCD prevenció céljából egy DDD ICD került beültetésre. Az ICD implantáció után téves ICD működés történt supraventricularis tachycardia miatt.

Elektrofiziológiai (EP) vizsgálata rejtett septalis-para His járulékos köteget igazolt és izuprel infúzió alatti indukálható orthodrom AV tachycardiát. Nem-tartós pitvari tachycardia hasonlóképp indukálható volt. A járulékos köteg ablációjára sikeres kísérlet történt, de három évvel később egy második abláció is szükségessé vált, supraventricularis tachycardia miatti ismételt téves ICD működés miatt. Részletes EP vizsgálata egy második járulékos köteget igazolt, ezúttal a mitrális ring anterior szegmensénél, mely ismételt sikeres ablációra került.

A beteg 19 éves korában BK dilatáció kifejlődését lehetett észlelni (BKEDD: 46 mm, BKESD: 37 mm) az EF enyhe csökkenésével (EF: 44-48%), és a betegnél szívtranszplantáció irányában kivizsgálás történt. Oxy-spiroergometriás vizsgálattal 14,2 ml/kg/min aerob kapacitást, 6-perces séta-tesztel 330 m séta távolságot lehetett detektálni. Szívizombiopszia történt, mely súlyos cardiomyocita hypertrophiát mutatott extenzív szarkoplazmás vacuolizációval, Danon betegségre jellemzően (3. ábra, panel A-D).

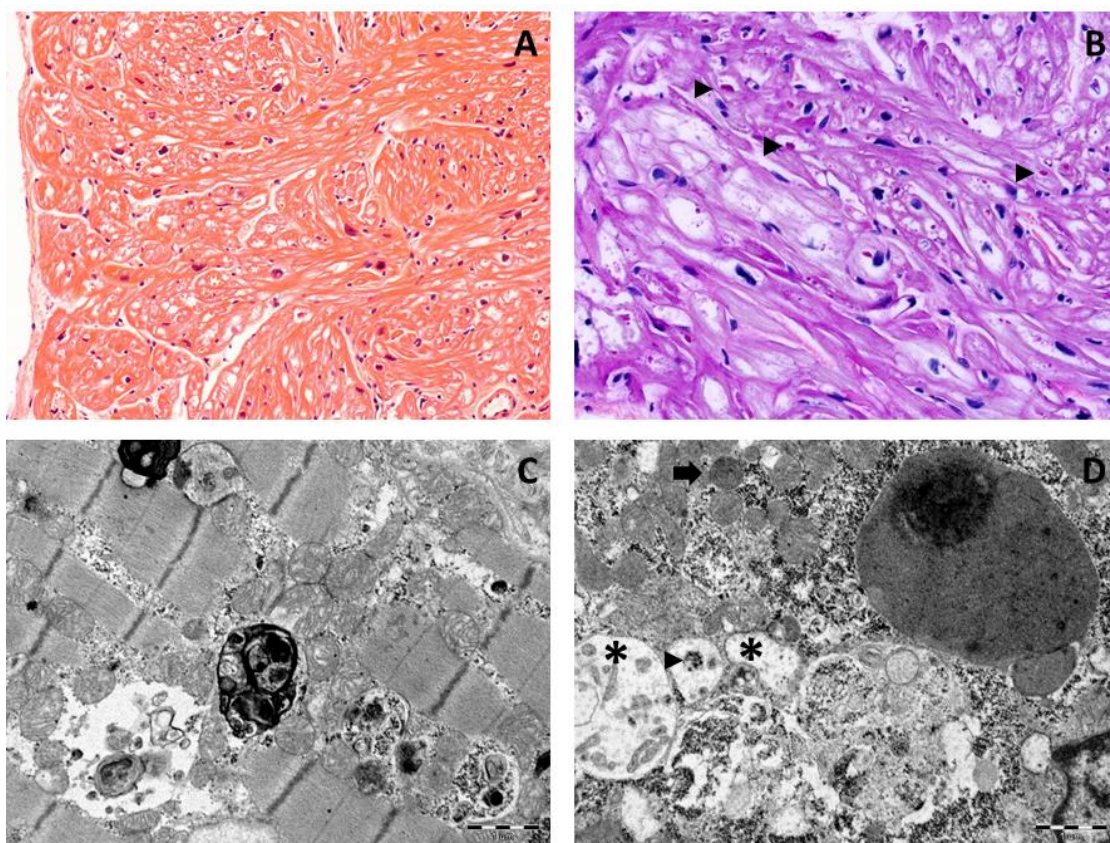
Négy hónappal később, a beteg 20 éves korában, akut ischaemiás stroke következtében bal oldali hemiparézis alakult ki, mely spontán regrediált. Nem sokkal később, jobb- és bal szívfél elégtelenség tünetei és low-output szindróma alakultak ki, tüdőgyulladással súlyosbítva, és a beteg intractábilis szívélegtelenség miatt exitált. Utolsó echocardiographia 61 mm-es BKEDD-t, 49 mm-es BKESD-t és 40%-os EF-et mutatott.

A beteg **édesanyja** (1. ábra, I:1 családtag, 'B' család) 44 éves korában vizsgálva normális echocardiographiás paramétereket mutatott (interventricularis septum: 10 mm, BK szabad fal: 10 mm, BKEDD: 47 mm, BKESD: 31 mm, EF: 63%). EKG-ján 44/min sinus ritmust, és V2-3 elvezetéskeben bifázisos T hullámokat lehetett megfigyelni. Két, 48 éves korban bekövetkezett és syncope-val járó epizód után, pitvari tachycardia és junkcionális escape ritmus alapján EP vizsgálat történt. Utóbbi multiplex pitvari tachycardiát igazolt különböző mechanizmussal és lokalizációban. Összesen 3 különböző pitvari tachycardia volt indukálható, melyek közül kettő sikeres ablációra került (egy jobb pitvari cavotricuspidalis isthmus-dependens flutter és egy posterolateralis kiindulású fokális bal pitvari tachycardia). A harmadik tachycardia leginkább a bal pitvari fülcsé körül propagálódó makro-re-entry-nek felelt meg, de spontán terminálódása miatt ennek térképezése nem volt lehetséges.

Az index beteg **testvére** (1. ábra, II:2 családtag, 'B' család) 12 évesen tünetmentes, nincsenek EKG vagy echocardiographiás eltérései.

#### 3.2.2.1.2 Módszerek

A genetikai analízis a *LAMP2* gén kódoló 9 exonjának és szomszédos intronikus régióinak direkt szekvenálásával történt. A genetikai analízis metodikájának részleteit az Appendix tartalmazza (Appendix III: A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája).



3. ábra. A LAMP2 vacuoláris cardiomyopathia kórszövettana. Panel A: Hypertrophizált cardiomyocyták 'myofiber disarray'-el és sarcoplazmás vacuolizációval. Hematoxylin-eosin festés; nagyítás:  $\times 20$ . Panel B: PAS-pozitív (diasztáz-rezisztens) sarcoplazmás inklúziók (nyílhegy), kifejezett irreguláris sarcoplazmás vacuolizáció, és súlyos cardiomyocytá hypertrophia. A sarcoplazmás glycogen tartalom nem tűnik emelkedettnek. Periodic acid-Schiff festés, nagyítás:  $\times 40$ . Panel C: Autofág vacuolumok a myofibrillumok között, szakadozott limitáló membránokkal. Elektronmikroszkópos felvétel, nagyítás:  $\times 7500$ . A mérce  $1\ \mu\text{m}$ -t jelöl. Panel D: Perinukleárisan elhelyezkedő autofág vacuolumok (csillagok), megszakadt limitáló membránokkal. A vacuolumok glycogen particulumokat tartalmaznak (nyílhegy) valamint degenerált sejtmembrán részeket. A denz anyaggal kitöltött autolizoszóma (nyíl) a panel B-n látható PAS-pozitív inklúzióknak felel meg. A mérce  $1\ \mu\text{m}$ -t jelöl.

### 3.2.2.2 A GLA génmutációk azonosítása Fabry betegség gyanúja esetén

#### 3.2.2.2.1 Betegek

Összesen 21 (14 nő, átlag életkor:  $52 \pm 13$  év; 7 férfi; átlag életkor  $47 \pm 17$  év) beteget szűrtünk, kikben a Fabry betegség gyanúja felmerült lehetséges szív érintettséget jelző kardiális fenotípus és együttesen fennálló, más szervi érintettségre (neurológia, vese, bőr) utaló tünetek alapján. A betegek közül 18 esetben a szív érintettség hypertrophiás cardiomyopathia (4 férfi, 9 nő, átlagéletkor  $46 \pm 14$  év) vagy bal kamra hypertrophia (4 férfi, 1 nő, átlagéletkor  $60 \pm 7$  év) formájában nyilvánult meg; míg 1-1 esetben restriktív ill. dilatatív cardiomyopathia képében. Egy esetben, ahol Fabry kórra jellemző cornea verticillata jelentette a szűrés indikációját, nem volt jelen lényegi kardiális érintettség. A cardiomyopathiák diagnosztizálása érvényben lévő diagnosztikai ajánlások alapján történt. A nem kardiális manifesztációt 9 esetben neurológiai eltérések (cerebrovascularis infarktus, tranzienis ischaemias attack, CT-vel igazolt fehérállományi károsodás, acroparaesthesia), 6

esetben nephrologiai eltérések (proteinuria, nephropathia, veseelégtelenség), 2 esetben szemészeti eltérések (cornea verticillata, retina dystrophia), 2 esetben bőrtünetek, 3 esetben egyéb (nem HCM-re jellegzetes) kardiológiai eltérések (III. fokú AV blokk, kifejezett restriktív fiziológia amyloidózis kizárása mellett) jelentették. A családszűrés két esetben volt lehetséges.

#### 3.2.2.1.2 Módszerek

A genetikai analízis a *GLA* gén kódoló exonjának és szomszédos intronikus régióinak direkt szekvenálásával történt. A genetikai analízis metodikájának részleteit az Appendix tartalmazza (Appendix III: A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája). A szűrési protokoll során szelektált esetekben az alfa-galaktozidáz A enzim, illetve a betegség aktivitási markerének, a LysoGb3 szintjének meghatározása is megtörtént (CentoGene AG, Rostock, Németország).

### 3.2.2.3. A *TTR* génmutációk azonosítása transthyretin amyloidosis gyanúja esetén

#### 3.2.2.3.1 Betegek

##### 'A' beteg

Az észlelésekor 60 éves férfit beteg távolabbi anamnézisében hypertonia szerepelt. Észlelése előtt 4 évvel kétoldali kéz zsibbadása háttérében EMG vizsgálattal 'carpal tunnel' szindrómát igazoltak, mely miatt műtét történt. Akkori laborjaiban emelkedett májfunkciós értékek (ALP, GGT) mutatkoztak. Kardiológiai észlelésére effort dyspnoe, angina pectoris és presyncope miatt került sor. EKG-ján 43-53/min frekvenciával járó bradycardia mutatkozott, melynek háttérében intermittáló II-III fokú AV blokk állt. Echocardiographiás vizsgálata tág jobb és bal pitvart (61x65x69 mm), koncentrikus bal kamra (BK) hypertrophiát (interventrikuláris septum vastagság: 27 mm, bal kamra posterior fal vastagság: 21 mm; 4. ábra A és B panel), normális BK átmérőket, diffúz hypokinezist, enyhén csökkent BK ejekciós frakciót (EF: 48%), II fokú mitrális és tricuspidalis insufficienciát jelzett, restriktív típusú diasztolés funkciózavar mellett (E/A: 114/34, DCT: 118 ms, Ea: 6, E/Ea: 19). Biomarkerei jelentősen emelkedett NT-pro-BNP szintet (3511 pg/ml) és jelzetten emelkedett troponin T szintet mutattak (0,042 ug/l), továbbra is emelkedett májfunkciós értékek mellett. Coronarographiás vizsgálata szignifikáns coronaria betegséget nem igazolt. Haemodinamikai vizsgálata emelkedett (18-22 Hgmm) végdiastolés balkamrai nyomást mutatott. Szív MRI vizsgálata megtartott BK ejekciós frakciót, koncentrikus bal kamra hypertrophiát, emelkedett BK izomtömeget, ill. körkörös, diffúz késői kontrasztanyag halmozást mutatott, mely alapján amyloidózis gyanúja merült fel. Jamshidi biopszia negatív eredményt adott myeloma multiplex irányában. Neurológiai elektrofiziológiai vizsgálata alsó végtagi túlsúlyú, axonvesztéses, motoros polyneuropathiát és kétoldali carpalis alagút szindróma jeleit mutatta. Magas fokú, syncope tüneteivel járó AV blokkja miatt DDD PM implantáció történt.

Szívizombiopszia történt, melynek szövettani vizsgálata a szívizomrostok között amyloidózisra jellemző homogén eosinophil, polarizált fényben zöld kettős törést mutató kongóvörös-pozitív anyag felszaporodását észlelte (5. ábra, A-C panelek). Elektronmikroszkópos vizsgálattal a szívizomrostok között enyhén denz, homogén anyag lerakódása látszott, mely 35.000x nagyításon periodicitás nélküli, véletlenszerűen rendeződött fibrillumok halmazának bizonyult (fibrillum átmérő: átlagosan 10,9 nm). Az ultrastruktúrális vizsgálat tehát az amyloidózis fénymikroszkópos diagnózisát megerősítette. Immunhisztokémiai vizsgálattal az amyloid transthyretin ellenanyaggal (Dako, polyclonal rabbit anti-human prealbumin, kód A0002; antitest hígítás 1:200) pozitív reakciót adott (5. ábra, D panel); a szérum amyloid A, valamint a kappa és a lambda könnyűlánc festés negatívnak bizonyult.

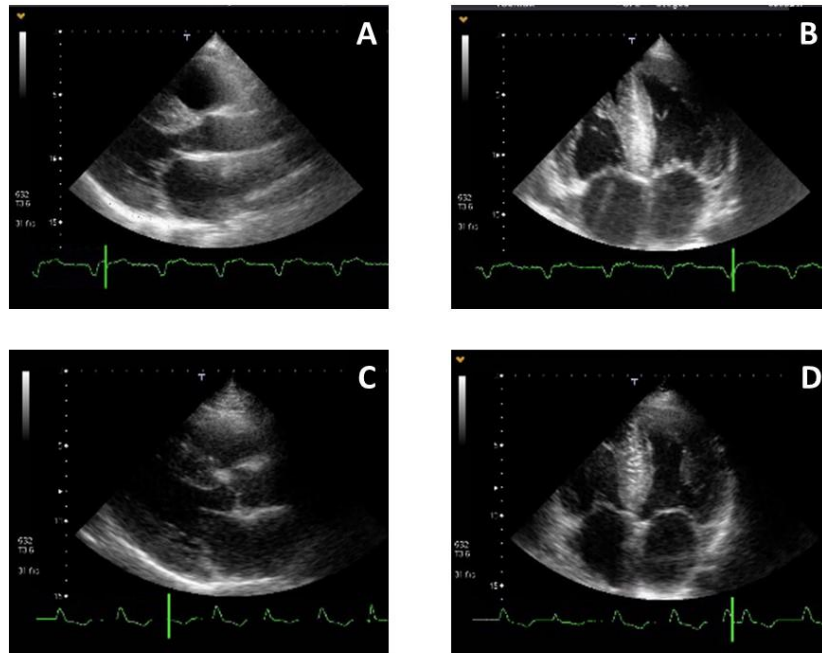
#### *'B' beteg*

Az észlelésekor 70 éves férfi beteg kórelőzményében tonsillectomia, Guillian-Barre szindróma, LIII-IV gerincérv műtét, hypertonia, inguinalis herniotomia és carpal tunnel szindróma miatt jobb oldali csukló műtét szerepelt. Csökkent terhelhetőség miatt került kardiológiai észlelésre, EKG-ján I. fokú AV blokk, bal Tawara szár blokk mutatkozott. Echocardiographia tágabb pitvarokat, normális tágasságú bal kamrát, csökkent globális bal (BKEF: 31%) és jobb kamra funkciót igazolt. A bal kamra morfológiai megjelenése hypertrophiás cardiomyopathiának felelt meg, minden bal kamrai szegmentumra és a jobb kamra falára is kiterjedő hypertrophiával, 20 mm-es maximális bal kamra fal átmérővel (4. ábra, C és D panel), kiáramlási pálya obstrukció nélkül, emelkedett pulmonális nyomással (60 Hgmm), kifejezett diasztolés diszfunkcióval (E/Ea: 15). Szív MR vizsgálata az echocardiographiás lelettel egyező paramétereket igazolt, a késői kontraszt halmozásos felvételek amyloidózisra voltak típusosak. NT-pro-BNP értéke jelentősen emelkedett volt (1977 pg/ml). Észlelése során több alkalommal jelentkezett perzisztens pitvarfibrilláció, mely miatt sikeres elektromos kardioverzió történt.

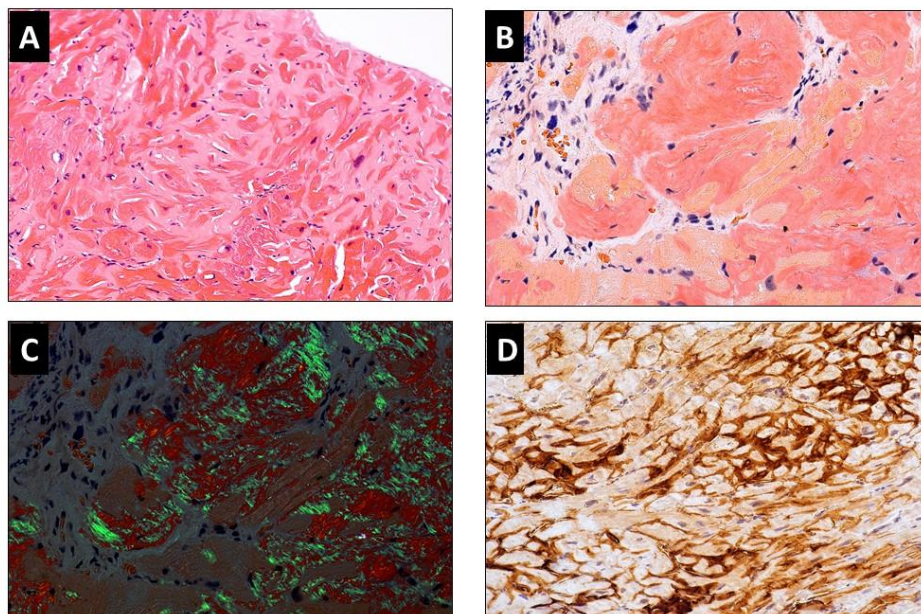
Kivizsgálása során szignifikáns szűkületet nem igazoló coronarographia és szívizombiopszia történt. Szövettani vizsgálattal az izomrostok között kiterjedten homogén eosinophil anyag lerakódása látszott, mely kongóvörös festéssel pozitív reakciót adott, ami polarizált fényben zöld kettős törést mutatott. Az elektronmikroszkópos vizsgálat az amyloidózis fénymikroszkópos diagnózisát megerősítette (fibrillumok átlagos átmérője: 11 nm). Immunfestéssel a transthyretin reakció intenzív pozitivitást adott a kongóvörös-pozitív anyagnak megfelelően, a kappa és a lambda festések háttérrel eredményt adtak, melyet aspecifikus átítatódásnak tartottunk.

#### 3.2.2.3.2 Módszerek

A genetikai analízis a *TTR* gén kódoló exonjának és szomszédos intronikus régióinak direkt szekvenálásával történt. A genetikai analízis metodikájának részleteit az Appendix tartalmazza (Appendix III: A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája).



4. ábra. A transthyretin amyloidózisban szenvedő betegek transthoracalis echocardiographiás felvétele, parasternális hossztengetyi (A panel: 'A' beteg; C panel: 'B' beteg) és csúcsi négy üregi (B panel: 'A' beteg, D panel: 'B' beteg) nézetből. Hypertrophias cardiomyopathia morfológiai képe, diffúz bal kamra hypertrophiával, papillaris izom és jobb kamra fal hypertrophiával, tág pitvarokkal.



5. ábra. Szívizom biopszia szövettani képe. Amyloidózisra jellemzően a szívizomrostok között homogén eosinophil anyag felszaporodása látszik (A panel), mely kongóvörös festődést (B panel) és polarizált fényben zöld kettős törést mutat (C panel). Immunhisztokémiai vizsgálattal az amyloidnak megfelelő lokalizációban a transthyretin festés adott pozitív reakciót (D panel). Az elektronmikroszkópos vizsgálat az amyloid fibrillumok jelenlétét megerősítette (lsd. esetleírás).

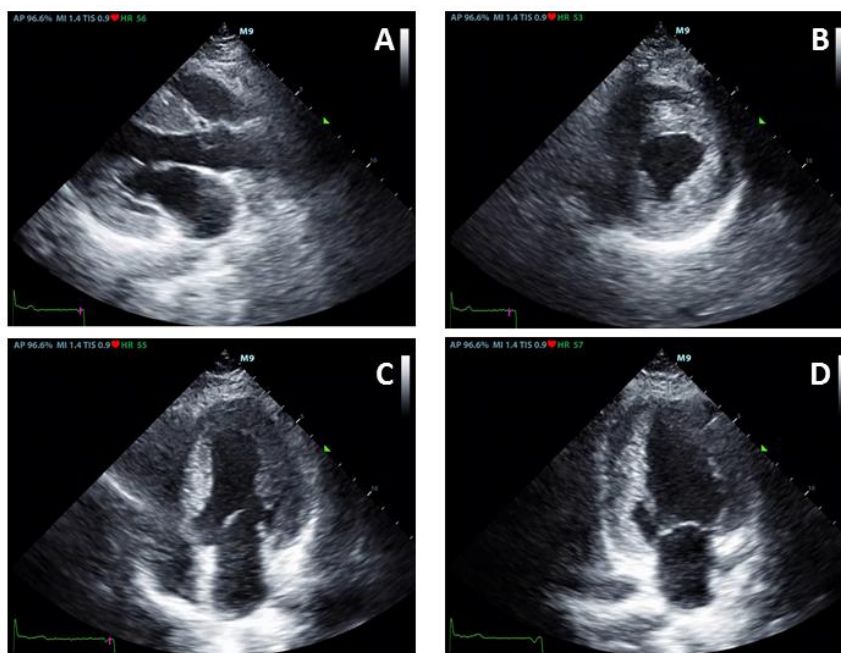
### 3.2.2.4. Mitochondriális génmutáció azonosítása dominálónan hypertrophiás cardiomyopathia képében megjelenő szisztémás kórképben

#### 3.2.2.4.1 Beteg

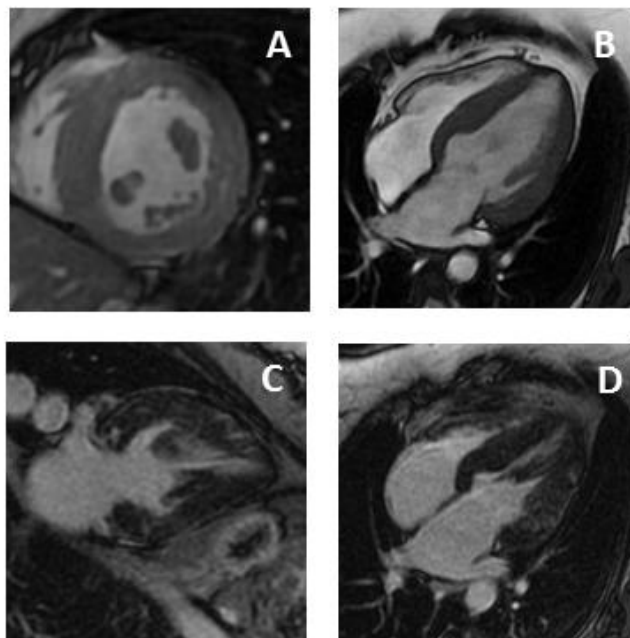
Az klinikai észlelésekor 32 éves, kifejezetten alacsony termetű (140 cm) nőbeteg kardiális panaszai 27 éves korában kezdődtek, terhelésre jelentkező nehézlégzés, mellkasi diszkomfort formájában. Évek óta ismert hallászavara háttérében kétoldali cochlearis léziót igazoltak. EKG-ján rövid, 97 ms-os PQ távolság és bal kamrai hypertrophia volt látható, strain jeleivel. Echocardiographiás vizsgálata non-obstruktív hypertrophiás cardiomyopathiát igazolt, tágabb bal pitvarral, kifejezett koncentrikus bal és jobb kamrai hypertrophiával. A koncentrikus bal kamra hypertrophia a bal kamra valamennyi szegmentumát és a papilláris izmokat is érintette, 15 mm-es maximális bal kamrafal vastagsággal az anterior septum középső szegmentumában (6. ábra). A globális systolés BK funkció megtartott volt, szegmentális falmozgászavar nem volt észlelhető. Kifejezett, restriktív típusú diasztolés diszfunkció jeleit észleltük (E/A: 86/35; DCT: 186 ms, Ea: 6 cm/s, E/Ea: 14,3). Szív MR vizsgálata az echocardiographiás lelettel egyező morfológiai képet mutatott (7. ábra), késői típusú kontraszthalmozással a laterális fal középső, a posterior fal középső, inferior fal basalis szegmentumaiban és az anterior falon (7. ábra, C és D panelek). Laborjában magasabb LDH (463-539 U/l), CK (170-193 U/l), troponin T (0,046-0,082 ng/ml) és NT-pro-BNP (644-1179 pg/ml) értékeket észleltünk. Vese- és májfunkciós értékei, vérképe lényegi kórosat nem mutatott, kiemelő, hogy laktát szintje is normális volt (1,3-2,0 mmol/l). Kiterjesztett endokronológiai laborparaméterei hasonlóképpen kóros eltérést nem mutattak. A beteg észlelése során inzulin terápiát igénylő diabetes mellitus alakult ki, majd látászavar jelentkezett, melynek háttérében retina dystrophiát vélelmeztek. Neurológiai státusza negatív volt. Családi anamnéziséből kiemelő, hogy fiútestvérénél alacsony testalkat, stroke, epilepszia, septum hypertrophia, hallászavar volt ismert, 17 éves korában recidív stroke-ok következtében halálozott el. Édesanyjánál diabetes mellitus és hallászavar volt ismert, kardiológiai vizsgálata lényegi organikus kardiális eltérést nem igazolt.

#### 3.2.2.4.2 Módszer

A beteg genetikai vizsgálata cardiomyopathiát okozó gének irányában újgenerációs szekvenálás metodikájával történt, melynek részletei az Appendix-ben található (Appendix III: A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája). A mitochondriális m.3243A>G mutáció vizsgálata restriktációs fragmens rost hossz polimorfizmus metodikával történt (HaeIII). A heteroplasmia arány a Quantity One Software (Bio-Rad Corp., Hertfordshire, UK) szoftver segítségével lett meghatározva.



6. ábra. A beteg transthoracalis echocardiographiás felvételei, non-obstruktív hypertrophiás cardiomyopathia képével, tágabb bal pitvarral, kifejezett koncentrikus bal és jobb kamra hypertrophiával. Panel A: parasternális hossztengetlyi kép; Panel B: parasternális rövidtengetlyi kép; Panel C: csúcsi négyüregi kép; Panel D: csúcsi kétüregi kép.



7. ábra. A beteg szív MRI felvétele. Rövid tengelyi (A panel) és csúcsi négy üregi metszetben (B panel) kissé tágabb bal pitvar, normális tágasságú bal kamra és jobb szívfél látszik, normális végdiasztolés és végsystolés volumenek, jó verővolumen mérhető, falmozgás zavar nélkül. Bal kamra hypertrophia [BK tömeg: 157 g; BK max: 19 mm (anterior septum basalis szegmentuma)] figyelhető meg. C és D panel: késői típusú kontraszthalmozás az anterior falon és a laterális fal középső szegmentumaiban.

### 3.2.3. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA ÖRÖKLETES IONCSATORNA BETEGSÉGEKBEN

#### 3.2.3.1 Egy új *KCNJ2* génmutáció, Val302del, azonosítása és funkcionális jellemzése Andersen-Tawil szindrómában

##### 3.2.3.1.1 Betegek

Az öt éves kislányt először izomgyengeség okozta járás nehezítettség miatt észlelték, bár a „neonatalis hemiplegia” diagnózis részletezés nélkül már szerepelt a beteg egyik egy éves korban készült leletén. Laborvizsgálatok során normális kálium szint mellett emelkedett kreatinin-foszfokináz (CK) értéket észleltek (596 U/l, normális érték felső határa 195 U/l), mely hat napon belül tért vissza a normál értékre. Ortopédiai konzíliumon kívül speciális kivizsgálás nem történt és a páciens panaszai maradék tünet nélkül elmúltak. Az elkövetkezendő években számos alkalommal észlelték különböző intézményekben fájdalomtalan izomgyengeség és változó megjelenésű és időtartamú aszimmetrikus felső végtagi hemiplegia miatt. A szérumban kálium szint az esetek többségében normál tartományon belül volt. Egyszer fordult elő a normálnál alacsonyabb kálium szint 3,1 mmol/l értékkel. Az izomgyengeségek időszakában napok alatt normalizálódó, emelkedett CK értékeket mértek az 507-629 U/l tartományban, azonban a CK-MB frakció mindig normális tartományon belül volt. Részletes neurológiai kivizsgálás során a lumbal punkció, liquor labor vizsgálat, koponya és nyaki gerinc MR vizsgálat, elektromyográfia, elektroencephalográfia, elektroneurográfia eltérést nem mutatott. Kálium és magnézium pótlást követően a tünetek általában napokon belül csökkenni kezdtek, a páciens mindig kielégítő általános állapotban emittálták.

Szívrogmuszavart először 9 éves korában detektáltak, ami gyakori, multifokális, kamrai extrasystolákat és rövid nem-tartós kamrai tachycardiás run-okat jelentett a nyugalmi EKG felvételen. (24. ábra, A panel) A szívritmuszavarát a beteg nem élte meg (palpitáció, gyengeség, szédülés nem jelentkezett) és egyetlen alkalommal se történt syncope. Az echocardiográfiás vizsgálat normális kardiális struktúrát és funkciót írt le. A 24-órás Holter monitorozás során 13% VES, 1% couplet-et és számos rövid nem-tartós kamrai tachycardia (leghosszabban 11 ütés, 148/min frekvenciával) került detektálásra. Propranolol terápiát és magnézium-pótlást végeztek, melyre érdemi javulás nem következett be, ezért amiodaront indítottak. Az amiodarone csökkentette a VES-ek számát, de a szívritmuszavarok nem szűntek meg teljesen, ezen felül thyreotoxicózis jelentkezett, ami miatt a terápiát le kellett állítani. Sotalol terápia megkezdését követően mutatkozott némi pozitív hatás. Az utánkövetés során adverb esemény nem következett be, a 18 éves korban végzett utolsó kontroll vizsgálat változatlan klinikai státuszt mutatott. A beteget nem a szülei, hanem az anyai nagynénje neveli, ezért klinikai vagy genetikai családszűrésre nem volt lehetőség, az

anyai nagynénit kivéve, akinek normális EKG-ja volt és az echocardiográfiás vizsgálat során sem találtunk eltérést.

#### 3.2.3.1.2 Módszer

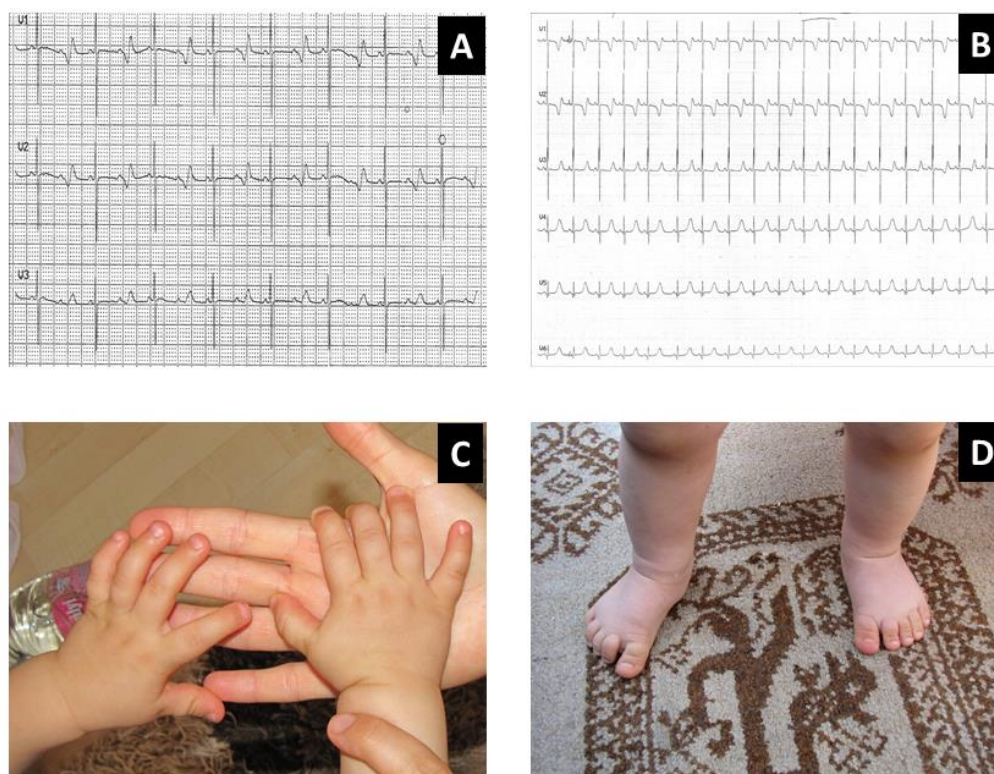
A mutációanalízis a legfőbb ioncsatorna gének újgenerációs szekvenálásával történt. Az azonosított variánsokat kapilláris szekvenálással validáltuk. A *KCNJ2* Val302del mutációt hordozó expressziós vektor generálása standard molekuláris klónozási technikával történt. A vad típusú és a Val302del *KCNJ2* heterológ expressziója transzfekcióval történt CHO sejtekbe. A CHO sejtekben heterológ módon kifejezett Kir2.1 ionáramokat teljes-sejt patch clamp technika voltage clamp módjával regisztráltuk. A vad típusú és mutáns Kir2.1 fehérje membrán transzportjának vizsgálata immunhisztokémia és konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével történt. A metodika részleteit az Appendix tartalmazza (Appendix III. A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája és Appendix V. Az Andersen-Tawil szindrómát okozó *KCNJ2* Val302del génmutáció funkcionális jellemzésének részletes metodikája).

#### 3.2.3.2 Timothy szindróma 1 genotípusának azonosítása syndactylia és lényegi extrakardiális manifesztációk nélkül

##### 3.2.3.2.1 Beteg

A proband egy egészséges 31 éves nő és egy egészséges 31 éves férfi második gyermekeként született. A családi anamnézis negatív volt korábbi hirtelen szívhalálra, szívritmuszavarokra, syndactyliára, faciális eltérésekre és autizmusra. A terhesség komplikációmentes volt. A 37. gesztációs héten átmeneti főtális bradycardia-t (72/min szívritmus) észleltek. A szülés komplikáció mentesen, hüvelyi úton történt a 38. gesztációs héten. Az Apgar score 9 és 10 között volt az első és ötödik percben. Az újszülött születési súlya 2950 g (18 centilis), magassága 54 cm (98 centilis), és a fej körfogata 34 cm (35 centilis) volt. A születést követő második napon bradycardiát észleltek 2:1 -es atrioventriculáris (AV) blokkal és jelentős QTc prolongációval (600 ms) (8. ábra, A panel). Konzervatív terápiaként propranolol-t és mexiletine-t alkalmaztak, melynek hatására a QTc megnyúlás 470-580 ms tartományban stabilizálódott, a 2:1 AV blokk rendeződött és egyenletes 1:1 AV átvezetés alakult ki T hullám eltérésekkel (8. ábra, B panel). Echocardiográfia 2,5 mm átmérőjű, bal-jobb shunt-el járó nyitott foramen ovale-t, és enyhén dilatált jobb kamrát írt le. A ductus arteriosus lezárult és nem volt jele kamrai szeptum defektusnak, cardiomyopathiának vagy kamrai diszfunkciónak. Laborvizsgálatok során hypoglycaemia vagy hypocalcaemia nem igazolódott. Faciális deformitások (hypertelorizmus, mélyen álló orrhát, kiemelkedő homlok, etc.) és kopaszság nem volt jelen, hasonlóképp ízületi hypermobilitás sem állt fenn. Sem a kezeken, sem a lábakon nem volt jelen syndactylia (8. ábra, C és D panelek). A fogak nem hiányoztak és nem voltak hypoplasztikusak sem. A kisfiú életének első három évében folyamatos fejlődést mutatott, segítség nélkül ült 7,5 hónapos korában, mászott 8 hónaposan,

segítséggel járni tudott 8,5 hónaposan, önállóan 12 hónaposan. Az első szót 14 hónapos korában mondta ki. Két éves korában elvégezték az M-CHAT (Modified Checklist for Autism in Toddlers) tesztet, mely nem vetette fel autizmus vagy autizmus spektrum zavar lehetőségét. Ez idő alatt nem fordultak elő gyakori vagy súlyos infekciók. Mivel a páciens édesapja kardiológus szakorvos, ezért lehetőség volt folyamatos bed-side EKG monitorozásra éjszakánként, hagyományos Holter monitorozást pedig gyakran, minden 3-6



8. ábra. A proband 12-elvezetéses EKG felvétele, melyen 2:1 AV blokk és kifejezett QTc-intervallum prolongáció (600 ms, 72 ütés/perc) látható (A Panel). Konzervatív terápia (propranolol és mexiletine) hatására a 2:1 AV vezetés megszűnt, és állandó 1:1 AV átvezetés alakult ki 516 ms-os QTc megnyúlással és T-hullám elváltozásokkal (123 ütés/perc) (B Panel). Papírsebesség 25 mm/s, kalibráció 10 mm/mV. C és D Panel: A proband kezéről és lábáról 12 hónapos korában készült fénykép, mely a kéz és láb ujjainál a syndactyly hiányát igazolja.

hónapban végeztek. Egy alkalommal 12 órán át tartó, 2:1 AV átvezetést észleltek, mely panaszt nem okozott. Nem jelentkezett tartós vagy nem-tartós kamrai tachyarrhythmia.

2 éves korában a páciens hospitalizálni kellett konvulzióval társult súlyos hypoglycaemiás epizód miatt (vércukor szint 1,4 mmol/l). Mivel koponya traumát nem lehetett kizárni, koponya CT-t végeztek általános anesztéziában. Sem VT-t, sem VF-t nem észleltek a propofol, midazolam, fentanyl és izomrelaxánsok mellett. Az egyetlen ritmuszavar az átmeneti 2:1 AV blokk volt, mely automatikusan megszűnt a szérum glükóz szint korrekcióját követően. Az esetet követően nem volt maradandó egészségkárosodás. Szöveti glükóz szenzorral végzett vércukor szint monitorozás az ezt követő időszakban nem mutatott

további hypoglycaemiás epizódot. Jelenleg, 3 éves korában, a mentális és fizikai fejlődése normálisnak imponál. Jó általános állapotban van és óvodába jár. Képes érzelmek kifejezésére, érti a vicceket és a szomorúságot.

#### 3.2.3.2.2 Módszer

A mutációanalízis a legfőbb ioncsatorna gének újgenerációs szekvenálásával történt. Az azonosított variánsokat kapilláris szekvenálással validáltuk. Az *ANK2* gén 37-es exonja, a *CACNA1C* gén 8A exonja, és a *KCNQ1* gén 1-es exonja került direkt-szekvenálásra. Az index betegben és mind a két szülőben a genetikai mozaicizmust is megvizsgáltuk az index páciensben a szájnyalkahártyáról, hajszálból és urothelből, az apuka esetében spermából extrahált DNS-el. A metodika részleteit az Appendix tartalmazza (Appendix III. A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája).

#### 3.2.3.3 Egy új ‘splice site’ *HCN4* génmutáció, c.1737+1 G>T, azonosítása csökkent szívfrekvencia-válással, alacsonyabb chronotrop kompetenciával és megnövekedett rövid távú szívfrekvencia variabilitással jellemzett familiáris bradycardia esetében

##### 3.2.3.3.1 Betegek

Az index beteget (*lsd. családfa 26. ábra, A panel; L24.0 családtag*) 28 éves korától sick sinus szindróma klinikai diagnózisával észleltük. Megszédüléssel járó, terheléses intoleranciát jelző panaszai gyakoriak voltak, de egyértelmű, eszméletvesztéssel járó rosszulléte nem fordult elő. Nyugalmi EKG-ján 40-46/min sinus bradycardia volt észlelhető, Holter vizsgálattal 58/min átlagfrekvenciájú sinus ritmus volt detektálható, ébrenléti időszakban is észlelhető 38-48/min sinus bradycardiával, éjszakai órákban 30-33/min frekvenciával. Gyakori volt a kamrai extrasystolia (VES), időnként bigemin, kapcsolt formában. Terheléses vizsgálatainál szívfrekvenciája 123-150/min-ig emelkedett. Echocardiographiás vizsgálattal normális strukturális és funkcionális paramétereket, típusos telesystoles mitrális prolapsust detektáltunk.

A beteg egy kiterjedt, több generációs család tagja, generációjában 14 testvérrel (*lsd. családfa 26. ábra, A panel*). Családi anamnézis alapján **édesapja** (L24.22) 39 éves korában tüneteket okozó bradycardia miatt pacemaker implantáción esett át és 64 éves korában hirtelen elhunyt. Az egyik **nőtestvérét** (L24.3) 43 éves korában 47/min-es (később 40-43/min) szívfrekvencia mellett fennálló sinus bradycardia miatt vizsgálták. Miután 45 éves korában átesett egy syncopés epizódon, AAI pacemaker került beültetésre, majd 51 éves korában, paroxysmalis PF miatt véna pulmonalis izoláción esett át. Az index beteg **lányainál** (L24.2 és L24.4) sinus bradycardiát észleltek 11 és 15 éves korban. 5 családtag korán meghalt. Egyiküknél, az index beteg **fiútestvérénél** (L24.14), 59/min-es szívfrekvenciát dokumentáltak, egy traumát követő hospitalizáció során. Ötvenöt éves korában perzisztens pitvarfibrilláció jelent meg, ami béta blokkolók és amiodaron adására sinus ritmusba konvertálódott. Ebben az időben bal kamrai diszfunkciót (EF: 43%) észleltek, diffúz bal

kamra mozgászavarral, melyet 'lege artis' kezeltek. Az amiodaron és beta blokkoló kezelés alatt a szívfrekvencia 41-43/min volt. Holter monitorizálás során 32-123/min-es szívfrekvenciával sinus ritmus és paroxysmalis pitvarfibrilláció volt látható. 59 éves korára a PF permanenssé vált, ugyanebben az évben otthonában hirtelen elhunyt. Egy másik fiútestvér (L24.25) 21 éves korában vízbe fulladt ismeretlen körülmények között. Három másik elhunyt családtag (L24.23, L24.24 és L24.26) esetében a halál okaként krónikus alkoholizmusra visszavezethető halálokat állapítottak meg (egy esetben intracraniális vérzés fej traumás sérülését követően, májcirrózis két esetben). A fenti négy családtag közül senkiben sem észleltek <60/min-es szívfrekvenciát. A többi elérhető családtag esetében nem jelentkeztek jelentős kardiális tünetek (syncope, pre-syncope, vagy dokumentált PF), és nem álltak gyógyszeres kezelés alatt (kivéve L24.13, részletezve lentebb).

Összesen 22 családtag (13 nő, 9 férfi, átlag életkor:  $32 \pm 15$ ; 26. ábra, A panel, 4. táblázat) volt elérhető klinikai és genetikai szűrés céljából, beleértve egy elhunyt családtagot is, akitől poszt-mortem minta állt rendelkezésre genetikai vizsgálatra és részletes klinikai dokumentációval rendelkezett. A családtagokban kardiológiai kivizsgálás, a korábbi kórtörténet dokumentációjának átnézése, 12 elvezetési nyugalmi EKG, echocardiographia, 24-órás Holter monitorizálás, terhelési vizsgálat, ill. szívfrekvencia variabilitás vizsgálat (heart rate variability, HRV) történt. A bradycardia diagnosztikus kritériumának a nyugalmi EKG-n észlelt 60/min-nél alacsonyabb szívfrekvenciát tekintettük, amelyet 5 perc pihenés után háton fekvő pozícióban mértünk. A sinus csomó diszfunkció másodlagos okait (pl.: congenitalis szívbetegség, infiltratív és gyulladásos betegségek, hypothyroidizmus, hypothermia, hypoxia, izomdisztrofiák, központi idegrendszeri megbetegedés stb.) kizártuk. Egy családtagot (L24.13) paranoid schizophreniával diagnosztizáltak 16 éves korában. Folyamatos gyógyszeres kezelés alatt állt, melyek közé a risperidon, biperiden, haloperidol, olanzapin, amisulprid, paliperidon, clonazepam, quetiapin és procyclidin tartozott. A beteg EKG felvételein sinus bradycardia volt látható 49-56/min-es szívfrekvencia mellett. Figyelembe véve, hogy a jelenlegi gyógyszerei potenciális mellékhatásként inkább tachycardiát okozhattak, így klinikailag érintettnek tekintettük, de Holter monitorizálás, terhelési és szívfrekvencia variabilitási vizsgálatokból kizártuk.

### 3.2.3.3.2 Módszer

A mutációanalízis a legfőbb ioncsatorna gének újgenerációs szekvenálásával történt. Az azonosított variánsokat kapilláris szekvenálással validáltuk. Tekintettel a két generációban érintett családtagok nagy számára, lehetőség volt kapcsoltsági analízis elvégzésére és LOD score kalkulációjára. A szívfrekvencia válasz és szívfrekvencia variabilitás meghatározása céljából 24 órás Holter monitorizálás, futópadon végzett terhelési vizsgálat és 5 perces EKG regisztrátumok felvétele történt. A metodika részleteit az Appendix tartalmazza (Appendix III. A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája és Appendix VI. A *HCN4* c.1737+1 G>T mutációt hordozó családtagok szívfrekvencia válaszanak és szívfrekvencia variabilitás paramétereinek meghatározása).

4. táblázat. A *HCN4* c.1737+1 G>T génmutáció által érintett és nem érintett családtagok főbb demográfiai és klinikai jellemzői

| beteg  | kor<br>(év)* | nem | klinikailag<br>érintett | genoípus                   |                             | nyugalmi<br>HR<br>(/min) | 24-órás Holter felvétel |                      |                      | terheléses vizsgálat      |                           | strukturális<br>szívbetegség† | arrhythmia                  |
|--------|--------------|-----|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|        |              |     |                         | <i>HCN4</i><br>c.1737+1G>T | <i>ANK2</i><br>p.Glu2378Lys |                          | min.<br>HR<br>(/min)    | avg.<br>HR<br>(/min) | max.<br>HR<br>(/min) | pre-teszt<br>HR<br>(/min) | max-teszt<br>HR<br>(/min) |                               |                             |
| L24.0  | 43           | n   | igen                    | +                          | +                           | 38                       | 30                      | 50                   | 104                  | 57                        | 130                       | enyhe MVP                     | terhelés indukálta VES      |
| L24.1  | 23           | f   | nem                     | -                          | -                           | 63                       | 47                      | 68                   | 128                  | 82                        | 145                       | bicusp. AoV                   | nincs                       |
| L24.2  | 22           | n   | igen                    | +                          | -                           | 40                       | 43                      | 68                   | 143                  | 68                        | 168                       | enyhe MVP                     | terhelés indukálta VES      |
| L24.3  | 52           | n   | igen                    | +                          | -                           | 43                       | 42                      | 58                   | 103                  | 67                        | 133                       | nincs                         | terhelés indukálta VES, PF  |
| L24.4  | 18           | n   | igen                    | +                          | -                           | 40                       | 38                      | 71                   | 141                  | 88                        | 172                       | nincs                         | nincs                       |
| L24.5  | 41           | n   | igen                    | +                          | +                           | 55                       | 44                      | 69                   | 137                  | 73                        | 176                       | nincs                         | terhelés indukálta VES      |
| L24.6  | 42           | n   | igen                    | +                          | -                           | 46                       | 25                      | 56                   | 105                  | 46                        | 107                       | nincs                         | terhelés indukálta VES      |
| L24.7  | 54           | f   | nem                     | -                          | -                           | 78                       | 44                      | 64                   | 130                  | 69                        | 174                       | nincs                         | terhelés indukálta VES      |
| L24.8  | 45           | f   | nem                     | -                          | -                           | 77                       | 48                      | 72                   | 118                  | 76                        | 170                       | enyhe MVP                     | nincs                       |
| L24.9  | 46           | f   | igen                    | +                          | -                           | 54                       | 31                      | 59                   | 125                  | 66                        | 138                       | nincs                         | nincs                       |
| L24.10 | 51           | n   | igen                    | +                          | -                           | 45                       | NA                      | NA                   | NA                   | NA                        | NA                        | NA                            | NA                          |
| L24.11 | 53           | f   | nem                     | -                          | -                           | 78                       | NA                      | NA                   | NA                   | NA                        | NA                        | nincs                         | nincs                       |
| L24.12 | 21           | n   | nem                     | -                          | +                           | 105                      | NA                      | NA                   | NA                   | NA                        | NA                        | nincs                         | nincs                       |
| L24.13 | 22           | f   | igen                    | +                          | +                           | 49                       | 37                      | 74                   | 135                  | NA                        | NA                        | nincs                         | kifejezett sinus arrhythmia |
| L24.14 | 59           | f   | igen                    | +                          | +                           | 59                       | NA                      | NA                   | NA                   | NA                        | NA                        | BK<br>diszfunkció#            | PF                          |
| L24.15 | 13           | f   | nem                     | -                          | -                           | 72                       | 42                      | 66                   | 135                  | 70                        | 202                       | nincs                         | nincs                       |
| L24.16 | 17           | f   | igen                    | +                          | -                           | 47                       | 35                      | 54                   | 99                   | 58                        | 170                       | nincs                         | nincs                       |
| L24.17 | 24           | n   | nem                     | -                          | -                           | 82                       | 58                      | 87                   | 153                  | 105                       | 190                       | nincs                         | nincs                       |

|        |    |   |      |    |    |    |    |    |     |    |     |       |                             |
|--------|----|---|------|----|----|----|----|----|-----|----|-----|-------|-----------------------------|
| L24.18 | 8  | n | igen | +  | -  | 55 | 45 | 66 | 124 | 56 | 158 | nincs | kifejezett sinus arrhythmia |
| L24.19 | 11 | n | nem  | -  | -  | 79 | NA | NA | NA  | NA | NA  | nincs | nincs                       |
| L24.20 | 32 | n | nem  | -  | -  | 72 | 47 | 80 | 158 | 85 | 188 | nincs | nincs                       |
| L24.21 | 28 | n | nem  | -  | -  | 69 | 42 | 74 | 160 | 97 | 198 | nincs | nincs                       |
| L24.22 | 64 | f | igen | NA | NA | NA | NA | NA | NA  | NA | NA  | NA    | NA                          |
| L24.23 | 49 | f | NA   | NA | NA | 96 | NA | NA | NA  | NA | NA  | NA    | NA                          |
| L24.24 | 44 | f | NA   | NA | NA | NA | NA | NA | NA  | NA | NA  | NA    | NA                          |
| L24.25 | 21 | f | NA   | NA | NA | NA | NA | NA | NA  | NA | NA  | NA    | NA                          |
| L24.26 | 40 | f | NA   | NA | NA | NA | NA | NA | NA  | NA | NA  | NA    | NA                          |

*\*a vizsgálat vagy halál idején; <sup>†</sup>bal-kamrai non-compaction vagy arta ascendens dilatáció; <sup>#</sup>feltehetően alkoholos szívbetegség következtében*

*HR: heart rate, szívfrekvencia; PF: pitvarfibrilláció; NA: nincs adat; BK: bal kamra; MVP: mitrális billentyű prolapsus; AoV: aorta billentyű; VES: kamrai extrasystole*

### 3.3. MEGFIGYELÉSEK PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIOVAL (PTSMA) KAPCSOLATBAN HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

#### 3.3.1. ABNORMIS KOLLATERÁLIS ÖSSZEKÖTTETÉSEK SEPTALIS ÁGAK KÖZÖTT HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN PTSMA SORÁN

##### 3.3.1.1 Beteg

A 32 éves férfibeteg kórtörténetében ismert belszervi megbetegedés nem szerepel. Hypertrophiás cardiomyopathiájára 20 éves korában derült fény, szívzöreje miatt indított kardiológiai kivizsgálása során. 25 éves korában jelentkeztek először panaszai, terhelési intolerancia, terhelésre jelentkező nehézlégzés, mellkasi fájdalom, szédülés, az utóbbi időben terhelésre, alacsony terhelési fokozaton jelentkező eszméletvesztések formájában. Echocardiographiás vizsgálata a szinte valamennyi bal kamrai szegmenszet érintő, legkifejezettebb mértékben az anterior és inferior septum basalis és középső, ill. az anterior fal basalis részére lokalizálódó, maximálisan 30 mm átmérőjű bal kamra hypertrophiát mutatott, az anterior mitrális vitorla systoles előremozdulásával (SAM), 18-30 Hgmm-es nyugalmi csúcsgradienssel a bal kamra kiáramlási traktusában. Holter EKG vizsgálata lényegi ritmuszavart nem igazolt. Terheléses vizsgálata (fekvőkerékpáros stressz echocardiographia) közepes terhelhetőséget (75 watt, 2. perc) mutatott, eszméletvesztés nélkül, jó frekvencia és vérnyomás válasszal, a nyugalomban meglévő 31 Hgmm-es gradiens 118 Hgmm-re való emelkedésével a terhelés csúcsán, 156 Hgmm-re való emelkedésével a levezető szakban. Szívkatéteres vizsgálatokor szimultán nyomásméréssel 28-40 Hgmm-es nyugalmi csúcsgradienst észleltünk (9. ábra, A panel), mely Valsalva manőver hatására 50 Hgmm-re (9. ábra, B panel), izolált extrasystolék után 100 Hgmm-re emelkedett (9. ábra,



9. ábra. Bal kamrai kifolyótraktus nyomásgradiens regisztrálása PTSMA során. Nyugalomban mintegy 35 Hgmm csúcsgradiens mérhető a bal kamra csúcsa és az aorta között (A panel), mely Valsalva manőver alatt 50 Hgmm-re (B panel), extrasystole után 100 Hgmm-re nő (C panel). PTSMA után nyugalmi nyomásgradiens nem detektálható, extrasystoleval mintegy 5 Hgmm-es gradiens váltható ki (D panel).

C panel). Coronarographiája szűkülettől mentes epicardiális coronaria rendszert mutatott, gracilis első septalis ággal, és systolés kompressziót mutató ('milking effect') második, nagyobb septalis ággal.

### 3.3.1.2 Módszer

#### *A kontraszt echocardiographia vezérelt PTSMA általános leírása*

Bal vena femoralis behatolásból 5F ideiglenes pacemaker elektródát vezetünk a jobb kamrába, majd bal artéria femoralis behatolásból egy 5F, speciális, csak a végrészén peforált „pigtail” nyomásmérő katétert (Cordis Europa N.V., Roden, Hollandia) pozicionálunk a bal kamra csúcsában. Jobb artéria femoralis behatolásból 7F 4.0 Judkins PTCA felvezető katétert juttatunk az aortagyökbe (Medtronic Inc., Minneapolis, MN, USA), majd szimultán módon regisztráljuk a nyugalmi és provokálható bal kamrai kiáramlási gradienst. A felvezető katéterrel kanüláljuk a bal közös törzset, majd 5000 IU Na-heparin adása után egy 0,014” Galeo M (Biotronik GmbH, Berlin, Németország) vezetődrótot juttatunk a septalis ágba. A vezetődrót pozicionálást követően, későbbi összehasonlítás céljából a standard transthoracalis echocardiographiás síkokból echocardiographiás vizsgálatot végzünk, melyet digitálisan is rögzítünk. Egy „over the wire” PTCA ballont pozicionálunk a septalis ágban, melyet 6 atm. nyomással expandálunk. Echocardiographiás ellenőrzés mellett 1-2 ml echocardiographiás kontrasztanyagot (Levovist, Schering, Berlin, Németország) juttatunk be a septalis ágba, majd transzthoracalis echocardiographiát végzünk. Parasternális hossz- és rövidtengelyi, csúcsi 3-üregi és subcostális echocardiographiás síkokból identifikáljuk a septalis ág által ellátott myocardium területet. Az echocardiographia során különös figyelmet fordítunk a septumon kívüli myocardium területek (papilláris izmok, jobb kamra) esetleges opacifikációjának felismerésére, valamint a septális kontraszt halmozódás kiterjedésének megítélésére. Szelektív septalis angiographiát követően, amennyiben aberráns septális érellátás kizárható, 1-2 ml 95%-os alkoholt (B. Braun, Melsungen, Németország) fecskendezünk lassan a septalis ágba. Tíz perccel az alkohol beadása után a ballont leeresztjük, kontroll nyomásméréseket, ill. angiographiát végzünk. A betegeket 48 órán keresztül non-invazív hemodinamikai monitorizálás mellett a coronaria őrzőben megfigyelés alatt tartjuk.

### 3.3.2. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS ABLATIO EREDMÉNYÉNEK MEGÍTÉLÉSE ÚJ METODIKÁKKAL

#### **3.3.2.1. Myocardiális perfúzió csökkenésének kimutatása videodenzitometrián alapuló idő-denzitás görbe segítségével PTSMA után**

##### 3.3.2.1.1 Beteg

A jelen észlelésnél 35 éves nőbeteg betegsége 11 éves kora óta volt ismert. Első echocardiographiás vizsgálata 16 éves korában szimmetrikus septalis hypertrophiát mutatott, kiáramlási obstrukció nélkül. 18 éves korában echocardiographia már

aszimmetrikus septum hypertrophiát, 16-20 Hgmm LVOT gradienst mutatott. Későbbi vizsgálatai növekvő LVOT gradienst igazoltak, 33 éves korában a septum vastagságot 21 mm-nek, gradienst 130 Hgmm-nek mérték. Rizikóbecslés során terhelésre vérnyomás esést, lapos vérnyomás választ észleltek, a maximális gradiens 185 Hgmm volt. Mindezek alapján 34 éves korában primer prevenciós céllal DDD-ICD implantatio történt. Beavatkozása előtti észlelésekor 24-25 mm maximális bal kamra fal vastagságot (septum basalis része) mutatott, 131 Hgmm nyugalmi dinamikus grádienssel a bal kamra kifolyótraktusában, mely Valsalva manőver alatt 155 Hgmm-re emelkedett. Terhelés echocardiographia során a terhelés gradiens hasonlóképpen szignifikáns volt. A beteg családjában anyai ágon két SCD történt, 55 ill. 61 éves korban.

### 3.3.2.1.2 Módszer

Az alkoholos septalis abláció előtt és után coronarographia történt, mely felvételekből fázis-társított digitális szubsztrakciós angiogram (DSA) készült off-line. A coronarogramok, a mozgási műtermékek keletkezését elkerülendő, légzésvisszatartott fázisban készültek. A kontrasztanyag beadása előtt legalább egy, későbbiekben a kardio-DSA kép maszkjául szolgáló szív ciklust rögzítettünk. A septalis ágakat adó bal elülső leszálló ág (LAD) laterális irányból került rögzítésre, az összevetülések okozta műtermékek minimalizálása céljából. A felvételek során ugyanazt a nem ionos kontrasztanyagot alkalmaztuk (iohexol 0,35 mg/ml iodine; OlimpaqueTM, GE Healthcare, Cork, Ireland), melyet automata injektorral (ACIST Medical Systems, Bracco, Milánó, Olaszország) juttattunk a coronaria rendszerbe (6 ml-t 3 ml/s-os sebességgel). A coronarogramokat Innova 2000TM (GE Healthcare, Chalfont St. Giles, Buckinghamshire, Egyesült Királyság) rendszerrel rögzítettük, a képeket 512x512-es felbontású, 8 bites szürkeárnyalatú képként, tömörítés nélküli formátumban tároltuk.

A videodenzitometriás analízist a Klinikánkon kifejlesztett szoftver segítségével, érmaszkolás alkalmazásával végeztük el.<sup>149, 150</sup> A myocardium denzitometriás vizsgálatainak alapjául szolgáló DSA kép a PTSMA-t követő záró angiográfiás felvétel alapján készült. Az analízis során a vizsgálni kívánt régiót (region of interest – ROI) poligonális alakzattal (4-10 csúcs) jelöltük ki, majd ezen a kijelölt területen mértük le a rá jellemző idő-denzitás görbét (time-density curve – TDC). A TDC lényegét tekintve az adott ROI-ban az adott időpillanatban ábrázolt átlagos pixelárnyalat („szürkeség”). A TDC görbe alapján az analízis során meghatároztuk az elért maximális denzitást (Gmax), illetve az annak eléréséhez szükséges időt (Tmax). A két paraméter hányadosát a myocardialis perfúzió jellemző paraméterének tekintettük. A Gmax/Tmax hányadost a septalis ág ellátási területének megfelelően határoztuk meg.

### 3.3.2.2. A septalis strain változásának kimutatása PTSMA után három-dimenziós 'speckle tracking' echocardiographia segítségével

#### 3.3.2.2.1 Betegek

Két beteget vizsgáltunk. Az első, 55 éves férfi betegnél típusos, aszimmetrikus septum hypertrophia formájában megjelenő hypertrophiás cardiomyopathia állt fenn, 24 mm-es maximális bal kamra fal átmérővel. A nyugalmi LVOT csúcsgradiens 88 Hgmm volt, mely Valsalva manőver hatására 118 Hgmm-re emelkedett. A beteg panaszaira és NYHA III funkcionális stádiumára való tekintettel PTSMA történt, a korábban leírt protokollnak megfelelően. Az abláció során az I. septalis ág kontraszt echocardiographia vezérelt ablációjára került sor. Poszt-procedurális nyugalmi csúcs LVOT gradiens 28 Hgmm volt és 839 U/L (normal range: <195 U/L) kreatin kináz (CK) emelkedést észleltünk a megfigyelési periódus alatt. A második, 62 éves férfibeteg távolabbi anamnézisében kombinált aorta stenozis (AS) és obstruktív HCM szerepelt. A szignifikáns AS (aorta billentyű felett mért átlaggradiens: 57 Hgmm, nyugalmi LVOT gradiens: 35 Hgmm) miatt aorta mechanikus műbillentyű beültetés történt (Carpentier-Edwards Perimount A-21 mm) 18 hónappal a PTSMA-t megelőzően. A műtét után a beteg korábban meglévő fulladásos panaszai perzisztáltak, mely miatt kontroll echocardiographia történt, mely 18 Hgmm valvularis és 68 Hgmm subvalvularis LVOT gradienst mutatott, 24 mm-es maximális septum vastagság mellett. Fél-fekvő helyzetben végzett terheléses kerékpár vizsgálat alatt, a 61 Hgmm-es nyugalmi LVOT gradiens 108 Hgmm-re nőtt. Fentiek alapján PTSMA-t indikáltunk, mely alatt az I. septalis ág ablációja történt meg kontraszt echocardiographia vezérlése mellett, mely kizárólagosan a septum bazális részében mutatott kontraszt dúsulást. A beavatkozás utáni nyugalmi LVOT csúcsgradiens 27 Hgmm-re csökkent és 499 U/L CK emelkedést regisztráltunk.

#### 3.3.2.2.2 Módszer

A beavatkozás előtt 1 nappal és a beavatkozás után 3 nappal három-dimenziós 'speckle tracking' echocardiographiát (3DSTE) végeztünk (Toshiba Artida, PST-25Sx mátrix array transducer, Toshiba Medical Systems, Tokyo, Japan) hogy az ablált területben létrejövő strain változásokat detektáljuk. A vizsgálat részleteit illetően lsd. Nemes és mtsai. áttekintő közleményét.<sup>151</sup>

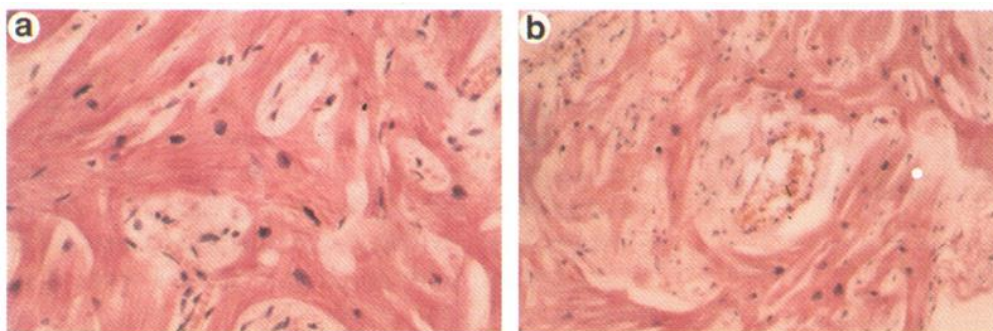
## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1 ARRHYTHMOGÉN TÉNYEZŐK MORFOLÓGIAI ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

#### 4.1.1. INTERCELLULÁRIS JUNKCIÓK ELTÉRÉSEINEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

##### 4.1.1.1. Standard szövettan

A HCM-es szívizomszövet kórszövettani vizsgálata a HCM-re tipikus hisztopatológiai eltéréseket mutatta. Ezeket az eltéréseket 'myofiber disarray'-re jellemzően dezorganizált szívizomrostok jellemezték, néhol kereszt-, vagy háromszög alakú sejt alakzatokkal (10. ábra, a panel). Néhány területen az izomrostok cirkuláris struktúrákat alkottak, laza kötőszövetes központi mag körül (10. ábra b panel). Interstitialis fibrózis, myocardiális hegesedés, és megvastagodott intimával rendelkező kiserek szintén megfigyelhetők voltak.

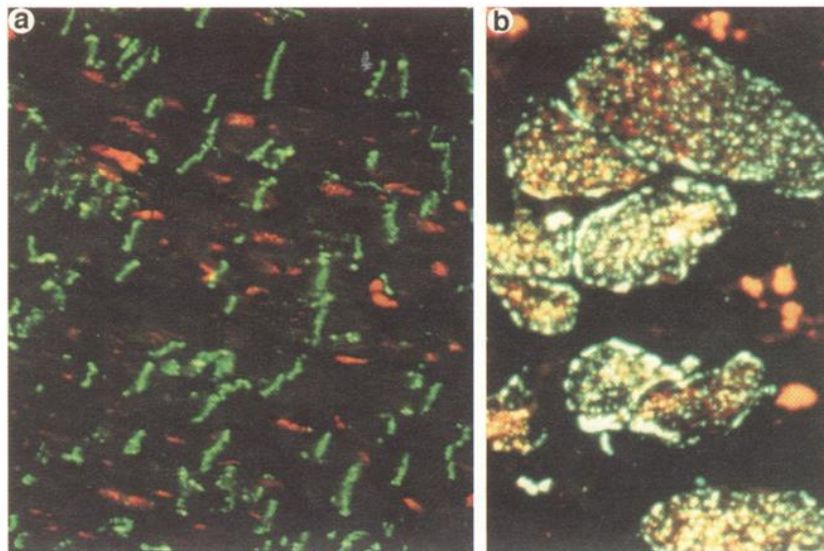


10. ábra. (a) Dezorientált, abnormis alakú és méretű myocardiális rostokat és interstitialis fibrózist mutató 'myofiber disarray' hypertrophiás cardiomyopathiás szövetmintában. Haematoxylin-eosin festés, 134x. (b) Egymásba fűződő myocytákból álló cirkuláris myocardiális rost, laza kötőszövetes központi mag körül. Haematoxylin-eosin festés, 67x.

##### 4.1.1.2. Az intercalaris discusok szövettani jellegzetességei a kontroll mintákban

A desmoplakin (desmoszóma) és connexin 43 (gap junction) immunjelölés konzisztens és reprodukálható festődési mintázatot mutatott standard epifluorescens mikroszkópos vizsgálattal. A fluorescens szignál felbontása jelentősen javult konfokális lézer pásztázó mikroszkóp használatával. A HCM-es szívek 'myofiber disarray' által nem érintett területein, és a kontroll mintákban (normál és non-HCM mintákban) a junctionális fehérjék az intercalaris discusokban lokalizálódtak, mint fénylő, pontszerű aggregátumok. A hosszanti irányban metszett rostokban az immunfestett discusok mint rövid, harántirányban elrendeződött sávok formájában jelentek meg, jórészt egymással párhuzamos lefutást

mutatva, mint ahogy azt 11. ábra a panelen látható connexin 43 festés illusztrálja. A keresztmetszetben megjelenő izomrostokban a discusokat mint ovoid struktúrákat lehetett megfigyelni. Mint ahogy azt korábbi közleményeinkben publikáltuk,<sup>152, 153</sup> a connexin 43 jelzett gap junction-ök a discusok szélein egy prominens gyűrűt mutattak "face on" elhelyezkedésben vizsgálva (11. ábra, b panel). Az immunfestett dezmoszómák a kontroll mintákban uniformis eloszlást mutattak az intercalaris discus területén.



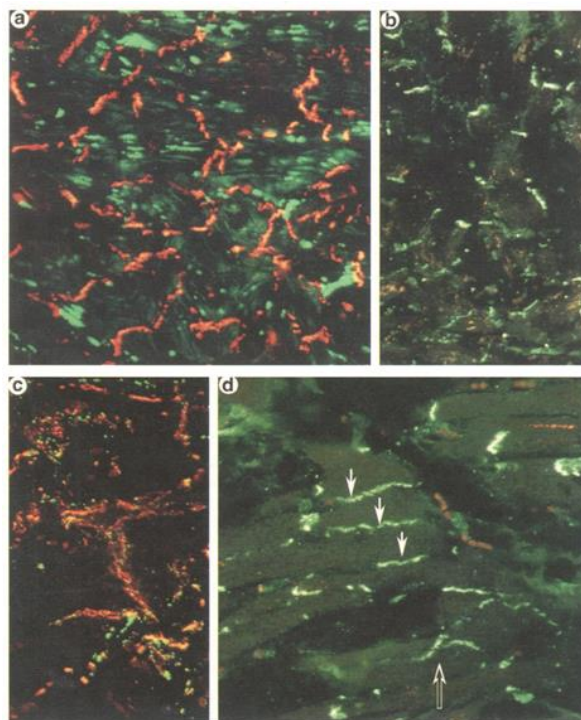
11. ábra (a) Az intercalaris discus-ok normális megjelenése hosszirányban metszett rostokban; az aggregált fénylő fluoreszcens pontok egy, a rost hossz tengelyére merőleges haránt csíkban jelennek meg. Átnézetben rendezett, párhuzamos elhelyezkedés jelenik meg. A durva, sárgás anyag perinucleáris lipofuschin-nak felel meg, mely világosan elkülönül az immunfestett junkcióktól. Konfokális lézer pásztázó mikroszkópos kép, connexin 43 immunfestés, 134x. (b) Keresztmetszeti képen a connexin 43 immunfestett discus-ok ovoid struktúrákként jelennek meg, a discus-ok széleinél prominens, gyűrű-szerű festődéssel. Konfokális lézer pásztázó mikroszkópos kép, 423x.

#### 4.1.1.3. A dezmoszómák eloszlása a 'myofiber disarray' által érintett területeken

A 'myofiber disarray' által érintett szívmusculus területeken a dezmoszómák kifejezett eltéréseit lehetett megfigyelni. A legtöbb dezmoplakin-jelzett discus megtartotta a rost hosszanti tengelyére merőleges orientációját. Mindazonáltal, az izomrostok 'myofiber disarray' miatti kaotikus elhelyezkedése következtében a dezmoszómák globális elrendeződése kifejezetten dezorganizált volt (12. ábra, a és b panel). A bizarr megjelenésű háromszög, vagy kereszt alakú myocyták struktúrákban a dezmoszómák intercalaris discusban való megjelenése konfluáló volt, hatalmas „megadiscus”-ok képződésével (12. ábra, c panel). Egy másik, a dezmoszómák elrendeződését érintő gyakori eltérés a többsíkú discusok kialakulása volt. Itt a prominens immunfestett discusokat kereszteződő struktúrákban lehetett megfigyelni (12. ábra, c és d panel). Hosszú, oldal-az-oldal-hoz formában megjelenő dezmoszómák szintén megfigyelhetők voltak egyes myocyták között (12. ábra, d panel).

#### 4.1.1.4. Az gap junction-ök eloszlása a 'myofiber disarray' által érintett területeken

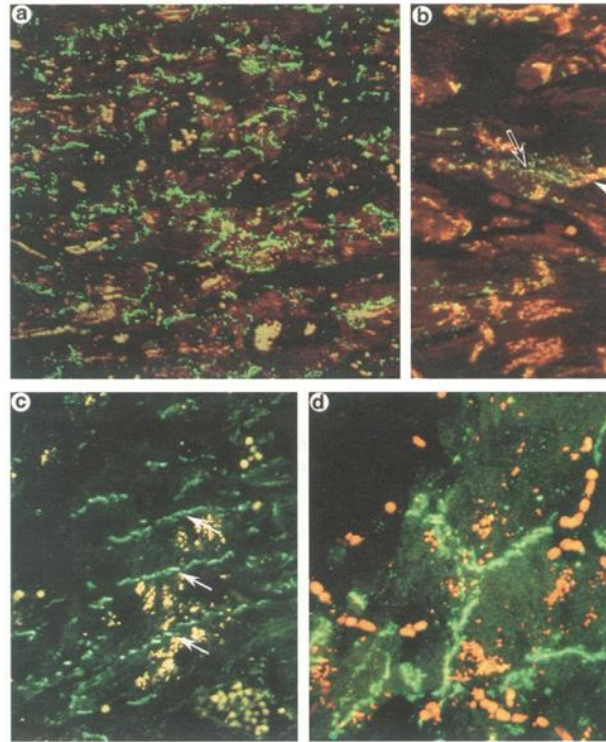
A 'myofiber disarray' által érintett szívizom területeken a gap junction-ök eloszlása szintén jelentős eltéréseket mutatott a normál mintákéhoz képest. A globális dezorganizáltság mellett a gap junction-ök elrendeződése eltérő volt a dezmoszómák eltéréseihez képest. A 'myofiber disarray' egyes területein a connexin 43 festődés nemcsak jól körülírtan az intercalaris discus-ok területén jelent meg, hanem eltérő mértékű diszperziót mutatva a myocyták felszínén is kimutatható volt (13. ábra, a és b panel). Egyes esetekben ez a myocyták teljes felszínén való megjelenést jelentette (13. ábra, a panel), míg más esetekben a gap junction-ök diszperziója nem volt ennyire kifejezett. Az intercelluláris junkciók mechanikai és elektromos komponenseinek feltűnő disszociációja leginkább kettős jelöléssel festett metszetekben volt megfigyelhető (13. ábra, b panel).



12. ábra. A dezmoszómális junkciók megváltozott elrendeződése a 'myofiber disarray' által érintett területeken hypertrophiás cardiomyopathiában. (a) Az egyes intercalaris discus-ok megtartják haránt orientációjukat az izomrost hossz tengelyére merőlegesen, de átnézetben kifejezett rendezetlenség jelenik meg (134x). (b) A dezmoszómák elhelyezkedésének nagymértékű rendezetlensége 'myofiber disarray' területén (67x). (c) Abnormis alakú, megnövekedett, több síkú 'megadiscus' (134x). (d) Hosszú, oldal-az-oldalhoz jellegű dezmoszómális kapcsolatok szomszédos rostok között (tömör nyilak) egymással keresztőződő discus-okkal (üres nyíl) (335x). Konfokális lézer pásztázó mikroszkópos kép, anti-dezmoplakin immunfestés (a, b, d) és anti-dezmoplakin (vörös) és anti-connexin 43 (zöld) kettős festés (c).

A hosszirányban metszett myocyták között oldal-az-oldal-hoz jellegű kapcsolatok gyakran megfigyelhetők voltak és az abnormisan megnagyobbodott 'megadiscus'-ok hasonlóképp

kifejezett connexin 43 festődést mutattak (13. ábra, d panel). Érdekes módon a 'myofiber disarray' területén megfigyelt, gyűrűszerűen kapcsolódó myocytá struktúrák szintén mutattak gap junction kapcsolatokat. Ezek a struktúrák sorozatmetszetekben megfigyelhetők voltak, ill. megfelelő orientáció esetén a gap junction-ökkel kapcsolt myocytá gyűrűk teljes egészükben nyomon követhetőek voltak.



13. ábra. A gap junction-ök megváltozott elrendeződése a 'myofiber disarray' által érintett területeken hypertrophias cardiomyopathiában. (a) A gap junction immunfestés random diszperziót mutatva jelenik meg a myocyták felszínén, az intercalaris discus-okba való jól definiált rendeződés helyett (134x). (b) A desmoplakin festett intercalaris discus (narancssárga, tömör nyíl) és a diszpergált pontszerű gap junction-ök közötti nyilvánvaló disszociáció (zöld, üres nyíl) (422x). (c) Abnormis oldal-az-oldalhoz gap junction kapcsolatok szomszédos myocyták között (nyílak, 134x). (d) Kifejezett gap junction festődést mutató abnormis alakú és méretű intercalaris discus. Konfokális lézer pásztázó mikroszkópos kép, anti-connexin 43 immunfestés (a, c, d) és anti-connexin 43 (zöld) és anti-desmoplakin (narancssárga) kettős immunfestés (b).

#### 4.1.2. REPOLARIZÁCIÓS PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

##### 4.1.2.1. EKG paraméterek a HCM betegekben és kontrollokban

A HCM betegek és kontrollok EKG paramétereinek összehasonlítását a 5. táblázat mutatja be.

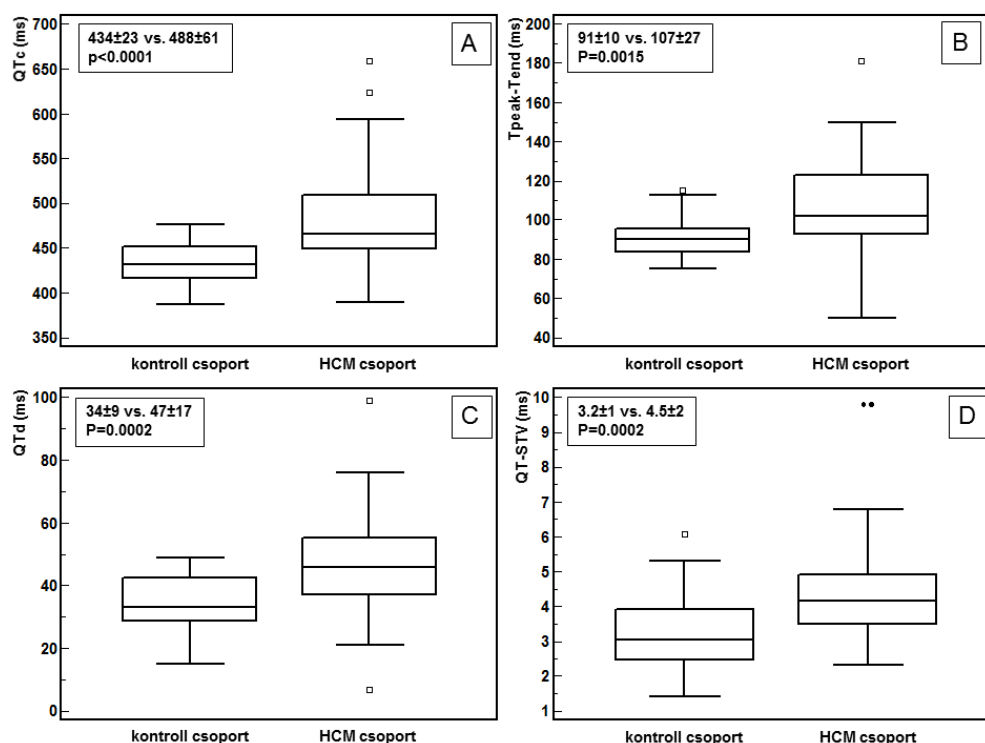
5. táblázat. A HCM és kontroll csoport betegeinek EKG paraméterei

|                     | Kontroll<br>(n=37) | HCM<br>(n=37) | Relatív különbség<br>(%) |
|---------------------|--------------------|---------------|--------------------------|
| RR (ms)             | 867 ± 119          | 947 ± 140*    | 9.2                      |
| PQ (ms)             | 152 ± 17           | 166 ± 30*     | 8.5                      |
| QRS (ms)            | 96 ± 7             | 112 ± 17***   | 15.6                     |
| QT (ms)             | 401 ± 24           | 473 ± 66***   | 18.0                     |
| QTc (ms) Bazett     | 434 ± 23           | 488 ± 61***   | 13.0                     |
| QTc (ms) Fridericia | 422 ± 20           | 483 ± 60***   | 14.7                     |
| QTc (ms) Framingham | 423 ± 19           | 481 ± 60***   | 14.5                     |
| QTc (ms) Hodges     | 420 ± 18           | 482 ± 60***   | 15.0                     |
| QTd (ms)            | 34 ± 9             | 47 ± 17**     | 37.1                     |
| Tpeak-Tend (ms)     | 91 ± 10            | 107 ± 27*     | 18.9                     |
| QT-STV (ms)         | 3.2 ± 1            | 4.5 ± 2**     | 40.6                     |

*Az értékek átlag ± szórás formában vannak kifejezve. A kontroll csoporttal való összehasonlításban statisztikailag különböző értékeket \* jelzi [ $p < 0.05$  (\*),  $p < 0.001$  (\*\*),  $p < 0.0001$  (\*\*\*)]. HCM: hypertrophiás cardiomyopathia; QTc: szívfrekvenciára korrigált QT intervallum (a Bazett, Fridericia, Framingham és Hodges formula szerint meghatározva); QTd: QT diszperzió; Tpeak-Tend: a T hullám csúcsától a T hullám végéig mért T hullám terminális fázisa; QT-STV: ütésről-ütésre mért rövid távú QT variabilitás.*

A HCM betegekben szignifikánsan hosszabbak voltak az RR, PQ és QRS intervallumok. A QTc értéke szintén emelkedett volt a HCM betegekben (14. ábra, A panel), függetlenül a QTc korrekció módszertől (Bazett, Fridericia, Framingham vagy Hodges formula). A HCM csoportban nem volt szignifikáns különbség a különböző korrekciós formulákkal számított QTc értékei között. A T hullám terminális része, a Tpeak-Tend intervallum szintén jelentősen hosszabb volt a HCM betegekben (14. ábra, B panel). A QT diszperzió (14. ábra, C panel) és rövid távú QT variabilitás hasonlóképpen emelkedettebb volt HCM betegekben (14. ábra, D panel). A legnagyobb, 41%-os relatív emelkedést, a rövid távú QT variabilitás értékét illetően tapasztaltuk a különböző paraméterek között.

A HCM és a kontroll csoport között észlelt különbségek akkor is jelentősen szignifikáns mértékűek maradtak, amikor a QT nyújtó szert szedő 3 beteg (amiodarone vagy propafenone, n=3) adatait kivettük az összehasonlításból. A BMI vagy az obezitás mértéke egyik repolarizációs paraméter értékével sem korrelált.



14. ábra. Az EKG különböző repolarizációs paraméterei közötti szignifikáns különbséget illusztráló box-és-whisker plot-ok a HCM és kontroll csoport között. A) frekvencia korrigált QT szakasz (QTc); B) a T hullám terminális fázisát jelző Tpeak-Tend távolság (Tpeak-Tend); C) QT diszperzió (QTd); D) ütésről-ütésre mért rövid távú QT variabilitás (QT-STV). A központi téglalap az interkvartilis terjedelmet ábrázolja (25-75 percentilis). A középvonal a mediánt jelzi. A vertikális vonal a minimum értéktől a maximum értékig tart, a kívülálló (nyitott négyzet) és a távoli kívülálló (tömör pontok) értékek kivételével, melyek különállóan jelennek meg.

#### 4.1.2.2. A repolarizációs paraméterek közötti korreláció HCM betegekben

A különböző repolarizációs paraméterek, a QT diszperzió és rövid távú QT variabilitás közötti korrelációt a 6. táblázat tünteti fel. A QTc megnyúlása szignifikánsan korrelált a Tpeak-Tend távolsággal, de nem a QRS szélességével, arra utalva, hogy a QTc megnyúlás, legalábbis részben, a T hullám terminális része megnyúlásának következménye. A rövid távú QT variabilitás relatíve szoros korrelációt mutatott a QTc megnyúlással és kisebb mértékben, a Tpeak-Tend intervallummal. A QT diszperzió egyik repolarizációs paraméterrel sem korrelált.

#### 4.1.2.3. A repolarizációs és echocardiographiás paraméterek korrelációja HCM betegekben

Az EKG és echocardiographiás paraméterek nem korreláltak egymással HCM betegekben, kivéve egy gyenge korrelációt a rövid-távú QT variabilitás és a bal kamrai vég-szisztolés átmérő ill. bal kamrai ejekciós frakció között.

6. táblázat. A repolarizációs paraméterek korrelációja HCM betegeknél

|            | QRS   | Tpeak-Tend | QTd     | QT-STV   |
|------------|-------|------------|---------|----------|
| QTc        | 0.284 | 0.527***   | - 0.013 | 0.616*** |
| Tpeak-Tend | 0.299 | –          | 0.018   | 0.378*   |
| QTd        | 0.253 | –          | –       | - 0.228  |

Az értékek a Pearson-féle korrelációs koefficienssel jelzik. A statisztikailag különböző értékeket \* jelzi [ $p < 0.05$  (\*),  $P < 0.001$  (\*\*\*)];  $n = 37$ . HCM: hypertrophias cardiomyopathia; QTc: szívfrekvenciára korrigált QT intervallum (a Bazett formula szerint); QTd: QT diszperzió; Tpeak-Tend: a T hullám csúcsától a T hullám végéig mért T hullám terminális fázisa; QT-STV: ütésről-ütésre mért rövid távú QT variabilitás.

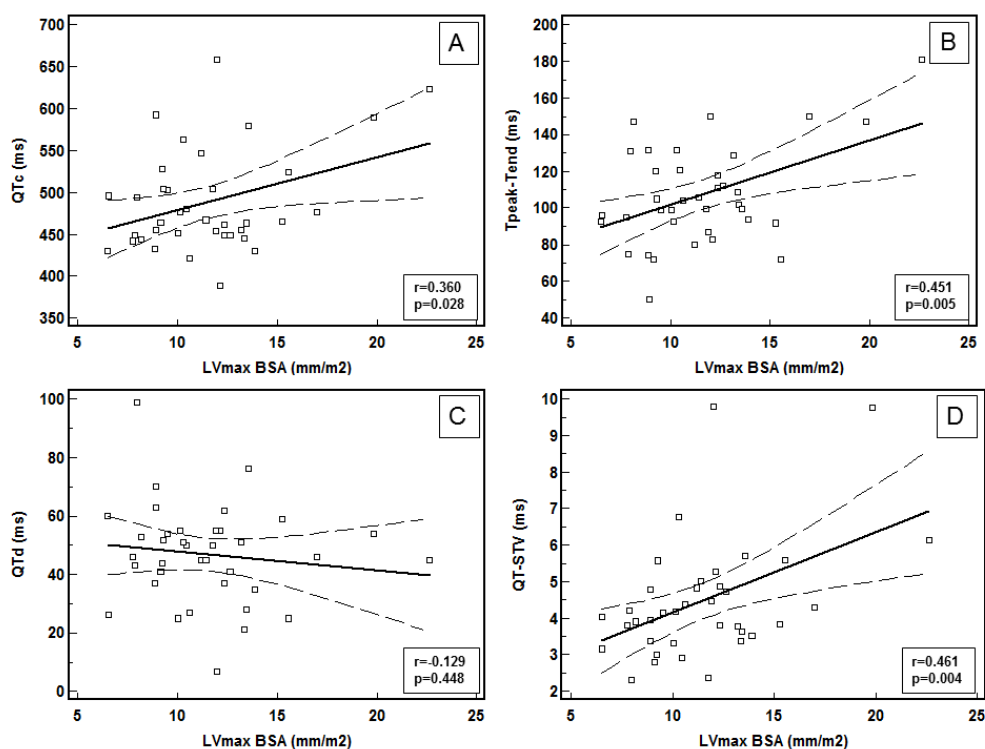
#### 4.1.2.4. A repolarizációs paraméterek és a bal kamra hypertrophia indexeinek korrelációja HCM betegeknél

A repolarizációs paraméterek és a testtömegre normalizált vagy nem-normalizált bal kamra hypertrophia indexek (MRI-vel meghatározott maximális bal kamra fal átmérő és bal kamrai izomtömeg) közötti korrelációt a 7. táblázat szemlélteti. A korreláció mértéke szinte minden korreláció esetén növekedett a normalizálás hatására. A rövid-távú QT variabilitás egy szignifikáns, bár mérsékelt korrelációt mutatott mind a normalizált, mind a nem-normalizált bal kamra hypertrophia indexekkel (LVmax BSA, 15. ábra és LVM BSA, 16. ábra). A Tpeak-Tend intervallum szintén szignifikánsan korrelált néhány hypertrophia paraméterrel, de nem korrelált a legmegbízhatóbb hypertrophia index-el, a testfelszínre korrigált LVM értékével.

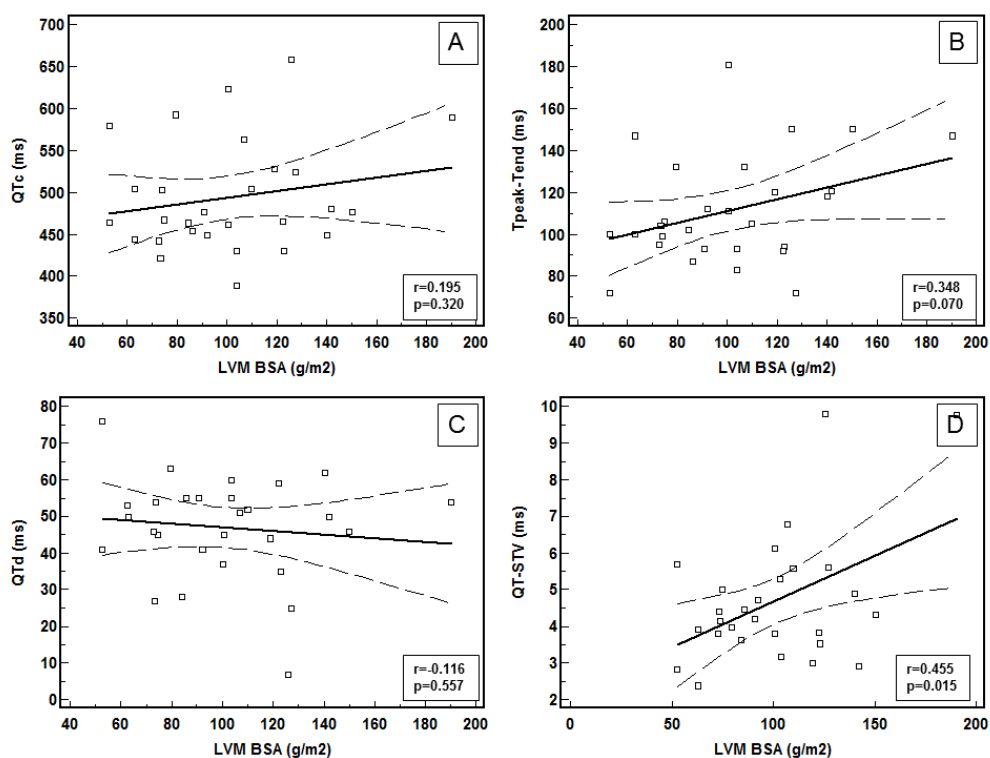
7. táblázat. A repolarizációs paraméterek és a bal kamra hypertrophia paraméterek közötti korreláció HCM betegeknél

|                                | QTc    | Tpeak-Tend | QTd     | QT-STV  |
|--------------------------------|--------|------------|---------|---------|
| IVS (mm)                       | 0.099  | 0.344*     | - 0.144 | 0.285   |
| LVmax (mm)                     | 0.216  | 0.450**    | - 0.238 | 0.381*  |
| LVmax BSA (mm/m <sup>2</sup> ) | 0.360* | 0.451**    | - 0.129 | 0.461** |
| LVM (g)                        | 0.037  | 0.241      | - 0.128 | 0.273   |
| LVM BSA (g/m <sup>2</sup> )    | 0.195  | 0.348      | - 0.116 | 0.455*  |

Az értékek a Pearson-féle korrelációs koefficienssel jelzik. A statisztikailag különböző értékeket \* jelzi [ $p < 0.05$  (\*),  $p < 0.01$  (\*\*)]];  $n = 37$ . HCM: hypertrophias cardiomyopathia; QTc: szívfrekvenciára korrigált QT intervallum (a Bazett formula szerint); QTd: QT diszperzió; Tpeak-Tend: a T hullám csúcsától a T hullám végéig mért T hullám terminális fázisa; QT-STV: ütésről-ütésre mért rövid távú QT variabilitás; IVS: interventricularis septum; LVmax: maximális bal kamra fal vastagság; LVmax BSA: testfelszínre normalizált maximális bal kamra fal vastagság; LVM: bal kamrai izomtömeg; LVM BSA: testfelszínre normalizált bal kamrai izomtömeg.



15. ábra. A testfelszínre normalizált maximális bal kamra fal vastagság (LVmax BSA) és a A) frekvencia korrigált QT szakasz (QTc); B) a T hullám terminális fázisát jelző Tpeak-Tend távolság (Tpeak-Tend); C) QT diszperzió (QTd); D) ütéstől-ütésre mért rövid távú QT variabilitás (QT-STV) közötti korrelációt illusztráló szórásgörbe.



16. ábra. A testfelszínre normalizált bal kamrai izomtömeg (LVM BSA) és a A) frekvencia korrigált QT szakasz (QTc); B) a Tpeak-Tend távolság (Tpeak-Tend); C) QT diszperzió (QTd); D) ütéstől-ütésre mért rövid távú QT variabilitás (QT-STV) közötti korrelációt illusztráló szórásgörbe.

## 4.2. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA FAMILIÁRIS ARRHYTHMOGÉN KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEKBEN

### 4.2.1. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

#### 4.2.1.1. MYBPC3 génmutációk azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegekben

A 45 vizsgált HCM-es betegben 6 (13%) különböző kóroki MYBPC3 mutációt azonosítottunk (8. táblázat, ill. Appendix VII: A HCM-es betegcsoportban észlelt MYBPC3 génmutációk elektroferogramjai; 34. és 35. ábra). 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 mikrodéláció 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.

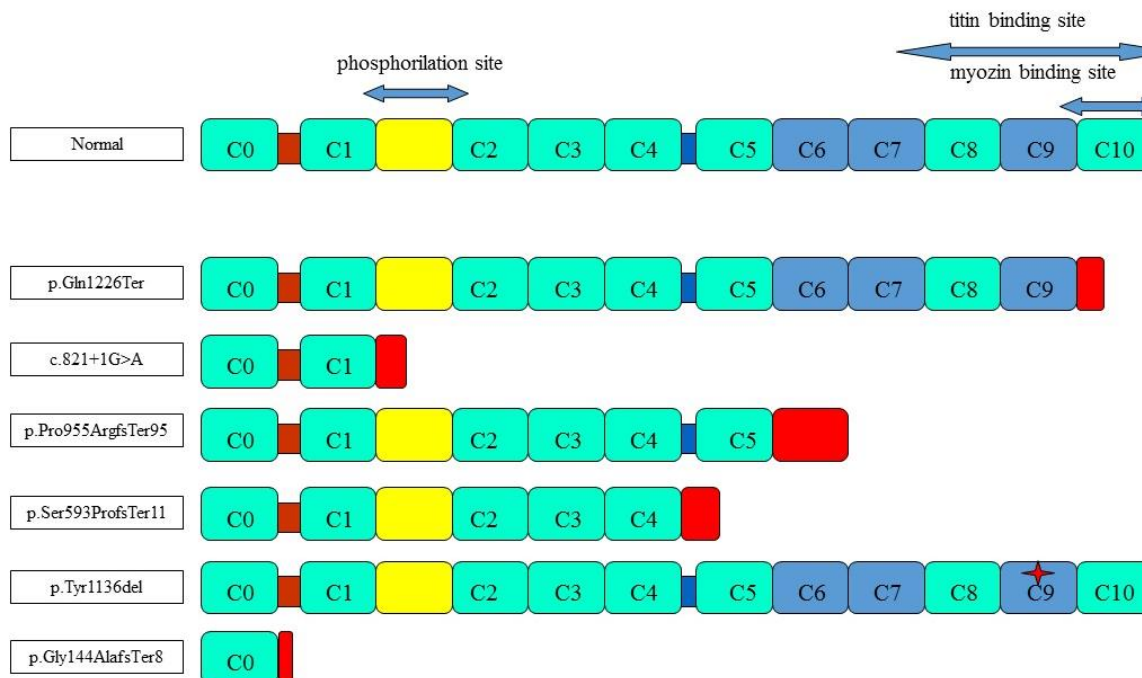
8. táblázat. A HCM-es betegcsoportban azonosított MYBPC3 mutációk

| beteg  | érintett exon     | érintett codon | nucleotid csere   | aminosav csere     | közölt | HGMD No. | dbSNP No.   | referencia  |
|--------|-------------------|----------------|-------------------|--------------------|--------|----------|-------------|-------------|
| H 16.0 | 33                | 1233           | c.3697C>T         | p.Gln1233ter       | igen   | CM014069 | rs397516037 | 15, 17, 219 |
| H 11.0 | exon7/<br>intron7 | -              | c.821+1G>A        | -                  | igen   | CS982276 | rs397516073 | 15, 17, 220 |
| H 65.0 | 27                | 955            | c.2864_2865delCT  | p.Pro955ArgfsTer95 | igen   | CD982813 | rs397515990 | 17, 220     |
| H 92.0 | 18                | 592-593        | c.1776_1777delGT  | p.Ser593ProfsTer11 | nem    | -        | rs730880713 |             |
| H 76.0 | 31                | 1136           | c.3407_3409delACT | p.Tyr1136del       | nem    | -        | rs730880674 |             |
| H 55.0 | 4                 | 144            | c.431_432delGT    | p.Gly144AlafsTer8  | nem    | -        | rs397516047 |             |

del: deláció, fs: frame-shift, HGMD: Human Gene Mutation Database, dbSNP: Single Nucleotide Polymorphism Database.

A mutációk feltételezett hatásait a 17. ábra mutatja be.

A MYBPC3 mutációhordozó index beteg főbb klinikai adatait a 9. táblázat tünteti fel, részletes kórtörténetüket az Appendix-ben adjuk meg (Appendix VIII: Az azonosított MYBPC3 génmutációt hordozó index betegek részletes kórtörténetei).



17. ábra. A HCM-es betegcsoportban észlelt MYBPC3 génmutációk feltételezett hatásai. Az ábrán a cMyBP-C fehérje tizenegy doménje (C0-C10) van feltüntetve, a nyolc immunoglobulin I (IgI) domén zölddel, a három fibronectin III (FnIII) domén kékkel. A foszforilációs, myozin- és titin köző helyeket nyilak jelölik. A feltételezett csonkódolódási helyeket vörös szín jelzi.

9. táblázat. A MYBPC3 génmutációt hordozó index betegek főbb klinikai paraméterei

| beteg ID | mutáció            | nem   | kor (diag-nózikor, év) | BKmax (mm) | hypertrophia lokalizáció | follow up                          |
|----------|--------------------|-------|------------------------|------------|--------------------------|------------------------------------|
| H 16.0   | p.Gln1233Ter       | nő    | 43                     | 32         | ASH                      | stroke miatti exitus 49 évesen     |
| H 11.0   | c.821+1G>A         | férfi | 21                     | 26         | ASH                      | dilatatív fázisba való átmenet, PF |
| H 65.0   | p.Pro955ArgfsTer95 | nő    | 54                     | 25         | ASH                      | él, lényegi progresszió nincs      |
| H 92.0   | p.Ser593ProfsTer11 | férfi | 43                     | 16         | ASH                      | SCD 59 éves korban                 |
| H 76.0   | p.Tyr1136del       | férfi | 54                     | 26         | ASH                      | SCD 56 éves korban                 |
| H 55.0   | p.Gly144AlafsTer8  | nő    | 40                     | 24         | ASH                      | él, lényegi progresszió nincs      |

ASH: aszimmetrikus septum hypertrophia; SCD: sudden cardiac death, BKmax: maximális bal kamra fal vastagság; PF: pitvarfibrilláció.

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

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; lsd. 10. táblázat). Mindegyik családtagban heterozigóta formában fordult elő a mutáció.

10. táblázat. A MYBPC3 génmutációt hordozó családok genetikai és klinikai szűrésének főbb adatai

| család | mutáció            | szűrt családtagok (n) | mutáció hordozó (n) | klinikailag érintett (n) |
|--------|--------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------|
| H 16   | p.Gln1233Ter       | 7                     | 3                   | 1                        |
| H 11   | c.821+1G>A         | 20                    | 7                   | 5                        |
| H 65   | p.Pro955ArgfsTer95 | 30                    | 15                  | 2                        |
| H 92   | p.Ser593ProfsTer11 | 2                     | 2                   | 1                        |
| H 76   | p.Tyr1136del       | 3                     | 3                   | 1                        |
| Össz.  |                    | 62                    | 30                  | 10                       |

A 30 mutációhordozó családtag közül, az index betegeket is beleértve, 10 (33%) családtagban lehetett klinikailag HCM meglétét igazolni (lsd. 10. táblázat). A mutációhordozó index betegek és érintett családtagok főbb klinikai paramétereit a 11. táblázat tartalmazza. A H 11 családban a hét mutációhordozó közül 5 családtagban, a H 65 családban 15 mutációhordozó 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 H 11 családban 5 manifeszt HCM-es beteget észleltünk. A proband édesapjának (H 11.1), ki 72 éves korában hirtelen szívhalált halt, 63 éves korában diagnosztizáltuk betegségét (interventrikuláris septum vastagság: 26 mm). A proband öccsében (H 11.15) hypertrophiás cardiomyopathia kifejlődését észleltük az idők folyamán, típusos ASH képében. Mindehhez a betegnél 48 éves korában diagnosztizált manifeszt cochlearis halláscsökkenés is társult (egyértelmű a bal oldali cochlearis hallászavar, jobb oldalon mérsékelt fokú). Rendszeres kardiológiai követése, echocardiographiás vizsgálatai az alkalmazott kombinált gyógyszeres terápia mellett a beteg statusában az évek folyamán lényeges progressziót nem igazoltak, azonban 51 éves korában, alvás közben hirtelen szívhalál következtében elhunyt. A proband idősebb bátyjánál (H 11.22) szintén hypertrophiás cardiomyopathia kifejlődését észleltük, aszimmetrikus septum hypertrophia képében. A beteg cardialis statusa stabil a jelenlegi gyógyszeres beállítás mellett. A proband fiatalabb bátyja (H 11.3) mind genetikailag, mind a hypertrophiás cardiomyopathia klinikai tünetei szempontjából ugyancsak érintettnak bizonyult. Nála 59 éves korában, az általunk végzett kardiológiai szűrővizsgálaton derült fény obstrukció nélküli, típusos aszimmetrikus septum hypertrophiájára. Egy évvel később decompensatio panaszokkal, paroxysmalis pitvarfibrilláció miatt több alkalommal szorult

kórházi ellátásra. Nem sokkal később bakteriális endocarditise alakult ki mely miatt aorta, illetve mitralis műbillentyű beültetésre is sor került.

11. táblázat. A MYBPC3 génmutációt hordozó index betegek és családtagok főbb klinikai paraméterei

| beteg ID | mutáció            | nem   | kor<br>(diagnóziskor,<br>év) | BKmax<br>(mm) | hypertrophia<br>lokalizáció | follow up                            |
|----------|--------------------|-------|------------------------------|---------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| H 16.0   | p.Gln1233Ter       | nő    | 43                           | 32            | ASH                         | stroke miatti exitus 49 évesen       |
| H 11.0   | c.821+1G>A         | férfi | 21                           | 26            | ASH                         | dilatatív fázisba való átmenet, PF   |
| H 11.1   | c.821+1G>A         | férfi | 63                           | 26            | ASH                         | SCD 72 éves korban                   |
| H 11.15  | c.821+1G>A         | férfi | 42                           | 26            | ASH                         | SCD 51 éves korban                   |
| H 11.22  | c.821+1G>A         | férfi | 52                           | 13            | ASH                         | él, lényegi progresszió nincs        |
| H 11.3   | c.821+1G>A         | férfi | 59                           | 15            | ASH                         | PF, endocarditis, AVR, MVR           |
| H 65.0   | p.Pro955ArgfsTer95 | nő    | 54                           | 25            | ASH                         | él, lényegi progresszió nincs        |
| H 65.3   | p.Pro955ArgfsTer95 | férfi | 76                           | 17            | ASH                         | exitus 83 éves korban, nem HCM miatt |
| H 92.0   | p.Ser593ProfsTer11 | férfi | 43                           | 16            | ASH                         | SCD 59 éves korban                   |
| H 76.0   | p.Tyr1136del       | férfi | 54                           | 26            | ASH                         | SCD 56 éves korban                   |

ASH: aszimmetrikus septum hypertrophia; SCD: sudden cardiac death, BKmax: maximális bal kamra fal átmérő; AVR: aortic valve replacement; MVR: mitral valve replacement.

A H 65 családban a probandon kívül egy fiútestvérben (H 65.3) lehetett HCM-et igazolni, kinek betegségére 76 éves korában derült fény. Betegségét aszimmetrikus septum hypertrophia jellemezte, 17 mm-es maximális bal kamrafal vastagsággal, kiáramlási gradiens nélkül. Rizikóbecslése alacsony rizikót igazolt. 83 éves korában, HCM-től független ok miatt (gyomorrák) halt meg.

A klinikailag is érintett mutációhordozók 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 mutációhordozó családtagok életkora ( $51 \pm 13$  vs.  $38 \pm 17$  év,  $p=0.028$ ). A klinikailag érintett 10 mutációhordozóban a  $10 \pm 8$  éves (medián: 8 év) után követés során 6 haláleset történt, átlagosan  $58 \pm 10$  éves korban, átlag  $9 \pm 4$  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 mutációhordozó között haláleset nem történt.

#### 4.2.1.3. A MYBPC3 gén p.Gln1233Ter mutációjának analízise 3 hordozó családban

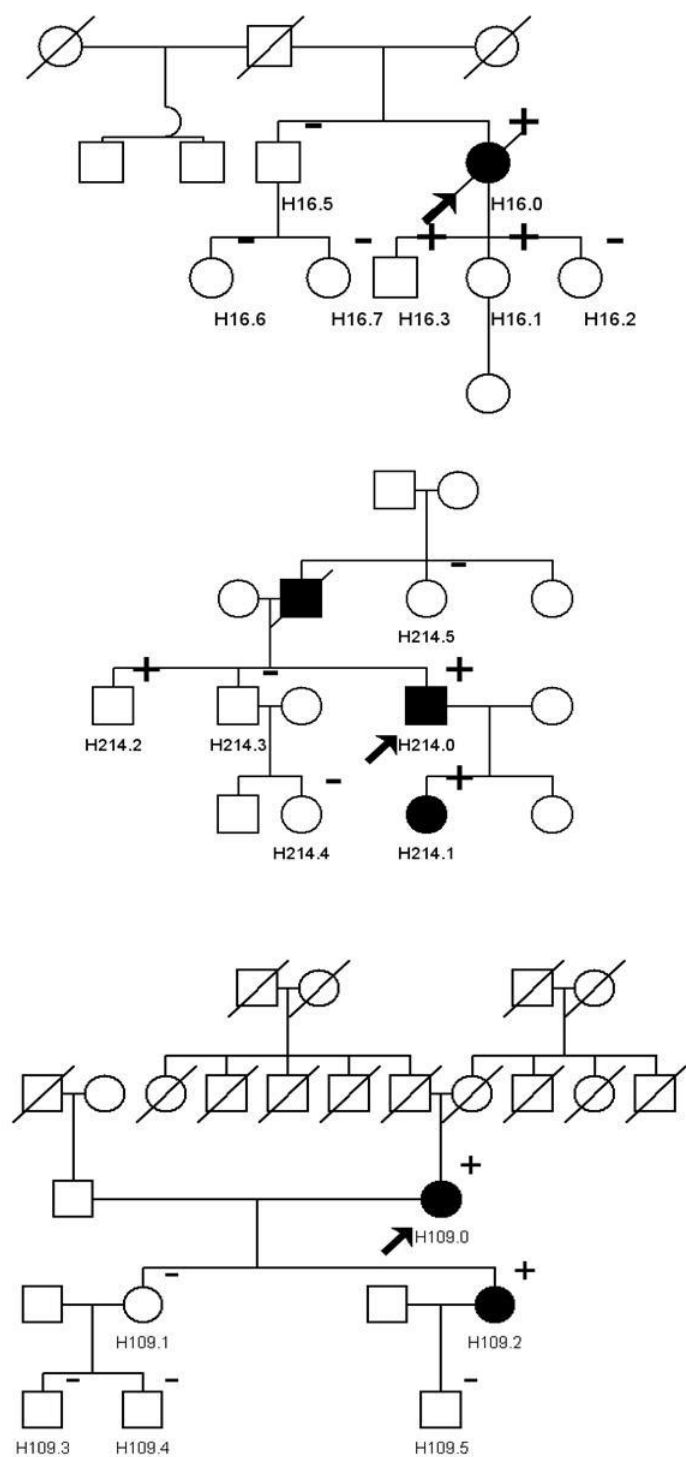
A MYBPC3 gén p.Gln1233Ter mutációját a későbbiekben két további (a már részletezett H 16 családdal együttesen összesen három), látszólag nem rokon családban is észleltük. A második, férfi index betegben (H 214.0, lsd. családfa 18. ábra és 12. táblázat) a HCM diagnózisát 33 éves korban állítottuk fel, syncope-s rohamokat követően elindított kardiológiai kivizsgálás során. Echocardiographia mérsékelt septum hypertrophiát mutatott (21 mm), a mitrális billentyű SAM jelenségével, 55 Hgmm-es nyugalmi bal kamra kifolyótraktus gradienssel, mely Valsalva manőver alatt 88 Hgmm-re nőtt. Invazív kivizsgálása szintén szignifikáns nyugalmi (45-58 Hgmm) és provokálható (158-165 mmHg) obstrukciót igazolt. Terheléses intolerancia miatt myectomy, majd később pace-maker implantáció történt. A harmadik, nő index betegben (H 109.0, lsd. családfa, 18. ábra és 12. táblázat) a HCM diagnózisát 62 éves korban állapították meg, az egyebekben tünetmentes betegben készült mellkas Rtg-en észlelt szívmegegyesülés alapján indikált echocardiographiás vizsgálattal. Echocardiographia mérsékelt bal kamra hypertrophiát mutatott, legkifejezettebben az interventricularis septumnál (23 mm), 35 Hgmm-es nyugalmi balkamra kifolyótraktus gradienssel.

12. táblázat. A p.Gln1233Ter MYBPC3 génmutációt hordozó index betegek és családtagok főbb klinikai paraméterei

| beteg   | nem | klinikai státusz | kor (diagnózis vagy utolsó FU, év) | BKmax (mm) | follow up                      |
|---------|-----|------------------|------------------------------------|------------|--------------------------------|
| H 16.0  | F   | érintett         | 43                                 | 32         | stroke miatti exitus 49 évesen |
| H 16.1  | F   | nem érintett     | 34                                 | 10         | él, lényegi progresszió nincs  |
| H 16.3  | M   | nem érintett     | 18                                 | 8          | él, lényegi progresszió nincs  |
| H 214.0 | M   | érintett         | 33                                 | 21         | myectomy, PM implantáció       |
| H 214.1 | F   | érintett         | 14                                 | 33         | él, lényegi progresszió nincs  |
| H 214.2 | M   | nem érintett     | 37                                 | 12         | él, lényegi progresszió nincs  |
| H 109.0 | F   | érintett         | 62                                 | 23         | él, lényegi progresszió nincs  |
| H 109.2 | F   | érintett         | 38                                 | 18         | él, lényegi progresszió nincs  |

FU: follow up; BKmax: maximális bal kamra fal vastagság; PM: pace-maker

A három család klinikai és genetikai szűrővizsgálata a 19 vizsgált családtag között, a probandokat is figyelembe véve, 8 mutációhordozó családtagot azonosított (18. ábra és 12. táblázat). A 8 mutációhordozó családtag közül 5 családtagban a HCM klinikai diagnózisa egyértelműen felállítható volt (18. ábra és 12. táblázat). 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 betegben, összesen 928 kromoszómán).



18. ábra. A MYBPC3 p.Gln1233Ter mutációhordozó HCM családok családfái. A férfiakat négyzet, a nőket kör jelöli, a klinikailag egészséges családtagokat üres, a betegeket kitöltött szimbólum reprezentálja. Az index betegre nyíl mutat. Az elhalálozott családtagokat áthúzás jelöli. A mutáció hordozó státusz + vagy – jel formájában jelenik meg.

## 4.2.2 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA FENOKÓPIÁIBAN

### 4.2.2.1 *LAMP2* génmutációk azonosítása Danon betegség esetén

Két új, korábban még nem közölt *LAMP2* génmutációt azonosítottunk a két index betegben. Az 'A' család index betegében egy G-A tranzíciót azonosítottunk a gén 8. exonjában (c.962G>A, 19. ábra, A panel), mely hatására a triptofánt kódoló TGG triplet, egy Stop kodont kódoló TAG tripletté változott a 321. pozícióban (p.Trp321Stop, nonszensz mutáció). A 'B' család esetén egy-bázispáros inszerciót igazoltunk, szintén a 8. exonban (c.973insC; 19. ábra, B panel), mely frame-shift mutációt eredményezett. Predikciós analízis azt mutatta, hogy 24 extra aminosav épül be a fehérjébe az utolsó normális, 324. pozícióban lévő prolin aminosav után, majd az átírást egy korai Stop kodon állítja meg (p.Pro324fs+24X). A nukleotid cserék a megfelelő pozíciókban minden esetben megtalálhatók voltak a reverz szálon is. A két mutáció nem volt detektálható 200, ugyanabból a földrajzi térségből származó normál kontroll esetében.

Mindkét mutáció restriktációs hasító helyeket érintett; ezért a két mutációt restriktációs analízissel is lehetett igazolni. Az c.962G>A mutáció esetén a mutáció megszüntette az AlwNI enzim hasítóhelyét site (5'-CAGNNNCTG-3'), míg a c.973insC mutáció esetében a mutáció egy extra BslI enzim hasító helyet hozott létre (5'-CCNNNNNNNGG-3').

Mindkét mutáció következtében csonkolt LAMP-2 fehérje jön létre, mely a transzmembrán domén teljes elvesztését, illetve a citoplazmikus farok rövidülését eredményezi. A fehérje ezen részei jól konzerváltak a különböző fajokban, illetve a különböző humán *LAMP2* gén splice variánsoknál, ezért a mutációk károsító hatása alaposan feltételezhető.

Az 'A' család esetén a nagymamától (I:2 családtag), az anyától (II:1 családtag), a két nővértől (III:2 és III:4 családtagok) és az unokatestvértől (III:5 családtag) sikerült DNS-t vizsgálni. Az összes vizsgált családtag mutációhordozónak bizonyult (1. ábra).

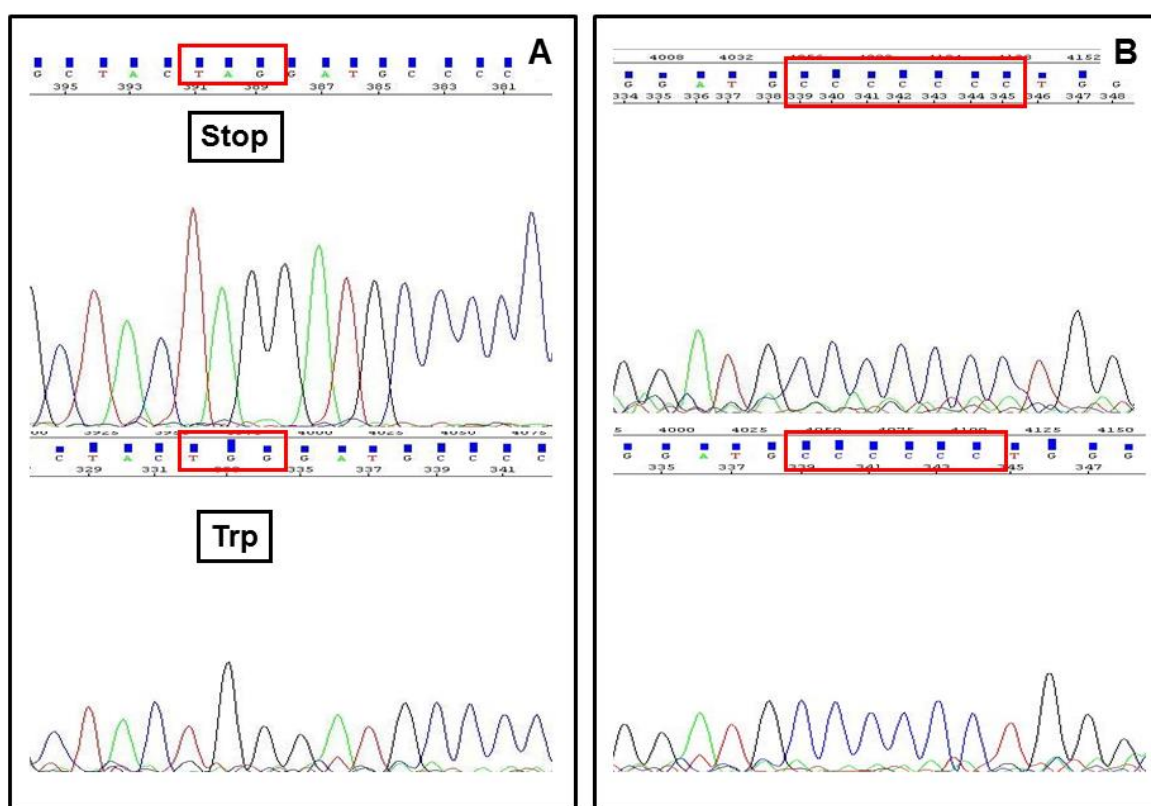
A 'B' család esetén az anyát (I:1 családtag) és a testvért (II:2 családtag) tudtuk szűrni a mutációra. Az anya mutációhordozónak, még a fivér negatívnak bizonyult (1. ábra).

Összesen 11 családtagot vizsgáltunk a két családban, míg a genetikai analízis 9 családtag esetében történt meg. Nyolc családtag bizonyult a *LAMP2* génmutáció hordozójának. A nyolc mutációhordozó közül négy családtag nem volt klinikailag érintett (a cardiomyopathia megjelenését figyelembe véve). A 4 tünetmentes családtag mellett DNS diagnózissal két családtagnál igazoltuk a mutációt, kiknél a betegségre utaló tünetek is jelentkeztek. Ez azt jelenti, hogy összesen a két családban 6 mutációhordozót találtunk, akik bizonyítottan betegek voltak (3. táblázat).

A betegség megjelenésekor átlagos életkor  $21 \pm 12$  év volt, mely láthatóan alacsonyabb volt férfiakban, mint nőkben ( $16 \pm 5$  vs.  $31 \pm 18$  év, statisztikai összehasonlítás az alacsony elemszám miatt nem történt). A szív-specifikus megjelenés hypertrophiás cardiomyopathia

volt minden esetben, a női hordozókat is beleértve. Pitvarfibrilláció 4 esetben jelentkezett, pitvari flutter egy non-penetráns esetben. Tartós vagy nem-tartós supraventricularis tachycardia szinten minden esetben jelen volt. Pace-maker implantációra 2 esetben került sor, magas fokú AV blok miatt. ICD beültetés 2 esetben történt egy esetben primer, egy másik esetben szekunder prevenció célzattal.

A 6 klinikai tünetet mutató beteg közül négy beteg (67%) halt meg, átlagosan  $35 \pm 18$  éves korban. A halálozáskori átlagéletkor láthatóan alacsonyabb volt férfiakban, mint nőkben ( $27 \pm 10$  vs.  $42 \pm 25$  év). Az átlagos túlélési idő a diagnózis felállításától  $10 \pm 5$  év volt. A halál oka szívelégtelenség volt három esetben, és hirtelen szívhalál egy esetben. Abortált szívhalál egy másik esetben is történt.



19. ábra. A LAMP2 gén 8-as exonjának szekvencia analízise a két családban. Panel A: Az 'A' család index betegében a szekvencia analízis egy G-A tranzíciót mutat a 962-es pozícióban (c.962G>A), TAG Stop kodont eredményezve (felső szekvencia) a triptofánt kódoló normális TGG kodonnal szemben (alsó szekvencia).

Panel B: A 'B' család index betegében egy 1 bp inzerció látható a 973-as pozícióban (c.973insC; felső szekvencia) a normális szekvenciával való összehasonlításban (alsó szekvencia).

#### 4.2.2.2 GLA génmutációk azonosítása Fabry betegség esetén

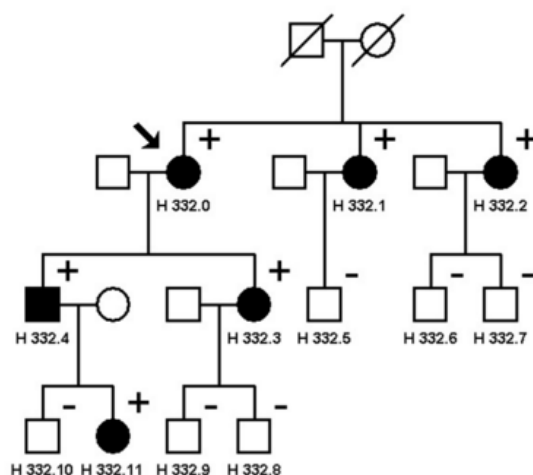
A 21 beteg közül négy esetben (4/21, 19%) tudtunk GLA génmutációt igazolni [p.Ile239Met (c.717A>G); p.Tyr397Stop (c.1191T>G), c.548-57\_-56dupTA; p.Glu358Lys (c.1072G>A)]. Mind a négy észlelt beteg nőbeteg volt, átlagéletkoruk  $49 \pm 15$  év volt. A bal

kamra hypertrophia vagy hypertrophiás cardiomyopathia fenotípusával jellemzett 18 betegben fordult elő a 4 azonosított mutáció közül 3 mutáció, mely szerint ebben az alcsoportban a *GLA* génmutáció előfordulási aránya 17% volt (3/18). A negyedik mutációt (p.Glu358Lys), egy lényegi kardiális fenotípus nélküli nőbetegben észleltük, kiben cornea verticillata indikálta a szűrést.

#### 4.2.2.2.1 p.Ile239Met mutáció

A magyar index nőbeteg (H332.0, lsd. családfa 20. ábra és 13. táblázat) korábbi anamnézában 43 éves korában nephrológiai kivizsgálás szerepelt proteinuria miatt, melyet mesangioproliferatív glomerulonephritisként intepretáltak. Angina pectoris, ischaemias szívbetegséget és bal kamra hypertrophiát diagnosztizáltak nála 63 éves korában. Ekkor derült fény renalis insufficienciájára, ami miatt később Tenckhoff katéter beültetés, CAPD kezelés, HD kezelés, majd 67 éves korában vese transzplantáció történt. Két évvel később graft kilökődés következett be, a hemodialízis folytatódott. 69 éves korában kardiológiai észlelésére pre-syncopes panaszok miatt került sor, melynek hátterében intermittáló fix 2:1 AV blokk igazolódott. Utóbbi miatt pace-maker implantatio történt. Echocardiographián septalis túlsúlyú balkamra hypertrophia igazolódott, jelentős bal kamrai kiáramlási grádienssel (2:1-es AV-block, 40/min fr, mellett 120 Hgmm-es nyugalmi csúcsgrádiens), mely az AV-késés optimalizálásával 20 Hgmm-re csökkent. A szív morfológiája hypertrophiás cardiomyopathiának felelt meg, kifejezett balkamra hypertrophiával (bal kamra fal maximális vastagság: 27 mm), papilláris izom és jobb kamra fal hypertrophiával (14 mm) (21. ábra). Laborleleteiben extrém magas NT-pro-BNP szintet detektáltunk (>35.000 pg/ml; norm. <200 pg/ml). Kivizsgálása során szemészeti vizsgálattal cornea verticillata nem igazolódott, neurológia vizsgálattal alsó végtagokon bal oldali dominanciával proximálisan 4/5-ös paresist, baloldalon 3-4/5 dorsal és plantarflexiót észleltek. EMG (elektromyographia) és elektroneurographiás vizsgálatok elsősorban motoros neuropathiát igazoltak axonvesztéssel, de myopathia nélkül. Bőrgyógyászati vizsgálat angiokeratomákat nem azonosított. Fül-orr-gégészeti vizsgálat perceptor hypacusist véleményezett. Jelenleg a beteg másnaponta hemodializált, re-transzplantációra vár. Fentiek mellett vesefunkciós paraméterei: UN: 16,1 mmol/L; kreatinin: 294 umol/L; eGFR: 13,7 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. A beteg lyso-Gb3 szintje kórósan emelkedett (10,6 ng/ml, norm: <1,8 ng/ml).

A beteg három-generációs családjában összesen 12 családtagot (5 nő, 7 férfi, átlag életkor: 45 ± 17 év, lsd. 20. ábra és 13. táblázat) vizsgáltunk klinikai és genetikai szűréssel. A családtagokban részletes kardiológiai, valamint nephrológiai, dermatológiai, szemészeti, neurológiai és fül-orr-gégészeti vizsgálatok történtek. Három családtagnál, beleértve az index beteget is (H 332.0, H 332.2 és H 332.4) észleltük hypertrophiás cardiomyopathia morfológiai képét (maximális bal kamra falvastagság ≥ 15 mm). A szív hypertrophia mértéke és eloszlása nagyon változatos volt; az index beteg esetében a legkifejezettebb az



20. ábra. A p.Ile239Met GLA génmutációt hordozó család családfája. A négyzetek és a körök jelölik a férfi- és nőtagokat; a teli szimbólumok a klinikailag érintett családtagokat. A nyíl mutatja az index beteget. Az exitált tagokat áthúzással jelöltük. A mutációhordozókat plusz (+), míg a nem-hordozókat (-) szimbólumokkal jelöltük.

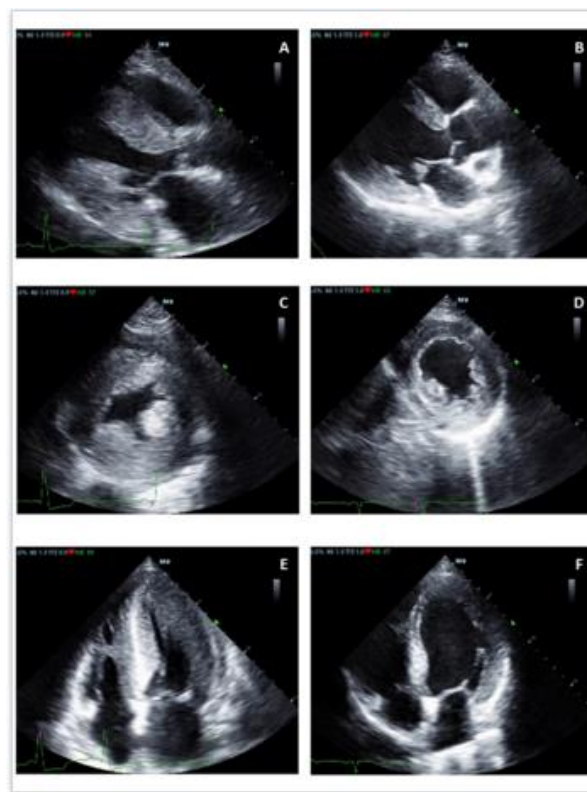
13. táblázat. A p.Ile239Met GLA mutációt hordozó családtagok demográfiai és klinikai jellemzői

| Család-tag | Nem   | Kor (év) | Kardiális morfológia | EKG változások                                             | BKmax (mm) | BK tömeg (g) | GLA enzim szint (μmol/l/h)* | lyso-Gb3 szint (ng/ml)** | Egyéb szervi érintettség     |
|------------|-------|----------|----------------------|------------------------------------------------------------|------------|--------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|
| H 332.0    | nő    | 69       | HCM                  | Másodfokú AV blokk, BKH, intraventriculáris vezetési zavar | 27         | NA           | NA                          | 10,6                     | vese-elégtelenség            |
| H 332.1    | nő    | 73       | BKH                  | negatív T-hullámok az I-aVL, V2-6 elvezetésekben           | 13         | 107          | NA                          | 2,4                      | nem szignifikáns proteinuria |
| H 332.2    | nő    | 62       | HCM                  | BKH, negatívT-hullámok az I-aVL, V4-6 elvezetésekben       | 16         | 131          | NA                          | 4,2                      | nem szignifikáns proteinuria |
| H 332.3    | nő    | 52       | BKH                  | negatív T-hullámok a II-III-aVF, V4-6 elvezetésekben       | 14         | 144          | NA                          | 2,9                      | -                            |
| H 332.4    | férfi | 49       | HCM                  | BKH, negative T-hullámok a II-III-aVF, V4-6 elvezetésekben | 20         | 268          | <0,2                        | 13,8                     | -                            |
| H 332.11   | nő    | 26       | nincs                | nincs                                                      | 8          | 87           | NA                          | 3,2                      | -                            |

EKG: elektrokardiogram; BKmax: maximális bal kamra falvastagság; GLA: α-galactozidáz A; lyso-Gb3: lizoszomális globotriaosyl-ceramide; NA: még nincs adat; HCM: hypertrophias cardiomyopathia; BKH: balkamra hypertrophia

\*normál érték felső határa ±2SD: ≥2,6 μmol/l/h; \*\* normál érték felső határa +2SD: ≤1,8 ng/ml

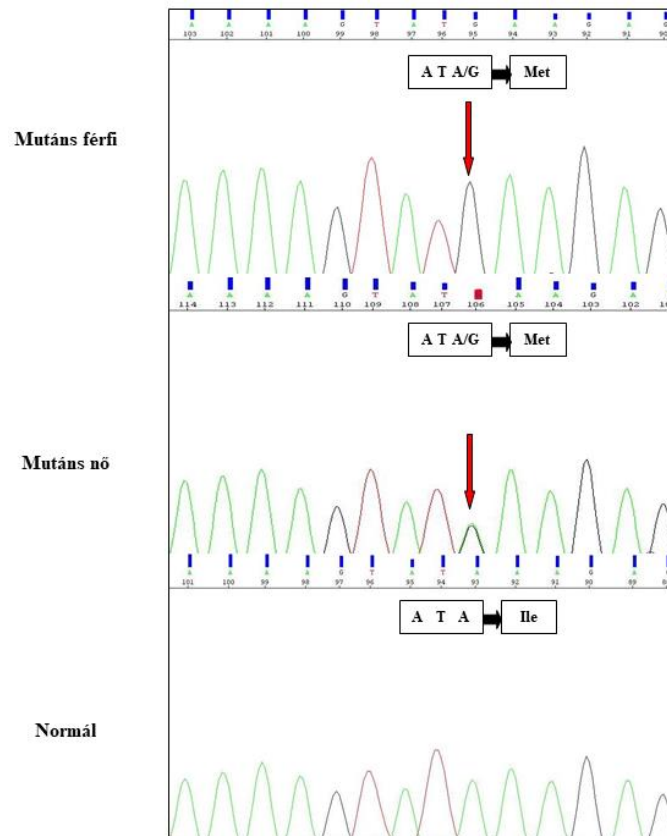
interventricularis septumban volt, még a fia (H 332.4 családtag) esetében leginkább az inferior septumot és a bal kamra infero-postero-laterális falát érintette (21. ábra). Két családtagnál (H332.1 és H332.3) bal kamra hypertrophiát diagnosztizáltunk (max. bal kamra fal vastagság  $\geq 12$  mm). Az echocardiographia alapján bal kamra hypertrophiát mutató betegekben bal kamra hypertrophia és a repolarizációs eltérések EKG jelei is megfigyelhetők voltak. Egy további családtag, az index beteg 26 éves unokahúga (H332.11) vizsgálata nem mutatott semmilyen kardiológiai eltérést, de a lyso-Gb3 szint az ő esetében is emelkedett volt, jelezve a szubklinikus betegséget. Nem szignifikáns proteinuria két családtagnál volt kimutatható. A többi családtag nem mutatta a betegség extra-kardiális (renális, központi vagy perifériás idegrendszeri, bőr, szem, stb.) érintettségének jeleit.



21. ábra. A hypertrophiás cardiomyopathia transthoracalis echocardiographiás képe az index betegben (H332.0) és fiában (H332.4) jól szemlélteti a bal kamra hypertrophia mértékének és eloszlásának heterogenitását. Az index betegnél markáns bal kamra hypertrophia (maximális BK falvastagság 27 mm) látható, predominantán az interventriculáris septumnál, papilláris izom hypertrophiával és jobb kamra hypertrophiával (A, C és E). Az érintett fiánál a hypertrophia elsősorban az inferior szeptumot és a bal kamra infero-postero-laterális falát érinti (B, D és F). A transthoracalis echocardiographia parasternális hossztenyelyi képe (A és B), parasternális rövidtenyelyi képe (C és D) és apikális 4-üregi képe (E és F).

Mind a 12 családtagot genotipizáltuk az index betegben észlelt GLA p.Ile239Met mutációra (22. ábra). Hat családtag hordozta a mutációt (5 nő, 1 férfi, átlag életkor:  $55 \pm 16$  év, lsd. 20. ábra és 13. táblázat). A hypertrophiás cardiomyopathia, balkamra hypertrophia vagy az emelkedett lyso-Gb3 szint jelenlétét tekintve érintettségnek, az összes érintett családtag

hordozta a mutációt, még a nem-érintett családtagok egyike sem bizonyult mutációhordozónak. A család két-pontos linkage analízise 2.01-es LOD score értéket adott az érintettségi státusz és a p.Ile239Met *GLA* mutáció között, mely erős kapcsoltságot jelez. A lyso-Gb3 szint emelkedett volt minden mutációhordozó családtag esetében (2.4-13.8 ng/mL; a normál érték felső határa +2STD:  $\leq 1.8$  ng/mL). A *GLA* enzim szintje kifejezetten csökkent volt az érintett férfi családtagban ( $< 0.2$   $\mu\text{mol/L/óra}$ ; a normál érték felső határa  $\pm 2\text{STD}$ :  $\geq 2.6$   $\mu\text{mol/L/óra}$ ).



22. ábra. A *GLA* gén 5. exonjának szekvencia analízise, mely c.717A>G nukleotid transzíciót igazol. A mutáció jelenléte a cDNS 239. pozíciójában található normálisan izoleucint kódoló ATA triplet metionint kódoló ATG tripletté való változásával jár (p.Ile239Met). A hemizigóta mutációhordozó férfi szekvenciája; heterozigóta mutációhordozó nő szekvenciája; nem mutációhordozó beteg szekvenciája.

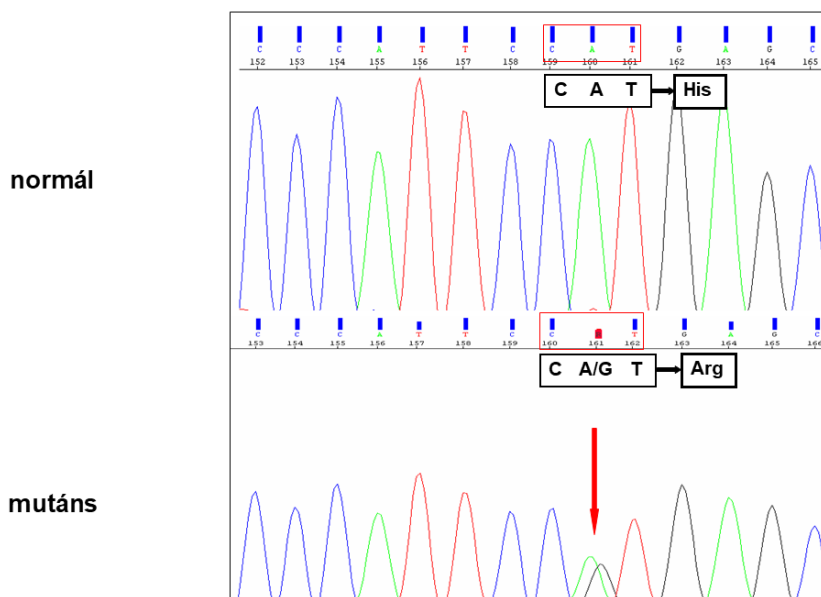
A p.Tyr397Stop (c.1191T>G), c.548-57\_-56dupTA; és p.Glu358Lys (c.1072G>A)] mutációhordozó betegek részletes klinikai leírását az Appendix tartalmazza (Appendix IX: Az azonosított *GLA* génmutációt hordozó index betegek részletes kórtörténete).

#### 4.2.2.3 *TTR* génmutációk azonosítása transthyretin amyloidosis esetén

A két betegben két non-szinonim *TTR* gén variánst azonosítottunk. Az 'A' beteg esetében egy A-G transzíciót detektáltunk a gén 3. exonjában (c.323A>G), mely következtében a hisztidint kódoló CAT tripletból arginint kódoló CGT triplet lesz a 108. kodon pozícióban (p.His108Arg, missense mutáció, 23. ábra). A proband elsőági családtagjai közül a beteg 85

éves korában, szívelégtelenségben elhunyt édesanyja vérmintájának genetikai vizsgálatára volt lehetőség, mely mutációhordozó státuszt igazolt.

A 'B' beteg esetében egy G-A tranzíciót észleltünk a gén 2. exonjában (c.76 G>A), mely a glicint kódoló GGT tripletet szerint kódoló AGT tripletre változtatta (p.Gly26Ser). Utóbbi mellett egy szinoním, az aminosav sorrendet nem megváltoztató polimorfizmust is detektáltunk (c.57G>A, Glu19Glu).



23. ábra. A *TTR* gén 3. exonjának szekvencia analízise a mutáns és normál mintában. A cDNS 323. pozíciójában egy A-G tranzíció látható (c.323A>G), mely következtében a normálisan hisztidint kódoló CAT tripletből egy az arginint kódoló CGT triplet lesz a 108. kodon pozícióban (p.His108Arg, missense mutáció).

#### 4.2.2.4 Mitochondriális génmutáció azonosítása dominálónan hypertrophiás cardiomyopathia képében megjelenő szisztémás kórképben

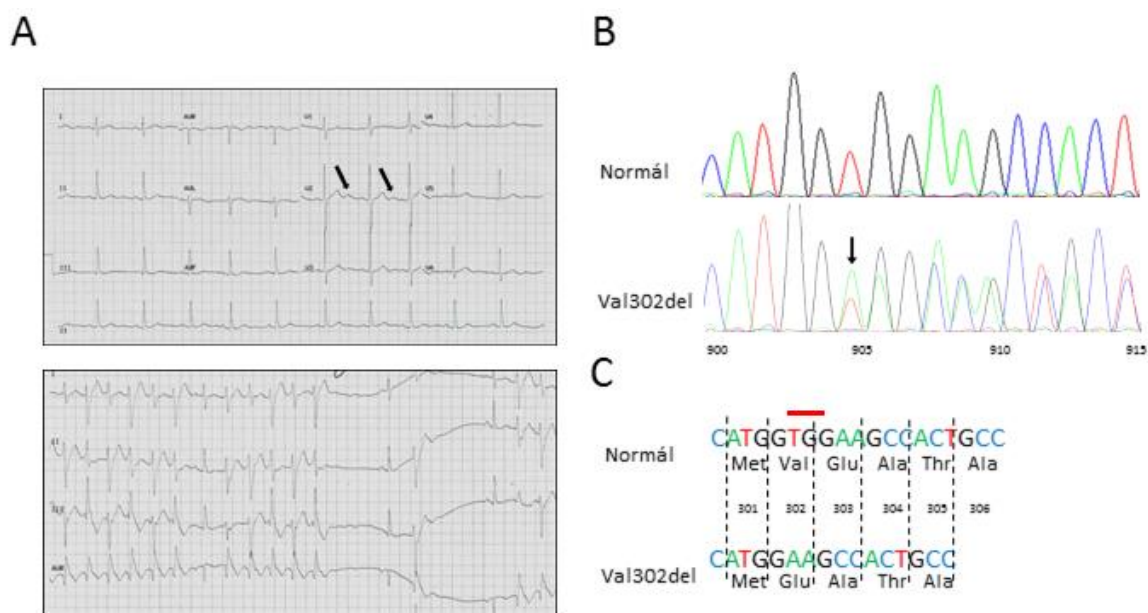
A szarkomer fehérjéit kódoló gének újgenerációs szekvenálásával 7 sarcomer génvariánst észleltünk, melyek közül egyik sem volt egyértelműen patogén. Mindössze a béta myozin nehéz lánc gént (*MYH7*) érintő p.Asp1450Asn variánsról van publikált adat, melyet nem HCM-es, hanem egy DCM-es betegcsoportban azonosítottak. Utóbbiak alapján fenti génvariánsok patogén szerepét a betegség kialakulásában nem lehet egyértelműen állítani, esetleg a fenotípus kialakulásában modifikátorként közreműködhetnek. Genetikai vizsgálata Fabry kórt okozó *GLA* mutációk irányában is negatív volt.

A mitochondriális genom vizsgálata viszont a 3243. nukleoidnál egy A/G pontmutációt igazolt (m.3243A>G), 38%-os heteroplazmia arányban. Ezt a mitochondriális DNS mutációt leggyakrabban a MELAS szindrómával (mitochondriális encephalomyopathia, laktát acidózis és stroke-like epizódok) asszociáltan írták le.

### 4.2.3. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA ÖRÖKLETES IONCSATORNA BETEGSÉGEKBEN

#### 4.2.3.1 Egy új *KCNJ2* génmutáció, Val302del, azonosítása és funkcionális jellemzése Andersen-Tawil szindrómában

A *KCNJ2* gén szekvenálásának eredménye egy három bázispár deléciót igazolt, mely a *KCNJ2* gén kódoló régiójában a 905-907-es nukleotidokat érinti. A páciens heterozigóta volt a mutáns allélre nézve, ahogy azt az átfedő normál és eltolódott mutáns szekvencia jelezte (24. ábra, B panel). A mutáció a 302-es kodon utolsó két nukleotidját (TG) és a 303 (G) kodon első két nukleotidját érinti. A megmaradó első nukleotid a 302 (G) kodonon és az utolsó két nukleotid a 303 (AA) kodonnál ugyanazt a kódoló szekvenciát (GAA) adja, mint az eredeti 303-as kodon. A deléció következménye a 302-es kodon komplett in-frame elvesztése, mely egy valint kódol, míg az eredeti leolvasási keret megmarad (24. ábra, C panel). Az egyetlen elérhető családtag, a proband anyai nagynénje nem hordozta a Val302del allélt. A *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1* és *KCNE2* gének szekvencia analízise csupán polimorfizmusokat igazolt.



24. ábra A: A proband nyugalmi 12-elvezetési EKG felvétele, melyen sinus ritmus látható, enyhe QTc megnyúlással (478 ms) és prominens U hullámmal (nyilakkal jelölve a V2-es elvezetésekben, felső panel) és rövid bidirekcionális, nem-tartós kamrai tachycardia (alsó panel). B: A *KCNJ2* gén releváns szakaszának szekvencia elektroferogramja a normál kontrollról és a probandról. A szekvencia analízis a *KCNJ2* gén kódoló régiójának 905-907 pozíciójában a TGG nukleotidok heterozigóta delécióját mutatja a proband-ban. C: A 905-907 TGG deléció következményei. A mutáció (melyet a vörös sáv mutat) feltételezhetően a valint kódoló 302-es kodon in-frame kiesését okozza (Val302del), míg az eredeti aminosav szekvencia nem érintett része megőrzött marad.

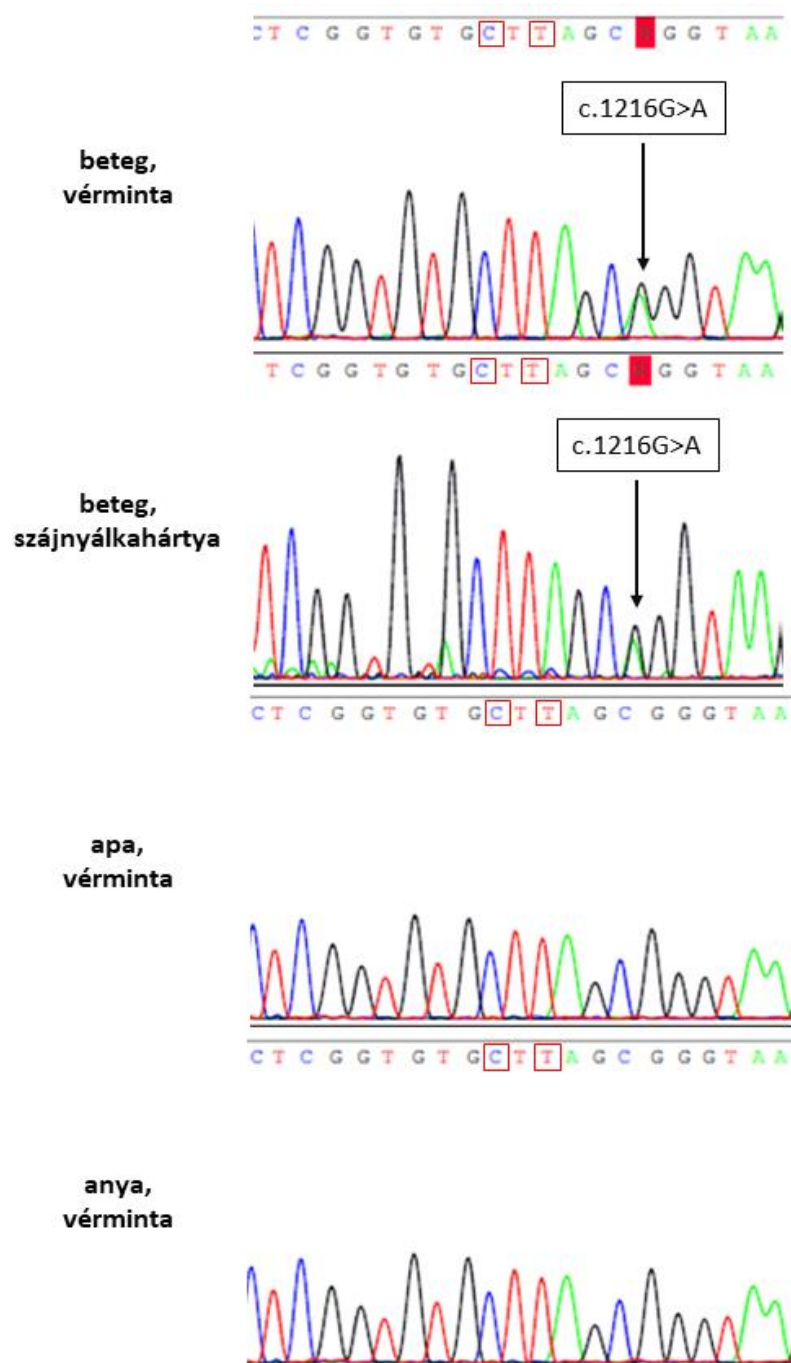
#### A *KCNJ2* Val302del génmutáció funkcionális jellemzése

A vad típusú (WT), a Val302del vagy a kettő keverékéből álló cDNS-ekkel transzfektált CHO sejtek fluoreszcens képe a Kir2.1 fehérje eloszlását hasonlóan mutatta, erős fluoreszcens jellel a membrán régióban, míg küszöbérték alatti jellel a cytoplazma régióban, ezzel alátámasztva, hogy Val302del Kir2.1 fehérje membrán transzportja normális. A WT allélt expresszáló sejtek erős áramot mutattak kifejezett befelé egyenirányítással, míg a Val302del plazmiddal transzfektált sejtek nem mutattak az háttérzajon kívül más áramot, a mutáció 'loss of function' jellegére utalóan. A WT-vel és Val302del-el egyenlő arányban transzfektált sejteknek szignifikánsan csökkent az áram sűrűsége a legtöbb feszültségértéken, mutatva a Val302del Kir2.1 áramaira kifejtett domináns negatív hatását. A WT és mutáns plazmid különböző moláris arányban transzfektált sejtek vizsgálata a Val302del mutáns alegység Kir2.1 áramra kifejtett dózis dependens gátló hatására utalt. A funkcionális analízis részleteit az Appendix-ben adjuk meg (APPENDIX X. Az Andersen-Tawil szindrómát okozó *KCNJ2* Val302del génmutáció funkcionális jellemzése).

#### 4.2.3.2 Timothy szindróma 1 genotípusának azonosítása syndactylia és lényegi extrakardiális manifesztációk nélkül

Három különböző gén három heterozigóta variánsát azonosítottunk új generációs szekvenálással: p.Gly406Arg (c.1216G>A, rs79891110) a *CACNA1C* gén 8A exonjában (25. ábra); p.Tyr94Cys (c.281A>G, rs781717051) a *KCNQ1* gén 1-es exonjában; és p.Ile3252Thr (c.9755T>C, rs36210417) az *ANK2* gén 37-es exonjában. Mindhárom variáns már korábban közölt variáns. A *KCNQ1* p.Tyr94Cys variánsát a PROVEAN predikciós modell károsítónak, a SIFT predikciós modell pedig toleránsnak prediktálta, míg az *ANK2* p.Ile3252Thr variánsát semlegesnek/toleránsnak írta le mindkét predikciós modell. A *CACNA1C* gén 8A exonjában azonosított p.Gly406Arg variáns az 1-es típusú Timothy szindrómát okozó mutáció. Bár a szekvencia homológia nagy a 8. és a 8A exon között a *CACNA1C* génben, a több „exon specifikus” nukleotid jelenléte lehetővé tette az egyértelmű azonosítást (25. ábra). A *CACNA1C* gén 8. és 8A exon szekvenciáinak az összes rendelkezésre álló korábban publikált szekvenciával való összehasonlítása bizonyította, hogy a betegünk valóban a *CACNA1C* gén 8A exonját érintő p.Gly406Arg variánsát hordozta. A *CACNA1C* p.Gly406Arg variánsa jelen volt az index páciensünk száj nyálkahártyájából, uroepitheliumából, hajhagymából nyert DNS-ében is. A mutáns nukleotid szekvencia csúcsa hasonló nagyságú volt a különböző mintákban és azonos volt, mint a normál nukleotid csúcs nagysága (25. ábra).

Az index páciens elsőfokú rokonait (édesanyja, édesapja és nővére) mind a három variánsra genotipizáltuk. A proband édesapja hordozónak bizonyult a *KCNQ1* gén p.Tyr94Cys variánsára, míg az édesanyja és a nővére nem hordozták sem a *KCNQ1*, sem az *ANK2* variánst. Sem a szülők, sem a testvér mintájában sem lehetett a *CACNA1C* p.Gly406Arg variánsát kimutatni (25. ábra), mely arra utalt, hogy a variáns 'de novo' keletkezett. A



25. ábra. A CACNA1C gén 8A exonjának szekvencia analízise, mely a c.1216G>A mutációt illusztrálja. A mutáció hatására a a 406. kodonban glycint kódoló GGA triplet helyett arginin-t kódoló AGA triplet keletkezik (p.Gly406Arg). A szekvenálási eredmények a vérből (páciens, édesapja, édesanyja) és szájnyálkahártyából (páciens) történt DNS izolálásból származnak. A szülők genotípusa alapján az index beteg mutációjának 'de novo' keletkezése valószínűsíthető. A vörössel keretezett nukleotidok egyediek a 8A exonra a homológ 8-as exonhoz viszonyítva.

*KCNQ1* p.Tyr94Cys variánst hordozó édesapának nem voltak hosszú QT szindrómára jellemző tünetei, az EKG-ja és az echocardiogramja normális volt, mely azt bizonyítja, hogy a *KCNQ1* p.Tyr94Cys variánsának nincs lényegi hatása a betegség fenotípusára.

Annak érdekében, hogy igazolni tudjuk, hogy a *CACNA1C* p.Gly406Arg mutáció valóban ‘*de novo*’ keletkezett a családban, illetve azt, hogy szülők nem rendelkeznek mozaicizmussal a mutációra nézve, elvégeztük a szájnyálkahártyából (mindkét szülő esetében) és a spermából (az édesapa esetében) extrahált DNS genetikai analízisét. Egyik szövetből származó mintában sem volt jelen a *CACNA1C* p.Gly406Arg variáns, mely alapján genetikai mozaicizmus nem volt igazolható.

#### **4.2.3.3 Egy új ‘splice site’ *HCN4* génmutáció, c.1737+1 G>T, azonosítása csökkent szívfrekvencia-válással, alacsonyabb chronotrop kompetenciával és megnövekedett rövid távú szívfrekvencia variabilitással jellemzett familiáris bradycardia esetében**

Az újgenerációs szekvenálás során két különböző, heterozigóta genetikai variánst észleltünk: a *HCN4* gén 5. exon-intron határán található c.1737+1 G>T ‘splice site’ mutációt (26. ábra, B panel) és az *ANK2* gén-t érintő p.Glu2378Lys (c.7132G>A, rs141191319) mutációt. A p.Glu2378Lys *ANK2* variánst a PROVEAN és SIFT szoftverek is neutrálisnak/toleránsnak prediktálták, míg a ClinVar szerint “benignus” vagy “valószínűleg benignus”-ként jelölte meg, és nem öröklődött együtt a betegséggel. Fentiek alapján nem tartottuk patogén variánsnak. A c.1737+1 G>T *HCN4* variáns egy új, korábban még nem közölt variáns, amely nem található sem a dbSNP adatbázisban (Build 149, Nov 7, 2016; 154,2 millió referencia SNP klaszter 557.9 millió regisztrált variánsra alapozva) vagy az ExAC adatbázisban (release 0.3; 91,796 exom 60,706 egymással rokonságban nem álló egyéntől, akiket különböző betegség specifikus és populációs genetikai vizsgálat fényében szekvenáltak meg). A donor ‘splice site’ elvesztését az 5. intronban a predikációs szoftverek (Shannon Mutation Calculator, Human Splicing Finder, Spliceport, SpliceSitePredict, Netgene2, Mutation taster, and ESE Finder) előre jelezték. A mutáció érinti és eltörli egy restriktációs nukleáz EcoNI felismerési helyét, ennek következtében a mutációt restriktációs fragment analízis segítségével is igazolni tudtuk. A mutáció nem volt megtalálható 374, azonos geográfiai területről származó kontroll kromoszóma egyikében sem.

Tekintettel arra, hogy a mutációhordozókból nem tudtunk szívizom szövetet nyerni, megkíséreltük a c.1737+1 G>T mutáció következményeit perifériás leukocytákban végzett expressziós vizsgálattal meghatározni. Utóbbihoz két érintett családtagtól és három normál, kontroll személytől vett perifériás vérből teljes RNS-t preparáltunk, majd reverz transzkripciót követően, a cDNS-t *HCN4* specifikus primerekkel vizsgáltuk. Azonban a *HCN4* gén expressziót nem sikerült kimutatnunk perifériás leukocytákban, így a mutáns *HCN4* gén produktumát egyértelműen azonosítani nem lehetett. Mivel nem tudtuk meghatározni a mutáció konkrét hatását, a c.1737+1 G>T mutáció legvalószínűbb hatását

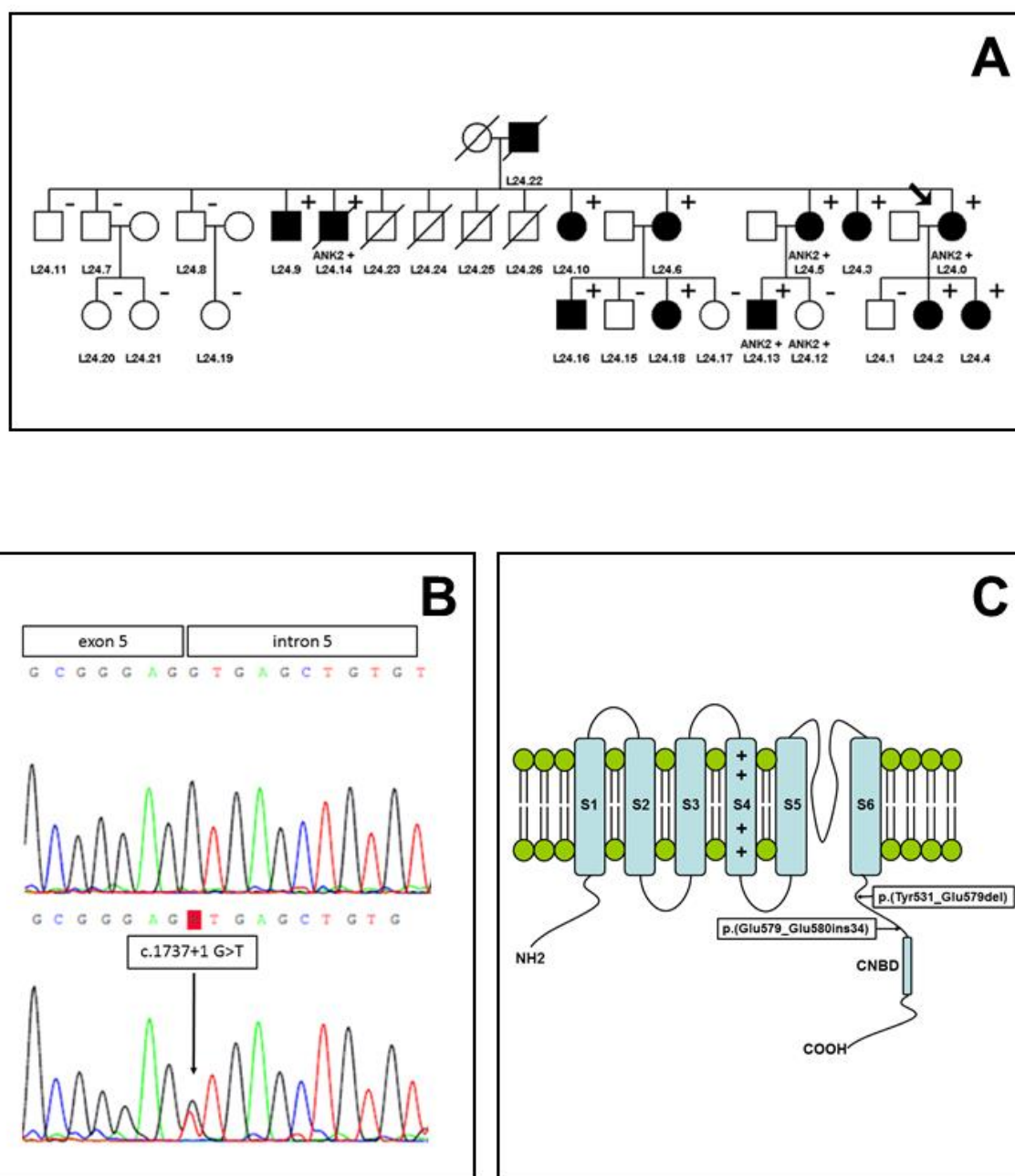
becsültük meg. A mutáció egyik legvalószínűbb következménye 'exon skipping', azaz a 5. exon kiesése, amely eredményeképpen a mutáns fehérje 49 aminosavval rövidebb, mint a vad típus [p.(Tyr531\_Glu579del)]. A másik lehetséges hatás az 'intron retention', azaz a 5. intron átíródása a fehérjeláncba, amely a vad típusnál 34 aminosavval hosszabb mutáns fehérjéhez vezet [p.(Glu579\_Glu580ins34)] (26. ábra, C panel). Mindkét esetben a feltételezett inzerció vagy delécio a fehérje C-linker részét érintette, amely közel található a cAMP kötő domain-hez (CNBD). Ezzel összhangban, a c.1737+1 G>T mutáció legnagyobb valószínűség szerint a HCN4 fehérje C-linker részében okoz konformációbeli változásokat, nagyon közel a CNBD-hez, és ezáltal hatással lehet a cAMP kötődésére a CNBD-hez.

A nyugalmi EKG-n észlelt <60/min frekvenciát definiáltuk klinikailag érintett állapotnak. A 22 családtagból 12-en bizonyultak (4 férfi, 8 nő, átlagéletkor  $36 \pm 16$  év) klinikailag érintettnek, és 10 családtag (5 férfi, 5 nő, átlagéletkor  $30 \pm 15$  év) nem volt érintett. Az érintett és nem érintett családtagok nem különböztek lényegesen kor- vagy nem eloszlás tekintetében. A családtagok genetikai vizsgálata azt igazolta, hogy mindegyik klinikailag érintett családtag hordozta a c.1737+1 G>T *HCN4* mutációt, míg a klinikailag nem érintett családtagok nem voltak hordozók (26. ábra, A panel és 4. táblázat). A család LOD score számítása során a kétpontos LOD score 4,78-as ( $\theta=0$ ) értéket adott a mutáció jelenléte és az érintettség státusz közötti, ezáltal jelentős kapcsoltságot jelezve. A LOD score értékek elhanyagolható mértékben változtak (4.86-4.87), amikor a LOD score számítása során 0,01-0,00001-es értékű betegség allél gyakorisággal, és 0,05-0,0005-ös értékű betegség gyakorisággal modelleztünk. A megfigyelt 100%-os penetrancia mellett a LOD score 5,11 volt.

#### *Holter adatok*

A mutációhordozókban a minimum szívfrekvencia, a teljes 24-órás mérés időtartamára átlagolva lebontva, szignifikánsan alacsonyabb volt a nem-hordozókhoz képest ( $36 \pm 7$  vs.  $47 \pm 5$  ütés/perc;  $p=0,0087$ ). A minimális szívfrekvencia minden vizsgált 6 órás időtartamú napszakban szignifikánsan alacsonyabb volt a mutációhordozókban. Mindössze 3 olyan óra volt a vizsgált 24 óra közül, melyben a mutációhordozókban észlelt alacsonyabb szívfrekvencia mértéke nem érte el a szignifikáns különbséget (27. ábra, A panel).

A minimális szívfrekvenciához hasonlóan a 24 óra alatt mért átlag szívfrekvencia is szignifikánsan alacsonyabb volt a mutációhordozókban ( $62 \pm 8$  vs.  $73 \pm 8$  ütés/perc;  $p=0,0168$ ). A vizsgált 6 órás időtartamú napszakok közül csak a 12-18 óra közé eső napszakban, melyben jellemző volt a magasabb szívfrekvencia, nem volt szignifikánsan alacsonyabb az átlagos szívfrekvencia a mutációhordozókban. Az órákra lebontott átlagos szívfrekvencia 10 óra esetén nem volt szignifikánsan alacsonyabb (27. ábra, B panel). A maximális szívfrekvencia, az egész 24 órás felvétel teljes időtartamára átlagolva nézve, nem volt szignifikánsan különböző a két vizsgált csoport között ( $122 \pm 18$  vs.  $140 \pm 17$  ütés/perc,  $p=0,0632$ ). Egyetlen 6 órás és hat 1 órás időintervallum volt, ahol a maximális HR szignifikánsan alacsonyabb volt a mutációhordozókban (27. ábra, C panel).



26. ábra. A panel: A HCN4 c.1737+1 G>T mutációhordozó család családfája. A férfiakat négyzet, a nőket kör jelöli, a klinikailag egészséges családtagokat üres, a betegeket kitöltött szimbólum reprezentálja. Az index betegre nyíl mutat. Az elhalálozott családtagokat áthúzás jelöli. A mutációhordozó státusz + vagy – jel formájában jelenik meg. Az ANK2 p.Glu2378Lys variánst hordozókat ANK2+ felírat jelzi a szimbólumok alatt. B panel: A HCN4 gén 5. exonjának szekvencia analízise a mutáns (alsó) és normál (felső) mintában, mely c.1737+1 G>T tranzíciót igazol az 5. exon és 5. intron határán. C panel: A c.1737+1 G>T mutáció legvalószínűbb feltételezett hatásai. 'Exon skipping', azaz a 5. exon kiesése esetén a mutáns fehérje 49 aminosavval rövidebb, mint a vad típus [p.(Tyr531\_Glu579del)]. 'Intron retention', azaz a 5. intron átíródása esetén a mutáns fehérje a vad típusnál 34 aminosavval hosszabb [p.(Glu579\_Glu580ins34)]. Mindkét esetben a feltételezett inzerció vagy delécio a fehérje C-linker részét érinti, a cAMP kötő domain közelében.

### *Terheléssel vizsgálat adatai*

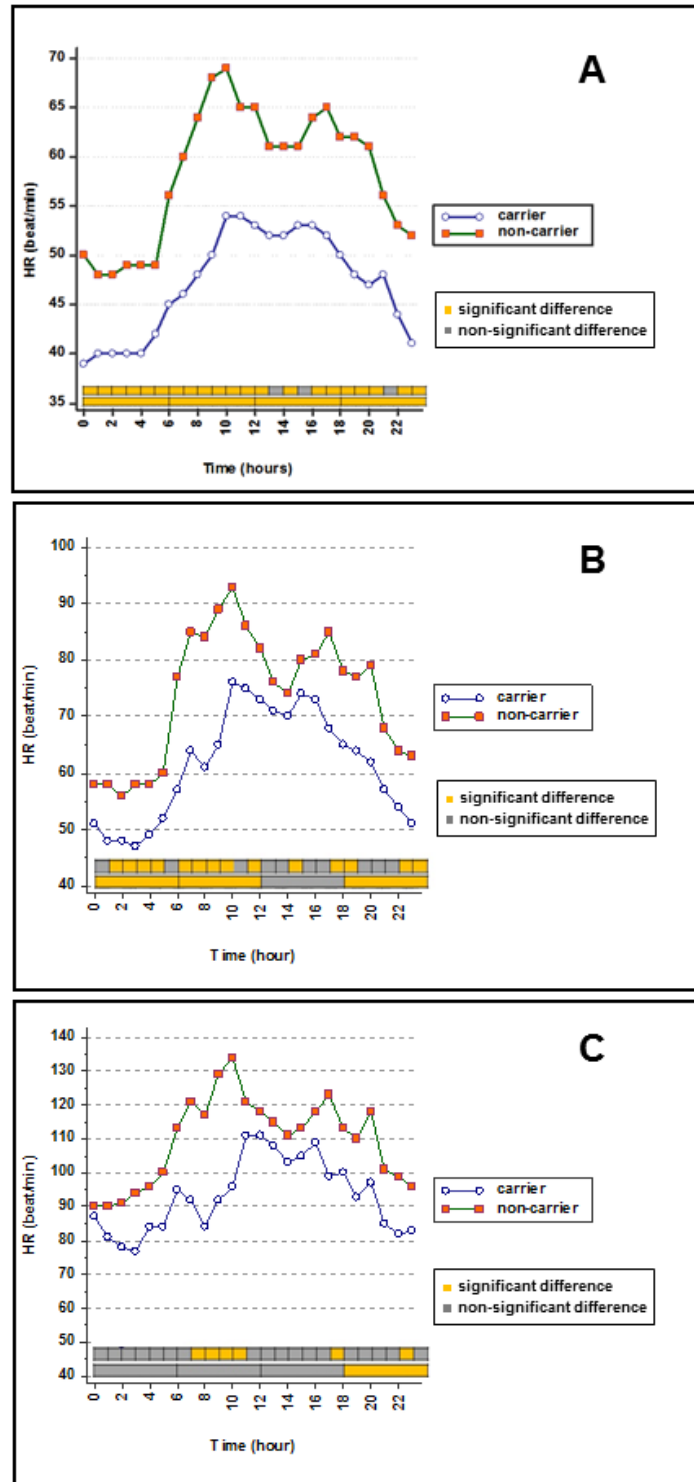
A terhelési kapacitás ( $12.4 \pm 2$  vs.  $13.6 \pm 3$  MET;  $p=0,322$ ) és a terhelési időtartam ( $616 \pm 143$  vs.  $723 \pm 251$  sec;  $p=0,296$ ) nem különbözött a hordozók és a nem-hordozók között. A vizsgálat előtti ( $64 \pm 12$  vs.  $83 \pm 13$  ütés/perc;  $p=0,010$ ) és hasonlóan a vizsgálat alatt elért maximális szívfrekvencia ( $150 \pm 27$  vs.  $181 \pm 27$  ütés/perc;  $p=0,024$ ) szignifikánsan alacsonyabb volt a mutációhordozókban.

A szívfrekvencia rezerv (HRR) százalékos értéke is szignifikánsan alacsonyabb volt [ $80 \pm 10$  vs.  $97 \pm 10$  %,  $p=0,008$ ] a mutációhordozókban. Hasonlóképpen a HRR-hez, a korrigált szívfrekvencia rezerv (cHRR) ( $71 \pm 14$  vs.  $94 \pm 18$  %,  $p=0,010$ ) százalékos értéke is alacsonyabb volt a hordozókban. A chronotrop kompetenciát a HRR legalább 80%-át elérő maximális szívfrekvenciaként definiálva azt találtuk, hogy a hordozók egy kisebb számú csoportja mutatott chronotrop kompetenciát, habár a különbség nem volt statisztikailag különböző ( $4/9$  vs.  $6/7$ ,  $p=0,102$ ). Amikor a chronotrop kompetenciát az elért cHRR  $>80\%$ -ként definiáltuk, szignifikánsan kevesebb hordozó esetében volt chronotrop kompetencia ( $1/9$  vs.  $6/7$ ;  $p=0,004$ ) megfigyelhető. A különbségek hasonlóak voltak, amikor más formulákat alkalmaztunk az APMHR kiszámítására.

### *Szívfrekvencia variabilitás adatok*

Mivel csaknem az összes HRV paraméter szignifikáns összefüggést mutatott az 5 perces és a 24 órás felvételek során mért szívfrekvenciával, a HRV paramétereket nem-normalizált és normalizált formákban is vizsgáltuk, azaz az RR távolságra való normalizálás után (idő-domain és nem-lineáris HRV paraméterek esetén) vagy az RR távolság négyzetére való normalizálása után (a HRV frekvencia domain paraméterei esetén), ahogyan azt Sacha és munkatársai is javasolták.<sup>154, 155</sup> A HRV paramétereket 14. táblázatban foglaltuk össze.

A 24 órás mérésekből számolt nem-normalizált paraméterek közül majdnem az összes HRV érték szignifikáns növekedést mutatott, míg az 5 perces mérésekből számolt paraméterek esetén ez nem volt megfigyelhető. A szívfrekvenciára való normalizálás után, egy relatív, 68%-os szignifikáns növekedést figyeltünk meg az rMSSD paraméter esetében ( $0,096 \pm 0,02$  vs.  $0,057 \pm 0,03$ ;  $p=0,011$ ) és egy relatív, 71%-os szignifikáns növekedést a pNN50% paraméter ( $0,036 \pm 0,01$  vs.  $0,021 \pm 0,01$ ;  $p=0,034$ ) esetében, a hordozó családtagokban. Hasonló mértékű növekedés, 63%-os relatív növekedés az rMMSD paraméter, és egy relatív 57%-os növekedés a pNN50% paraméter esetében, volt megfigyelhető az 5 perces mérésekből számított HRV paraméterek esetében, de a különbség nem érte el a statisztikai különbség mértékét (feltehetően a kisebb minta méret, azaz alacsonyabb ütésszám miatt).



27. ábra. Minimum (A panel), átlag (B panel) és maximum (C panel) szívfrekvencia értékek a HCN4 c.1737+1 G>T génmutáció hordozó (üres körök) és nem-hordozó (teli négyzetek) családtagokban 24-órás Holter monitorizálás alatt. Az óránkénti és 6-óra hosszú napszakok közötti különbséget sárga (szignifikáns) vagy szürke (nem szignifikáns) sávok jelzik az időskála felett. A minimum és átlag szívfrekvencia értékek szignifikánsan alacsonyabbak jórészt az egész nap folyamán, míg a maximum szívfrekvencia értékek legtöbb időszakban nem különböznek.

14. táblázat. Normalizált és nem-normalizált HRV paraméterek a *HCN4* c.1737+1 G>T mutáció által érintett és nem-érintett családtagokban. A statisztikailag szignifikáns különbségek félkövér stílussal vannak kiemelve

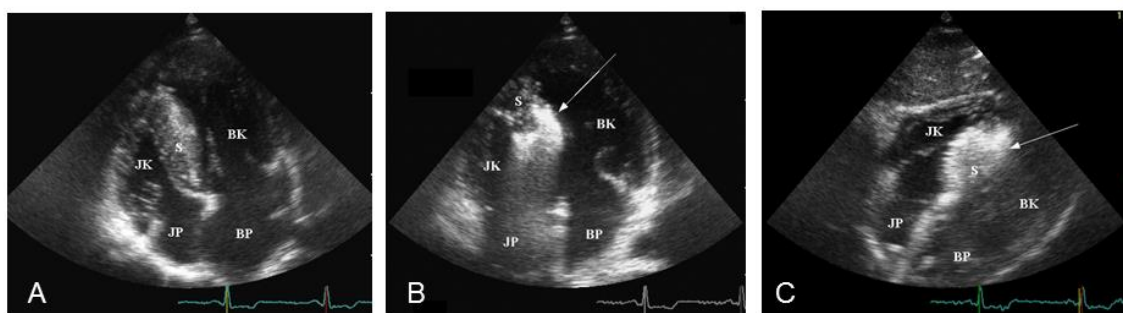
|                                | RR távolsággal<br>való korreláció |              | nem-normalizált     |                     |                            | normalizált  |                   |                    |                            |              |
|--------------------------------|-----------------------------------|--------------|---------------------|---------------------|----------------------------|--------------|-------------------|--------------------|----------------------------|--------------|
|                                | r                                 | p            | érintett            | nem-érintett        | relatív<br>differencia (%) | p            | érintett          | nem-érintett       | relatív<br>differencia (%) | P            |
| <b>5-perces HRV paraméter</b>  |                                   |              |                     |                     |                            |              |                   |                    |                            |              |
| SDNN (ms)                      | <b>0,520</b>                      | <b>0,039</b> | 73,6±41,0           | 52,6±21,4           | 40                         | 0,109        | 0,07±0,04         | 0,06±0,02          | 7                          | 0,790        |
| rMSSD (ms)                     | <b>0,594</b>                      | <b>0,015</b> | 92,8±63,6           | 43,7±28,5           | 113                        | 0,060        | 0,09±0,06         | 0,05±0,03          | 63                         | 0,189        |
| pNN50 (%)                      | <b>0,517</b>                      | <b>0,040</b> | 44,1±29,6           | 22,5±21,9           | 96                         | 0,118        | 0,04±0,03         | 0,03±0,03          | 57                         | 0,283        |
| total power (ms <sup>2</sup> ) | <b>0,587</b>                      | <b>0,017</b> | 5766,1±5188,3       | 2443,8±1625,3       | 136                        | 0,122        | 0,005±0,005       | 0,003±0,002        | 42                         | 0,467        |
| VLF (ms <sup>2</sup> )         | 0,381                             | 0,145        | 915,6±866,2         | 822,8±612,2         | 11                         | 0,808        | 0,0007±0,000      | 0,001±0,000        | -34                        | 0,302        |
| LF (ms <sup>2</sup> )          | <b>0,578</b>                      | <b>0,019</b> | 1396,9±1234,0       | 793±500,6           | 76                         | 0,232        | 0,001±0,001       | 0,001±0,000        | 2                          | 0,961        |
| HF (ms <sup>2</sup> )          | <b>0,516</b>                      | <b>0,041</b> | 3451,2±3856,4       | 824,2±970,2         | 318                        | 0,098        | 0,003±0,004       | 0,001±0,001        | 156                        | 0,246        |
| SD1 (ms)                       | <b>0,594</b>                      | <b>0,015</b> | 65,8±45,1           | 30,9±20,2           | 113                        | 0,066        | 0,06±0,04         | 0,04±0,02          | 63                         | 0,189        |
| SD2 (ms)                       | 0,434                             | 0,093        | 79,5±39,7           | 66,7±25,2           | 19                         | 0,456        | 0,07±0,04         | 0,08±0,03          | -9                         | 0,663        |
| <b>24-órás HRV paraméter</b>   |                                   |              |                     |                     |                            |              |                   |                    |                            |              |
| SDNN (ms)                      | <b>0,566</b>                      | <b>0,028</b> | 233,6±53,2          | 182,6±41,9          | 28                         | 0,062        | 0,2306±0,06       | 0,2211±0,046       | 4                          | 0,726        |
| SDANN (ms)                     | 0,502                             | 0,057        | 213,6±52,5          | 165,4±39,2          | 29                         | 0,068        | 0,211±0,06        | 0,201±0,046        | 5                          | 0,704        |
| ASDNN (ms)                     | <b>0,786</b>                      | <b>0,001</b> | <b>113,1±28,7</b>   | <b>74,7±21,8</b>    | <b>51</b>                  | <b>0,013</b> | 0,110±0,02        | 0,090±0,02         | 22                         | 0,092        |
| rMSSD (ms)                     | <b>0,691</b>                      | <b>0,004</b> | <b>98,4±30,1</b>    | <b>47,7±21,9</b>    | <b>106</b>                 | <b>0,003</b> | <b>0,096±0,02</b> | <b>0,057±0,026</b> | <b>68</b>                  | <b>0,011</b> |
| pNN50 (%)                      | <b>0,711</b>                      | <b>0,003</b> | <b>37,6±14,2</b>    | <b>17,9±12,2</b>    | <b>111</b>                 | <b>0,013</b> | <b>0,036±0,01</b> | <b>0,021±0,01</b>  | <b>71</b>                  | <b>0,034</b> |
| total power (ms <sup>2</sup> ) | <b>0,663</b>                      | <b>0,007</b> | <b>2178,9±429,4</b> | <b>1564,7±342,5</b> | <b>39</b>                  | <b>0,010</b> | 0,002±0,00        | 0,002±0,00         | -9                         | 0,500        |
| VLF (ms <sup>2</sup> )         | <b>0,685</b>                      | <b>0,005</b> | <b>675,9±94,5</b>   | <b>488,0±148,8</b>  | <b>38</b>                  | <b>0,011</b> | 0,0007±0,00       | 0,0007±0,00        | -7                         | 0,549        |
| LF (ms <sup>2</sup> )          | <b>0,630</b>                      | <b>0,012</b> | <b>737,3±132,2</b>  | <b>559,3±138,7</b>  | <b>32</b>                  | <b>0,025</b> | 0,0007±0,00       | 0,0008±0,00        | -12                        | 0,304        |
| HF (ms <sup>2</sup> )          | <b>0,539</b>                      | <b>0,038</b> | <b>660,8±207,5</b>  | <b>427,9±111,9</b>  | <b>54</b>                  | <b>0,020</b> | 0,0006±0,00       | 0,0006±0,00        | 2                          | 0,917        |

SDNN: normál RR- távolságok szórása; rMSSD: az egymást követő normál RR-távolságok különbségei négyzetei átlagának négyzetgyöke; SDANN: 5 perces időszakok normál RR-távolságainak szórása; ASDNN: 5 perces időszakokra számított normál RR-távolságok szórásának átlaga; pNN50 %: a vizsgált intervallumra számított NN50 szám a teljes normál RR-távolságok százalékában; VLF: a nagyon alacsony frekvencia tartományban (0-003–0-04 Hz) mért variancia; LF: az alacsony frekvencia tartományban (0-04–0-15 Hz) mért variancia; HF: a magas frekvencia tartományban (0-15–0-4 Hz) mért variancia; SD1 és SD2: a Poincaré plot identikus vonalaitól mért átlagos távolság.

### 4.3. MEGFIGYELÉSEK PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIOVAL (PTSMA) KAPCSOLATBAN HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

#### 4.3.1. ABNORMIS KOLLATERÁLIS ÖSSZEKÖTTETÉSEK SEPTALIS ÁGAK KÖZÖTT HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN PTSMA SORÁN

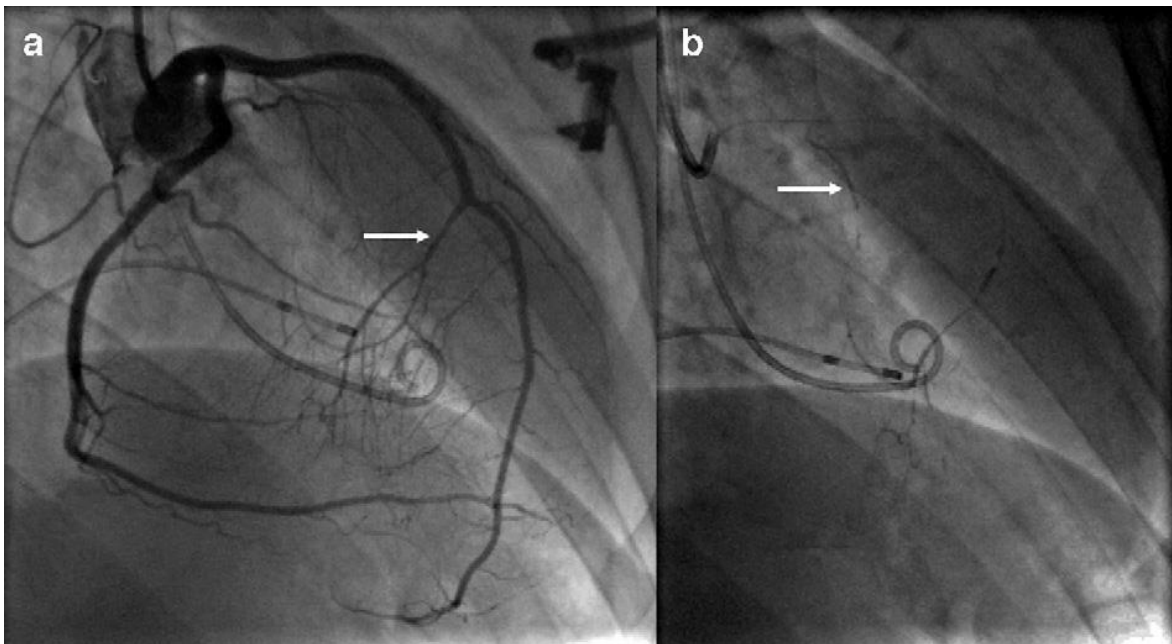
A beavatkozás a 3.3.1.2 pont alatt részletezettek szerint történt. A beteg esetén az erősebb, második septalis ág lett abláció céljából elsődlegesen kiválasztva. A vezetődrót pozicionálást követően, későbbi összehasonlítás céljából a standard transthoracalis echocardiographiás síkokból echocardiographiás vizsgálat történt (28. ábra, A panel). Az „over the wire” PTCA ballon expandálása után kontraszt echocardiographiát végeztünk. Parasternális hossz- és rövid-tengelyi, csúcsi 3-üregi és subcostális echocardiographiás síkokból identifikáltuk a septalis ág által ellátott myocardium területet (28. ábra, B és C panel). Az echocardiographia a septális kontraszt halmozódás megfelelőnek mutatta, a basalis septumban, a SAM kontaktus magasságában való telődéssel, míg septumon kívüli myocardium területek (papilláris izmok, jobb kamra) opacifikációt nem mutattak.



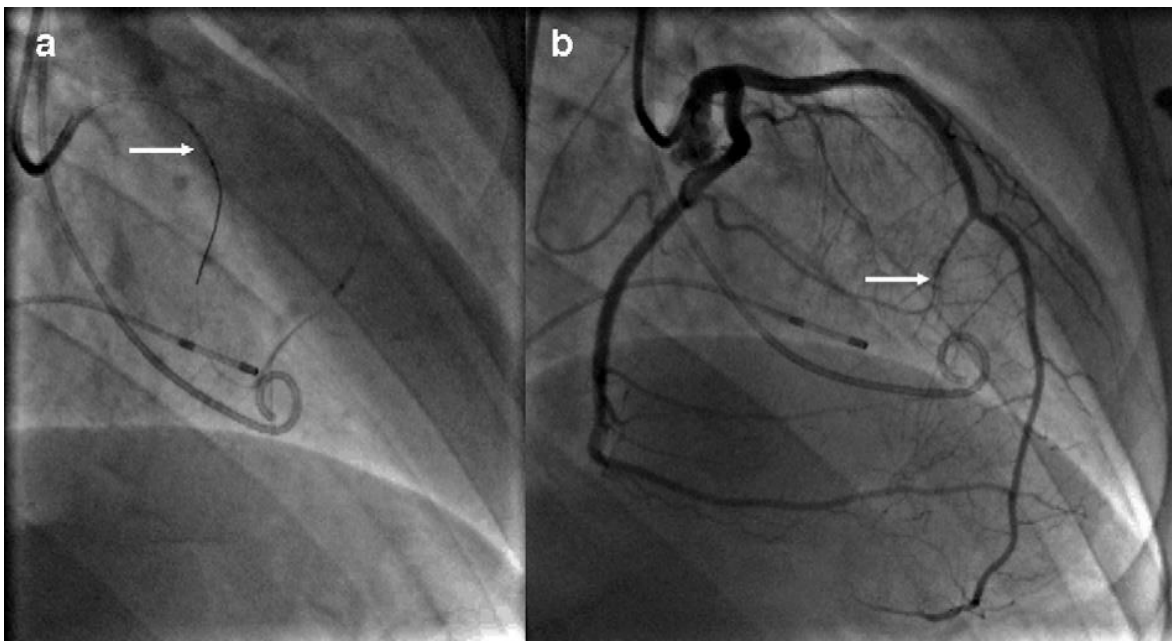
28. ábra. Kontraszt echocardiographia PTSMA során. A panel: Standard 4-üregi felvétel echocardiographiás kontrasztanyag nélkül. B panel: Standard 4-üregi felvétel echocardiographiás kontrasztanyag septális ágon való bejuttatása után, mely a septum basalis és középső részének opacifikációját mutatja (nyíl), egyéb bal kamrai struktúrák telődése nélkül. C panel: Standard subcostalis felvétel echocardiographiás kontrasztanyag septális ágon való bejuttatása után, mely a septum opacifikációját mutatja (nyíl), egyéb jobb kamrai struktúrák telődése nélkül. BK: bal kamra, JK: jobb kamra, BP: bal pitvar, JP: jobb pitvar, S: septum.

Ezután szubszelektív septalis angiographia történt, mely során meglepő módon azt észleltük, hogy a II. septalis ágba juttatott kontrasztanyag retrográd módon, abnormis kollaterálisok útján feltöltötte az I. septalis ágat is, és a LAD-ban is megjelent (29. ábra, a és b panel). Tekintettel arra, hogy a későbbiekben bejuttatott alkohol hasonlóképpen átjuthatott volna a LAD-ba, ott jelentős distalis nekrozist okozva, egy második dróton keresztül, egy második ballonnal okkludáltuk az I. septalis ágat (30. ábra, a panel). Az ismételt szubszelektív angiographia a II. septalis ágban immár nem mutatott telődést az I. septalis és LAD felé. Lassan 2.5 ml alkoholt juttatunk be a II: septalis ágba, echocardiographiával ellenőrizve az

alkohol infiltráció korrekt pozícióját. A záró angiographia a II. septalis ág nekrozisát mutatta, a többi érág sérülése nélkül (30. ábra, b panel). A beavatkozás során szövődményt



29. ábra. (a) Bal coronaria angiographia, nyíl jelzi a PTSCA-ra kiválasztott II. septalis ágat. (b) Szubszelektív angiographia a II. septalis ágban, mely retrográd módon, abnormis kollaterálisok útján feltöltötte az I. septalis ágat is (nyíl), és a LAD-ban is megjelent.



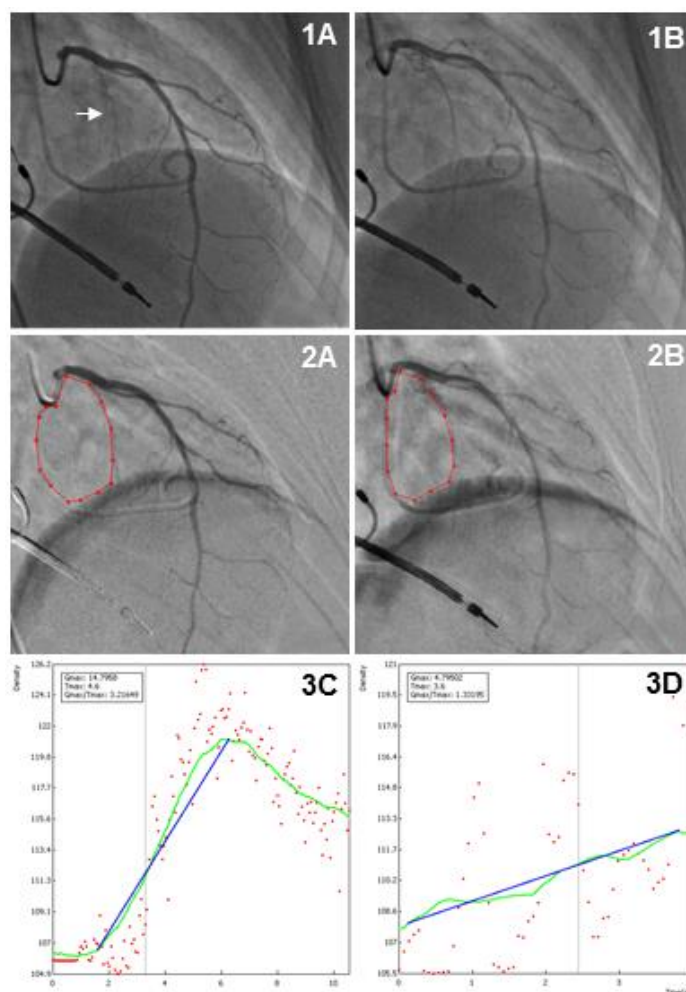
30. ábra. (a) Egy második ballonnal okkludálva az I. septalis ágat (nyíl) a II. septalis ágból kontrasztanyag telődés már nem látszik az I. septalis ágban és a LAD-ban. (b) A záró angiographián az okkludált II. septalis ág lászik, érsérülés nyoma nélkül a coronaria rendszer egyéb területein.

(halál, szabad kamrafali ruptúra, major arrhythmia, szívelégtelenség, permanens teljes AV block) nem észleltünk. A beavatkozás végén a nyugalmi gradiens 0 Hgmm-re; a provokálható 5 Hgmm-re csökkent. Átvezetési vagy ritmuszavart nem észleltünk. A hétnapos posztoperatív periódusban ritmuszavar, dekompenzációs tünet, mellkasi fájdalom nem jelentkezett, a beteg mobilizálása eseménytelen volt. A laborokban 1207 U/l kreatin foszfokináz (CK) csúcsot észleltünk (normál: <220 U/l), mely típusos enzimkinetikát mutatva lecsengő tendenciát mutatott. A beavatkozás után végzett 24 órás Holter monitorizálás major kamrai ritmuszavart nem detektált. A beavatkozás után 1, 3 és 6 hónappal kontroll vizsgálatokat végeztünk. A beteg terhelhetősége NYHA I-II funkcionális stádiumig javult, syncope nem fordult elő. Új EKG eltérés nem jelent meg, TTE vizsgálattal az interventricularis septum ablált területein a septum átmérőjének csökkenését, az érintett septum terület hypo-akinezisét lehetett kimutatni. TTE alapján a LVOT gradiens csökkent (19/58 Hgmm nyugalmi/terheléses gradiens). Holter monitorizálás kamrai ritmuszavart nem mutatott. Terheléses vizsgálatok a terhelhetőség objektív javulását igazolták (75 Watt-ról 125 Watt-ra).

#### 4.3.2. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS ABLATIO EREDMÉNYÉNEK MEGÍTÉLÉSE ÚJ METODIKÁKKAL

##### 4.3.2.1. Myocardiális perfúzió csökkenésének kimutatása videodenzitometrián alapuló idő-denzitás görbe segítségével PTSMA után

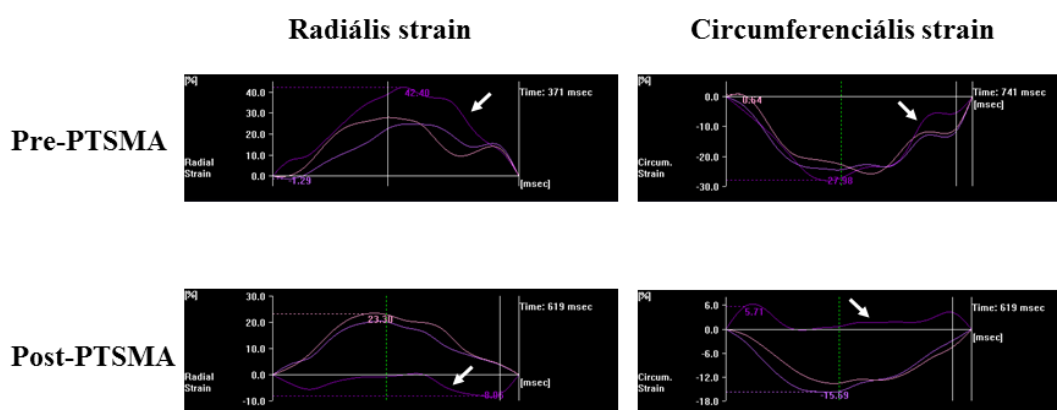
A Gmax (mely a TDC maximális amplitúdója) és a Tmax (mely a Gmax eléréséig tartó idő) hányadosa csökkentnek bizonyult az alkoholos abláció után (1,33) a beavatkozás előtti (3,21) értékekhez képest, az ablált septalis area csökkent perfúziójára utalóan (31. ábra).



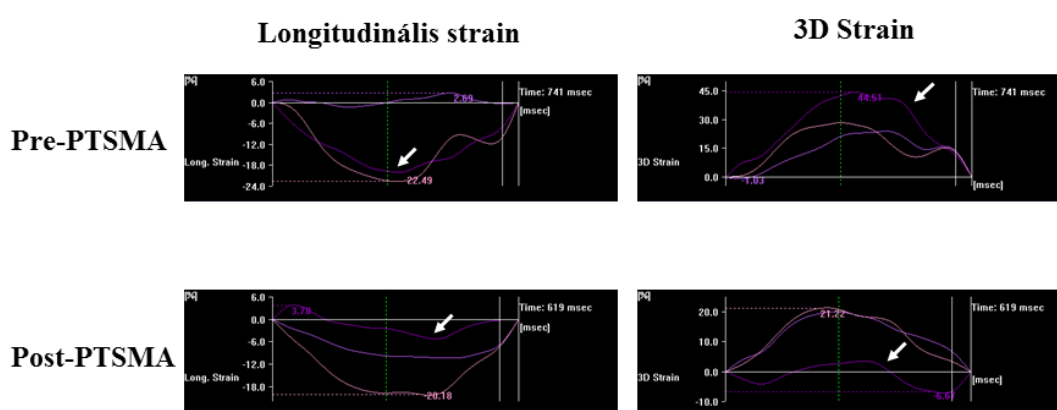
31. ábra. 1. A LAD coronaria angiographiás felvételei craniális jobb anterior ferde (RAO) irányból a PTSMA előtt (1A) és után (1B). A nyíl az első septalis ágra mutat, mely a beavatkozás során ablációra került. Az ág hiánya egyértelmű a beavatkozás utáni (1B) felvételeken. 2. Digitális szubsztakciós angiographiás felvételek a fentivel egyező irányból, a beavatkozás előtt (2A) és után (2B). Az ablált ág által ellátott vizsgált terület, (region of interest, ROI) pirossal van bekarikázva. A myocardialis blush-t a microcirkuláció szürkés opacifikációja jelzi, mely az abláció után észrevehetően csökkent (2B). 3. A myocardialis perfúzió fenti felvételekből videodenzitás alapján meghatározott idő-denzitás görbéi az alkoholos abláció előtt (3A) és után (3B). A denzitás emelkedését és csökkenését (y tengely) az idő függvényében (x tengely) zöld görbe ábrázolja (time-density curve, TDC). A TDC maximális amplitúdója a Gmax, míg a Gmax eléréséig tartó idő a Tmax. A Gmax/Tmax hányados a myocardialis perfúzió változását jelzi. A Gmax/Tmax hányados a beavatkozás előtti 3,21-es értékről 1,33-ra csökkent, az ablált septalis terület csökkent perfúziójára utalóan.

#### 4.3.2.2. A septalis strain változásának kimutatása PTSMA után három-dimenziós 'speckle tracking' echocardiographia segítségével

A septum bazális, mid-ventrikuláris, és apikális szegmensét jellemző strain görbéket a 32. és 33. ábrán mutatjuk be. A radiális, cirkumferenciális (32. ábra) valamint longitudinális és 3D strain görbék (33. ábra) szignifikáns változásokat mutattak a septum bazális szegmensében (fehér nyilak). A beavatkozás után készült szív MRI felvételek (GE Medical Systems, Milwaukee WI, USA) megerősítették a célzott septalis területben létrejött hegképződést.



32. ábra. A septum bazális, mid-ventrikuláris és apikális szegmensének radiális és cirkumferenciális strain görbéi, 1 nappal a PTSMA előtt, és 3 nappal a PTSMA után. A fehér nyilak a septum bazális szegmensének strain értékeiben létrejött változásait jelzik.



33. ábra. A septum bazális, mid-ventrikuláris és apikális szegmensének longitudinális és 3D strain görbéi, 1 nappal a PTSMA előtt, és 3 nappal a PTSMA után. A fehér nyilak a septum bazális szegmensének strain értékeiben létrejött változásait jelzik.

## 5. MEGBESZÉLÉS

### 5.1 ARRHYTHMOGÉN TÉNYEZŐK MORFOLÓGIAI ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

#### 5.1.1 INTERCELLULÁRIS JUNKCIÓK ELTÉRÉSEINEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

Nagy specificitású antitestek immunhisztokémiai alkalmazásával és nagy felbontású konfokális lézer pásztázó mikroszkópia használatával munkánkban azt találtuk, hogy 'myofiber disarray'-t mutató HCM-es szívizomzatban az intercelluláris junkciók eloszlásának jelentős elváltozásai mutathatóak ki. Mind a mechanikus kapcsolódásért felelős dezmoszómák, mind az elektromos kapcsolódásért felelős gap junction-ök kifejezett dezorganizációt mutattak. A myocytá hálózata nagy területeket érintő globális eltérései mellett lokalizált, egyes sejtek között kimutatható eltérések is jelen voltak. Az intrecaláris discusok dezorganizációja a 'myofiber diarray' által érintett területeket érintette, a HCM-es szívek egyéb területei normális immunfestődést mutattak. Ez utóbbi azt támasztja alá, hogy az intercelluláris junciók elváltozásai valós patológiai folyamatok következményei, nem pedig post-mortem elváltozás vagy procedúrális artefaktum következtében jöttek létre.

A dezmoszómák megfigyelt eltérései vélhetőleg hatással vannak a HCM-es myocardium passzív elasztikus jellemzőire és hozzájárulnak a HCM-ben megfigyelhető diasztolés diszfunkció fokozódásához.<sup>156</sup> A hosszú, 'oldal-az-oldal'-hoz formában kialakuló dezmoszómális kapcsolatok, az egymás melletti myocyták plazmamembránját szorosan egymáshoz rögzítve, feltételezhetően fokozzák a myocardialis merevséget, gátolva a hatékony szívizomrost elernyedést. Fenti kényszerkapcsolatok a relaxáció finomabb aszinkronitását is továbbvihetik a myocardialis hálózaton keresztül.

A HCM során létrejövő elektromos és strukturális passzív remodellinggel kapcsolatos legfontosabb tényező a remodelling során létrejövő heterogenitás.<sup>157, 158</sup> A remodelling során három tényező heterogén megváltozása járul hozzá az arrhythmia vagy szívelégtelenség kialakulásához: 1) a szöveti architektúra, ún. hypertrophia, fibrózis, myofiber disarray és sejtméret; 2) a gap junction-ök és különösen a connexin 43 által kialakított elektromos kapcsoltság; 3) a Na csatornák, különösen a Nav1.5 változásai következtében kialakult elektromos ingerelhetőség.<sup>93, 159, 160</sup> A hypertrophia következtében megnövekedett sejtméret a sejt ellenállás növekedésével jár, mely következtében a szív ingerület terjedése ill. annak vezetési sebessége fokozatosan csökken, a hypertrophia mértékével arányosan.<sup>161-163</sup> HCM-ben elsősorban a sejtek szélessége nő, mely számítógépes modellezés szerint a vezetőképesség sebességének csökkenésével jár.<sup>164</sup>

A gap junction-ök elrendeződésében való kifejezett eltérések a szívizomrostok passzív elektromos jellemzőire lehetnek hatással. A gap junction-ök legkifejezettebb eltérése az intercalaris discusokban való lokalizáltság helyett a szívizomsejtek felszínén való diszperzió volt. A dezmozoplakin és connexin 43 kettős festés azt mutatta, hogy a discus eredeti struktúrája intakt marad, mivel a dezmozoplakin festődés változatlanul mutatkozott, csak a connexin 43 festődés mutatott laterális diszperziót. Nem tudni, hogy ezek az immunfestődést mutató struktúrák funkcionális gap junction-öket, vagy csak gap junction alegységeket jeleznek, melyek lateralizáció<sup>165</sup> vagy internalizáció<sup>166</sup> útján váltak szét. Bármelyik is igaz, fenti eltérés az egységes anizotrópia jelentős megváltozásához vezethet, mely arrhythmogén szubsztrát alapjaként szolgálhat. A gap junction-ök hasonló eltéréseit cardiomyopathiás hörcsögökben<sup>167</sup> és gyógyult myocardialis infarktus széli zónáiba tartozó myocytaiban is leírták már,<sup>168</sup> melyek re-entry alapú arrhythmia kiindulási helyeként szolgálhatnak.<sup>169, 170</sup> A megfigyelt hosszú, 'oldal-az-oldal'-hoz megjelenést mutató gap junction-ök, melyek normál esetben nincsenek jelen, hasonlóképp csökkent anizotrópiához vezethetnek, széles elektromos összeköttetéseket nyitva a szomszédos myocyta között, melyek az akciós potenciál terjedésének diszkrét inhomegenitásához vezethetnek. Más eltérések, mint a teljes területük mentén gap junction-ök által kapcsolt gyűrű-szerű myocyta struktúrák, szintén re-entry alapjául szolgálhatnak.

Jól ismert, hogy az emlős szívizomzat post-natális fejlődése során a gap junction-ök kezdeti diszpergált eloszlása (mely hasonlatos a 'myofiber disarray' területein látott elváltozásokhoz) a későbbiekben az intercalaris discus-okban való körülírt lokalizációvá változik.<sup>171</sup> Hasonló folyamat megy végbe újszülöttekben is,<sup>172</sup> melyet a normális celluláris elektrofiziológiai jellemzők, köztük az anizotrópiás vezetési jelleg alapjának tartanak. Jelenleg nem ismert, hogy az elektromechanikus junkciók HCM-ben megfigyelt eltérései egy specifikus érési folyamat károsodásának következményei-e, vagy a korábbi normális myocardium remodelációja során alakulnak ki, és hozzájárulnak a neonatális periódusban megfigyelhető gap junction eloszlási formát.

Fenti megfigyeléseinket későbbi vizsgálatok is megerősítették. HCM betegekben, a betegség korai fázisában a connexin 43 expresszió kezdeti növekedését és extenzív lateralizációját írták le. A betegség későbbi fázisában a connexin 43 expresszió mennyisége csökkent és heterogén módon oszlott el.<sup>173</sup> Hasonló eltéréseket, a connexin 43 expresszió csökkenését és lateralizációját írtak le a HCM kísérletes állatmodelljeiben, melyet a longitudinális vezetési sebesség csökkenése kísért.<sup>174</sup> A HCM egy másik állatmodelljében a connexin 43 mennyiség változatlan volt, de heterogén eloszlását írták le.<sup>175</sup> A HCM két nyúl modelljében (egy troponin I és egy beta-MyHC-Q403 mutáción alapuló modellben) a teljes connexin 43 mennyiségének mid-myocardialis emelkedését írták le, a foszforilált connexin 43 szintet is beleértve.<sup>176, 177</sup> Az UM-X7.1 HCM hörcsög modellben (melyet a cytoskeletális delta-szarkoglikán hiánya okoz) hypertrophiát, a connexin 43 mRNS szint csökkenését, megnövekedett fibrózist és ritmuszavarokat észleltek 20 hét után.<sup>178, 179</sup> A szívspecifikus calcineurin-A (CnA) overexpressziójával kialakított egér modellben születés után

hypertrophia, extenzív fibrózis és arrhythmiai alakulnak ki.<sup>180</sup> Fenti modellben az intercalaris diskusok csökkent connexin 43 festődését, és csökkent vezetési sebességet lehet észlelni.<sup>181</sup> Más egér modellekben a connexin 43 expresszió heterogén és parciálisan csökkent szignálját írták le, mely az impulzus vezetődésének diszperziójával társult.<sup>182, 183</sup>

### 5.1.2 REPOLARIZÁCIÓS PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

Munkánkban azt találtuk, hogy az EKG valamennyi repolarizációs paramétere, a szívfrekvenciára korrigált QT időtartam (QTc), a QT diszperzió (QTd), az ütésről-ütésre meghatározott rövid-távú QT variabilitás (QT-STV) és a T hullám terminális fázisa (Tpeak-Tend) szignifikánsan megnyúlt mértékű HCM betegekben. A paraméterek közül a QT-STV mutatta a legnagyobb relatív növekedést és a legszorosabb korrelációt a testfelszínre normalizált, vagy nem-normalizált maximális bal kamra fal vastagsággal vagy bal kamra izomtömeggel, mint a bal kamra hypertrophiát jellemző markerekkel.

A hypertrophiás cardiomyopathiát jellemző morfológiai és strukturális elváltozások, mint pl. bal kamra hypertrophia, myocardialis fibrózis, myofiber disarray és kísértetbetegség, mind arrhythmogén szubsztrátként szerepelhetnek a betegségben.<sup>184</sup> A HCM-ben megfigyelhető remodelling egy progresszív folyamat,<sup>185</sup> mely egy nemrég közlemény szerint az SCD fokozott rizikójával jár HCM-es betegekben.<sup>186</sup> Krónikus szívelégtelenségben a strukturális remodelláció elektromos remodellációval társul. Utóbbi során a depolarizáló és repolarizáló ionáramokat vezető feszültség kapuzott ioncsatornák expressziója megváltozik, mely a cardiomyocyták csökkent repolarizációs képességéhez vezet.<sup>187</sup> Ezt a csökkent repolarizációs tartalékot részben a depolarizáló ionáramok ( $\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$ ) növekedése, részben a kálium ionáramok denzitásának csökkenése (főként  $\text{I}_{\text{K1}}$ ,  $\text{I}_{\text{to}}$  és  $\text{I}_{\text{Ks}}$ ) okozhatja, ami az akciós potenciál prolongálódásában és testfelszíni EKG QT távolságának a megnyúlásában nyilvánul meg.<sup>188-190</sup> Az akciós potenciál megnyúlása a  $\text{Ca}^{2+}$  influx megnövekedésével jár, mely következményes késői utódepolarizációhoz (delayed afterdepolarization, DAD) és arrhythmia kialakulásához vezethet.<sup>191</sup> A repolarizáció elnyúlása veszélyes kamrai re-entry típusú arrhythmiaiakat is kialakíthat korai utódepolarizációhoz vezetve (early afterdepolarization, EAD).<sup>192, 193</sup> Egy különösen érdekes megfigyelés a lassan inaktiválódó, késői nátrium áram ( $\text{I}_{\text{Na,late}}$ ) megnövekedése, mely szívelégtelenségben megnyújthatja a repolarizációt és arrhythmogenezist indukál.<sup>194</sup> Fenti fokozott arrhythmogenezishez vezető elektromos remodelling részjelenségeit nem csak pangásos szívelégtelenségben és hypertrophiával járó kórképekben írták le, de HCM betegekben izolált cardiomyocitákon is.<sup>195</sup> A HCM következtében kialakult csökkent repolarizációs kapacitás jelentősen beszűkült repolarizációs tartalékhoz és arrhythmia hajlamhoz vezet,<sup>196</sup> mely alapján egyébként csökkent repolarizáció gátló hatással rendelkező gyógyszerek, vagy étrendi kiegészítők is veszélyes, akár hirtelen szívhalálhoz vezető kamrai ritmuszavarokat indukálhatnak.

A csökkent repolarizációs tartalék és a repolarizáció időbeli instabilitása a rövid-távú, ütésről-ütesre mért QT variabilitással jellemezhető, mely az egymást követő QT intervallumok különbségeit jelzi. Ez a paraméter egy új, arrhythmogén betegségek pro-arrhythmia rizikóját jelző markerke lehet, melyről igazolták, hogy a beszűkült repolarizációs tartalék miatti pro-arrhythmia rizikó megbízhatóbb prediktora a konvencionális EKG repolarizációs paramétereivel szemben.<sup>108, 197</sup> Számos experimentális és klinikai vizsgálat mutatta ki, hogy a QT-STV értéke megnövekedett és jobban korrelál későbbi arrhythmia bekövetkeztével, mint a repolarizáció megnyúlása, mind állatkísérletekben, mind olyan betegekben, kikben csökkent repolarizációs tartalékot lehetett kimutatni és később veszélyes kamrai arrhythmiaát éltek át vagy SCD következett be.<sup>198-202</sup>

A QT variabilitás megnövekedését korábbi vizsgálatok már igazolták HCM-ben. A normalizált QT variabilitási index (QTVI), Berger és mtsai. módszerével meghatározva, magasabb volt HCM-es betegekben, mint kontrollokban, és a legnagyobb mértékű emelkedést malignus HCM génmutáció hordozókban mutatták ki (beta myozin nehéz lánc gén p.Arg403Gln mutáció).<sup>105</sup> Egy nemrég közleményben több repolarizációs paraméter, köztük a normalizált QT variabilitás (QTVN) és QT variabilitási index (QTVI), emelkedett voltát igazolták szív MRI-vel detektált késői gadolinium kontraszt (late gadolinium enhancement, LGE) jelenlétével és kiterjedtségével HCM-es betegekben.<sup>203</sup> Mind a QTVN, mind a QTVI magasabb volt LGE-t mutató betegekben. Más paraméterek között az LGE kiterjedtsége és az SCD rizikó (a tradicionális SCD rizikó faktorok száma) prediktív volt a QTVI mértékére. Érdekes módon a bal kamrai izomtömeg szintén összefüggésben volt a QTVN-el. Mindazonáltal, a QTVI és QTVN a QT variabilitás egészének jellemzője, mely az adott EKG regisztrátum teljes tartamát jellemzi, és nem reflektálja a QT távolságok ütésről-ütesre történő variabilitását, ami hasonlóképp, vagy talán még inkább fontosabb.

Munkánkban a QT-STV korrelációt mutatott a bal kamra hypertrophia különböző indexeivel. A myocardialis hypertrophia a HCM lényegi jellemzője, melynek mértéke összefüggésben áll a HCM miatti nem kívánatos kardiális eseményekkel, az SCD-t is beleértve.<sup>204</sup> A súlyos myocardialis hypertrophia, melyet >30 mm bal kamra fal vastagságban határozzunk meg, az SCD független prediktora HCM-ben és önmagában primer profilaktikus ICD implantáció indikációját jelentheti.<sup>3</sup> Az MRI által meghatározott bal kamra izomtömeg még erősebb prediktora lehet a nem kívánatos kardiális eseményeknek, amint ezt egy nemrég közlemény is igazolta, ahol a bal kamrai izomtömeg a HCM miatti halálozás szenzitívebb prediktorának bizonyult a maximális bal kamra falvastagsággal szemben.<sup>205</sup> Hasonlóképpen, a myocardialis hypertrophia mértékét jelző EKG feszültség paraméterek szintén korrelálnak a nem kívánatos eseményekkel HCM-es betegekben.<sup>206</sup>

A vizsgálat célkitűzései között nem szerepelt a QT variabilitás és a hirtelen szívhalál rizikó közötti közvetlen kapcsolat vizsgálata. Ebből a szempontból fontos lenne bizonyítani, hogy a QT-STV közvetlenül kapcsolatban áll az SCD rizikóval HCM-ben. Első lépésként fontos lenne igazolni, hogy vajon a QT-STV korrelál-e az SCD rizikó már ismert tradicionális

markereivel (syncope előfordulása, abnormis vérnyomás válasz terhelés alatt, NSVT Holter monitorizálás alatt, etc.). A QT-STV és SCD közötti direkt kapcsolatot egyértelműen nagy HCM-es betegkohorsz utánkövetéses vizsgálata igazolhatná.

## 5.2 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA FAMILIÁRIS ARRHYTHMOGÉN KARDIOLÓGIAI KÓRKÉPEKBEN

### 5.2.1 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN

#### 5.2.1.1 MYBPC3 génmutációk azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiában szenvedő betegekben

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 (15. táblázat).

15. táblázat. Génmutációk megoszlása különböző HCM betegcsoportokban

| Közlés                                                                        | Betegszám (n) | Szűrt gének száma | Szarkomer génmutáció (%) | MYBPC3 génmutáció (%) | Metódus         |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------|
| Richard és mtsai. <sup>16</sup>                                               | 197           | 9                 | 63                       | 26.4                  | SSCP+DS         |
| Morner és mtsai. <sup>207</sup>                                               | 46            | 8                 | 28                       | 20                    | SSCP /DHPLC     |
| Erdmann és mtsai. <sup>208</sup>                                              | 108           | 6                 | 33.3                     | 18.5                  | SSCP+DS v. RFLP |
| Van Driest és mtsai. <sup>17, 209, 210</sup>                                  | 389           | 8                 | 37.7                     | 18.2                  | DHPLC+DS        |
| Olivotto és mtsai. <sup>211</sup>                                             | 203           | 8                 | 62                       | 34                    | DHPLC+DS+RFLP   |
| Garcia-Castro és mtsai. <sup>212</sup>                                        | 120           | 5                 | 26.7                     | 16                    | DS              |
| Andersen és mtsai. <sup>213</sup>                                             | 90            | 11                | 36                       | 10                    | SSCP+DS         |
| Laredo és mtsai., <sup>214</sup><br>Rodriguez-Garcia és mtsai. <sup>215</sup> | 130           | 2                 | 23                       | 15                    | SSCP+DS+RFLP    |
| Millat és mtsai. <sup>216</sup>                                               | 192           | 4                 | 48                       | 25                    | DHPLC+DS        |
| Waldmuller és mtsai. <sup>217</sup>                                           | 236           | 2                 | 41                       | 24                    | DS              |
| Brito és mtsai. <sup>218</sup>                                                | 77            | 5                 | 53                       | 35                    | DS              |
| Gruner és mtsai. <sup>219</sup>                                               | 471           | 8                 | 35                       | 14.9                  | DS              |
| Zou és mtsai. <sup>220</sup>                                                  | 200           | 8                 | 51                       | 18                    | DS              |

DHPLC: 'denaturing high performance liquid chromatography'; DS: direkt szekvenálás; RFLP: 'restriction fragment length polymorphism'; SSCP: 'single strand conformation polymorphism'.

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,<sup>221</sup> troponin I (*TNNI3*) és troponin T (*TNNT2*) mutációt pedig nem találtunk mintegy 100 magyar HCM-es betegben,<sup>222, 223</sup> a *MYBPC3* gén a leggyakrabban érintett génnek tűnik a magyar HCM-es betegpopulációban.

Az általunk azonosított *MYBPC3* mutációk feltételezett hatása a fehérje disztális részének csonkolódása. 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” deléción, 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).<sup>15, 17, 224</sup> 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.<sup>225</sup> 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.<sup>226</sup> Az általunk észlelt p.Ser593ProfsTer11 mutációhordozó betegnél hasonlóképpen dilatatív fázisba való progressziót, pitvarfibrilláció kifejlődését és hirtelen szívhalál bekövetkeztét tapasztaltunk.

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.<sup>16, 227</sup> Későbbi közlemények már nem találtak lényegi különbséget a *MYBPC3* mutációhordozó és más

HCM-mutációhordozó betegek között.<sup>17, 208</sup> 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.<sup>228</sup>

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.<sup>225</sup> Mindez éles kontrasztban volt a béta myozin nehéz lánc gén vagy troponin T génmutációk 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 legkésőbbi 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.

A *MYBPC3* c.821+1G>A mutációhordozó 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.<sup>225</sup> 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.<sup>15</sup> 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 betegekből származó 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.<sup>17</sup>

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);<sup>229</sup> enyhe bal kamra hypertrophiával (*TNNT2* mutációk)<sup>230</sup> vagy késői megjelenéssel társultak (*MYBPC3* mutációk).<sup>225, 227, 231</sup> 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. Utóbbit számos családvizsgálat<sup>224, 232-234</sup> 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.<sup>211, 235, 236</sup>

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.<sup>15, 17, 224</sup> 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 (Exome Aggregation Consortium) adatbázisban, mely 60,706 nem rokon egyén populációs vagy betegség-specifikus genetikai vizsgálatainak adatait tartalmazza, a variáns allélfrekvenciája 0,000008%, mely szerint fenti variáns gyakorlatilag nincs jelen az átlagpopulációban, mely tovább valószínűsíti kóroki szerepét.

## 5.2.2 KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIA FENOKÓPIÁIBAN

### 5.2.2.1 *LAMP2* génmutációk azonosítása Danon betegekben

HCM fenokópiákat vizsgálva munkánkban két novel, korábban nem közölt *LAMP2* génmutációt azonosítottunk, kifejezett koncentrikus hypertrophia és pre-excitáció jeleivel jellemzett Danon betegség esetében. Mindkét mutáció következtében csökkent *LAMP-2* fehérje jön létre, mely a transzmembrán domén teljes elvesztését, illetve a citoplazmikus farok rövidülését eredményezi. Megfigyeltük, hogy a mutációk kifejezetten malignus hatásúak mindkét család esetében. A legjobb tudomásunk szerint az általunk vizsgált ‘A’ család az egyik legnagyobb az eddig közölt esetek közül, kiknél egyértelmű DNS diagnózis is rendelkezésre áll.<sup>237-241</sup> Az általunk vizsgált két családban összesen 8 mutációhordozót (6 az ‘A’ családban és 2 a ‘B’ családban) azonosítottunk, mely alapján egyértelmű következtetéseket lehetett levonni a betegség klinikai megnyilvánulását illetően.

Mindkét esetben az index betegeknek a Danon betegség tipikus klinikai manifesztációi voltak megfigyelhetőek, úgy mint extrém koncentrikus balkamra hypertrophia, pre-excitáció jelei az EKG-n, vázizom sorvadás vagy CK emelkedés és változatos mentális retardáció.<sup>26, 242</sup> A kardiális fenotípus az érintett családtagokban, beleértve a nőket is, hypertrophiás cardiomyopathia volt, az arrythmiák és bradyarrhythmiák magas prevalenciája mellett. Négy, a betegséggel összefüggő haláleset történt a két családban, ahol az átlag életkor  $35 \pm 18$  év volt, mely egyértelműen alacsonyabb volt a férfiaknál, mint a nőknél ( $27 \pm 10$  vs.  $42 \pm 25$  év).

Az egyik azonosított mutáció, p.Trp321Stop, egy nonszensz mutáció, mely feltehetően egy korai Stop kodon kialakulásához vezet a 321. pozícióban. A másik észlelt mutáció, p.Pro324fs+24X, egy egy bázispáros mikorinszerció, mely a leolvasási keret eltolódásához vezet és 24 extra aminosav beépülését eredményezi, mielőtt egy rejtett Stop kodon megállítaná az átíródást. Egyik mutáció sem volt korábban közölve. Megjegyzendő, hogy az utóbbi mutáció már említésre került a COSMIC adatbázisban korábban melanoma sejtek kapcsán, talán ennek a genetikai régió magasabb mutációs rátájának köszönhetően.

### 5.2.2.2. A *GLA* génmutációk azonosítása Fabry betegekben

Munkánk ezen részében szív-, de egyidejűleg feltételezett egyéb szervi manifesztációval járó Fabry betegség gyanúja esetén végeztünk szűrővizsgálatot Fabry betegség irányában. A 21 vizsgált beteg közül 4 esetben detektáltunk *GLA* gén mutációt, mely alapján a Fabry betegség előfordulási aránya vizsgálat betegcsoportunkban 19%-nak adódott (4 nő, átlag életkor  $49 \pm 15$  év). Amennyiben csak a bal kamra hypertrophiával/hypertrophiás cardiomyopathiával járó alcsoportot vesszük figyelembe, a *GLA* mutációk 17%-ban fordultak elő. Utóbbi, korábbi vizsgálatoknál magasabb előfordulási arányt az magyarázza, hogy jelen vizsgálatba olyan módon választottuk be a betegeket, hogy ne csak izolált szív, hanem utóbbi mellett egyéb feltételezett szervi manifesztációra (neurológiai, nephrológiai, bőr, stb.) utaló jelek is jelen legyenek. Korábbi vizsgálatok „típusos” HCM esetén a Fabry betegség előfordulási arányát alacsonynak, kb. 0.5-1%-nak találták (16. táblázat). Fenti adatok összességében jól jelzik, hogy ha a HCM mellett egyéb lehetséges szervi manifesztáció is jelen van, a Fabry betegség fennállásának esélye jelentősen megnő.

A négy általunk észlelt *GLA* mutáció közül egy már ismert, míg három korábban nem közölt, novel génmutáció. Külön kiemelendő a p.Ile239Met mutáció, ahol az elérhető családtagok nagy száma miatt lehetőségünk volt részletes fenotípus-genotípus analízisre és linkage analízisre. A mutáció egy gyengén konzervált nukleotidot és egy közepesen konzervált aminosavat érint, kis fizikokémiai különbséggel az izoleucin és a metionin között (Alamut v.2.7.1). PolyPhen-2, SIFT és Mutation Taster szoftware analízisek alapján a mutáció valószínűleg károsító hatású. A mutáció nem szerepel az Exome Aggregation Consortium (ExAC), Exome Sequencing Project (ESP) vagy az 1000 Genomes Browser adatbázisaiban. A mutáció által kialakított betegség elsősorban hypertrophiás cardiomyopathia, bal kamra hypertrophia és EKG eltérések formájában megnyilvánuló kardiális manifesztációt mutatott az összes felnőtt mutációhordozó családtag esetében, míg vesetranszplantációt igénylő progresszív veseelégtelenség egy érintett családtagban alakult ki. A betegség biomarkere, a lyso-Gb3 szint minden érintett családtag esetében emelkedett volt és a *GLA* enzim szintje kifejezetten csökkent volt a mutációhordozó férfi családtag esetében. Bár az általunk azonosított p.Ile239Met *GLA* mutáció egy új, novel mutáció, 2014-ben Kotanko és munkatársai már közöltek egy ugyanebben a pozícióban meglévő másik aminosavcserét okozó mutációt, mint kóroki mutációt Fabry betegségben (c.716T>C, p.Ile239Thr, HGMD ID: CM044637).<sup>243</sup> A mutációt egy férfibetegben detektálták, kinek tünetei már gyermekkorban jelentkeztek visszatérő láz, fájdalmak, lymphadenopathia és acroparesthesia képében. Későbbiekben veseatrophiát és negyedik stádiumú krónikus veseelégtelenséget diagnosztizáltak, illetve akut hallásvesztés, szédülés, fejfájás, dysphagia és dysarthria is jelentkezett. Többszörös agyi elváltozásait harmadik stádiumú hypertenzióknak tulajdonítottak. Elvégzett vesebiopszia elektronmikroszkópos vizsgálata a Fabry betegség tipikus jeleit mutatta, melyet fénymikroszkópos vizsgálat során nem lehetett azonosítani. A betegnél cornea verticillata és enyhe balkamra hypertrophia is igazolódott. Édesanyjánál és

16. táblázat. A Fabry betegség előfordulási gyakoriságát vizsgáló tanulmányok HCM-ben

| Szerzők                            | Év   | Vizsgált populáció                                                                                                                                              | Szűrési módszer                                                                                 | Gyakoriság                                                                             |
|------------------------------------|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Nakao és mtsai. <sup>244</sup>     | 1995 | 230 ffi beteg, echocardiographiával megállapított BKH (szeptum vagy bal kamra posterior fal vastagság $\geq 13$ mm)                                             | Plazma $\alpha$ -galaktozidáz A aktivitás mérés                                                 | 3.0%                                                                                   |
| Sachdev és mtsai. <sup>245</sup>   | 2002 | 79 HCM-es férfi beteg (ismeretlen eredetű BKH, BKmax $\geq 13$ mm), diagnózis $\geq 40$ éves kor felett, ill. 74 HCM-es férfibeteg, diagnózis 40 éves kor alatt | Plazma $\alpha$ -galaktozidáz A aktivitás mérés                                                 | 6.3% a $\geq 40$ éves kor felett, 1.4% a 40 éves kor alatt diagnosztizált pácienseknél |
| Ommen és mtsai. <sup>246</sup>     | 2003 | 100 HCM-es beteg (44 ffi) septális myectomyát követően                                                                                                          | Transzmissziós elektron mikroszkópos vizsgálat a myectomiás szövetmintán                        | 0%                                                                                     |
| Chimenti és mtsai. <sup>247</sup>  | 2004 | 34 HCM-es nő beteg (ismeretlen eredetű BKH-val, BKmax $\geq 13$ mm)                                                                                             | Biventrikuláris endomyocardialis biopszia és leukocita $\alpha$ -galaktozidáz A aktivitás mérés | 11.8%                                                                                  |
| Arad és mtsai. <sup>22</sup>       | 2005 | 75 HCM-es beteg (30 nő, 45 ffi, ismeretlen eredetű BKH-val, BKmax $\geq 13$ mm)                                                                                 | Genetikai analízis                                                                              | 0%                                                                                     |
| Morita H és mtsai. <sup>248</sup>  | 2006 | 50 beteg (18% nő) echocardiográfiával igazolt ismeretlen eredetű BKH (BKmax $> 13$ mm)                                                                          | Genetikai analízis                                                                              | 2%                                                                                     |
| Monserrat és mtsai. <sup>249</sup> | 2007 | 508 beteg (328 ffi, 180 nő), a HCM diagnózisa a WHO/ESC kritériumai alapján                                                                                     | Plazma $\alpha$ -galaktozidáz A aktivitás mérés                                                 | 1%                                                                                     |
| Hagege és mtsai. <sup>250</sup>    | 2011 | 392 HCM-es beteg (278 ffi, kor 18 és 79 év között, ismeretlen eredetű BKH, BKmax $\geq 15$ mm)                                                                  | $\alpha$ -galaktozidáz A próba szűrőpapíron szárított vérből                                    | 1%                                                                                     |
| Elliot és mtsai. <sup>251</sup>    | 2011 | 1386 HCM-es beteg (885 férfi, ismeretlen eredetű BKH, BKmax $\geq 15$ mm)                                                                                       | Genetikai analízis                                                                              | 0.5%                                                                                   |

BKH: bal kamra hypertrophia; HCM: hypertrophiás cardiomyopathia, BKmax: maximális bal kamra fal vastagság, ESC: European Society of Cardiology

két lányánál szintén azonosították a mutációt, viszont egyikőjük sem mutatta a betegség klinikai jeleit vagy tüneteit.

A jelenlegi ACMG/AMP ajánlásokat<sup>252</sup> alapul véve több érv is szól a p.Ile239Met mutáció kóroki volta mellett. Az első és legfontosabb a jelentősen csökkent GLA enzim szint igazolása az érintett férfitbetegben és az emelkedett lyso-Gb3 szint megléte az összes mutációhordozó családtagban. Fentiek bizonyítják, hogy a mutáció jelenléte káros következményekkel jár az érintett génben és az általa kódolt fehérjében is. Másodszor, a mutáció nincs jelen a kontroll populációkban az Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, vagy Exome Aggregation Consortium adatbázisok alapján. Harmadszor, a mutáció egy novel misszensz változás annál az aminosavnál, ahol korábban már egy másik patogén mutációt leírtak (p.Ile239Thr, lsd feljebb). Negyedszer, a mutáció és betegség együttöröklődése számos érintett családtagban szintén erősen támogatja, hogy a mutációnak a betegség kialakulásában szerepe van. Érdemes kiemelni, hogy a linkage analízis során kapott >2 LOD score, bár önmagában nem egyértelmű bizonyíték variáns kórokisága szempontjából, de erősen támogatja fenti feltételezést. Ötödször, többféle predikciós modell a génre vagy a géntermékre gyakorolt káros hatást támasztja alá. Az ACMG/AMP ajánlás szerint az általunk detektált p.Ile239Met *GLA* variáns teljes mértékben megfelel a 'patogén' kritériumoknak.

### 5.2.2.3. A *TTR* génmutációk azonosítása transthyretin amyloidosisis betegekben

A transthyretin amyloidózist okozó transthyretin fehérjét négy azonos, nem kovalensen kapcsolódó alegység alkotja, mindegyik monomer 127 aminosavból áll. A *TTR* fehérje elsősorban a májban termelődik, de szintetizálódhat még a plexus chorioideusban és a retinában is. Feladata a tiroxinnal és a retinol-kötő fehérjével való kapcsolódás. A hormon-kötő transthyretin fehérje egyike a három prealbuminnak, beleértve alpha-1-antitripsint és az orosomucoidot, és fő funkciója, hogy a pajzsmirigy hormonokat bejuttassa a plazmába és a cerebrospinális folyadékba, valamint retinolt (A-vitamin) a plazmába.

A *TTR* génnek több mint 100 mutációja ismert jelenleg a Human Gene Mutation Database adatbázisa alapján. A *TTR* gén egyes eltérései különböző fenotípussal járnak: neuropathiás, cardiomyopathiás, nephropathiás, szemet érintő formák ismertek.<sup>34</sup> Adott populációkban jellegzetes formák halmozódnak. Azonos genetikai háttér mellett is lehet változatos a klinikai megjelenés, maradhat szinte tünetmentes a folyamat, vagy lehet súlyos, kezdődhet fiatal korban vagy későn. A gént érintő mutációk közül a pontmutációk (missense) a legjellemzőbbek, de leírtak már kis deléciót és kis indel mutációkat is. Ritka esetekben létrejöhet a gén „új” (de novo) mutációja is, mely nem jelenik meg más családtagban. A *TTR* génben előforduló mutációk a kódolt fehérje konformációs változásához vezetnek, amely alapvető fontosságú amyloid rostok képződésében.

Az általunk az 'A' betegben észlelt p.His108Arg *TTR* génmutációt korábban egy svéd családban is leírták már.<sup>253</sup> A 65 éves index betegben bi-ventrikuláris szívelégtelenséget észleltek, globálisan megvastagodott kamra falakkal (IVS: 21 mm), bal kamrai hypokinezissel, emelkedett NT-pro-BNP értékekkel. A kardiális érintettség mellett gasztrointesztinális és polyneuropathiás tünetek álltak fenn. A beteg 5 éves után követés után 70 éves korában halt meg. A család szűrővizsgálata további hat érintett családtagot igazolt, kik közül öt családtagban manifestálódott a betegség, dominálónan késői életkorban (>50 év) jelentkező cardiomyopathia formájában. Genealógiai vizsgálatokkal egy 9-10 generációval korábban, a XVII. században élt közös őstre tudták visszavezetni az 'alapító' mutáció kialakulását.<sup>254</sup>

A transthyretin fehérje 108-as pozíciójában található hisztidin (His108) fontos feladatot tölt be a fehérje tetramer szerkezetének stabilizálásában. A Thr95, Trp99, His108, Ser132, Pro133 aminosav és három vízmolekula egy számos hidrogénkötésekkel jellemzett hálózatot alkot egy TTR fehérje monomeren belül.<sup>255, 256</sup> A His108 aminosav egy másik TTR alegység Thr138 aminosavjával együtt egy másik alegységet is érintő hidrogénkötésekből álló hálózatot is kialakít. A két hálózaton keresztül a His108 mind a dimer-dimer határfelülethez, mind a monomer-monomer felülethez kapcsolódik a TTR tetramerben. A TTR fehérje EF-helix-ét (95-101 aminosav) és az EF-hurkot (102-110 aminosav, ahol a 108His is található) érintő mutációk a TTR monomerek fibrillumá történő aggregációját eredményezik.<sup>257-260</sup> Fentiekén túl a hisztidin imidazol oldallánca egy egységes koordináló ligandként szerepel a metalloproteinekben, és a His108 a His110, Glu112 és egy vízmolekulával egy  $Zn^{2+}$  kötőhelyet alakít ki,<sup>261</sup> mely lehetővé teszi, hogy a TTR metallopeptidázként működjön.<sup>262, 263</sup> A mutáció következtében a hisztidin helyére arginin kerül, mely jelentősen befolyásolja mind a TTR  $Zn^{2+}$  kötő tulajdonságát, mind a monomer-monomer kötő tulajdonságát, mely elméletileg kifejezett amyloidogén hatást vált ki.

A 'B' betegben azonosított variáns, Gly26Ser variáns irodalmi adatok szerint egy nem ritka variánsnak számít világszerte. A Gly26Ser allél frekvenciája 6-12% az átlag kaukázusi populációban, 4% észak-amerikai ashkenázi zsidó, 7% észak-amerikai nem-zsidó, 6% portugál és 1 % afro-amerikai populációban.<sup>264</sup> Mindezek alapján a variánst benignus, nem amyloidogén TTR variánsnak tartják.<sup>265</sup> Tekintettel a betegben immunhisztokémia vizsgálattal igazolt TTR lerakódásra, és a *TTR* génmutáció hiányára, a TTR infiltráció vad-típusú transthyretinnnek, és az eset szenilis amyloidózisnak felel meg.

### 5.2.3. KÓROKI MUTÁCIÓK AZONOSÍTÁSA ÉS FENOTÍPUS-GENOTÍPUS ÖSSZEFÜGGÉSEK VIZSGÁLATA ÖRÖKLETES IONCSATORNA BETEGSÉGEKBEN

#### 5.2.3.1 Egy új *KCNJ2* génmutáció, Val302del, azonosítása és funkcionális jellemzése Andersen-Tawil szindrómában

Munkánkban egy új, Andersen-Tawil szindrómát okozó Val302del *KCNJ2* mutáció azonosítását és funkcionális karakterizálását végeztük el. A Val302del mutációhordozó betegünknel az ATS teljes klinikai spektruma megfigyelhető volt, periódikus paralízissel, kamrai ritmuszavarokkal és fejlődési rendellenességekkel. Kardiológiai tünetei között enyhe QTc megnyúlás, prominens U hullámok, frekvens kamrai extrasystolék és bidirekcionális kamrai tachycardia volt jelen.

A *KCNJ2* gén 'loss of function' mutációi általában az ATS fenotípushoz társulnak, bár a klinikailag érintett eseteknek hozzávetőlegesen csak a 60% köthető a *KCNJ2* mutációkhoz.<sup>266</sup> Yoon és mtsai. kiegészítő diagnosztikus kritériumokat írtak le az ATS kapcsán, ideértve a syndactyliát és microcephaliát.<sup>267</sup> Azt találták, hogy ezen klinikai eltérések megjelenése nagyban függ attól, hogy a Kir2.1 fehérjében kialakult mutáció mely aminosavat érinti. Egy ATS betegekről készült további tanulmány részletes fenotípus analízise felvetette, hogy a fenotípus variabilitását a mutáció topológiája is befolyásolhatja.<sup>268</sup> Bár relatíve jól ismerjük, hogy mely 'loss of function' *KCNJ2* mutációk okoznak ATS-t, az ATS-asszociált mutációk funkcionális karakterizálása klinikai szempontokból különösen fontos.

Legjobb tudomásunk szerint ez az első, a Val302del mutáció kóroki szerepét vizsgáló tanulmány. A Val302del mutáns Kir2.1 fehérje a 302-es pozíciójában hiányzik a valin aminosav, a *KCNJ2* gén fehérje kódoló régiójának 905 és 907-es pozícióban lévő három bázispár deléciójának következtében. Korábban négy micro-deléciót  $\Delta 91-94$ ,<sup>269</sup>  $\Delta 95-98$ ,<sup>270</sup>  $\Delta 163-164$ <sup>271</sup> és  $\Delta 314-315$ <sup>270</sup> írtak le az irodalomban. A Val302del az első olyan ATS-asszociált micro-deléció, mely a Kir2.1 csatorna komplex cytoplazmatikus G-loop régiójához közel helyezkedik el<sup>272</sup> és tudomásunk szerint ez az egyetlen olyan, ami csupán egy aminosavat érint.

Heterológ módon expresszált Val302del mutáns Kir2.1 fehérje szubcelluláris eloszlását vizsgálva azt találtuk, hogy mind a Val302del, mind a WT fehérje erős festődést mutat a tranziensen transzfektált sejtek membrán régiójában, ami arra utal, hogy a Kir2.1 fehérje membrán transzportját a Val302del mutáció nem érinti. Bár a Val302del Kir2.1 transzlációja és sejtmembránba transzportálása zavartalan volt, nem sikerült a háttérzajon kívül ionáramot detektálni a Val302del mutáns csatornával overexpresszált sejtekben. Továbbá, a WT és Val302del plazmida 1:1 moláris arányban co-transzfektált sejtek is markánsan csökkent áramsűrűséget mutattak a WT allélel transzfektált sejtekhez képest, mely egyértelműen igazolja a Val302del mutáns alegység erős, negatív domináns hatását a WT csatorna által vezetett áramra.

Az, hogy WT allélt hordozó plazmidok mennyisége nem különbözött a csak WT-vel transzfektált és a mutáns plazmiddal együttesen co-transzfektált esetekben, WT és a Val302del mutáns alegységek összerendeződésére enged utalni, mely negatívan befolyásolja a WT/Val302del heteromer ioncsatorna vezetését vagy kapuzását. Sikerült kimutatnunk továbbá egy statisztikailag szignifikáns korrelációt a WT/Val302del ionáram és a Val302del allél gén dózisa között. Ha ezt a megállapítást kiterjesztjük más ATS-asszociált mutációkra, akkor ez a megfigyelés azt veti fel, hogy a WT és ATS *KCNJ2* allélek relatív expressziós szintje jelentősen hozzájárulhat az ATS betegek esetében megfigyelhető fenotípusos variabilitáshoz.<sup>268</sup>

A Kir2.1 fehérje 302-es pozíciójában meglevő valint érintő pontmutációt, p.Val302Met-et két más független csoport is leírta, azonban a mutáció funkcionális vizsgálata nem volt teljesen egybehangzó. Bendahhou és mtsai<sup>273</sup> azt találták, hogy a Val302Met mutáció károsítja a fehérje membrán transzportját, de nincs domináns negatív hatása a WT Kir2.1 áramra. Ebből arra következtettek, hogy a Val302Met mutáció esetében a betegséget talán a haplo-insufficiencia okozhatja. Másfelől viszont Ma és mtsai<sup>274</sup> a Val302Met Kir2.1 fehérje normál szubcelluláris eloszlást észlelték HEK sejtekben, amely azt sugallta, hogy a mutáció nem érinti a fehérje transzportját. A szerzők továbbá a Val302Met mutáns alegység erősen domináns negatív hatását észlelték a WT Kir2.1 áramokra. A klinikai manifestációt illetően nehéz összehasonlításokat tennünk, mert klinikai információt nem közöltek a Val302Met mutációhordozó betegekről. Eredményeink teljes összhangban vannak a Val302Met mutációval kapcsolatos utóbbi publikációval,<sup>274</sup> melyek azt a feltételezést támogatják, hogy a Val302-nek feltételezhetően nincs hatása a membrán transzportra, de szerepe esszenciális a Kir2.1 alegység által létrehozott ioncsatorna vezetőképességének kialakításában.

### 5.2.3.2 Timothy szindróma 1 genotípusának azonosítása syndactylia és lényegi extrakardiális manifestációk nélkül

Munkánkban a Timothy szindróma egy variánsát írtuk le, melyet a TS1 specifikus *CACNA1C* gén 8A exonját érintő p.Gly406Arg mutáció okozott. A klinikai fenotípust a neonatális korban jelentkező 2:1 AV blokk és jelzett QT megnyúlás jellemezte. A páciensnél azonban nem alakultak ki a TS1-re jellemző elváltozások, elsősorban a syndactylia és a major extrakardiális jellegzetességek hiánya emelendő ki.

Syndactyliát a *CACNA1C* gén 8A exonának p.Gly406Arg mutációval rendelkező esetek mindegyikében közöltek (17. táblázat). Syndactylia még azon betegek esetében is kialakult, akik a mutációt csupán szomatikus vagy csíravonali mozaicizmus formájában hordozták.<sup>54</sup>  
<sup>56</sup> Egy ilyen esetben, ahol a *CACNA1C* gén 8A exon p.Gly406Arg mutációjának direkt jelenlétét mutatták ki, a bal/jobbs kar bőrének biopsziájából származó mintában ~6.5%-ra becsülték a mozaicizmus százalékos arányát.<sup>54</sup> Mivel a Ca<sub>v</sub>1.2 jelentős mértékben

expresszálódik a fejlődő ujjak apikális ektoderma gerincét alkotó sejtekben, ezért TS esetében a syndactyliát a  $\text{Ca}^{2+}$  indukálta sejthalállal magyarázzák.<sup>51</sup>

Számos magyarázat létezik az esetünkben megfigyelt syndactylia és az extrakardiális manifesztációk hiányára. Az egyik lehetőség, hogy a variáns fenotípus a *CACNA1C* gén 8A és 8-as exon expressziójának variabilitása miatt alakul ki a különböző szövetekben. A 8-as és 8A exonok egymást kölcsönösen kizáró exonok, melyek 6-os transzmembrán szegmentumot kódolják a I-es domain-ben (DI/S6). A 8A exon többféle felnőtt és magzati szövetben fejeződik ki, mint pl. a szív, agy, emésztőrendszer, tüdők, immunrendszer, simaizmok és a herék, mely arra utal, hogy a kardiális és neurális izoforma nem kizárólagos a *CACNA1C* esetében. Kimutatták továbbá, hogy a 8A exonnak a 8-as exonhoz képest szignifikánsan alacsonyabb a relatív expressziója a szívben és a központi idegrendszerben (23 vs 77%).<sup>51</sup> A mutáns 8A exon izoforma kisebb mértékben van jelen a nem érintett szövetben, így a kisebb mértékű diszfunkció a  $\text{Ca}_v1.2$  ioncsatornában kompenzálható a nem mutáns 8-as exon izoformával vagy egyéb mechanizmusok révén. Ezen felül nem zárható még ki a modifikáló gének szerepe sem, melyek sok betegség esetén megváltoztathatják a betegség fenotípusát.<sup>275, 276</sup>

Egy másik magyarázat lehet a variáns fenotípusra, hogy betegünkönél szomatikus mozaicizmus áll fenn, mint az egy korábbi esetismertetésben is leírásra került, ahol egy TS1-es diagnózisú mozaik betegben egy, a miénkhez nagyon hasonló részleges fenotípust írtak le.<sup>54, 56</sup> A szomatikus mozaicizmus jelenlétének lehetőségét már TS2 esetében is leírták.<sup>61, 63</sup> Ezek alapján a mutáns  $\text{Ca}_v1.2$  ioncsatornának hiányozni kellene a nem érintett szervekből (végtagok, agy) és alacsony szinten kellene lennie a betegünk érintett szerveiben (szív, hasnyálmirigy). Mindazonáltal négy különböző szövetből (fehérvérsejtek, szájnyálkahártya sejtek, uroepitheliális sejtek, hajhagymák) is kimutatható volt a mutáció, mely alapján direkt bizonyíték a fenti magyarázatra nem áll fenn. Ennek ellenére a szomatikus mozaicizmust teljesen kizárni nem lehet, minthogy minták nem álltak rendelkezésre a TS-ben karakterisztikusan érintett szövetekből (pl.: agy és ujjak).

17. táblázat. Az irodalomban közölt, genetikai diagnózissal igazolt Timothy szindrómában szenvedő betegek klinikai és genetikai jellemzői

| Közlés                                        | közölt<br>eset (n) | TS<br>típus | érintett<br>CACNA1C<br>exon | CACNA1C<br>mutáció | syndactylia <sup>†</sup>                                  | QT távolság és<br>arrhythmia                                        | társuló kardiális<br>fenotípus                                | fő társuló szimptómák                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------|--------------------|-------------|-----------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Splawski és<br>mtsai, 2004 <sup>51</sup>      | 13                 | TS1         | 8A                          | Gly406Arg          | egyénilag nem közölt                                      | QT megnyúlás<br>(100%), VT (71%),<br>bradycardia, AV<br>block (94%) | PDA (59%), PFO<br>(29%), VSD (18%),<br>cardiomegalia<br>(35%) | autizmus/autizmus spektrum<br>betegség (60-80%),<br>születéskori kopaszság<br>(100%), kis fogak (100%),<br>rekurráló infekciók (43%),<br>facialis dysmorphia (53%) |
| Lo-A-Njoe és<br>mtsai, 2005 <sup>58</sup>     | 2                  | TS1         | 8A                          | Gly406Arg          | Pt. A: F3-5, bilat., cutan<br>Pt. B: F4-5, bal kéz, cutan | QT megnyúlás,<br>bradycardia, AV<br>block, VT                       | HCM, PDA, HF                                                  | fetalis hydrops                                                                                                                                                    |
| Krause és<br>mtsai, 2011 <sup>57</sup>        | 1                  | TS1         | 8A                          | Gly406Arg          | F3–5, bilat.; T1–3, bilat.                                | QT megnyúlás,<br>bradycardia, AV<br>block, VT                       | HCM, VSD, PDA                                                 | alacsonyan álló fülek és<br>kopasz fej                                                                                                                             |
| Etheridge és<br>mtsai, 2011 <sup>56</sup>     | 2                  | TS1         | 8A                          | Gly406Arg          | T1-3, job láb, T1-2, bal láb,<br>komplett, cutan          | QT megnyúlás,<br>bradycardia, AV<br>block, VT                       | VSD                                                           | távol álló szemek, széles<br>homlok, széles orrgyök, széles<br>orrcsúcs                                                                                            |
| Dufendach és<br>mtsai, 2013 <sup>54</sup>     | 1                  | TS1         | 8A                          | Gly406Arg          | F3-4, komplett, bilat.; T2-3,<br>komplett, bilat.         | QT megnyúlás,<br>bradycardia, AV<br>block                           | nincs                                                         |                                                                                                                                                                    |
| An és mtsai,<br>2013 <sup>52</sup>            | 1                  | TS1         | 8A (9)*                     | Gly406Arg          | F3-5, bilat., komplett, cutan                             | QT megnyúlás,<br>bradycardia, AV<br>block, CA                       | nincs                                                         | kerek arc, kis felső állkapocs<br>és fogak, közel kopasz fej                                                                                                       |
| Corona-Rivera<br>és mtsai, 2015 <sup>53</sup> | 1                  | TS1         | 8A                          | Gly406Arg          | F2-5, bilat., cutan; T2-4, bilat.,<br>cutan               | QT megnyúlás, AV<br>block                                           | PDA, PFO                                                      | fetalis hydrops                                                                                                                                                    |
| Ergül és mtsai,<br>2015 <sup>55</sup>         | 1                  | TS1         | 8A                          | Gly406Arg          | F4-5, komplett; T2-3, komplett                            | QT megnyúlás,<br>bradycardia, AV<br>block, CA                       | PDA, PFO                                                      | neuro-motoros fejlődési<br>retardáció, facialis dysmorphia                                                                                                         |
| Splawski és<br>mtsai, 2005 <sup>63</sup>      | 1                  | TS2         | 8                           | Gly406Arg          | nincs                                                     | QT megnyúlás,<br>bradycardia, AV<br>block, VT, CA                   | HCM,<br>biventricularis<br>dysfunctio                         | mentális retardáció, nemaline<br>myopathia, facialis<br>dysmorphia, görcsrohamok                                                                                   |

|                                       |   |     |    |            |                                                                        |                                |                                          |                                                                                                                               |
|---------------------------------------|---|-----|----|------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Splawski és mtsai, 2005 <sup>63</sup> | 1 | TS2 | 8  | Gly402Ser  | nincs                                                                  | QT megnyúlás, VT, CA           | HCM                                      | facialis dysmorphia, rekuráló infekciók                                                                                       |
| Fröhler és mtsai, 2014 <sup>60</sup>  | 2 | TS2 | 8  | Gly402Ser  | T2-3, partialis                                                        | QT megnyúlás, VT, CA           | nincs                                    | nincs                                                                                                                         |
| Hiippala és mtsai, 2014 <sup>12</sup> | 1 | TS2 | 8  | Gly402Ser  | nincs                                                                  | QT megnyúlás (enyhe), CA       | nincs                                    | nincs                                                                                                                         |
| Diep és mtsai, 2015 <sup>59</sup>     | 1 | TS2 | 8  | Gly406Arg  | nincs                                                                  | QT megnyúlás, AV block, VT     | PDA, PFO                                 | hypotensio, metabolikus acidosis, rekuráló apnoe, görcsroham-szerű epizódok, lassú növekedés, facialis dysmorphia             |
| Philipp és mtsai, 2016 <sup>62</sup>  | 1 | TS2 | 8  | Gly406Arg  | nincs                                                                  | QT megnyúlás, AV block, VT, CA | PDA, biventricularis systoles dysfunctio | intermittáló hypoglycemia, hypocalcemia                                                                                       |
| Gillis és mtsai, 2012 <sup>65</sup>   | 1 | TS  | 38 | Ala1473Gly | F2-5, jobb kéz; F2-4, bal kéz; T2-3, bilat., partialis; T1-2, jobb láb | QT megnyúlás, AV block, VT     | PDA, PFO                                 | facialis dysmorphia, kontraktúrák, hypoglycemiás epizódok, hypocalcemia, görcsrohamok, corticalis vakság, fejlődési elmaradás |
| Boczek és mtsai, 2015 <sup>64</sup>   | 1 | TS  | 27 | Ile1166Thr | nincs                                                                  | QT megnyúlás, AV block         | PDA, biventricularis dysfunctio          | görcsrohamok, cerebralis és cerebellaris atrophia, facialis dysmorphia, clinodactylia, légzési elégtelenség                   |
| Wemhöner és mtsai, 2015 <sup>66</sup> | 1 | TS  | 27 | Ile1166Thr | egyéniileg nem közölt                                                  | QT megnyúlás, CA               | PDA, HCM                                 | fejlődési elmaradás                                                                                                           |

*TS: Timothy szindróma; PDA: nyitott ductus arteriosus; PFO: nyitott foramen ovale; VSD: kamrai septum defektus; HCM: hypertrophias cardiomyopathia; VT: kamrai tachycardia; AV: atrio-ventricular; CA: cardiac arrest, szívmegállás*

*\*exon 9-ként közölve, de direkt szekvencia összehasonlítás alapján exon 8A-nak felel meg.*

*<sup>†</sup>a syndactylia típusai Biesecker LG et al, Am J Med Genet Part A 2008; 149A:93-127 alapján közölve. A szubtipusok (pl. cutan, komplett, stb.) a rendelkezésre álló információ alapján jelölve*

### 5.2.3.3 Egy új ‘splice site’ *HCN4* génmutáció, c.1737+1 G>T, azonosítása csökkent szívfrekvencia-válasszal, alacsonyabb chronotrop kompetenciával és megnövekedett rövid távú szívfrekvencia variabilitással jellemzett familiáris bradycardia esetében

Munkánkban a *HCN4* gén egy új, ‘splice site’, c.1737+1 G>T mutációját azonosítottunk egy nagy, familiáris bradycardiában szenvedő családban, amely a legjobb tudásunk szerint, az irodalomban eddig közölt második legnagyobb ilyen család. A számos érintett és nem érintett családtag jelenléte lehetővé tette, hogy a mutáció és a betegség fenotípusa közötti szoros kapcsolatot kapcsoltsági analízissel is igazoljuk, melyet a 4,87-es kétpontos LOD score érték támasztott alá. Tekintettel arra, hogy a szignifikáns kapcsoltság általánosan elfogadott kritériuma a >3,0-as LOD score érték,<sup>277</sup> az esetünkben észlelt magas LOD score a mutáció patogenitásának független bizonyítékának tartható. Igazoltuk, hogy a mutáció csökkent szívfrekvencia válaszhoz, károsodott chronotrop kompetenciához és megnövekedett, rövid idejű szívfrekvencia variabilitáshoz vezet a mutációhordozókban.

Tekintettel arra, hogy perifériás vörsejtekben a *HCN4* gén expressziója nem volt detektálható, és szívizom szövetminta nem állt rendelkezésre, a mutáció direkt hatását nem tudtuk vizsgálni és funkcionális analízist nem tudtunk végezni. Habár a ‘splice site’ mutációk következményeit nem lehet nagy biztonsággal megjósolni,<sup>278</sup> a *HCN4* c.1737+1 G>T mutáció valószínűleg egy in-frame inzercióhoz vagy deléciohoz vezet, ‘exon-skipping’-en vagy ‘intron-retaining’-en keresztül, amely a fehérje C-linker részét érinti, közvetlenül a CNBD mellett. Ennek megfelelően, a c.1737+1 G>T mutáció legnagyobb valószínűség szerint konformációbeli változásokhoz vezet a CNBD régió közelében, amely által a cAMP CNBD-hez való kötődését befolyásolhatja. Ismert, hogy a hat hélixből összeálló C-linker domén a HCN csatorna cAMP függő kapuzását mediálja, a citoszolólikus “gating gyűrű”-höz való hozzájárulással.<sup>279</sup> Ahogy a cAMP szint telítése során a C terminális fragmens részének szimmetriája dimer-dimer formációból egy tetramer formációba vált, a feszültség függő aktivációban egy depolarizáló eltolódás alakul ki.<sup>280, 281</sup> Legalább két *HCN4* pont- (K530N, D553N)<sup>71, 74</sup> és egy csonkoló hatású mutáció (573X)<sup>67</sup> ismert, melyek a *HCN4* fehérje C-linker részét érintik, és amelyek jól illusztrálják, hogy ennek a régióknak még egy pontmutációja is sinus csomó diszfunkcióhoz vezethet. A c.1737+1 G>T mutáció funkcionális következményei feltehetően kifejezettebbek, mint egy aminosav csere következményei.

A szívfrekvencia választ és a chronotrop kompetenciát nem vizsgálták szisztematikusan korábbi, familiáris bradycardiában szenvedő betegek esetében. Eddigi megfigyelések mind egybehangzóan megtartott chronotrop kompetenciát írtak le ezekben a betegekben és csak egyetlen beteg esetében mutattak chronotrop inkompetenciát, akinek a csonkoló hatású mutációja (573X) a *HCN4* gén CNBD régióját is érintette.<sup>67</sup> A c.1737+1 G>T mutációt hordozó betegekben az átlagos napi tevékenység hatására emelkedni tud a szívfrekvencia, hasonló mértékben, mint a nem mutációhordozókban, amelyet jól szemléltetett az átlagos és maximális szívfrekvencia a 24-órás Holter monitorizálás során. Azonban a maximális

terhelés alatt a hordozók szignifikánsan alacsonyabb HR-t értek el, mint a nem érintett családtagok. Ennek megfelelően, szignifikánsan alacsonyabb HR választ találtunk mind a korrigált és a nem korrigált szívfrekvencia rezerv esetében, és szignifikánsan magasabb számú hordozó családtag mutatott chronotrop inkompetenciát (<80%-os korrigált szívfrekvencia válasz). Hogy meg tudjuk ítélni, hogy a károsodott chronotrop kompetencia kifejezetten az új c.1737+1 G>T mutáció jellegzetessége-e, a G480R,<sup>73</sup> A485V,<sup>72</sup> 695X,<sup>282</sup> és 573X<sup>67</sup> mutációkat közlő eredeti publikációkból extraháltunk nyers szívfrekvencia adatokat, melyeket összevonva vizsgáltunk (18. táblázat). Az adatok elemzése szerint terhelés során a szívfrekvencia válasz mind a négy csoportban található hordozók esetében alacsonyabb volt, átlagban 9%-os (4-21%) relatív, szignifikáns különbséggel a vizsgált csoportban. A korrigált HRR (a Holter felvételek során mért átlag szívfrekvenciára korrigálva) még alacsonyabb volt a hordozókban mind a négy csoportban, egy átlagos relatív 13%-os (3-34%) szignifikáns különbséget mutatva. A chronotrop kompetenciát (<80%-os cHRR) tekintve mind a négy csoportban megtalálhatók voltak chronotrop inkompetens hordozók (5/6 a G480R csoportban, 2/8 a A485V csoportban, 1/7 a 695X csoportban és 8/9 a c.1737+1 G>T csoportban). Ennek megfelelően a chronotrop inkompetencia ezen betegek esetében nem számít kivételes jelenségnek. Azonban az egyértelmű, hogy a hordozók és a nem-hordozók szívfrekvenciái közti relatív különbségek alacsonyabb szívfrekvencia értékek esetén a legkifejezettebbek, (pl. a nyugalmi HR vagy minimális HR a Holter felvételen, lásd 18. táblázat) és a szívfrekvencia növekedésével együtt csökkennek, tehát a *HCN4* mutációk hatása a magas szívfrekvencia értékekre kisebb mértékű. Emellett nyilvánvaló különbségek vannak az egyéni mutációk között ebben a tekintetben. A korrigált HRR az 573X mutáció esetében volt a legalacsonyabb (49%), ahol a teljes CNBD régió elveszett, míg a c.1737+1 G>T mutáció esetében is jelentős volt a csökkenés ( $71 \pm 14\%$ ), ahol a C-linker régió feltehetően erőteljesen károsodott. A pórus formáló G480R mutációt hordozók esetében is kifejezett cHRR csökkenést lehetett észlelni ( $75 \pm 10\%$ ), míg az A485V és 695X mutációk esetében enyhébb hatás volt megfigyelhető (habár a cHRR alacsonyabb ezen mutációkat hordozókban is).

Hasonlóan a chronotrop kompetenciához, a szívfrekvencia variabilitást sem vizsgálták szisztematikusan korábban familiáris bradycardiában szenvedő betegekben. A HRV csökkenése közismerten magasabb mortalitással társul számos kardiovaszkuláris betegségben,<sup>283-285</sup> és nemrég közlemények a HRV non-lineáris, ütésről-ütésre való variabilitását még erősebb prediktorként írták le.<sup>286, 287</sup> Mindazonáltal, korábbi HRV vizsgálatok a sinus csomó funkcióját joggal tekintették konstansnak. Vizsgálatunk adatai arra utalnak, hogy a HRV rövid-távú paraméterei (rMMSD és pNN50%) a mutációhordozókban éppen, hogy megnövekedtek, még következetes, szívfrekvenciára való normalizálás után is, mind az 5-perces, mind a 24-órás EKG regisztrátumokban. Fenti megfigyelést mások is röviden megtették már,<sup>71, 80</sup> akik betegekben a Poincaré' plot kiszélesedett „csóva” alakját írták le, a megnövekedett HRV diszperzió jeleként. Fentiek arra utalhatnak, hogy a sinus csomó magában, bár képes a HR emelésére egy bizonyos határig

18. táblázat. A különböző *HCN4* génmutációt hordozó betegcsoportok összesített szívfrekvencia adatai. A statisztikailag különböző értékek **félkövér** módban vannak kiemelve

| beteg-<br>csoport     | HCN4<br>mutáció | hordozó<br>státusz | betegszám#<br>(össz./ET) | kor<br>(év) | nem<br>(N/F) | nyugalmi<br>HR<br>(/min) | 24-órás Holter       |                      |                      | terheléses vizsgálat |            |             |              |              |        |
|-----------------------|-----------------|--------------------|--------------------------|-------------|--------------|--------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|------------|-------------|--------------|--------------|--------|
|                       |                 |                    |                          |             |              |                          | min.<br>HR<br>(/min) | átl.<br>HR<br>(/min) | max.<br>HR<br>(/min) | max. HR<br>(/min)    | HRR<br>(%) | <80%<br>HRR | cHRR<br>(%)* | <80%<br>cHRR |        |
| Schulze-<br>Bahr†     | 573X            | hordozó            | 1/1                      | 66          | 1/0          | 41                       |                      |                      |                      | 101                  | 66         | 1/1         | 49           | 1/1          |        |
| Nof                   | G480R           | hordozó            | 8/6                      | 35±18       | 1/5          | NA                       | 32±7                 | 48±11                | 96±23                | 150±7                | 81±8       | 3/6         | 75±10        | 5/6          |        |
|                       |                 | nem-hordozó        | 8/6                      | 45±12       | 3/3          | NA                       | 55±9                 | 74±10                | 126±16               | 153±21               | 87±10      | 1/6         | 77±19        | 3/6          |        |
|                       |                 | rel. diff. (%)     |                          |             |              |                          | 71                   | 54                   | 31                   | 2                    | 7          |             | 3            |              |        |
|                       |                 | p                  |                          |             |              |                          | 0.0001               | 0.0005               | 0.013                | NS                   | NS         | NS          | NS           | NS           |        |
| Laish-<br>Farkash     | A485V           | hordozó            | 14/8                     | 41±18       | 2/6          | NA                       | 37±3                 | 58±6                 | 117±26               | 167±17               | 93±8       | 0/8         | 90±11        | 2/8          |        |
|                       |                 | nem-hordozó        | 6/4                      | 37±19       | 3/1          | NA                       | 49±10                | 77±11                | 140±29               | 177±12               | 97±4       | 0/4         | 95±7         | 0/4          |        |
|                       |                 | rel. diff. (%)     |                          |             |              |                          | 32                   | 33                   | 20                   | 6                    | 4          |             | 6            |              |        |
|                       |                 | p                  |                          |             |              |                          | NS                   | 0.020                | NS                   | NS                   | NS         | NS          | NS           | NS           |        |
| Schweizer             | 695X            | hordozó            | 8/7                      | 43±17       | 5/2          | 46±4                     | 36±5                 | 56±4                 | 131±16               | 160±12               | 91±4       | 0/7         | 86±5         | 1/7          |        |
|                       |                 | nem-hordozó        | 6/6                      | 41±25       | 2/4          | 67±8                     | 47±5                 | 72±9                 | 158±24               | 169±16               | 95±7       | 0/6         | 93±10        | 1/6          |        |
|                       |                 | rel. diff. (%)     |                          |             |              |                          | 46                   | 31                   | 29                   | 21                   | 6          | 4           |              | 6            |        |
|                       |                 | p                  |                          |             |              |                          | 0.0001               | 0.0048               | <0.0001              | NS                   | NS         | NS          | NS           | NS           |        |
| Hategan               | c.1737+1<br>G>T | hordozó            | 12/9                     | 33±15       | 7/2          | 46±6                     | 37±7                 | 61±7                 | 122±18               | 150±23               | 80±10      | 5/9         | 71±14        | 8/9          |        |
|                       |                 | nem-hordozó        | 10/7                     | 32±13       | 3/4          | 73±6                     | 47±5                 | 73±8                 | 140±17               | 181±18               | 97±10      | 1/7         | 95±15        | 1/7          |        |
|                       |                 | rel. diff. (%)     |                          |             |              |                          | 58                   | 27                   | 20                   | 17                   | 21         | 21          |              | 34           |        |
|                       |                 | p                  |                          |             |              |                          | <0.0001              | 0.009                | 0.010                | 0.063                | 0.016      | 0.008       | NS           | 0.009        | 0.0039 |
| össz.<br>betegcsoport |                 | hordozó            | 42/30                    | 38±17       | 15/15        | 46±6                     | 36±6                 | 56±9                 | 116±25               | 157±19               | 86±10      | 8/30        | 80±14        | 16/30        |        |
|                       |                 | nem-hordozó        | 30/23                    | 39±17       | 11/12        | 70±8                     | 50±9                 | 74±10                | 140±24               | 170±21               | 94±10      | 2/23        | 90±17        | 5/23         |        |
|                       |                 | rel. diff. (%)     |                          |             |              |                          | 52                   | 39                   | 32                   | 21                   | 8          | 9           |              | 13           |        |
|                       |                 | p                  |                          |             |              |                          | <0.0001              | <0.0001              | <0.0001              | 0.0003               | 0.024      | 0.007       | NS           | 0.035        | 0.021  |

#összesen/akiben terheléses vizsgálat történt; \*a Holter felvétel átlag HR-re korrigálva; †az összesített analízisben nem szerepel

ET: exercise test, terheléses vizsgálat; HR: heart rate, szívfrekvencia; HRR: heart rate response, szívfrekvencia válasz; cHRR: corrected heart rate response, korrigált szívfrekvencia válasz

„érzékenyebb” lehet a HR reguláló faktorok fluktuációjára. Az ütésről-ütésre mért HRV növekedését nem meghatározott okból kialakult sick sinus szindrómában szenvedő betegekben is megfigyelték már egy korábbi közlés szerint.<sup>288</sup> Adataink megerősítik fenti megfigyelést egy homogén, genotipizált betegpopuláción.

### **5.3. MEGFIGYELÉSEK PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS MYOCARDIUM ABLATIOVAL (PTSMA) KAPCSOLATBAN HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN**

#### **5.3.1. ABNORMIS KOLLATERÁLIS ÖSSZEKÖTTETÉSEK SEPTALIS ÁGAK KÖZÖTT HYPERTROPHIÁS CARDIOMYOPATHIÁBAN PTSMA SORÁN**

Az alkoholos septum ablatio célja a bazális septum lokalizált nekrozisa, mely septalis akinezist és a kifolyótraktus gradiens következményes csökkenését okozza. Mindazonáltal, a septalis ágrendszer mérete és lefutása, valamint a bazális septum vérellátása nagy variabilitást mutat. Utóbbit jól mutatja Singh és munkatársai 2001-ben megjelent közleménye, melyben az első septalis ág méretét és eloszlását vizsgálták.<sup>139</sup> Munkájukban 10, nem HCM-es ill. coronaria betegségtől mentes, boncolásra került szívet vizsgáltak. A septalis ág méretét 8, PTSMA-ra került beteg coronarographiára került betegben is meghatározták. A 10 boncolásra került szív közül kettőben fejlett ( $\geq 1$  mm maximális átmérő), kettőben közepes méretű (0,5-0,9 mm), kettőben kis méretű (0,1-0,4 mm), és háromban csökevényes ( $< 0,1$  mm) septalis ágat találtak. Egy szívben a septalis ág ostiuma nem volt azonosítható. Két betegben a septalis ág a jobb kamra szabad falához is adott ágakat. Négy betegben a septum bazális része inkomplett módon volt ellátva a septalis ág által. A PTSMA-ra került HCM-es betegek közül két betegben  $\geq 2$  mm átmérőjű, 4 betegben 1-2 mm átmérőjű, és 2 betegben  $< 1$  mm átmérőjű septalis ágat észleltek. A LAD ostiuma és a septalis ág eredése közötti távolság 13,1-37,4 mm volt.

A septalis ágak közötti kollaterális áramlás kialakulása HCM betegekben észlelésünk előtt csak feltételezés volt, vagy távoli területek nem kívánt infarktusa után kialakulóan írták le.<sup>289, 290</sup> Az első ilyen közleményben a bal kamra csúcsához futó kollaterális áramlást dinamikus jelenségnek tartották, mely a septalis ág okklúziója után lépett fel és az alkohol injekció ideje alatt tartott.<sup>290</sup> Egy másik közleményben az alkohol második bólusa, ismételt kontraszt echocardiographia után jutott feltételezett kollaterálisok útján a distalis LAD-ba.<sup>289</sup> Betegünkben az alkohol beadása előtt észleltük a két septalis ágat összekötő kollaterális. Mindenféleképpen megjegyzendő, hogy a II. septalis ágon keresztül elvégzett kontraszt echocardiographia nem mutatott opacifikációt a bazális septum területét kivéve. Lehetséges, hogy a kollaterális keringés csak egy kis idővel az ischaemia indukálása után jelenik meg, de egy erős szubszelektív septalis angiographiával láthatóvá tehető. Hangsúlyozni kell, hogy a kollaterális keringés potenciális kimutatása és annak észlelése az operátor részéről nagyfokú figyelmet és a standard metodika esetleges 'ad hoc' modifikációját teheti szükségessé.

Az alkoholos abláció során a célzott területeken kívüli kardiális struktúrák infarcterációja kollaterálisok nélkül is egy lehetséges potenciális szövődmény. Az okkludáló ballon megrepedése, vagy nem megfelelő átmérőjű ballonnal való okklúzió az alkohol visszajutását eredményezheti a LAD-ba, következményes disztális nekrozissal.<sup>291</sup> Utóbbi enyhén túlméretezett ballon használatával megelőzhető. Hasonlóképpen, amennyiben az alkohol beadása utáni 10 perces várakozási idő távolítjuk el az okkludáló ballont, LAD felé történő alkohol visszafolyás szintén nem várható. A kontraszt echocardiographia vezérelt beavatkozás szintén csökkenti a potenciális komplikációk számát, a célzott septum terület pontos vizualizálásával.

### 5.3.2. PERKUTÁN TRANSZLUMINÁLIS SEPTALIS ABLATIO EREDMÉNYÉNEK MEGÍTÉLÉSE ÚJ METODIKÁKKAL

A PTSMA korai és késői klinikai sikerességének prediktoraival több vizsgálat foglalkozott. Chang és mtsai. közlése szerint 173 PTSMA-n átesett beteg közül 39 betegnek nem volt kielégítő az eredménye az első beavatkozás után. A nem kielégítő eredmény prediktorai a magasabb kiinduló LVOT gradiens, kevesebb ablált septalis ág, alacsonyabb csúcs CK érték, a kontraszt echokardiografián látott opacifikált kisebb septalis terület és magasabb reziduális gradiens voltak.<sup>141</sup> A tünetek, septalis falvastagság, a mitrális regurgitáció súlyossága, és a BK funkció nem voltak összefüggésben a kimenetellel. Multivariáns analízissel a 25 Hgmm-nél kisebb gradiens csökkentés és a 1300 U/L-nél kisebb CK érték voltak a nem kielégítő procedurális kimenetel független prediktorai.

Keren és mtsai. vizsgálatai szerint a nem megfelelő klinikai eredményű betegekben a csúcs CK 500 U/L-nél kisebb volt, és 850 U/L-nél magasabb a sikeres esetekben. Az LVOT gradiens ismételt mérésével igazolták, hogy az LVOT gradiens csökkenése a 3. napon 27%-ban, a 7. napon 73%-ban jósolta meg a kedvező klinikai kimenetelt. A maximális CK érték és a 7. napon mért LVOT gradiens alapján négy csoportba voltak a betegek sorolhatók: „korai siker” (alacsony LVOT gradiens és magas CK, a sikeres esetek 73%-a), „késői siker” (magas LVOT gradiens és magas CK), „korai sikertelenség” (alacsony CK, és magas gradiens) ill. „késői sikertelenség” (alacsony CK és alacsony gradiens).<sup>292</sup>

Sorajja és mtsai publikációja szerint a PTSMA utáni klinikai siker legerősebb prediktorai az idősebb életkor, alacsonyabb LVOT gradiens, kisebb septum hypertrophia, és kisebb LAD átmérő voltak. A mitrális billentyű geometria vagy septalis morfológia nem állt összefüggésben a kimenetellel. A  $\geq 3$  kedvező prediktorral rendelkező betegek ( $\geq 65$  év életkor,  $<100$  Hgmm gradiens,  $\leq 18$  mm septalis átmérő,  $<4.0$  mm LAD átmérő) 4 évvel a beavatkozás utáni klinikai státusza (halál ill. súlyos tünetektől való mentesség) kedvezőbb volt (90,4%), mint a két ilyen kedvező prediktorral (81,6%) vagy a  $\leq 1$  prediktorral rendelkezőké (57,5%). Az operátor által elvégzett több, mint 50 esetszám szintén a sikeresség független prediktora volt. Az injektált alkohol mennyisége, az injektált ágak száma vagy átmérője nem volt prediktív a klinikai sikerre.<sup>142</sup>

Munkánkban két új módszert, a myocardialis perfúzió csökkenését jelző videodenzitometriát, ill. septalis strain változását kimutató három-dimenziós 'speckle tracking' echocardiographiát használtuk a PTSMA eredményességének kimutatására.

A videodenzitometria a myocardialis perfúzió röntgentechnikával rögzített angiográfiás felvételek alapján kvantitatívan jellemzi a myocardialis perfúziót. A módszer legmegbízhatóbb paramétereinek az átlagos tranzit idő, a maximális denzitás eléréséhez szükséges idő, valamint az idő-denzitás görbe emelkedéséhez tartozó idő számítanak. Az érmaszkolás alkalmazásával az angiográfiás felvételből eltüntethetőek az epikardiális erek által okozott nagyfokú denzitás változások, matematikai módszerekkel létrehozott algoritmus alapján.<sup>150</sup> A digitalizált szubsztakciós coronaria angiogramok komputerizált videodenzitometriás analízisének metodikája már régóta intenzív kutatások tárgya volt mind állatkísérletekben, mind humán vizsgálatokban. Ezen vizsgálatok elsődleges célja az volt, hogy myocardialis perfúzió jellemzésére egy olyan operátor-független és kvantitatív módon értékelhető módszert fejlesszenek ki, mely a coronarographiák során alkalmazott röntgen-alapú angiographiás felvételeken alapul. Pijls és mtsai. kutya-modellben igazolták, hogy a videodenzitometriával kalkulált átlagos tranzit idő alkalmas a myocardialis perfúzió vizsgálatára.<sup>293</sup> Haude és mtsai. szintén kitűnő korrelációt találtak a mikrogyöngyök alkalmazásával meghatározott myocardialis perfúzió értékével.<sup>294</sup> Még újabb vizsgálatok azt bizonyították, hogy a denzitometria még a véráramlás volumetrikus mérésére is alkalmas lehet.<sup>295, 296</sup>

Az AMI során létrejövő reperfúzió vizsgálatára több, videodenzitometrián alapuló vizsgálat történt. Korosoglou és munkatársai 124 konsekutív STEMI-n átesett betegben értékelték a myocardialis blush mértékét (myocardial blush grade, MBG) mind vizuálisan, mind a blush mértékének időbeli változását videodenzitometriával követve, a Gmax/Tmax meghatározásával. A sikeres reperfúzió kritériumának a 4-6 hónap után észlelt >50% ejekciós frakciót tekintették. Utóbbi végpontot a vizuális MBG közepes szenzitivitással (65%) és specificitással (64%) jelezte előre. Mindazonáltal a Gmax/Tmax 3,1/s értéke szignifikánsan magasabb szenzitivitással (91%) és specificitással (96%) volt prediktív az utánkövetés során észlelt >50% ejekciós frakcióra. A Gmax/Tmax értéke hasonlóképpen utóbbi legerősebb prediktora volt (4,6 relatív rizikó érték szemben a vizuális MBG 3,2 relatív rizikó értékével).<sup>297</sup> Ungi és mtsai. 62, sikeres revaszkularizáción átesett STEMI beteget vizsgáltak. Adataik szerint a Gmax/Tmax értéke szignifikáns mértékben korrelált az enzimatis infarktusz mérettel, az ST-szegmens rezolúció mértékével, és az ejekciós frakcióval.<sup>149</sup> Egy hasonló alapelven működő, szabadon hozzáférhető szoftver (Quantitative Blush Evaluator, QBE) tesztelésére is sor került 51 sikeres primer PCI-n átesett STEMI betegben, kikben a STEMI után 4-7 napon belül szív MR történt az infarktusz méretének és a myocardialis mentési indexnek meghatározására. A QBE értéke inverz módon korrelált az infarktusz méretével és pozitívan korrelált a myocardialis mentési index-szel.<sup>298</sup>

Fentiek alapján a myocardialis perfúziót a myocardialis blush videodenzitometrián alapuló mérése jól jellemzi. Azt a limitált esetszámon tett megfigyelésünket, hogy a PTSMA során a  $G_{max}/T_{max}$  értéke szisztematikusan csökken és ez összefüggésben áll a létrehozott nekrosis mértékével, az LVOT gradiens csökkenésével és a PTSMA hosszútávú kimenetelével, további vizsgálatok tisztázhatják. Fenti azért is nagy jelentőségű lenne, mert ismert, hogy az interventrikuláris septum érellátottsága rendkívül komplex.

A globális és regionális bal kamra funkció parametrizált és reprodukálható vizsgálatát nagyban nehezíti a klinikai gyakorlatban használt 2D echokardiográfián alapuló módszerek számos limitáló tényezője (pl. TDI esetén a szögfüggés, ill. 2DSTE esetén csak a kép síkjába eső mozgás követhetősége). Mivel a BK egy három dimenziós (3D) képlet, és az adott falrészletek mozgásai is három dimenziósak, a 3D speckle tracking echocardiographia (3DSTE) utóbbi problematikákat megfelelően tudja kezelni.<sup>151</sup>

A 3DSTE során a szív 3D mozgásának megfelelően longitudinális strain (LS), circumferentialis strain (CS), radiális strain (RS) és 3D strain (3DS) értékeket mérhetünk. Lehetőség van area tracking/area strain (AS) mérésre is, ilyenkor egy téglalap alakú area követése történik.<sup>151</sup> Fenti értékek a bal kamra falmozgászavarainak szenzitív és specifikus paramétereinek bizonyultak ischaemiás vagy non-ischaemiás eredetű szívbetegségekben. Akut myocardialis infarktust követően a 3DSTE során kalkulált LS a szegmentális és globális BK-funkció fontos prediktív tényezőjének bizonyult.<sup>299</sup> A myocardialis deformáció LS- és AS-értékei jól korreláltak az infarktus méretével ischaemiás eredetű bal kamra diszfunkció fennállása esetén.<sup>300</sup> Tako tsubo cardiomyopathiában a falmozgászavarok gyors és pontos detektálására és tovább követésére is alkalmasnak bizonyult a módszer.<sup>301</sup> 3DSTE adatok szerint a basoapicalis RS-gradiens ellentétes karakterisztikát mutat kardiális amyloidosisban HCM-mel szemben,<sup>302</sup> míg a 3DSTE során számított RS alkalmasnak tűnt a kardiális sarcoidosis és a DCM elkülönítésére is.<sup>303</sup> Fentiek alapján a 3DSTE ígéretes módszer lehet a PTSMA után létrejött falmozgászavar mértékének kvantifikációjára, melyet nagy esetszámú vizsgálat tisztázhat.

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS SAJÁT MEGÁLLAPÍTÁSOK

**1. Kimutattuk, hogy mind a szívizomsejtek mechanikus kapcsolódásáért felelős dezmoszómák, mind az elektromos kapcsolódásért felelős gap junction-ök kifejezett morfológiai eltérései figyelhetők meg hypertrophiás cardiomyopathiás szívizomzat 'myofiber disarray' által érintett területein.** Fentiek hozzájárulhatnak a HCM egyes patofiziológiai tényezőinek, ú.m. a diasztolés diszfunkció és fokozott arrhythmia hajlam kialakításához, annak súlyosbításához.

**2. Igazoltuk, hogy az EKG repolarizációs paraméterei közül az ütésről-ütésre mért rövid-távú QT variabilitás (QT-STV) emelkedettebb a legnagyobb mértékben és mutatta a legjobb korrelációt az emelkedett SCD rizikóval ismerten társult bal kamra hypertrophia indexeivel.** Eredményeink szerint a QT-STV egy új non-invazív SCD rizikó marker lehet HCM betegekben, melynek prognosztikus szerepét érdemes lenne tovább vizsgálni.

**3. Munkánkban új és ismert myozinkötő C fehérje génmutációkat azonosítottunk magyar HCM-es betegekben.** A 45 vizsgált magyar HCM betegben hat kóroki myozinkötő C fehérje génmutációt 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.

**4. Megállapítottuk, hogy magyar hypertrophiás cardiomyopathiás betegpopulációban a myozinkötő C fehérje génmutáció 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 adatainkat figyelembe véve a magyar HCM-es betegek kóroki géneloszlásáról, a *MYBPC3* gén tűnik a leggyakrabban érintett kóroki génnek magyar HCM betegekben.

**5. Megfigyeltük, 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.

**6. Valószínűsítettük, hogy a *MYBPC3* gén p.Gln1233Ter mutációja kóroki génmutációnak tartható, mert az általunk vizsgált három családban érintettről-**

**érintettre való öröklődés volt kimutatható; és nagyszámú kontroll egyénben nem fordult elő.** Vizsgálatunkban a p.Gln1233Ter *MYBPC3* mutációt három általunk észlelt családban is azonosítottuk, és érintettől-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. Munkánkban két új, korábban még nem észlelt *LAMP2* génmutációt azonosítottunk Danon betegség esetén.** Extrém mértékű koncentrikus balkamra hypertrophia, EKG-n észlelt pre-excitáció, izomsorvadás/CK emelkedés és változatos mértékű mentális retardációval jellemzett két Danon betegben és családtagjaikban a *LAMP2* gén két novel, p.Trp321Stop és p.Pro324fs+24X, mutációját azonosítottuk. Mindkét mutáció hatására feltehetően csonkolt LAMP-2 fehérje jön létre, mely feltételezhetően a transzmembrán és citoplazmikus domének hiányát eredményezi. Markánsan malignus fenotípust találtunk mindkét családban, a betegséghez köthető halálozás kifejezetten magas arányával.

**8. Munkánkban új és ismert *GLA* génmutációkat azonosítottunk Fabry kóros betegekben.** Kardiális és extrakardiális érintettség alapján felmerülő Fabry betegség gyanúja esetén ismert (p.Glu358Lys) és több novel (p.Ile239Met, p.Tyr397Stop, c.548-57\_-56dupTA) *GLA* génmutációt azonosítottunk.

**9. Igazoltuk, hogy a *GLA* gén p.Ile239Met mutációja kóroki mutáció Fabry betegségben.** Részletesebben leírtunk egy családot, kikben egy novel, korábban nem közölt p.Ile239Met *GLA* génmutációt detektáltuk. A családban a kardiális manifesztáció elsősorban HCM, balkamra hypertrophia és EKG változások képében jelentkezett, illetve egy családtagnál súlyos veseelégtelenség is megfigyelhető volt. Bizonyítottuk, hogy a p.Ile239Met *GLA* mutáció egy patogén *GLA* mutáció, mely Fabry betegség kialakulásához vezet és dominálónan késői kialakulású és elsősorban szívspecifikus érintő változatához a betegségnek.

**10. A Fabry betegség prevalenciáját 17 %-nak találtuk olyan betegek körében, kiknél többszervi érintettségre utalóan, a hypertrophiás cardiomyopathia és bal kamra hypertrophia mellett más szervi manifesztációk is megfigyelhetők voltak.** A *GLA* génmutációk által okozott Fabry betegség prevalenciáját 17%-nak találtuk olyan betegekben, kiknél felmerült a Fabry betegség gyanúja, figyelembe véve a kardiális (főleg hypertrophiás cardiomyopathia vagy balkamra hypertrophia) és extrakardiális (neurológiai, renális, szemészeti és bőrt érintő tünetek) manifesztációkat. Eredményeink arra utalnak, hogy ha ismeretlen eredetű balkamra hypertrophia vagy HCM mellett más szervi érintettség is észlelhető, akkor a Fabry betegség előfordulásának lehetősége magasabb.

**11. Munkánkban *TTR* génmutációkat azonosítottunk transthyretin amyloidosisos betegekben.** Két, nem-szinoním transthyretin gén variánst azonosítottunk két betegben, kiknél domináló hypertrophiás cardiomyopathia megjelenése volt megfigyelhető. Az első esetben egy korábban már közölt malignus misszensz mutációt (p.His108Arg)

azonosítottunk az index betegben és édesanyjában, ezért az eset örökletes transthyretin amyloidosisnak felel meg. A második esetben vad típusú transthyretin lerakódása volt kimutatható, így ennél a betegnél szenilis szisztémás amyloidosis esete állt fenn.

**12. Azonosítottuk a *KCNJ2* gén egy új, korábban nem közölt Val302del mutációját, Andersen-Tawil szindróma hátterében.** Funkcionális vizsgálattal igazoltuk, hogy a Val302del mutáció a Kir2.1 fehérje membrán transzportját nem érinti, viszont erős, negatív domináns hatása van a csatorna által vezetett áramra.

**13. A Timothy szindróma 1-es típusára specifikus *CACNA1C* gén 8A exonját érintő p.Gly406Arg mutációt mutattunk ki syndactylia és lényegi extrakardiális manifesztációk hiányával jellemzett Timothy szindróma variáns esetében.** Esetünk a Timothy szindróma további fenotípus variánsaira hívja fel a figyelmet. Kiemelendő, hogy a syndactylia hiánya nem zárja ki az 1-es típusú Timothy szindróma genotípus jelenlétét.

**14. A *HCN4* gén egy új, korábban nem közölt ‘splice site’, c.1737+1 G>T mutációját azonosítottunk egy nagy, familiáris bradycardiában szenvedő családban.** A mutáció kórokiságát kapcsoltsági analízissel is igazoltuk, melyet a 4,87-es kétpontos LOD score érték támasztott alá. Igazoltuk, hogy a mutáció csökkent szívfrekvencia válaszhoz, károsodott chronotrop kompetenciához és megnövekedett, rövid idejű szívfrekvencia variabilitáshoz vezet a mutációhordozókban.

**15. Perkután transzluminális septalis myocardium ablatio (PTSMA) során abnormis kollaterálisokat figyeltünk meg septalis ágak között.** Utóbbiak a beavatkozás során beadott alkohol nem kívánt irányba való terjedésével és távoli struktúrák nekrozisának kifejezett veszélyével járnak. Fenti anatómiai variánst a standard technika ‘ad hoc’ módosításával sikeresen kezeltük.

**16. PTSMA után a myocardialis perfúzió csökkenését mutattuk ki videodenzitometrián alapuló idő-denzitás görbe segítségével, valamint septalis strain csökkenését észleltük három-dimenziós ‘speckle tracking’ echocardiographia segítségével.** Fenti új metodikák segítséget nyújthatnak a PTSMA korai és késői eredményességének megítélésében.

## 7. REFERENCIÁK

1. Elliott P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 2004;363:1881-1891.
2. Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, 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). *Eur Heart J*. 2014;35:2733-2779.
3. Gersh BJ, Maron BJ, Bonow RO, et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for the Diagnosis and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery, American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Heart Failure Society of America, Heart Rhythm Society, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58:e212-260.
4. Maron B, Gardin J, Flack J, Gidding S, Kurosaki T, Bild D. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation*. 1995;92:785-789.
5. Alcalai R, Seidman JG, Seidman CE. Genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy: from bench to the clinics. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2008;19:104-110.
6. Ho CY, Charron P, Richard P, Girolami F, Van Spaendonck-Zwarts KY, Pinto Y. Genetic advances in sarcomeric cardiomyopathies: state of the art. *Cardiovasc Res*. 2015;105:397-408.
7. Geisterfer-Lowrance AAT, Kass S, Tanigawa G, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell*. 1990;62:999-1006.
8. Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, et al. Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell*. 1994;77:701-712.
9. Bonne G, Carrier L, Bercovici J, et al. Cardiac myosin binding protein-C gene splice acceptor site mutation is associated with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet*. 1995;11:438-440.
10. Watkins H, Conner D, Thierfelder L, et al. Mutations in the cardiac myosin binding protein-C gene on chromosome 11 cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet*. 1995;11:434-437.
11. Kimura A, Harada H, Park J-E, et al. Mutations in the troponin I gene associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Nature Gen*. 1997;16:379-382.
12. Poetter K, Jiang H, Hassanzadeh S, et al. Mutations in either the essential or regulatory light chains of myosin are associated with a rare myopathy in human heart and skeletal muscle. *Nat Genet*. 1996;13:63-69.
13. Mogensen J, Klausen I, Pedersen A, et al. Alpha-cardiac actin is a novel disease gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 1999;103:R39-R43.
14. Satoh M, Takahashi M, Sakamoto T, Hiroe M, Marumo F, Kimura A. Structural analysis of the titin gene in hypertrophic cardiomyopathy: identification of a novel disease gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;262:411-417.
15. Erdmann J, Raible J, Maki-Abadi J, et al. Spectrum of clinical phenotypes and gene variants in cardiac myosin-binding protein C mutation carriers with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:322-330.
16. Richard P, Charron P, Carrier L, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation*. 2003;107:2227-2232.
17. Van Driest S, Vasile V, Ommen S, et al. Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1903-1910.

18. Sepp R, Jebelovszki É, Dongó Á, et al. Az első myozin kötő C fehérje génmutáció azonosítása magyar hypertrophiás cardiomyopathiás betegben. *Magyar Belorv Arch.* 2001;54:170-176.
19. Carrier L, Mearini G, Stathopoulou K, Cuello F. Cardiac myosin-binding protein C (MYBPC3) in cardiac pathophysiology. *Gene.* 2015;573:188-197.
20. Bonne G, Carrier L, Richard P, Hainque B, Schwartz K. Familial hypertrophic cardiomyopathy: from mutations to functional defects. *Circ Res.* 1998;83:580-593.
21. Oakley C, Hambly B, Curmi P, Brown L. Myosin binding protein C: structural abnormalities in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Cell Res.* 2004;14:95-110.
22. Arad M, Maron BJ, Gorham JM, et al. Glycogen storage diseases presenting as hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2005;352:362-372.
23. Rapezzi C, Arbustini E, Caforio AL, et al. Diagnostic work-up in cardiomyopathies: bridging the gap between clinical phenotypes and final diagnosis. A position statement from the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2013;34:1448-1458.
24. Danon MJ, Oh SJ, DiMauro S, et al. Lysosomal glycogen storage disease with normal acid maltase. *Neurology.* 1981;31:51-57.
25. Iascone M, Iacovoni A, Marchetti D, Ferrazzi P. Gene symbol: LAMP2. Disease: Danon disease. *Hum Genet.* 2008;123:537.
26. Maron BJ, Roberts WC, Arad M, et al. Clinical outcome and phenotypic expression in LAMP2 cardiomyopathy. *Jama.* 2009;301:1253-1259.
27. Nishino I, Fu J, Tanji K, et al. Primary LAMP-2 deficiency causes X-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease). *Nature.* 2000;406:906-910.
28. Fanin M, Nascimbeni AC, Fulizio L, Spinazzi M, Melacini P, Angelini C. Generalized lysosome-associated membrane protein-2 defect explains multisystem clinical involvement and allows leukocyte diagnostic screening in Danon disease. *The American journal of pathology.* 2006;168:1309-1320.
29. Germain DP. Fabry disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:30.
30. Abbas A. Diseases of immunity: amyloidosis. . In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, eds. *Pathologic Basis of Disease.* Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2005:258-264.
31. Ruberg FL, Berk JL. Transthyretin (TTR) cardiac amyloidosis. *Circulation.* 2012;126:1286-1300.
32. Esplin BL, Gertz MA. Current trends in diagnosis and management of cardiac amyloidosis. *Curr Probl Cardiol.* 2013;38:53-96.
33. Sharma N, Howlett J. Current state of cardiac amyloidosis. *Curr Opin Cardiol.* 2013;28:242-248.
34. Ando Y, Coelho T, Berk JL, et al. Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:31.
35. Zeviani M, Di Donato S. Mitochondrial disorders. *Brain.* 2004;127:2153-2172.
36. Cree LM, Samuels DC, Chinnery PF. The inheritance of pathogenic mitochondrial DNA mutations. *Biochimica et biophysica acta.* 2009;1792:1097-1102.
37. Hsu YH, Yogasundaram H, Parajuli N, Valtuille L, Sergi C, Oudit GY. MELAS syndrome and cardiomyopathy: linking mitochondrial function to heart failure pathogenesis. *Heart Fail Rev.* 2016;21:103-116.
38. Lorenzoni PJ, Werneck LC, Kay CS, Silvado CE, Scola RH. When should MELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like episodes) be the diagnosis? *Arq Neuropsiquiatr.* 2015;73:959-967.
39. Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the QT interval and sudden death. *Am Heart J.* 1957;54:59-68.
40. Romano C, Gemme G, Pongiglione R. Aritmie cardiache rare dell'eta pediatrica. *Pediatrica.* 1963;45:658-683.
41. Ward O. New familiar cardiac syndrome in children. *J Irish Med Assoc.* 1964;54:103-106.
42. Csanády M, Kiss Z. Az elektrokardiogram QT-távolságának örökletes megnyúltsága, vesezületett sükettség nélkül (Romano-Ward-szindróma). *Orv Hetil.* 1972;47:2840-2843.
43. Wang Q, Curran M, Splawski I. Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nat Genet.* 1996;12:17-23.

44. Curran M, Splawski I, Timothy K, et al. A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell*. 1995;80:795-803.
45. Wang Q, Shen J, Splawski I, et al. SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell*. 1995;80:805-811.
46. Andersen ED, Krasilnikoff PA, Overvad H. Intermittent muscular weakness, extrasystoles, and multiple developmental anomalies. A new syndrome? *Acta Paediatr Scand*. 1971;60:559-564.
47. Zhang L, Benson DW, Tristani-Firouzi M, et al. Electrocardiographic features in Andersen-Tawil syndrome patients with KCNJ2 mutations: characteristic T-U-wave patterns predict the KCNJ2 genotype. *Circulation*. 2005;111:2720-2726.
48. Tristani-Firouzi M, Jensen JL, Donaldson MR, et al. Functional and clinical characterization of KCNJ2 mutations associated with LQT7 (Andersen syndrome). *J Clin Invest*. 2002;110:381-388.
49. Lopatin AN, Nichols CG. Inward rectifiers in the heart: an update on I(K1). *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33:625-638.
50. Liao P, Soong TW. CaV1.2 channelopathies: from arrhythmias to autism, bipolar disorder, and immunodeficiency. *Pflugers Arch*. 2010;460:353-359.
51. Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, et al. Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell*. 2004;119:19-31.
52. An HS, Choi EY, Kwon BS, et al. Sudden cardiac arrest during anesthesia in a 30-month-old boy with syndactyly: a case of genetically proven Timothy syndrome. *J Korean Med Sci*. 2013;28:788-791.
53. Corona-Rivera JR, Barrios-Prieto E, Nieto-Garcia R, et al. Unusual retrospective prenatal findings in a male newborn with Timothy syndrome type 1. *Eur J Med Genet*. 2015;58:332-335.
54. Dufendach KA, Giudicessi JR, Boczek NJ, Ackerman MJ. Maternal mosaicism confounds the neonatal diagnosis of type 1 Timothy syndrome. *Pediatrics*. 2013;131:e1991-1995.
55. Ergul Y, Ozyilmaz I, Haydin S, Guzeltas A, Tuzcu V. A rare association with suffered cardiac arrest, long QT interval, and syndactyly: Timothy syndrome (LQT-8). *Anatol J Cardiol*. 2015;15:672-674.
56. Etheridge SP, Bowles NE, Arrington CB, et al. Somatic mosaicism contributes to phenotypic variation in Timothy syndrome. *American journal of medical genetics. Part A*. 2011;155A:2578-2583.
57. Krause U, Gravenhorst V, Kriebel T, Ruschewski W, Paul T. A rare association of long QT syndrome and syndactyly: Timothy syndrome (LQT 8). *Clin Res Cardiol*. 2011;100:1123-1127.
58. Lo ANSM, Wilde AA, van Erven L, Blom NA. Syndactyly and long QT syndrome (CaV1.2 missense mutation G406R) is associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart rhythm : the official journal of the Heart Rhythm Society*. 2005;2:1365-1368.
59. Diep V, Seaver LH. Long QT syndrome with craniofacial, digital, and neurologic features: Is it useful to distinguish between timothy syndrome types 1 and 2? *American journal of medical genetics. Part A*. 2015;167A:2780-2785.
60. Frohler S, Kieslich M, Langnick C, et al. Exome sequencing helped the fine diagnosis of two siblings afflicted with atypical Timothy syndrome (TS2). *BMC Med Genet*. 2014;15:48.
61. Hiippala A, Tallila J, Myllykangas S, Koskenvuo JW, Alastalo TP. Expanding the phenotype of Timothy syndrome type 2: an adolescent with ventricular fibrillation but normal development. *American journal of medical genetics. Part A*. 2015;167A:629-634.
62. Philipp LR, Rodriguez FH, 3rd. Cardiac arrest refractory to standard intervention in atypical Timothy syndrome (LQT8 type 2). *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2016;29:160-162.
63. Splawski I, Timothy KW, Decher N, et al. Severe arrhythmia disorder caused by cardiac L-type calcium channel mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:8089-8096; discussion 8086-8088.
64. Boczek NJ, Miller EM, Ye D, et al. Novel Timothy syndrome mutation leading to increase in CACNA1C window current. *Heart rhythm : the official journal of the Heart Rhythm Society*. 2015;12:211-219.

65. Gillis J, Burashnikov E, Antzelevitch C, et al. Long QT, syndactyly, joint contractures, stroke and novel CACNA1C mutation: expanding the spectrum of Timothy syndrome. *American journal of medical genetics. Part A*. 2012;158A:182-187.
66. Wemhoner K, Friedrich C, Stallmeyer B, et al. Gain-of-function mutations in the calcium channel CACNA1C (Cav1.2) cause non-syndromic long-QT but not Timothy syndrome. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;80:186-195.
67. Schulze-Bahr E, Neu A, Friederich P, et al. Pacemaker channel dysfunction in a patient with sinus node disease. *J Clin Invest*. 2003;111:1537-1545.
68. Milanese R, Baruscotti M, Gneccchi-Ruscone T, DiFrancesco D. Familial sinus bradycardia associated with a mutation in the cardiac pacemaker channel. *N Engl J Med*. 2006;354:151-157.
69. DiFrancesco D. Funny channel gene mutations associated with arrhythmias. *J Physiol*. 2013;591:4117-4124.
70. Verkerk AO, Wilders R. Pacemaker activity of the human sinoatrial node: an update on the effects of mutations in HCN4 on the hyperpolarization-activated current. *Int J Mol Sci*. 2015;16:3071-3094.
71. Duhme N, Schweizer PA, Thomas D, et al. Altered HCN4 channel C-linker interaction is associated with familial tachycardia-bradycardia syndrome and atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2013;34:2768-2775.
72. Laish-Farkash A, Glikson M, Brass D, et al. A novel mutation in the HCN4 gene causes symptomatic sinus bradycardia in Moroccan Jews. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2010;21:1365-1372.
73. Nof E, Luria D, Brass D, et al. Point mutation in the HCN4 cardiac ion channel pore affecting synthesis, trafficking, and functional expression is associated with familial asymptomatic sinus bradycardia. *Circulation*. 2007;116:463-470.
74. Ueda K, Nakamura K, Hayashi T, et al. Functional characterization of a trafficking-defective HCN4 mutation, D553N, associated with cardiac arrhythmia. *J Biol Chem*. 2004;279:27194-27198.
75. Zhou J, Ding WG, Makiyama T, et al. A novel HCN4 mutation, G1097W, is associated with atrioventricular block. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2014;78:938-942.
76. Macri V, Mahida SN, Zhang ML, et al. A novel trafficking-defective HCN4 mutation is associated with early-onset atrial fibrillation. *Heart rhythm : the official journal of the Heart Rhythm Society*. 2014;11:1055-1062.
77. Ueda K, Hirano Y, Higashiuesato Y, et al. Role of HCN4 channel in preventing ventricular arrhythmia. *J Hum Genet*. 2009;54:115-121.
78. Milano A, Vermeer AM, Lodder EM, et al. HCN4 mutations in multiple families with bradycardia and left ventricular noncompaction cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64:745-756.
79. Millat G, Janin A, de Tauriac O, Roux A, Dauphin C. HCN4 mutation as a molecular explanation on patients with bradycardia and non-compaction cardiomyopathy. *Eur J Med Genet*. 2015;58:439-442.
80. Schweizer PA, Schroter J, Greiner S, et al. The symptom complex of familial sinus node dysfunction and myocardial noncompaction is associated with mutations in the HCN4 channel. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64:757-767.
81. Vermeer AM, Lodder EM, Thomas D, et al. Dilation of the Aorta Ascendens Forms Part of the Clinical Spectrum of HCN4 Mutations. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67:2313-2315.
82. Baruscotti M, Bucci A, Milanese R, et al. A gain-of-function mutation in the cardiac pacemaker HCN4 channel increasing cAMP sensitivity is associated with familial Inappropriate Sinus Tachycardia. *Eur Heart J*. 2015.
83. Hollman A, Goodwin JF, Teare D, Renwick JW. A family with obstructive cardiomyopathy (asymmetrical hypertrophy). *Br Heart J*. 1960;22:449-456.
84. Maron BJ, Shen WK, Link MS, et al. Efficacy of implantable cardioverter-defibrillators for the prevention of sudden death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;342:365-373.

85. Maron BJ, Spirito P, Shen WK, et al. Implantable cardioverter-defibrillators and prevention of sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. *Jama*. 2007;298:405-412.
86. Maron BJ, Semsarian C, Shen WK, et al. Circadian patterns in the occurrence of malignant ventricular tachyarrhythmias triggering defibrillator interventions in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart rhythm : the official journal of the Heart Rhythm Society*. 2009;6:599-602.
87. Spirito P, Autore C, Formisano F, et al. Risk of sudden death and outcome in patients with hypertrophic cardiomyopathy with benign presentation and without risk factors. *Am J Cardiol*. 2014;113:1550-1555.
88. Maron BJ, Anan TJ, Roberts WC. Quantitative analysis of the distribution of cardiac muscle cell disorganization in the left ventricular wall of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1981;63:882-894.
89. Maron BJ, Roberts WC. Quantitative analysis of cardiac muscle cell disorganization in the ventricular septum of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1979;59:689-706.
90. St John Sutton MG, Lie JT, Anderson KR, O'Brien PC, Frye RL. Histopathological specificity of hypertrophic obstructive cardiomyopathy. Myocardial fibre disarray and myocardial fibrosis. *Br Heart J*. 1980;44:433-443.
91. Maron BJ, Sato N, Roberts WC, Edwards JE, Chandra RS. Quantitative analysis of cardiac muscle cell disorganization in the ventricular septum. Comparison of fetuses and infants with and without congenital heart disease and patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 1979;60:685-696.
92. van der Bel-Kahn J. Muscle fiber disarray in common heart diseases. *Am J Cardiol*. 1977;40:355-364.
93. Kleber AG, Saffitz JE. Role of the intercalated disc in cardiac propagation and arrhythmogenesis. *Front Physiol*. 2014;5:404.
94. Severs NJ. The cardiac gap junction and intercalated disc. *Int J Cardiol*. 1990;26:137-173.
95. Green KJ, Geiger B, Jones JC, Talian JC, Goldman RD. The relationship between intermediate filaments and microfilaments before and during the formation of desmosomes and adherens-type junctions in mouse epidermal keratinocytes. *The Journal of cell biology*. 1987;104:1389-1402.
96. Buja G, Miorelli M, Turrini P, Melacini P, Nava A. Comparison of QT dispersion in hypertrophic cardiomyopathy between patients with and without ventricular arrhythmias and sudden death. *Am J Cardiol*. 1993;72:973-976.
97. Dritsas A, Sbarouni E, Gilligan D, Nihoyannopoulos P, Oakley CM. QT-interval abnormalities in hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Cardiol*. 1992;15:739-742.
98. Yi G, Elliott P, McKenna WJ, et al. QT dispersion and risk factors for sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1998;82:1514-1519.
99. Maron BJ, Leyhe MJ, 3rd, Casey SA, et al. Assessment of QT dispersion as a prognostic marker for sudden death in a regional nonreferred hypertrophic cardiomyopathy cohort. *Am J Cardiol*. 2001;87:114-115, A119.
100. Antzelevitch C. T peak-Tend interval as an index of transmural dispersion of repolarization. *Eur J Clin Invest*. 2001;31:555-557.
101. Schwartz PJ, Priori SG, Spazzolini C, et al. Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation*. 2001;103:89-95.
102. Yamaguchi M, Shimizu M, Ino H, et al. T wave peak-to-end interval and QT dispersion in acquired long QT syndrome: a new index for arrhythmogenicity. *Clin Sci (Lond)*. 2003;105:671-676.
103. Panikkath R, Reinier K, Uy-Evanado A, et al. Prolonged Tpeak-to-tend interval on the resting ECG is associated with increased risk of sudden cardiac death. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2011;4:441-447.
104. Shimizu M, Ino H, Okeie K, et al. T-peak to T-end interval may be a better predictor of high-risk patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with a cardiac troponin I mutation than QT dispersion. *Clin Cardiol*. 2002;25:335-339.

105. Atiga WL, Calkins H, Lawrence JH, Tomaselli GF, Smith JM, Berger RD. Beat-to-beat repolarization lability identifies patients at risk for sudden cardiac death. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1998;9:899-908.
106. Haigney MC, Zareba W, Gentlesk PJ, et al. QT interval variability and spontaneous ventricular tachycardia or fibrillation in the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial (MADIT) II patients. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:1481-1487.
107. Piccirillo G, Magri D, Matera S, et al. QT variability strongly predicts sudden cardiac death in asymptomatic subjects with mild or moderate left ventricular systolic dysfunction: a prospective study. *Eur Heart J.* 2007;28:1344-1350.
108. Varkevisser R, Wijers SC, van der Heyden MA, Beekman JD, Meine M, Vos MA. Beat-to-beat variability of repolarization as a new biomarker for proarrhythmia in vivo. *Heart rhythm : the official journal of the Heart Rhythm Society.* 2012;9:1718-1726.
109. Maron MS, Olivotto I, Betocchi S, et al. Effect of Left Ventricular Outflow Tract Obstruction on Clinical Outcome in Hypertrophic Cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2003;348:295-303.
110. Wigle E, Sasson Z, Henderson M, et al. Hypertrophic cardiomyopathy. The importance of the site and extent of hypertrophy: a review. *Prog Cardiovasc Dis.* 1985;28:1-83.
111. Cape EG, Simons D, Jimoh A, Weyman AE, Yoganathan AP, Levine RA. Chordal geometry determines the shape and extent of systolic anterior mitral motion: in vitro studies. *J Am Coll Cardiol.* 1989;13:1438-1448.
112. Sherrid MV, Gunsburg DZ, Moldenhauer S, Pearle G. Systolic anterior motion begins at low left ventricular outflow tract velocity in obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1344-1354.
113. Morrow AG, Koch JP, Maron BJ, Kent KM, Epstein SE. Left ventricular myotomy and myectomy in patients with obstructive hypertrophic cardiomyopathy and previous cardiac arrest. *Am J Cardiol.* 1980;46:313-316.
114. Kappenberger L, Linde C, Daubert C, et al. Pacing in hypertrophic obstructive cardiomyopathy. A randomized crossover study. PIC Study Group. *Eur Heart J.* 1997;18:1249-1256.
115. Maron BJ, Nishimura RA, McKenna WJ, Rakowski H, Josephson ME, Kieval RS. Assessment of permanent dual-chamber pacing as a treatment for drug-refractory symptomatic patients with obstructive hypertrophic cardiomyopathy. A randomized, double-blind, crossover study (M-PATHY). *Circulation.* 1999;99:2927-2933.
116. Nishimura RA, Trusty JM, Hayes DL, et al. Dual-chamber pacing for hypertrophic cardiomyopathy: a randomized, double-blind, crossover trial. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29:435-441.
117. Brugada P, de Swart H, Smeets JL, Wellens HJ. Transcoronary chemical ablation of ventricular tachycardia. *Circulation.* 1989;79:475-482.
118. Boekstegers P, Steinbigler P, Molnar A, et al. Pressure-Guided Nonsurgical Myocardial Reduction Induced by Small Septal Infarctions in Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38:846-853.
119. Flores-Ramirez R, Lakkis NM, Middleton KJ, Killip D, Spencer III WH, Nagueh SF. Echocardiographic Insights Into the Mechanisms of Relief of Left Ventricular Outflow Tract Obstruction After Nonsurgical Septal Reduction Therapy in Patients With Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:208-214.
120. Faber L, Meissner A, Ziemssen P, Seggewiss H. Percutaneous transluminal septal myocardial ablation for hypertrophic obstructive cardiomyopathy: long term follow up of the first series of 25 patients. *Heart.* 2000;83:326-331.
121. Seggewiss H, Gleichmann U, Faber L, Fassbender D, Schmidt HK, Strick S. Percutaneous Transluminal Septal Myocardial Ablation in Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy: Acute Results and 3-Month Follow-Up in 25 Patients. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:252-258.
122. Sigwart U. Non-surgical myocardial reduction for hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Lancet.* 1995;346:211-214.
123. Faber L, Seggewiss H, Gleichmann U. Percutaneous Transluminal Septal Myocardial Ablation in Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy Results With Respect to Intraprocedural Myocardial Contrast Echocardiography. *Circulation.* 1998;98:2415-2421.

124. Seggewiss H. Percutaneous transluminal septal myocardial ablation: A new treatment for hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *European Heart Journal*. 2000;21:704–707.
125. Maron BJ. Role of alcohol septal ablation in treatment of obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 2000;355:425–426.
126. Apró D, Lupkovics G, Motyovszki Á, Mezey B, Tomcsányi J. Alkohollal végzett myocardialis septum ablatio hypertrophias obstruktív cardiomyopathiában. *Cardiologia Hungarica*. 2000;Supplementum 3:63.
127. Firoozi S, Elliott PM, Sharma S, et al. Septal myotomy–myectomy and transcoronary septal alcohol ablation in hypertrophic obstructive cardiomyopathy. A comparison of clinical, haemodynamic and exercise outcomes. *European Heart Journal*. 2002;23:1617–1624.
128. Gietzen FH, Leuner CJ, Raute-Kreinsen U, et al. Acute and long-term results after transcoronary ablation of septal hypertrophy (TASH). Catheter interventional treatment for hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *European Heart Journal*. 1999;20:1342–1354.
129. Knight C, Kurbaan AS, Seggewiss H, et al. Nonsurgical septal reduction for hypertrophic obstructive cardiomyopathy: outcome in the first series of patients. *Circulation*. 1997;95:2075–2081.
130. Mazur W, Nagueh SF, Lakkis NM, et al. Regression of left ventricular hypertrophy after nonsurgical septal reduction therapy for hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Circulation*. 2001;103:1492–1496.
131. Kim J-J, Lee CW, Park S-W, et al. Improvement in Exercise Capacity and Exercise Blood Pressure Response After Transcoronary Alcohol Ablation Therapy of Septal Hypertrophy in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1999;83:1220–1223.
132. Lakkis NM, Nagueh SF, Dunn JK, Killip D, Spencer III WH. Nonsurgical Septal Reduction Therapy for Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy: One-Year Follow-up. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:852–855.
133. Ruzyllo W, Chojnowska L, Demkow M, et al. Left ventricular outflow tract gradient decrease with non-surgical myocardial reduction improves exercise capacity in patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *European Heart Journal*. 2000;21:770–777.
134. Faber L, Seggewiss H, Welge D, et al. Echo-guided percutaneous septal ablation for symptomatic hypertrophic obstructive cardiomyopathy: 7 years of experience. *Eur J Echocardiography*. 2004;5:347–355.
135. Qin JX, Shiota T, Lever HM, et al. Conduction System Abnormalities in Patients With Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy Following Septal Reduction Interventions. *Am J Cardiol*. 2004;93:171–175.
136. Qin JX, Shiota T, Lever HM, et al. Outcome of Patients With Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy After Percutaneous Transluminal Septal Myocardial Ablation and Septal Myectomy Surgery. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:1994–2000.
137. Talreja DR, Nishimura RA, Edwards WD, et al. Alcohol Septal Ablation Versus Surgical Septal Myectomy Comparison of Effects on Atrioventricular Conduction Tissue. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:2329–2332.
138. Alfonso F, Isla LP, Seggewiss H. Contrast echocardiography during alcohol septal ablation: friend or foe? *Heart*. 2005;91:18.
139. Singh M, Edwards WD, Holmes DR, Jr., Tajil AJ, Nishimura RA. Anatomy of the first septal perforating artery: a study with implications for ablation therapy for hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc*. 2001;76:799–802.
140. Monakier D, Woo A, Puri T, et al. Usefulness of Myocardial Contrast Echocardiographic Quantification of Risk Area for Predicting Postprocedural Complications in Patients Undergoing Septal Ethanol Ablation for Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2004;94:1515–1522.
141. Chang SM, Lakkis NM, Franklin J, Spencer WH, 3rd, Nagueh SF. Predictors of outcome after alcohol septal ablation therapy in patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Circulation*. 2004;109:824–827.
142. Sorajja P, Binder J, Nishimura RA, et al. Predictors of an optimal clinical outcome with alcohol septal ablation for obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2013;81:E58–67.

143. Sepp R, Pálincás A, Kertész E, et al. Hypertrophias cardiomyopathiát okozó génmutáció azonosítása a béta myozin nehéz lánc génben. Az első molekuláris genetikai analízissel igazolt magyar család leírása. *Cardiologia Hungarica*. 2001; 1:65-70.
144. Csanády M, Sepp R. A hosszú QT-szindróma a betegágytól a molekuláris genetikai laboratóriumig. Az első magyar eset genetikai analízisének története röviden. *Orv Hetil* 2005;146:2011-2016.
145. Sepp R, Csanády M, Napolitano C, et al. Az első KCNQ1-génmutáció azonosítása hosszú QT-szindrómás magyar betegben. *Cardiologia Hungarica* 2006;36:11-16.
146. Sepp R, Csanády M, Napolitano C, et al. Az első hosszú QT-szindrómát okozó génmutáció azonosítása magyar betegben. *Cardiologia Hungarica*. 2004;34:184-188.
147. Sepp R, Tóth T, Nagy V, et al. Az első KCNE1 génmutáció azonosítása magyar hosszú QT szindrómás betegben. *Cardiologia Hungarica*. 2010;40:197-202.
148. McKenna W, Spirito P, Desnos M, al. e. Experience from clinical genetics in hypertrophic cardiomyopathy: proposal for new diagnostic criteria in adult members of affected families. *Heart*. 1997;77:130-132.
149. Ungi T, Ungi I, Jonas Z, et al. Myocardium selective densitometric perfusion assessment after acute myocardial infarction. *Cardiovasc Revasc Med*. 2009;10:49-54.
150. Ungi T, Zimmermann Z, Balazs E, et al. Vessel masking improves densitometric myocardial perfusion assessment. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2009;25:229-236.
151. Nemes A, Kalapos A, Domsik P, Forster T. [Three-dimensional speckle-tracking echocardiography -- a further step in non-invasive three-dimensional cardiac imaging]. *Orv Hetil*. 2012;153:1570-1577.
152. Gourdie RG. A map of the heart: gap junctions, connexin diversity and retroviral studies of conduction myocyte lineage. *Clin Sci (Lond)*. 1995;88:257-262.
153. Severs NJ, Gourdie RG, Harfst E, Peters NS, Green CR. Intercellular junctions and the application of microscopical techniques: the cardiac gap junction as a case model. *J Microsc*. 1993;169:299-328.
154. Sacha J, Barabach S, Statkiewicz-Barabach G, et al. How to strengthen or weaken the HRV dependence on heart rate--description of the method and its perspectives. *Int J Cardiol*. 2013;168:1660-1663.
155. Sacha J, Sobon J, Sacha K, Barabach S. Heart rate impact on the reproducibility of heart rate variability analysis. *Int J Cardiol*. 2013;168:4257-4259.
156. Bonow RO. Left ventricular diastolic function in hypertrophic cardiomyopathy. *Herz*. 1991;16:13-21.
157. Dhein S, Seidel T, Salameh A, et al. Remodeling of cardiac passive electrical properties and susceptibility to ventricular and atrial arrhythmias. *Front Physiol*. 2014;5:424.
158. Kessler EL, Boulaksil M, van Rijen HV, Vos MA, van Veen TA. Passive ventricular remodeling in cardiac disease: focus on heterogeneity. *Front Physiol*. 2014;5:482.
159. Bowers SL, Borg TK, Baudino TA. The dynamics of fibroblast-myocyte-capillary interactions in the heart. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1188:143-152.
160. van Rijen HV, van Veen TA, Gros D, Wilders R, de Bakker JM. Connexins and cardiac arrhythmias. *Adv Cardiol*. 2006;42:150-160.
161. Cooklin M, Wallis WR, Sheridan DJ, Fry CH. Changes in cell-to-cell electrical coupling associated with left ventricular hypertrophy. *Circ Res*. 1997;80:765-771.
162. McIntyre H, Fry CH. Abnormal action potential conduction in isolated human hypertrophied left ventricular myocardium. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1997;8:887-894.
163. Winterton SJ, Turner MA, O'Gorman DJ, Flores NA, Sheridan DJ. Hypertrophy causes delayed conduction in human and guinea pig myocardium: accentuation during ischaemic perfusion. *Cardiovasc Res*. 1994;28:47-54.
164. Spach MS, Heidlage JF, Dolber PC, Barr RC. Electrophysiological effects of remodeling cardiac gap junctions and cell size: experimental and model studies of normal cardiac growth. *Circ Res*. 2000;86:302-311.
165. Lane NJ, Swales LS. Dispersal of junctional particles, not internalization, during the in vivo disappearance of gap junctions. *Cell*. 1980;19:579-586.

166. Severs NJ, Shovel KS, Slade AM, Powell T, Twist VW, Green CR. Fate of gap junctions in isolated adult mammalian cardiomyocytes. *Circ Res.* 1989;65:22-42.
167. Luque EA, Veenstra RD, Beyer EC, Lemanski LF. Localization and distribution of gap junctions in normal and cardiomyopathic hamster heart. *J Morphol.* 1994;222:203-213.
168. Smith JH, Green CR, Peters NS, Rothery S, Severs NJ. Altered patterns of gap junction distribution in ischemic heart disease. An immunohistochemical study of human myocardium using laser scanning confocal microscopy. *The American journal of pathology.* 1991;139:801-821.
169. Dillon SM, Allessie MA, Ursell PC, Wit AL. Influences of anisotropic tissue structure on reentrant circuits in the epicardial border zone of subacute canine infarcts. *Circ Res.* 1988;63:182-206.
170. Ursell PC, Gardner PI, Albala A, Fenoglio JJ, Jr., Wit AL. Structural and electrophysiological changes in the epicardial border zone of canine myocardial infarcts during infarct healing. *Circ Res.* 1985;56:436-451.
171. Gourdie RG, Green CR, Severs NJ, Thompson RP. Immunolabelling patterns of gap junction connexins in the developing and mature rat heart. *Anat Embryol (Berl).* 1992;185:363-378.
172. Peters NS, Severs NJ, Rothery SM, Lincoln C, Yacoub MH, Green CR. Spatiotemporal relation between gap junctions and fascia adherens junctions during postnatal development of human ventricular myocardium. *Circulation.* 1994;90:713-725.
173. Kostin S, Dammer S, Hein S, Klovekorn WP, Bauer EP, Schaper J. Connexin 43 expression and distribution in compensated and decompensated cardiac hypertrophy in patients with aortic stenosis. *Cardiovasc Res.* 2004;62:426-436.
174. Uzzaman M, Honjo H, Takagishi Y, et al. Remodeling of gap junctional coupling in hypertrophied right ventricles of rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circ Res.* 2000;86:871-878.
175. Sasano C, Honjo H, Takagishi Y, et al. Internalization and dephosphorylation of connexin43 in hypertrophied right ventricles of rats with pulmonary hypertension. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society.* 2007;71:382-389.
176. Ripplinger CM, Li W, Hadley J, et al. Enhanced transmural fiber rotation and connexin 43 heterogeneity are associated with an increased upper limit of vulnerability in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res.* 2007;101:1049-1057.
177. Sanbe A, James J, Tuzcu V, et al. Transgenic rabbit model for human troponin I-based hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2005;111:2330-2338.
178. Ambra R, Di Nardo P, Fantini C, et al. Selective changes in DNA binding activity of transcription factors in UM-X7.1 cardiomyopathic hamsters. *Life Sci.* 2002;71:2369-2381.
179. Sato T, Ohkusa T, Honjo H, et al. Altered expression of connexin43 contributes to the arrhythmogenic substrate during the development of heart failure in cardiomyopathic hamster. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294:H1164-1173.
180. Molkentin JD, Lu JR, Antos CL, et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway for cardiac hypertrophy. *Cell.* 1998;93:215-228.
181. Bierhuizen MF, Boulaksil M, van Stuijvenberg L, et al. In calcineurin-induced cardiac hypertrophy expression of Nav1.5, Cx40 and Cx43 is reduced by different mechanisms. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;45:373-384.
182. Boulaksil M, Noorman M, Engelen MA, et al. Longitudinal arrhythmogenic remodelling in a mouse model of longstanding pressure overload. *Neth Heart J.* 2010;18:509-515.
183. Boulaksil M, Winckels SK, Engelen MA, et al. Heterogeneous Connexin43 distribution in heart failure is associated with dispersed conduction and enhanced susceptibility to ventricular arrhythmias. *Eur J Heart Fail.* 2010;12:913-921.
184. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *Jama.* 2002;287:1308-1320.
185. Olivotto I, Cecchi F, Poggesi C, Yacoub MH. Patterns of disease progression in hypertrophic cardiomyopathy: an individualized approach to clinical staging. *Circ Heart Fail.* 2012;5:535-546.
186. Vriesendorp PA, Schinkel AF, de Groot NM, van Domburg RT, Ten Cate FJ, Michels M. Impact of adverse left ventricular remodeling on sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Cardiol.* 2014;37:493-498.

187. Nattel S, Maguy A, Le Bouter S, Yeh YH. Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation. *Physiol Rev.* 2007;87:425-456.
188. Beuckelmann DJ, Nabauer M, Erdmann E. Alterations of K<sup>+</sup> currents in isolated human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circ Res.* 1993;73:379-385.
189. Li GR, Lau CP, Leung TK, Nattel S. Ionic current abnormalities associated with prolonged action potentials in cardiomyocytes from diseased human right ventricles. *Heart rhythm : the official journal of the Heart Rhythm Society.* 2004;1:460-468.
190. Tomaselli GF, Marban E. Electrophysiological remodeling in hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Res.* 1999;42:270-283.
191. Bers DM, Despa S, Bossuyt J. Regulation of Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> in normal and failing cardiac myocytes. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1080:165-177.
192. Michael G, Xiao L, Qi XY, Dobrev D, Nattel S. Remodelling of cardiac repolarization: how homeostatic responses can lead to arrhythmogenesis. *Cardiovasc Res.* 2009;81:491-499.
193. Zeng J, Rudy Y. Early afterdepolarizations in cardiac myocytes: mechanism and rate dependence. *Biophys J.* 1995;68:949-964.
194. Valdivia CR, Chu WW, Pu J, et al. Increased late sodium current in myocytes from a canine heart failure model and from failing human heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;38:475-483.
195. Coppini R, Ferrantini C, Yao L, et al. Late sodium current inhibition reverses electromechanical dysfunction in human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2013;127:575-584.
196. Varro A, Baczko I. Cardiac ventricular repolarization reserve: a principle for understanding drug-related proarrhythmic risk. *Br J Pharmacol.* 2011;164:14-36.
197. Berger RD. QT variability. *J Electrocardiol.* 2003;36 Suppl:83-87.
198. Hinterseer M, Beckmann BM, Thomsen MB, et al. Relation of increased short-term variability of QT interval to congenital long-QT syndrome. *Am J Cardiol.* 2009;103:1244-1248.
199. Hinterseer M, Beckmann BM, Thomsen MB, et al. Usefulness of short-term variability of QT intervals as a predictor for electrical remodeling and proarrhythmia in patients with nonischemic heart failure. *Am J Cardiol.* 2010;106:216-220.
200. Lengyel C, Varro A, Tabori K, Papp JG, Baczko I. Combined pharmacological block of I(Kr) and I(Ks) increases short-term QT interval variability and provokes torsades de pointes. *Br J Pharmacol.* 2007;151:941-951.
201. Thomsen MB, Verduyn SC, Stengl M, et al. Increased short-term variability of repolarization predicts d-sotalol-induced torsades de pointes in dogs. *Circulation.* 2004;110:2453-2459.
202. van Opstal JM, Schoenmakers M, Verduyn SC, et al. Chronic amiodarone evokes no torsade de pointes arrhythmias despite QT lengthening in an animal model of acquired long-QT syndrome. *Circulation.* 2001;104:2722-2727.
203. Magri D, De Cecco CN, Piccirillo G, et al. Myocardial repolarization dispersion and late gadolinium enhancement in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society.* 2014;78:1216-1223.
204. Spirito P, Autore C, Rapezzi C, et al. Syncope and risk of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2009;119:1703-1710.
205. Olivotto I, Maron MS, Autore C, et al. Assessment and significance of left ventricular mass by cardiovascular magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:559-566.
206. Ostman-Smith I, Wisten A, Nylander E, et al. Electrocardiographic amplitudes: a new risk factor for sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2010;31:439-449.
207. Morner S, Richard P, Kazzam E, et al. Identification of the genotypes causing hypertrophic cardiomyopathy in northern Sweden. *J Mol Cell Cardiol.* 2003;35:841-849.
208. Erdmann J, Daehmlow S, Wischke S, et al. Mutation spectrum in a large cohort of unrelated consecutive patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Genet.* 2003;64:339-349.
209. Van Driest SL, Ellsworth EG, Ommen SR, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Prevalence and spectrum of thin filament mutations in an outpatient referral population with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2003;108:445-451.

210. Van Driest SL, Jaeger MA, Ommen SR, et al. Comprehensive analysis of the beta-myosin heavy chain gene in 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:602-610.
211. Olivotto I, Girolami F, Ackerman MJ, et al. Myofilament protein gene mutation screening and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc.* 2008;83:630-638.
212. Garcia-Castro M, Coto E, Reguero JR, et al. [Mutations in sarcomeric genes MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, and TPM1 in patients with hypertrophic cardiomyopathy]. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62:48-56.
213. Andersen PS, Havndrup O, Hougs L, et al. Diagnostic yield, interpretation, and clinical utility of mutation screening of sarcomere encoding genes in Danish hypertrophic cardiomyopathy patients and relatives. *Hum Mutat.* 2009;30:363-370.
214. Laredo R, Monserrat L, Hermida-Prieto M, et al. [Beta-myosin heavy-chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy]. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59:1008-1018.
215. Rodriguez-Garcia MI, Monserrat L, Ortiz M, et al. Screening mutations in myosin binding protein C3 gene in a cohort of patients with Hypertrophic Cardiomyopathy. *BMC Med Genet.* 2010;11:67.
216. Millat G, Bouvagnet P, Chevalier P, et al. Prevalence and spectrum of mutations in a cohort of 192 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Med Genet.* 2010;53:261-267.
217. Waldmuller S, Erdmann J, Binner P, et al. Novel correlations between the genotype and the phenotype of hypertrophic and dilated cardiomyopathy: results from the German Competence Network Heart Failure. *Eur J Heart Fail.* 2011;13:1185-1192.
218. Brito D, Miltenberger-Miltenyi G, Vale Pereira S, Silva D, Diogo AN, Madeira H. Sarcomeric hypertrophic cardiomyopathy: genetic profile in a Portuguese population. *Rev Port Cardiol.* 2012;31:577-587.
219. Gruner C, Ivanov J, Care M, et al. Toronto hypertrophic cardiomyopathy genotype score for prediction of a positive genotype in hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2013;6:19-26.
220. Zou Y, Wang J, Liu X, et al. Multiple gene mutations, not the type of mutation, are the modifier of left ventricle hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Mol Biol Rep.* 2013;40:3969-3976.
221. Csanády M, Sepp R, Blazsó P, et al. Low prevalence of beta myosin heavy chain gene mutations in Hungarian patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Ital Heart J.* 2003;4:135S.
222. Blazsó P, Sepp R, Polgár N, et al. A troponin I gén mutációanalízise hypertrophiás cardiomyopathiában. *Cardiologica Hungarica.* 2003;33:A73.
223. Rácz P, Sepp R, Blazsó P, et al. A troponin T gén mutációelemzése magyar hypertrophiás cardiomyopathiás betegekben. *Cardiologica Hungarica.* 2003;33:A72.
224. Ingles J, Doolan A, Chiu C, Seidman J, Seidman C, Semsarian C. Compound and double mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy: implications for genetic testing and counselling. *J Med Genet.* 2005;42:e59.
225. Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S, et al. Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy [see comments]. *N Engl J Med.* 1998;338:1248-1257.
226. Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, et al. Lifelong left ventricular remodeling of hypertrophic cardiomyopathy caused by a founder frameshift deletion mutation in the cardiac myosin-binding protein C gene among Japanese. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:1737-1743.
227. Charron P, Dubourg O, Desnos M, et al. Clinical Features and Prognostic Implications of Familial Hypertrophic Cardiomyopathy Related to the Cardiac Myosin-Binding Protein C Gene. *Circulation.* 1998;97:2230-2236.
228. Lopes LR, Rahman MS, Elliott PM. A systematic review and meta-analysis of genotype-phenotype associations in patients with hypertrophic cardiomyopathy caused by sarcomeric protein mutations. *Heart.* 2013;99:1800-1811.

229. Watkins H, Rosenzweig A, Hwang DS, et al. Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 1992;326:1108-1114.
230. Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, et al. Mutations in the genes for cardiac troponin T and alpha-tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 1995;332:1058-1064.
231. Maron BJ, Niimura H, Casey SA, et al. Development of left ventricular hypertrophy in adults in hypertrophic cardiomyopathy caused by cardiac myosin-binding protein C gene mutations. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38:315-321.
232. Alpert NR, Mohiddin SA, Tripodi D, et al. Molecular and phenotypic effects of heterozygous, homozygous, and compound heterozygote myosin heavy-chain mutations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:H1097-1102.
233. Girolami F, Ho CY, Semsarian C, et al. Clinical features and outcome of hypertrophic cardiomyopathy associated with triple sarcomere protein gene mutations. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:1444-1453.
234. Marziliano N, Merlini PA, Vignati G, et al. A case of compound mutations in the MYBPC3 gene associated with biventricular hypertrophy and neonatal death. *Neonatology.* 2012;102:254-258.
235. Fujita T, Fujino N, Anan R, et al. Sarcomere gene mutations are associated with increased cardiovascular events in left ventricular hypertrophy: results from multicenter registration in Japan. *JACC Heart Fail.* 2013;1:459-466.
236. Li Q, Gruner C, Chan RH, et al. Genotype-positive status in patients with hypertrophic cardiomyopathy is associated with higher rates of heart failure events. *Circ Cardiovasc Genet.* 2014;7:416-422.
237. Charron P, Villard E, Sebillon P, et al. Danon's disease as a cause of hypertrophic cardiomyopathy: a systematic survey. *Heart.* 2004;90:842-846.
238. Dougu N, Joho S, Shan L, et al. Novel LAMP-2 mutation in a family with Danon disease presenting with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society.* 2009;73:376-380.
239. Echaniz-Laguna A, Mohr M, Epailly E, et al. Novel Lamp-2 gene mutation and successful treatment with heart transplantation in a large family with Danon disease. *Muscle & nerve.* 2006;33:393-397.
240. Taylor MR, Ku L, Slavov D, et al. Danon disease presenting with dilated cardiomyopathy and a complex phenotype. *J Hum Genet.* 2007;52:830-835.
241. Yang Z, McMahon CJ, Smith LR, et al. Danon disease as an underrecognized cause of hypertrophic cardiomyopathy in children. *Circulation.* 2005;112:1612-1617.
242. Boucek D, Jirikowic J, Taylor M. Natural history of Danon disease. *Genet Med.* 2011;13:563-568.
243. Kotanko P, Kramar R, Devrnja D, et al. Results of a nationwide screening for Anderson-Fabry disease among dialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1323-1329.
244. Nakao S, Takenaka T, Maeda M, et al. An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med.* 1995;333:288-293.
245. Sachdev B, Takenaka T, Teraguchi H, et al. Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2002;105:1407-1411.
246. Ommen SR, Nishimura RA, Edwards WD. Fabry disease: a mimic for obstructive hypertrophic cardiomyopathy? *Heart.* 2003;89:929-930.
247. Chimenti C, Pieroni M, Morgante E, et al. Prevalence of Fabry disease in female patients with late-onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2004;110:1047-1053.
248. Morita H, Larson MG, Barr SC, et al. Single-gene mutations and increased left ventricular wall thickness in the community: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2006;113:2697-2705.
249. Monserrat L, Gimeno-Blanes JR, Marin F, et al. Prevalence of fabry disease in a cohort of 508 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:2399-2403.

250. Hagege AA, Caudron E, Damy T, et al. Screening patients with hypertrophic cardiomyopathy for Fabry disease using a filter-paper test: the FOCUS study. *Heart*. 2011;97:131-136.
251. Elliott P, Baker R, Pasquale F, et al. Prevalence of Anderson-Fabry disease in patients with hypertrophic cardiomyopathy: the European Anderson-Fabry Disease survey. *Heart*. 2011;97:1957-1960.
252. Richards S, Aziz N, Bale S, 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. *Genet Med*. 2015;17:405-424.
253. Holmgren G, Hellman U, Anan I, et al. Cardiomyopathy in Swedish patients with the Gly53Glu and His88Arg transthyretin variants. *Amyloid*. 2005;12:184-188.
254. Hellman U, Lundgren HE, Westermarck P, et al. A genealogical and clinical study of the phenotypical variation within the Swedish transthyretin His88Arg (p. His108Arg) amyloidosis family. *Eur J Med Genet*. 2015;58:211-215.
255. Mizuguchi M, Yokoyama T, Nabeshima Y, Kawano K, Tanaka I, Niimura N. Quaternary structure, aggregation and cytotoxicity of transthyretin. *Amyloid*. 2012;19 Suppl 1:5-7.
256. Yokoyama T, Mizuguchi M, Nabeshima Y, et al. Hydrogen-bond network and pH sensitivity in transthyretin: Neutron crystal structure of human transthyretin. *J Struct Biol*. 2012;177:283-290.
257. Booth DR, Stangou A, Williams RS, Gillmore JD, Tennent GA, Hawkins PN. Transthyretin Ile84Thr is associated with familial amyloid polyneuropathy. *Hum Mutat*. 2000;16:447.
258. Liepnieks JJ, Wilson DL, Benson MD. Biochemical characterization of vitreous and cardiac amyloid in Ile84Ser transthyretin amyloidosis. *Amyloid*. 2006;13:170-177.
259. Nakamura M, Hamidi Asl K, Benson MD. A novel variant of transthyretin (Glu89Lys) associated with familial amyloidotic polyneuropathy. *Amyloid*. 2000;7:46-50.
260. Redondo C, Damas AM, Olofsson A, Lundgren E, Saraiva MJ. Search for intermediate structures in transthyretin fibrillogenesis: soluble tetrameric Tyr78Phe TTR expresses a specific epitope present only in amyloid fibrils. *J Mol Biol*. 2000;304:461-470.
261. Palmieri Lde C, Lima LM, Freire JB, et al. Novel Zn<sup>2+</sup>-binding sites in human transthyretin: implications for amyloidogenesis and retinol-binding protein recognition. *J Biol Chem*. 2010;285:31731-31741.
262. Gouvea IE, Kondo MY, Assis DM, et al. Studies on the peptidase activity of transthyretin (TTR). *Biochimie*. 2013;95:215-223.
263. Liz MA, Leite SC, Juliano L, et al. Transthyretin is a metallopeptidase with an inducible active site. *Biochem J*. 2012;443:769-778.
264. Jacobson DR, Alves IL, Saraiva MJ, Thibodeau SN, Buxbaum JN. Transthyretin Ser 6 gene frequency in individuals without amyloidosis. *Hum Genet*. 1995;95:308-312.
265. Connors LH, Lim A, Prokaeva T, Roskens VA, Costello CE. Tabulation of human transthyretin (TTR) variants, 2003. *Amyloid*. 2003;10:160-184.
266. Tristani-Firouzi M, Etheridge SP. Kir 2.1 channelopathies: the Andersen-Tawil syndrome. *Pflugers Arch*. 2010;460:289-294.
267. Yoon G, Oberoi S, Tristani-Firouzi M, et al. Andersen-Tawil syndrome: prospective cohort analysis and expansion of the phenotype. *American journal of medical genetics. Part A*. 2006;140:312-321.
268. Kimura H, Zhou J, Kawamura M, et al. Phenotype variability in patients carrying KCNJ2 mutations. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012;5:344-353.
269. Fernlund E, Lundin C, Hertvig E, Kongstad O, Alders M, Platonov P. Novel mutation in the KCNJ2 gene is associated with a malignant arrhythmic phenotype of Andersen-Tawil syndrome. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2013;18:471-478.
270. Plaster N, al. e. Mutations in Kir2.1 cause the developmental and episodic electrical phenotypes of Andersen's syndrome. *Cell*. 2001;105:511-519.
271. Fodstad H, Swan H, Auberson M, et al. Loss-of-function mutations of the K<sup>+</sup> channel gene KCNJ2 constitute a rare cause of long QT syndrome. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2014;37(2):593-602.

272. Pegan S, Arrabit C, Zhou W, et al. Cytoplasmic domain structures of Kir2.1 and Kir3.1 show sites for modulating gating and rectification. *Nat Neurosci.* 2005;8:279-287.
273. Bendahhou S, Donaldson MR, Plaster NM, Tristani-Firouzi M, Fu YH, Ptacek LJ. Defective potassium channel Kir2.1 trafficking underlies Andersen-Tawil syndrome. *J Biol Chem.* 2003;278:51779-51785.
274. Ma D, Tang XD, Rogers TB, Welling PA. An andersen-Tawil syndrome mutation in Kir2.1 (V302M) alters the G-loop cytoplasmic K<sup>+</sup> conduction pathway. *J Biol Chem.* 2007;282:5781-5789.
275. Arning L. The search for modifier genes in Huntington disease - Multifactorial aspects of a monogenic disorder. *Mol Cell Probes.* 2016.
276. Vo AH, McNally EM. Modifier genes and their effect on Duchenne muscular dystrophy. *Curr Opin Neurol.* 2015;28:528-534.
277. Lander E, Kruglyak L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet.* 1995;11:241-247.
278. Caminsky N, Mucaki EJ, Rogan PK. Interpretation of mRNA splicing mutations in genetic disease: review of the literature and guidelines for information-theoretical analysis. *F1000Res.* 2014;3:282.
279. Johnson JP, Jr., Zagotta WN. The carboxyl-terminal region of cyclic nucleotide-modulated channels is a gating ring, not a permeation path. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:2742-2747.
280. Lolicato M, Nardini M, Gazzarrini S, et al. Tetramerization dynamics of C-terminal domain underlies isoform-specific cAMP gating in hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels. *J Biol Chem.* 2011;286:44811-44820.
281. Ulens C, Siegelbaum SA. Regulation of hyperpolarization-activated HCN channels by cAMP through a gating switch in binding domain symmetry. *Neuron.* 2003;40:959-970.
282. Schweizer PA, Duhme N, Thomas D, et al. cAMP sensitivity of HCN pacemaker channels determines basal heart rate but is not critical for autonomic rate control. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2010;3:542-552.
283. Quintana M, Storck N, Lindblad LE, Lindvall K, Ericson M. Heart rate variability as a means of assessing prognosis after acute myocardial infarction. A 3-year follow-up study. *Eur Heart J.* 1997;18:789-797.
284. Vaishnav S, Stevenson R, Marchant B, Lagi K, Ranjadayalan K, Timmis AD. Relation between heart rate variability early after acute myocardial infarction and long-term mortality. *Am J Cardiol.* 1994;73:653-657.
285. Zuanetti G, Neilson JM, Latini R, Santoro E, Maggioni AP, Ewing DJ. Prognostic significance of heart rate variability in post-myocardial infarction patients in the fibrinolytic era. The GISSI-2 results. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell' Infarto Miocardico. *Circulation.* 1996;94:432-436.
286. Huikuri HV, Makikallio TH, Peng CK, Goldberger AL, Hintze U, Moller M. Fractal correlation properties of R-R interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000;101:47-53.
287. Stein PK, Domitrovich PP, Hui N, Rautaharju P, Gottdiener J. Sometimes higher heart rate variability is not better heart rate variability: results of graphical and nonlinear analyses. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2005;16:954-959.
288. Bergfeldt L, Haga Y. Power spectral and Poincare plot characteristics in sinus node dysfunction. *J Appl Physiol (1985).* 2003;94:2217-2224.
289. Agarwal SC, Purcell IF, Furniss SS. Apical myocardial injury caused by collateralisation of a septal artery during ethanol septal ablation. *Heart.* 2005;91:e2.
290. Parham WA, Kern MJ. Apical infarct via septal collateralization complicating transluminal alcohol septal ablation for hypertrophic cardiomyopathy. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2003;60:208-211.
291. Antolinos Perez MJ, de la Morena Valenzuela G, Gimeno Blanes JR, Cerdan Sanchez Mdel C, Hurtado Martinez JA, Valdes Chavarri M. [Balloon rupture and alcohol leakage into the left anterior descending coronary artery during percutaneous septal ablation for hypertrophic obstructive cardiomyopathy]. *Rev Esp Cardiol.* 2005;58:872-874.

292. Keren A, Poteckin M, Mazouz B, et al. Late in-hospital pressure gradient measurements improve prediction of long-term outcome of alcohol septal ablation in hypertrophic cardiomyopathy. *Isr Med Assoc J.* 2007;9:239-242.
293. Pijls NH, Uijen GJ, Hoevelaken A, et al. Mean transit time for the assessment of myocardial perfusion by videodensitometry. *Circulation.* 1990;81:1331-1340.
294. Haude M, Caspari G, Baumgart D, et al. X-ray densitometry for the measurement of regional myocardial perfusion. *Basic Res Cardiol.* 2000;95:261-270.
295. Molloy S, Zhou Y, Kassab GS. Regional volumetric coronary blood flow measurement by digital angiography: in vivo validation. *Acad Radiol.* 2004;11:757-766.
296. Wong JT, Ducote JL, Xu T, Hassanein MT, Molloy S. Automated technique for angiographic determination of coronary blood flow and lumen volume. *Acad Radiol.* 2006;13:186-194.
297. Korosoglou G, Haars A, Michael G, et al. Quantitative evaluation of myocardial blush to assess tissue level reperfusion in patients with acute ST-elevation myocardial infarction: incremental prognostic value compared with visual assessment. *Am Heart J.* 2007;153:612-620.
298. Porto I, Hamilton-Craig C, De Maria GL, et al. Quantitative Blush Evaluator accurately quantifies microvascular dysfunction in patients with ST-elevation myocardial infarction: comparison with cardiovascular magnetic resonance. *Am Heart J.* 2011;162:372-381 e372.
299. Abate E, Hoogslag GE, Antoni ML, et al. Value of three-dimensional speckle-tracking longitudinal strain for predicting improvement of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2012;110:961-967.
300. Hayat D, Kloeckner M, Nahum J, et al. Comparison of real-time three-dimensional speckle tracking to magnetic resonance imaging in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol.* 2012;109:180-186.
301. Baccouche H, Maunz M, Beck T, Fogarassy P, Beyer M. Echocardiographic assessment and monitoring of the clinical course in a patient with Tako-Tsubo cardiomyopathy by a novel 3D-speckle-tracking-strain analysis. *Eur J Echocardiogr.* 2009;10:729-731.
302. Baccouche H, Maunz M, Beck T, et al. Differentiating cardiac amyloidosis and hypertrophic cardiomyopathy by use of three-dimensional speckle tracking echocardiography. *Echocardiography.* 2012;29:668-677.
303. Tsuji T, Tanaka H, Matsumoto K, et al. Capability of three-dimensional speckle tracking radial strain for identification of patients with cardiac sarcoidosis. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2013;29:317-324.
304. Arnemann J, Sullivan KH, Magee AI, King IA, Buxton RS. Stratification-related expression of isoforms of the desmosomal cadherins in human epidermis. *J Cell Sci.* 1993;104 ( Pt 3):741-750.
305. Gourdie RG, Severs NJ, Green CR, Rothery S, Germroth P, Thompson RP. The spatial distribution and relative abundance of gap-junctional connexin40 and connexin43 correlate to functional properties of components of the cardiac atrioventricular conduction system. *J Cell Sci.* 1993;105 ( Pt 4):985-991.
306. Thomas J, Epshtein Y, Chopra A, et al. Anthrax lethal factor activates K(+) channels to induce IL-1beta secretion in macrophages. *J Immunol.* 2011;186:5236-5243.
307. Brubaker PH, Kitzman DW. Chronotropic incompetence: causes, consequences, and management. *Circulation.* 2011;123:1010-1020.

## Köszönetnyilvánítás

„Senki sem különálló sziget...”

Egy MTA Doktori Értekezésben összefoglalt kutatómunka minden esetben számos közreműködő közös eredménye. Jómagam is számtalan embernek tartozom hálával, mind a professzionális, mind a magánélet területén. Nekik köszönhető, hogy ez az értekezés egyáltalán megszülethetett.

A Szegedi Tudományegyetem Patológiai Intézetéből **Prof. Dr. Ormos Jenő** bátorítására kerültem ki Japánba, a Kagawa Medical School 2. sz. Patológiai Intézetébe, ahol **Prof. Hirotsugu Uda** és **Prof. Haruhiko Sakamoto** irányításával kapcsolódhattam be az ott folyó kutatómunkába. A patológia területén későbbiekben **Prof. Dr. Iványi Béla** professzionális segítségére mindig számíthattam. Mindezekért el nem múló hálával tartozom.

Japánból való visszatérésem után kerültem át a **Prof. Dr. Csanády Miklós** által vezetett SZTE II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központba. Tőle nem csak a klinikai kardiológia alapjait sajátíthattam el, de bekerülhettem az általa irányított cardiomyopathia kutatás rendkívül izgalmas világába. Ösztönző segítségével alakulhatott meg az a molekuláris genetikai laboratórium, ahol Magyarországon először indulhattak el molekuláris genetikai kutatások a cardiomyopathiák és ioncsatorna betegségek területén. Bölcs tanácsaira, hosszú konzultációinkra és éles meglátásaira mindig emlékezni fogok. A későbbiekben jelenlegi intézetvezetőm, **Prof. Dr. Forster Tamás** hathatós és baráti támogatására mindig támaszkodhattam, az eredményes kutató és klinikai munka minden feltételét biztosította számomra.

A londoni University College London-ban **Robert Gourdie** segítségét köszönöm. A St. Georges Hospital Medical School-ban töltött tanulmányutam alatt a cardiomyopathia kutatás legnagyobb szaktekintélye, **Prof. William McKenna** volt a mesterem. Ő tanított meg arra, hogy a kutatás nem metodika, hanem mindig betegközpontú kell, hogy legyen. Ez a szemlélet örökre beivódott a látásmódomba, melyért hálával tartozom. A padovai éveim alatt kutatómunkámat **Prof. Gian Antonio Danieli** és **Alessandra Rampazzo** irányította, mely meghatározó szakmai élményt adott. Az alkoholos septalis ablatio technikáját **Prof. Hubert Seggewiss**-től és **Dr. Angelos Rigopoulos**-tól sajátítottam el, kikkel nem csak gyümölcsöző tudományos együttműködés, hanem szoros emberi barátság is kialakult.

A szegedi II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központban a kezdetektől számtalan kolléga, asszisztensnő, és ápolónő volt segítségemre abban, hogy kutatómunkámat zavartalanul végezhessem. Külön kiemelem **Prof. Dr. Hógye Márta**, **Dr. Ungi Imre**, **Dr. Sággy László**, **Dr. Dongó Ágnes**, **Dr. Jebelovszki Éva**, és **Dr. Gavallér Henriette** hathatós támogatását.

A számos együttműködő partner közül **Dr. Szabó Ildikó**, **Prof. Dr. Varró András**, **Dr. Pálincás Attila**, **Hegedűs Zoltán**, **Nagy István**, és **Ördög Balázs** nevét kell feltétlenül kiemelnem.

Végzett és jelenlegi PhD és TDK hallgatóim, **Dr. Blaszó Péter**, **Lidia Hategan**, **Tóth Tímea**, **Csányi Beáta**, **Dr. Borbás János**, **Dr. Tringer Annamária**, **Dr. Kákonyi Kornél** és **Dr. Szabó Lili** állandó inspirációt és motivációt jelentettek a kutatómunka során.

Köszönettel tartozom asszisztensnőimnek, **Varga Péterné Nellynek**, **Szendrényiné Macának** és külön kiemelve **Molnárné Klárinak**, hogy a laboratóriumi munka napi szintű irányításában nélkülözhetetlen segítségemre voltak és akik színvonalas közreműködése nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre.

Végül, és egyáltalán nem utolsósorban, a legnagyobb hálával szeretteimnek tartozom. Nem tudom eléggé megköszönni **szüleimnek**, **testvéreimnek**, **Vikinek** és fiaimnak, **Kristófnak** és **Máténak**, hogy el nem múló szeretettel kísérték az élet folyamán, hogy erőt adtak, és hogy szerető segítségükre minden körülmények között támaszkodhattam.

## APPENDIX I. Intercelluláris junkciók eltéréseinek vizsgálata hypertrophiás cardiomyopathiában

Az intercelluláris junkciók immunfestése

### *Dezmoszóma antitestek*

A dezmoszóma jelölésére dezmozoplakin (a dezmoszóma integráns alkotórészei) ellenes antitesteket használtunk (DP145 és DP121). A DP145 és DP121 antitestek különböző nyulakból származó polyclonális antitestek voltak, melyek a dezmozoplakin C terminusán elhelyezkedő C régió egészét ill. a B régió felét tartalmazó trpE bakteriális fúziós fehérje ellen lett termeltetve. A DP 145 antitest specificitásának immunohisztokémiai és Western blot karakterizációját emlős epidermális és szívizomszövetet illetően lsd. Arnemann et al.<sup>304</sup>

### *Gap junction antitestek*

A szívizomzat fő connexin fehérjéje, a connexin 43 jelölésére egy polyclonális gap junction antitestet (HJ) használtunk, mely a patkány connexin 43 cytoplazmatikus hurokjának 131-142-es régiója ellen nyúlban termeltetett antitest volt. A HJ antitest humán connexin 43 jelölésének jellemzését és specificitását laboratóriumunkból származó korábbi közleményeinkben ismertettük.<sup>168, 305</sup> A kettős festésekben alkalmazott monoklonális egér connexin43 antitest patkány connexin 43 C terminális részén elhelyezkedő 252-270 régiója ellen termeltetett antitest volt (Zymed Laboratories Inc, South San Francisco, CA, USA). A gyártó igazolta az antitest specifikusságát immunoblott alkalmazásával. Ennek az antitestnek a gap junction-ök specifikus immunohisztokémiai jelölésekben való felhasználását illetően lsd. Gourdie et al.<sup>305</sup>

### *Egyes jelölésű immunohisztokémia*

A szövetminták előkészítése és jelölése mindhárom antigén esetében hasonló, és mindhárom antitest használatát illetően optimalizált volt. A formalinban fixált és paraffinba ágyazott szövetminták alkalmazhatóságának céljából az antigén feltárási eljárásokat optimalizáltuk, korábbi paraformaldehid- és metanol-fixált szövetmintákon használt metodikák modifikálásával.<sup>305</sup> A paraffinba ágyazott 5 µm vastag szövetmintákat de-paraffináltuk és rehydráltuk. Antigén feltárási céljából a metszeteket közönséges 800W mikrohullámú sütőben közepes erősségen mikrohullám expozíciónak tettük ki 0.5 M thiocarbamide pufferben (3x5 perc a HJ, 2x5 perc a DP145 vagy DP121 antitestek esetében) majd 0.1% trypsinben (Sigma, St Louis, MI, USA) emésztés történt 0.1% CaCl<sub>2</sub> és 20 mM Tris (pH 7.4) pufferben, szobahőmérsékleten (15 perc a HJ, 10 perc a DP145 vagy DP121 antitestek esetében). A mintákat csapvízben mostuk, majd 0.1 M L-lysin-nel kezeltük 0.1% Triton X-100-et tartalmazó PBS-ben (phosphate buffered saline). A PBS-ben 1:200 hígításban használt HJ és DP145 vagy DP121 elsődleges antitestekkel való inkubáció szobahőmérsékleten történt egy éjszakán keresztül. A metszetek PBS-ben való mosás után biotinylált őszvér anti-nyúl szekunder antitesttel kezeltük (1:250 hígítás, Amersham, Buckinghamshire, UK) 1 órán keresztül. PBS-ben való mosás után a metszeteket streptavidin-fluorescein-isothiocyanát-tal (1:250 hígítás, Amersham, Buckinghamshire, UK) kezeltük egy órán keresztül, sötétkamrában, szobahőmérsékleten. PBS-ben történő végső mosás után a metszetek Citifluor médiumban (Citifluor, City University, London, UK) lettek felvéve.

### *Kettős jelölésű immunhisztokémia*

A korábbiakban részletezett de-paraffinálás, rehydrálás és antigén feltárási lépések után (ld. fentebb) a metszeteket egér monoklonális anti-connexin 43 (Zymed; 1:200 hígítás) és polyclonális nyúl anti-dezmoplakin (DP 121; 1:100 hígítás) antitesteket tartalmazó koktéllal inkubáltuk egy éjszakán keresztül. Ezt követően, PBS-ben történt öblítés után, disznó anti-nyúl rhodamine konjugált antitest (DAKO A/S, Glostrup, Denmark, 1:40 hígítás) és biotinyllált öszvér anti-nyúl antitest (Amersham, Buckinghamshire, UK, 1:250 hígítás) elegyével kezeltük egy órán keresztül. PBS-ben való mosás után a metszeteket streptavidin-fluorescein-isothiocyanát-tal (DAKO A/S, Glostrup, Denmark, 1:250 hígítás) kezeltük egy órán keresztül, szobahőmérsékleten, majd Citifluor médiumban (Citifluor, City University, London, UK) való felvétel történt.

### *Az immunhisztokémiai reakciók mikroszkópos vizsgálata*

A megfestett metszeteket konvencionális epifluorescens vagy konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk Leica TCS 4D konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal a gyártó ajánlása szerint (Leica Lasertechnik GmbH, Heidelberg, Germany). Egyes síkú vizsgálatok mellett, optikai sorozatfelvételek történtek 1  $\mu$ m vastagságban a szövetminta teljes mélységében. Az optikai sorozatfelvételeket különállóan vagy az egész intercalaris discust rekonstruálva, egymásra szuperponálva is vizsgáltuk. Az immunhisztokémia és standard szövettan összehasonlítása céljából, hematoxilin-eozinnal festett identikus metszeteket is vizsgáltunk fénymikroszkópos vizsgálattal.

## APPENDIX II. Repolarizációs paraméterek vizsgálata hypertrophiás cardiomyopathiában

### *Electrocardiographia*

A betegeken öt perc időtartamú, folyamatos, 12-elvezetéses EKG regisztrálása történt fekvő állapotban, a mozgási műtermékek kiszűrése céljából. Mindegyik elvezetés EKG jele 2000 Hz-es mintavételi sebességgel digitalizálásra került egy többcsatornás, számítógéphez kötött adatfeldolgozó rendszerrel (Cardiosys A01 software, Experimetria Ltd., Budapest, Hungary; MDE Heidelberg GMBH, Heidelberg, Germany). Az EKG felvételek analízise off-line történt.

A repolarizációs paraméterek közül a következőket elemeztük: 1) a szívfrekvenciára korrigált QT távolság (QTc), melyet különböző korrekciós módszerekkel számoltunk [Bazett formula:  $QTc = QT / \sqrt{RR}$ ; Fridericia formula:  $QTc = QT / [RR/1000]^{1/3}$ ; Framingham formula:  $QTc = QT + [0.154 * (1000 - RR)]$ ; Hodges formula:  $QTc = QT + 1.75 * (60000 / RR - 60)$ ]; 2) QT diszperzió (QTd), 3) PQ és QRS intervallum; 4) a T hullám csúcsától a T hullám végéig számított T hullám terminális része (Tpeak-Tend) és 5) a QT intervallum rövid távú variabilitása (QT-STV).

Az RR, QT és Tpeak-Tend intervallumokat 30 egymást követő ütésnél (a variabilitási számításokhoz szükséges legkevesebb ütésszám) automatikusan mértük. Az automatikus méréseket ellenőriztük, ill. szükség szerint manuálisan korrigáltuk. A paramétereket a 30 ütés átlagából számítottuk. A QT távolság szívfrekvenciára való korrekcióját a Bazett, Fridericia, Framingham és Hodges képletek szerint számítottuk, és a QTc távolság az összes mért QTc távolság átlagaként lett meghatározva. Miután a QTc értékei nem különböztek szignifikánsan bármely korrekciós formulával meghatározott QTc távolságokat illetően, a későbbiekben a Bazett formulával korrigált QTc értékét használtuk. A PQ és QRS intervallumok 15 egymást követő ütés átlagaként lettek meghatározva. Mindegyik mérést a standard II-es elvezetésben végeztünk, technikailag nem megfelelő felvétel esetén a V5 elvezetésben.

A repolarizáció időbeli instabilitásának jellemzésére a QT intervallumokat Poincaré' plot-ban ábrázoltuk, ahol minden egyes QTc értéket az előző QTc érték függvényében ábrázoltunk. A QT-STV értékét a következő képlettel számítottuk ki:  $QT-STV = \sum |D_{n+1} - D_n| / (30 \times \sqrt{2})$ , ahol D a QT intervallum tartamát jelöli. A QT-STV ezen értéke a Poincaré' plot identikus vonalától számított átlagos különbséget jelzi.

A kórtörténet vagy klinikai dokumentáció szerint szignifikáns komorbiditással rendelkező betegek kizárásra kerültek a vizsgálatból [pl. ismert coronaria betegség, súlyos COPD, pulmonális embólia, primer pulmonális hypertonia, billentyűbetegség, pericardialis betegség, veseelégtelenség (szérum creatinine >2 mg/dl), anemia (hemoglobin <11 g/dl)]. Minden komplett bal Tawara szár blokkal, sinus ritmustól eltérő ritmussal (pl. pitvarfibrilláció, pace-maker ritmus), excesszív (>5%) pitvari vagy kamrai ektópiás ütéssel rendelkező, vagy technikailag nem kielégítő felvétellel rendelkező beteget szintén kizártunk

a vizsgálatból. A betegek nem étkeztek 3 órával, nem ittak alkoholt vagy kávé és nem dohányoztak 1 órával a felvételt megelőzően.

### *Echocardiographia*

Az összes HCM betegben és kontrollban transthoracikus echocardiographia történt. A két-dimenziós echocardiographiás felvételek egy közforgalomban elérhető Toshiba Powervision 8000 echocardiographiás berendezéssel készültek, standard képalkotó síkokban, melyekből hagyományos morfológiai és funkcionális paramétereket határoztunk meg [bal kamrai végszisztolés átmérő (left ventricular end-systolic diameter, LVESD), bal kamrai végdiasztolés átmérő (left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD), ejekciós frakció (EF), bal pitvari átmérő (left atrial diameter, LA), nyugalmi bal kamra kifolyótraktus (left ventricular outflow tract, LVOT) csúcsgradiens. A maximális bal kamra falvastagság (left ventricular wall thickness, LVmax) a bármely bal kamrai szegmentumban mért legnagyobb fal átmérőként lett meghatározva. Az LVmax értékét a testfelszínre normalizáltuk (LVmax BSA).

### *Szív MRI*

Minden HCM-es betegben szív mágneses rezonancia vizsgálat történt a bal kamrai izomtömeg meghatározása céljából. Az MRI vizsgálatok fekvő helyzetben történtek egy közforgalomban elérhető 1.5T szkennelrel (Signa Excite HDxT, GE Medical Systems). Szekvenciális gradiens-echo rövid tengelyű cine felvételek (bázistól a csúcsig, szeletvastagság: 8 mm; látómező: 43 mm; mátrix: 224x224; repetíciós idő: 100 msec) a bal kamra teljes hosszát lefedve készültek légzésvisszatartott fázisokban. Hossztengelyi metszetek (2-, 3- és 4-üregi felvételek) szintén felvételre kerültek. A felvételek EKG triggerelt módon készültek. A gradiens-echo rövid-tengelyi felvételeket használtuk a bal kamrai izomtömeg kiszámítására a manuálisan meghatározott endo- és epicardiális határok megrajzolásával planimetriával, a bal kamra teljes hosszában. A méréseket mind végszisztolében, mind végdiasztolében elvégeztük az EF értékét kiszámítandó. A papilláris izmok nem kerültek beszámításra a bal kamrai izomtömegbe. Az LVM-et szintén normalizáltuk a testfelszínre.

### *Statisztika*

Minden paramétert átlag±szórás (SD) formában fejeztünk ki. A vizsgálat változóinak összehasonlítását a HCM-es és kontroll csoport között kétmintás Student *t* próbával végeztük normális eloszlást mutató változók esetén. A normális eloszlást a Kolmogorov-Smirnov teszttel ellenőriztük. Két változó közötti korrelációt a Pearson-féle korrelációs koefficienssel (*r*) fejeztük ki. A statisztikai számításokat a MedCalc software csomaggal végeztük (ver. 14.12.0). A szignifikáns különbséget  $p < 0.05$  szinten fogadtuk el.

### APPENDIX III. A genetikai vizsgálatok részletes metodológiája

A genetikai vizsgálatokhoz a DNS izolálás perifériás vérmintából, standard metodikák felhasználásával történt (GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Kit, Thermo Scientific).

#### *Polimeráz láncreakció (PCR)*

A minta DNS-ekből a vizsgált gének teljes kódoló szekvenciáját és szomszédos intronikus régióit polimeráz láncreakcióval amplifikáltuk (Mastercycler Gradient, Eppendorf AG, Hamburg, Németország), az irodalomban közölt specifikus primer párokkal. A mintákat általában 25 µl térfogatú PCR reakcióban, 100 ng templát DNS-t használva, egyedi, optimalizált PCR protokollal amplifikáltuk. A következő gének vizsgálatára került sor:

- *MYBPC3* gén (1-35 exonok)
- *LAMP2* (1-9 exonok)
- *GLA* (1-7 exonok)
- *TTR* (1-4 exonok)
- *KCNJ2* (1-2 exonok)

#### *Mutációsűrés a MYBPC3 gén esetén*

A *MYBPC3* gén esetében 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. A DHPLC analízis Helix (Varian Inc, Palo Alto, USA) DHPLC berendezésen történt. Az optimális olvasási hőmérsékletet mindegyik specifikus PCR fragmentumra a DHPLC Melt Program segítségével határoztuk meg (<http://insertion.stanford.edu/melt.html>). A PCR után a denaturált mintákat lassú (1°C/min) hűtéssel renaturáltuk. A minták elúciós görbéit a berendezés saját programjával (Star Reviewer, version 2.0) értékeltük.

#### *Szekvenálás*

A PCR produktumok direct szekvenálásra kerültek (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems) ABI Prism 310 Genetic Analyzer-en (Applied Biosystems). Az elektroferogramokat a gyártó Sequencing Analyzer v5.4 szoftverével analizáltuk.

#### *Új generációs szekvenálás*

Az újgenerációs szekvenálás során az ismert ioncsatorna betegségeket okozó géneket vizsgáltuk célzott újraszekvenálással. A vizsgált gének részletes listája az APPENDIX IV-ben található. Utóbbi az Agilent 'SureSelect' technológiát használja egyedi tervezésű, célrégió specifikus 120 bp. hosszú RNS 'bait'-ekkel (Agilent Technologies, Santa Clara,

CA, United States). A sokszorosított DNS szekvenálását SOLiD 5500xl System-el (Life Technologies, Grand Island, NY, United States) végeztük. A SOLiD read-ek mapping-jét a Genomic Workbench ver 7.0.3-al (CLC Bio, Qiagen) végeztük, a Human Genome Assembly hg19-et, mint referencia szekvenciát használva. A variáns lehvást és variáns annotáció ugyanezzel a szoftverrel készült. A misszensz mutációk által okozott aminosav cserék funkcionális hatását a a SIFT és PROVEAN predikciós programokkal elemeztük.

#### *Restrikciós fragmens analízis*

Amennyiben az azonosított mutáció restrikciós enzim felismerő helyét érintette, a mutációk jelenlétét restrikciós analízissel is igazoltuk.

- *LAMP2* c.962G>A mutáció: AlwNI enzim (5'-CAGNNNCTG-3')

- *LAMP2* c.973insC mutáció: BslI enzim (5'-CCNNNNNNNGG-3')

- *HCN4* c.1737+1 G>T mutáció: EcoNI (5'-CCTNNNNNAGG-3')

#### *Bioinformatika*

A báziseltérések értékelésénél ill. a mutációk értékeléséhez az European Molecular Biology Laboratory- European Bioinformatics Institute Ensemble adatbázisát használtuk ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)). A variánsok annotálásához az alábbi referencia szekvenciákat vettük alapul:

- *MYBPC3* gén: LRG\_386 (LRG\_386t1, LRG\_386p1).

- *LAMP2-001*: ENST00000200639

- *GLA-001*: ENST00000218516

- *TTR-001*: ENST00000237014.7. A *TTR* variánsok annotálását a *TTR* gén új nomenklaturája szerint végeztük (mely a 20 aminosavból álló szignál peptid fehérjét is figyelembe veszi).

- *KCNJ2*: ENST00000535240; ENSP00000441848

- *KCNQ1*: ENST00000155840.9

- *CACNA1C*: ENST00000399591.5

- *ANK2*: ENST00000264366.10; ENSG00000145362; LRG\_327p.1; LRG\_327t.1

- *HCN4*: ENST00000261917.3

A variánsok referenciáiként a National Centre for Biotechnology Information dbSNP adatbázisát (Single Nucleotide Polymorphism Database, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), míg a mutációk referenciáiként az Institute of Medical Genetics in Cardiff HGMD adatbázisát (Human Gene Mutation Database) használtuk.

### *Linkage analízis*

Amennyiben a vizsgált család mérete lehetővé tette 'linkage analízis'-t végeztünk a kapcsoltság mértékének numerikus kifejezésére ('logarithm of odds', LOD score). A 'linkage analízist' a FASTLINK program segítségével végeztük, az alábbi paraméterek használatával:

- *GLA* p.Ile239Met mutáció: a betegség allélfrekvenciája: 1:10.000, penetrancia: 90%.
- *HCN4* c.1737+1 G>T mutáció: betegség allélfrekvenciája: gyakorisága 5:1000; penetrancia: 90%

# APPENDIX IV. A célzott újraszekvenálás során lefedett ioncsatorna és ioncsatorna-asszociált gének listája

| Gén<br>szimbólum | Ensemble ID     | Ion csatorna                                                              |
|------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------|
| <i>ABCC9</i>     | ENSG00000069431 | ATP-binding Cassette, Sub-Family C (CFTR/MRP), Member 9                   |
| <i>AKAP9</i>     | ENSG00000127914 | A Kinase (PRKA) Anchor Protein 9                                          |
| <i>ANK2</i>      | ENSG00000145362 | Ankyrin 2, Neuronal                                                       |
| <i>ATP1A1</i>    | ENSG00000163399 | ATPase, Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> Transporting, Alpha 1 Polypeptide |
| <i>ATP1B1</i>    | ENSG00000143153 | ATPase, Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> Transporting, Beta 1 Polypeptide  |
| <i>ATP2A2</i>    | ENSG00000174437 | ATPase, Ca <sup>++</sup> Transporting, Cardiac Muscle, Slow Twitch 2      |
| <i>ATP2B4</i>    | ENSG00000058668 | ATPase, Ca <sup>++</sup> Transporting, Plasma Membrane 4                  |
| <i>CACNA1C</i>   | ENSG00000151067 | Calcium Channel, Voltage-Dependent, I type, Alpha 1C Subunit              |
| <i>CACNA1G</i>   | ENSG00000006283 | Calcium Channel, Voltage-Dependent, T Type, Alpha 1G Subunit              |
| <i>CACNA1H</i>   | ENSG00000196557 | Calcium Channel, Voltage-Dependent, Alpha 1H Subunit                      |
| <i>CACNA2D1</i>  | ENSG00000153956 | Calcium Channel, Voltage-Dependent, Alpha 2/Delta Subunit 1               |
| <i>CACNA2D2</i>  | ENSG00000007402 | Calcium Channel, Voltage-Dependent, Alpha 2/Delta Subunit 2               |
| <i>CACNB2</i>    | ENSG00000165995 | Calcium Channel, Voltage-Dependent, Beta 2 Subunit                        |
| <i>CALM1</i>     | ENSG00000198668 | Calmodulin 1 (phosphorylase kinase, delta)                                |
| <i>CALM3</i>     | ENSG00000160014 | Calmodulin 3                                                              |
| <i>CASQ1</i>     | ENSG00000143318 | Calsequestrin 1                                                           |
| <i>CASQ2</i>     | ENSG00000118729 | Calsequestrin 2                                                           |
| <i>CAV3</i>      | ENSG00000182533 | Caveolin 3                                                                |
| <i>CLCN3</i>     | ENSG00000109572 | Chloride Channel, Voltage-Sensitive 3                                     |
| <i>CLCN6</i>     | ENSG00000011021 | Chloride Channel, Voltage-Sensitive 6                                     |
| <i>CLCN7</i>     | ENSG00000103249 | Chloride Channel, Voltage-Sensitive 7                                     |
| <i>GJA1</i>      | ENSG00000152661 | Gap Junction Protein Alpha 1                                              |
| <i>GJA5</i>      | ENSG00000143140 | Gap Junction Protein Alpha 5                                              |
| <i>GPD1L</i>     | ENSG00000152642 | Glycerol-3-Phosphate Dehydrogenase 1-Like                                 |
| <i>HCN1</i>      | ENSG00000164588 | Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide-Gated Potassium Channel 1   |
| <i>HCN2</i>      | ENSG00000099822 | Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide-Gated Potassium Channel 2   |
| <i>HCN4</i>      | ENSG00000138622 | Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide-Gated Potassium Channel 4   |
| <i>KCNA2</i>     | ENSG00000177301 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Member 2       |
| <i>KCNA3</i>     | ENSG00000177272 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Member 3       |
| <i>KCNA4</i>     | ENSG00000182255 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Member 4       |
| <i>KCNA5</i>     | ENSG00000130037 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Member 5       |
| <i>KCNA6</i>     | ENSG00000151079 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Member 6       |
| <i>KCNA7</i>     | ENSG00000104848 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Member 7       |
| <i>KCNAB1</i>    | ENSG00000169282 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Beta Member 1  |
| <i>KCNAB2</i>    | ENSG00000069424 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Beta Member 2  |
| <i>KCNB1</i>     | ENSG00000158445 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaker-Related Subfamily, Member 1       |
| <i>KCNC4</i>     | ENSG00000116396 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shaw-Related Subfamily, Member 4         |
| <i>KCND1</i>     | ENSG00000102057 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shal-Related Subfamily, Member 1         |
| <i>KCND2</i>     | ENSG00000184408 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shal-Related Subfamily, Member 2         |
| <i>KCND3</i>     | ENSG00000171385 | Potassium Voltage-Gated Channel, Shal-Related Subfamily, Member 3         |
| <i>KCNE1</i>     | ENSG00000180509 | Potassium Voltage-Gated Channel, Isk-Related Family, Member 1             |
| <i>KCNE1L</i>    | ENSG00000176076 | Potassium Voltage-Gated Channel, Isk-Related Family, Member 1-Like        |

|               |                 |                                                                      |
|---------------|-----------------|----------------------------------------------------------------------|
| <i>KCNE2</i>  | ENSG00000159197 | Potassium Voltage-Gated Channel, Isk-Related Family, Member 2        |
| <i>KCNE3</i>  | ENSG00000175538 | Potassium Voltage-Gated Channel, Isk-Related Family, Member 3        |
| <i>KCNE4</i>  | ENSG00000152049 | Potassium Voltage-Gated Channel, Isk-Related Family, Member 4        |
| <i>KCNH2</i>  | ENSG00000055118 | Potassium Voltage-Gated Channel, Subfamily H (Eag-Related), Member 2 |
| <i>KCNIP2</i> | ENSG00000120049 | Potassium Voltage-Gated Channel Interacting Protein 2                |
| <i>KCNJ11</i> | ENSG00000187486 | Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 11        |
| <i>KCNJ12</i> | ENSG00000184185 | Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 12        |
| <i>KCNJ2</i>  | ENSG00000123700 | Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 2         |
| <i>KCNJ3</i>  | ENSG00000162989 | Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 3         |
| <i>KCNJ4</i>  | ENSG00000168135 | Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 4         |
| <i>KCNJ5</i>  | ENSG00000120457 | Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 5         |
| <i>KCNJ8</i>  | ENSG00000121361 | Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 8         |
| <i>KCNK1</i>  | ENSG00000135750 | Potassium Channel, Subfamily K, Member 1                             |
| <i>KCNK3</i>  | ENSG00000171303 | Potassium Channel, Subfamily K, Member 3                             |
| <i>KCNQ1</i>  | ENSG00000053918 | Potassium Voltage-Gated Channel, KQT-Like Subfamily, Member 1        |
| <i>PIAS3</i>  | ENSG00000131788 | Protein Inhibitor of Activated STAT, 3                               |
| <i>PLN</i>    | ENSG00000198523 | Phospholamban                                                        |
| <i>PPP3CA</i> | ENSG00000138814 | Protein Phosphatase 3 Catalytic Subunit Alpha                        |
| <i>RYR2</i>   | ENSG00000198626 | Ryanodine Receptor 2 (Cardiac)                                       |
| <i>SCN1B</i>  | ENSG00000105711 | Sodium Channel, Voltage-Gated, Type I, Beta Subunit                  |
| <i>SCN2B</i>  | ENSG00000149575 | Sodium Voltage-Gated Channel Beta Subunit 2                          |
| <i>SCN3B</i>  | ENSG00000166257 | Sodium Voltage-Gated Channel Beta Subunit 3                          |
| <i>SCN4B</i>  | ENSG00000177098 | Sodium Voltage-Gated Channel Beta Subunit 4                          |
| <i>SCN5A</i>  | ENSG00000183873 | Sodium Channel, Voltage-Gated, Type 5, Alpha Subunit                 |
| <i>SCN7A</i>  | ENSG00000136546 | Sodium Channel, Voltage-Gated, Type 7, Alpha Subunit                 |
| <i>SLC8A1</i> | ENSG00000183023 | Solute Carrier Family 8 (Sodium/Calcium Exchanger), Member 1         |
| <i>SNTA1</i>  | ENSG00000101400 | Syntrophin, Alpha 1                                                  |

## APPENDIX V. Az Andersen-Tawil szindrómát okozó *KCNJ2* Val302del génmutáció funkcionális jellemzésének részletes metodikája

### *A molekuláris klónozás folyamata*

A *KCNJ2* Val302del mutációt hordozó expressziós vektort generálása standard molekuláris klónozási technikával történt. A *KCNJ2* gén kódoló régiójának genomi DNS-ét C57BL/6C egér vonalból izoláltuk PCR segítségével. A *KCNJ2* gén teljes kódoló szekvenciáját két szegmentumban amplifikáltuk, a start kodontól számított 905-907-es pozícióban elhelyezkedő TGG trinukleotid kivételével. A 904 és 380 bp hosszú PCR termékeket T4 DNS polimerázzal kezeltük, hogy 'blunt end'-eket kapjunk, melyet pBluescript vektorba klónoztuk (Stratagene by Agilent Technologies, Santa Clara, CA, United States). A két fragmentumot fuzionáltuk, így a létrejött *mKCNJ2* teljes kódoló szekvenciája (1287 bp) tartalmazta a Val302del mutációnak megfeleltethető 905-907 deléciót. Ezt a mutáns cDNS *SmaI* és *StuI* fragmentumok formájában szubklónozásra került egy pWPI bicisztronos lentivirális vektor plazmidba, mely szimultán tartalmazta a Val302del mutációt és a zöld fluoreszcens fehérjét (GFP). A vad típusú egér *KCNJ2* cDNS-t hordozó pWPI-n alapuló expressziós vektor generálásának folyamatát korábban már publikálták.<sup>306</sup>

### *A vad típusú és a Val302del KCNJ2 heterológ expressziója*

Kínai hörcsög ovárium sejteket (Chinese hamster ovary, CHO, ATCC, Manassas, VA, United States) 10%-os főtális szarvasmarha szérummal (bovine serum albumin, BSA; PAA, Paschling, Austria) kiegészített F12 médiumban (Lonza, Verniers, Belgium) tenyésztettük 37 °C-on, 5% CO<sub>2</sub>-t tartalmazó párásított atmoszférán. A CHO sejteket X-tremeGene 9 transzfekciós reagenssel (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) transzfektáltuk a gyártó leírása szerint. Röviden, a CHO sejteket egy nappal a transzfekció előtt egy 60 mm átmérőjű tenyésztő edényben szélesztettük. A transzfekciós keverék 3.3 µg plazmid DNS-t és 9.9 µl transzfekciós reagenst tartalmazott, 150 µl szérumszentes F12 médium végső térfogatában. A kizárólag GFP-t tartalmazó pWPI plazmid alkalmazásával konstans DNS mennyiséget biztosítottunk mindegyik csoportban. Szobahőmérsékleten történt 15 perces inkubációs időt követően a transzfekciós keveréket hozzáadtuk a 2 ml növekedési médiumot tartalmazó tenyésztő edényhez.

### *Elektrofiziológia*

A CHO sejtekben heterológ módon kifejezett Kir2.1 ionáramokat teljes-sejt patch clamp technika voltage clamp módjával regisztráltuk. A transzfekció után 48 órával, a tranziensen transzfektált CHO sejteket tripszinizáltunk és növekedési médiumot tartalmazó szérummal mostuk át. A sejteket kitapasztottuk egy fürdőben, melyhez egy invert fluoreszcens mikroszkóp (Olympus IX51) csatlakozott, ami a GFP fluoreszcencia észlelését tette lehetővé. A sejteket normál Tyrode oldattal szuperfundáltuk, mely 142 mmol/l NaCl-t, 0.4 mmol/l NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-t, 4 mmol/l KCl-t, 0,53 mmol/l MgSO<sub>4</sub>-t, 1,8 mmol/l CaCl<sub>2</sub>-t, 5,5 mmol/l glucose-t, és 5 mmol/l HEPES 5-t tartalmazott, NaOH-val 7,4-re korrigált pH-n. A mikropipettákat

borosziliát üveg kapillárisból készítettük (Clark Electromedical Instruments, Pangbourne, Reading, UK) microprocesszor kontrollált horizontális húzó (Sutter Instruments, Novato, CA) segítségével. Az elektródák ellenállása 2 és 3 MOhm között volt, pipetta oldattal feltöltött állapotban, mely 110 mmol/l KOH-t, 40 mmol/l KCl-t, 10 mmol/l K<sub>2</sub>ATP-t, 5 mmol/l HEPES-t, 5 mmol/l EGTA-t, 0,1 mmol/l MgCl<sub>2</sub>-t tartalmazott, aszparaginsavval 7,2-re korrigált pH-n. Az áramokat 37°C-on a GFP pozitív sejtekről Axopatch 200B patch-clamp erősítővel (Axon Instruments, Union City, CA) rögzítettük és 333 kHz analóg-digiális konverterrel (Digidata 1322A, Axon Instruments) digitalizáltuk a pClamp software (pClamp10.3, Axon Instruments) segítségével. A Kir2.1 áramokat lépcsős impulzusokkal váltottuk ki, -140 és +40 mV közötti tartományban, 10 mV-os emelkedésekkel a -90 mV-os induló potenciálról. A teljes sejt áram amplitúdók a 300 ms-os lépcső impulzus végén lettek mérve. Az áramsűrűség az áramamplitúdó és a sejt ellenállás hányadosaként lett meghatározva.

### *Immunhisztokémia*

A *KCNJ2* over-expresszált plazmidokkal transzfektált CHO sejteket 48 órával a transzfekció után tripszinizáltuk, majd üveg fedőlemezre szélesztettük és hagytuk kitapadni 6 órán keresztül. A szélesztett sejteket 4%-os formaldehiddel fixáltuk és 5%-os szarvasmarha szérum albumint (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, United States) és 0,01% Tween 20-at (Sigma-Aldrich) tartalmazó PBS-sel blokkoltuk. Az immunfestést Kir2.1-es antitest (1:100 hígítás, Alomone, Jerusalem, Israel) 4°C-os éjszakán át inkubációjával végeztük, melyet 1 órán át tartó FITC-konjugált anti-rabbit IgG-vel (1: 600 dilution, Dako, Glostrup, Denmark), szobahőmérsékleten történő inkubáció követett. Az immunfestés specifikitását negatív kontrollok segítségével vizsgáltuk, mely ez esetben K<sup>+</sup> csatorna szabályzó minK alegységet overexpresszálok sejtek jelentették. Minden sejt esetében a immunfestést párhuzamosan ugyanazzal az antitesttest oldattal és reagenssel végeztük, annak érdekében, hogy minimalizáljuk a mintáról mintára kialakuló variabilitást. A fluoreszcens képeket lézer pásztázó konfokális mikroszkóppal rögzítettük (Olympus, FV1000, Olympus, Tokyo, Japan), 40x-es nagyítású objektívvel, konstans paraméterekkel. A immunfestést jól megőrző területeket kézzel választottuk ki és ImageJ szoftverrel (v1.48, <http://imagej.nih.gov/ij/>) analizáltuk. A Kir2.1 fehérje relatív sejtbeli mennyiségét tükröző teljes pixel intenzitást a bináris maszkok pixel intenzitásaiból számoltuk ki, melyeket az eredeti konfokális képek intenzitás küszöbértékeiből generáltunk. Hogy megkapjuk a Kir2.1 fehérjék cytoplazmához viszonyított, membrán régióban elhelyezkedő relatív mennyiségét, a pixel intenzitásokat a sejtek két szélé közötti 3 pixel (1.2µm) széles sávjában vizsgáltuk. A membrán régiót a sejt szélétől számított 6 pixel (2.4µm) mély területként definiáltuk (az első, nem nulla értéket felvevő pixeltől számítva) a sejt mindkét oldalán, a teljes pixel intenzitást pedig a sejt két vége közötti pixelekből kalkuláltuk.

*Adatgyűjtés és analízis*

Az ionáramok regisztrátumait Clampfit 10.3-al (Axon Instruments) szoftverrel analizáltuk. A statisztikai analíziskor egy-változós ANOVA-t alkalmaztunk, melyet Graphpad Prism 5.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, United States) szoftverrel számoltunk. Amennyiben szignifikáns különbségeket észleltünk a variancia analíziskor, akkor post-hoc tesztet végeztünk a Dunnett módszer szerint. Dózis dependenciát lineáris trendhez alkalmas post-hoc tesztel végeztünk, melyet Graphpad Prism 5.0 szoftver számolt. A csoportok adatait átlag  $\pm$  SEM módon jelenítettük meg,  $P < 0.05$  indikálta a statisztikai szignifikanciát.

## APPENDIX VI. A *HCN4* c.1737+1 G>T mutációt hordozó családtagok szívfrekvencia válaszána és szívfrekvencia variábilta paramétereinek meghatározása

### *24-órás Holter monitorozás*

A 24-órás Holter monitorozást 9 érintett és 7 nem érintett családtagon végeztük el, mely során kereskedelmileg elérhető Holter monitorozásra szolgáló rendszereket használtunk (ArguSys++, Innomed Medical, Budapest, Magyarország). A minimum, maximum és átlag szívfrekvencia értékeket óránként mértük, és a 24-órás felvétel egész időtartamára nézve, illetve 6 órás időintervallumokra (éjjel: 0-6 óra, reggel 6-12 óra, délután: 12-18 óra, este: 18-0 óra) nézve átlagoltuk. A szívfrekvencia értékeket emellett egyéni, 1 órás intervallumokban is vizsgáltuk.

### *Terheléses vizsgálat*

A futópádon végzett terheléses vizsgálatot 9 érintett és 7 nem érintett családtagon végeztük el, kereskedelmileg elérhető futópádon, Bruce protokoll szerint. A vizsgálat 5 perces pihenő periódus után kezdődött. A terhelés során kor alapján megbecsült, maximális szívfrekvencia (age predicted maximal heart rate, APMHR) meghatározására az  $APMHR = 220/\text{min} - \text{életkor (év)}$  képletet használtuk. A szívfrekvencia rezerv (heart rate reserve, HRR) százalékos értékét az  $(\text{elért maximális szívfrekvencia}/APMHR) \times 100$  formulával számoltuk ki. A korrigált szívfrekvencia rezerv százalékos értékét szintén meghatároztuk [corrected heart rate reserve, cHRR (%):  $(\text{elért maximális szívfrekvencia} - \text{nyugalmi szívfrekvencia})/(\text{APMHR} - \text{nyugalmi szívfrekvencia}) \times 100$ ]. A chronotrop kompetenciát a  $>80\%$  szívfrekvencia rezerv, vagy  $>80\%$  korrigált szívfrekvencia rezerv értékében határoztuk meg.<sup>307</sup>

### *A szívfrekvencia variabilitás értékelése*

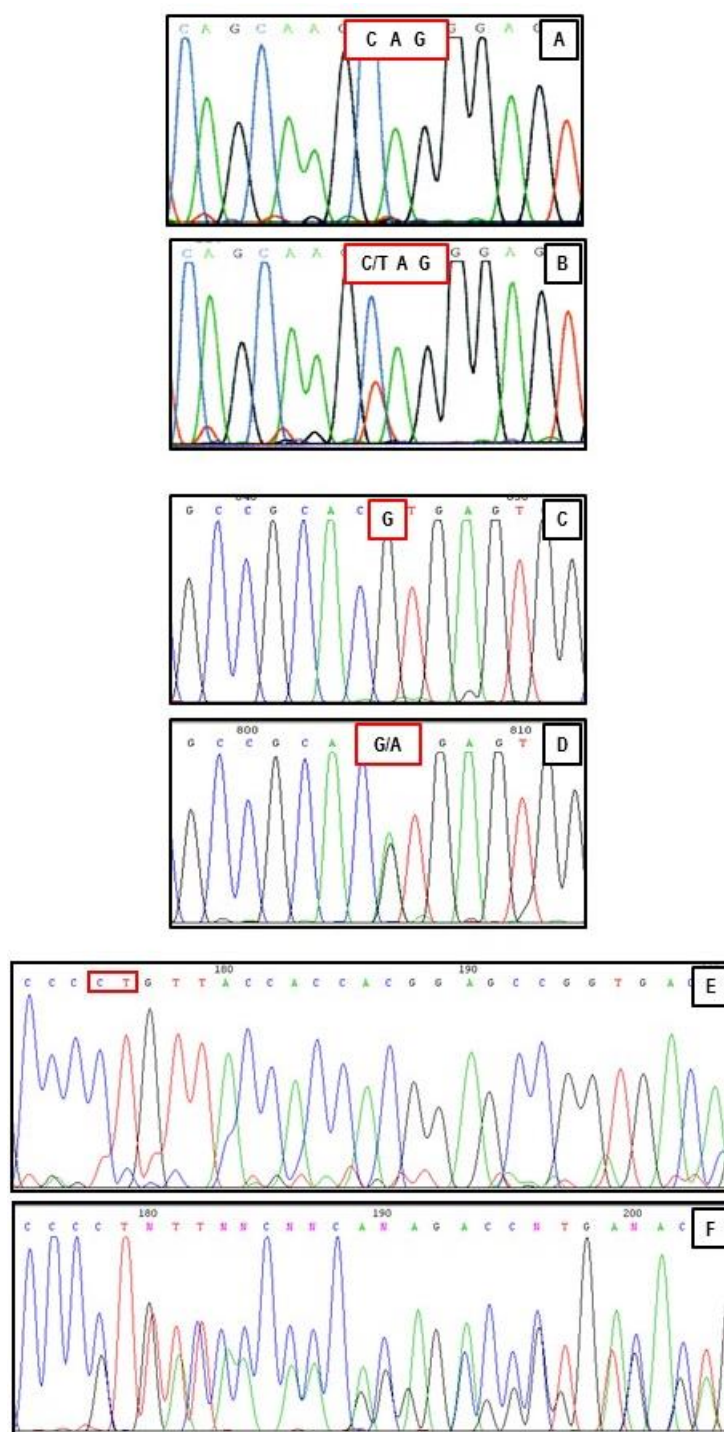
A szívfrekvencia variabilitás (HRV) paraméterei mind szigorúan ellenőrzött 5 perces EKG felvételek alapján, mind pedig konvencionális, 24-órás Holter EKG felvételek alapján lett kiértékelve. Az 5 perces EKG regisztrátumokat, 12 vezetékes EKG felvételeket folyamatos fekvő helyzetben rögzítettük, melyet 5 perces, csukott szemmel, fekvő helyzetben eltöltött pihenő szakasz előzött meg. Az EKG elvezetésekből származó jeleket digitalizáltuk, 2000 Hz-es mintavételi rátával, egy többcsatornás adatgyűjtő rendszert használva (Cardiosys A01 szoftver, Experimetria Ltd., Budapest, Magyarország; MDE Heidelberg GmbH, Heidelberg, Németország). Minden analízis részletesen, kifejezett figyelemmel lett átnézve, ezzel is biztosítva, hogy csak egyenletes kezdettel jelentkező N-N ütések kerüljenek be a HRV vizsgálatába. A HRV paramétereit az 5 perces felvételeket felhasználva, a szabadon elérhető Kubios szoftver (<http://kubios.uef.fi/>) segítségével számoltuk, míg a 24-órás felvételekhez a Holter rendszer analízáló programját használtuk. Az idő-domén (SDNN, SDANN, ASDNN, rMSSD, pNN50%) és frekvencia-domén (total power, very low frequency power, low frequency power and high frequency power) paraméterek mind az 5 perces, mind a 24-órás felvételekből kerültek kiszámításra. A nem-lineáris HRV értékek, az

RR távolságok Poincaré plot-jából meghatározott SD1 és az SD2 értékek, melyek az szívfrekvencia ütésről-ütésre számított instabilitását jellemzi, szintén az 5 perces felvételekből lett kiszámítva.

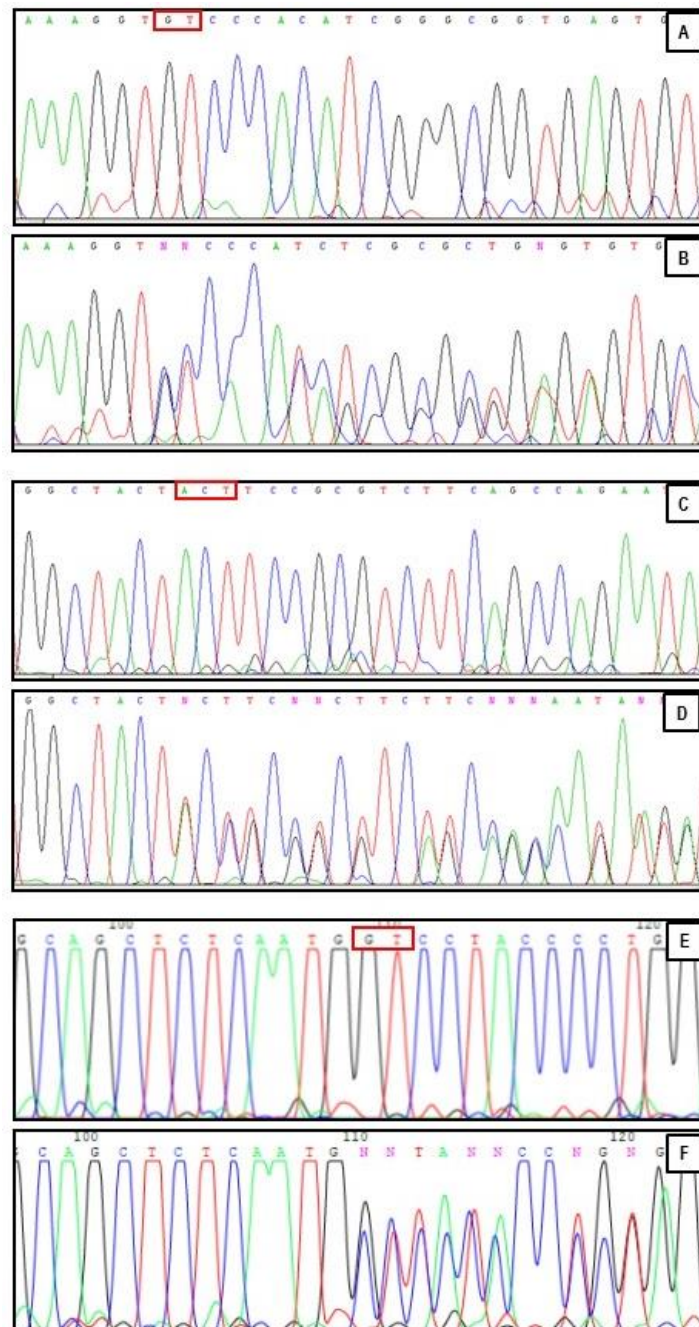
### *Statisztika*

Az összes adatunkat átlagként $\pm$ szórás formában fejeztük ki. A betegek és a kontroll személyek közötti összehasonlításhoz, a tanulmány változói szempontjából, a Student's t test független mintáit használtuk fel, mint normális eloszlási paraméter. A normális eloszlást Kolmogorov-Smirnov teszttel erősítettük meg. A kategorikus változók esetében khi négyzet próbát alkalmaztunk. A statisztikai analízist a MedCalc szoftver csomagjával (ver. 14.12.0) végeztük el. A statisztikai szignifikancia küszöböt  $p < 0.05$ -nek határoztuk meg.

## APPENDIX VII: A HCM-es betegcsoportban észlelt MYBPC3 génmutációk elektroferogramjai



34. ábra. A HCM-es betegcsoportban észlelt MYBPC3 génmutációk elektroferogramjai. Panel A: C>T tranzíció a 33-as exonban a H 16.0 betegben (c.3697C>T), mely p.Gln1233Ter nonszensz (stop codon) mutációhoz vezet. Panel C: G>A tranzíció a 7-es exon/intron határon a H 11.0 betegben (c.821+1G>A), 'splice site' mutációhoz vezetve. Panel E: CT 2-bp deléció a 27-es exonban a H65.0 betegben (c.2864\_2865delCT), mely p.Pro955ArgfsTer95 mutációhoz vezet. A mutációk piros kerettel vannak kiemelve. Panel B, D és F a megfelelő normál szekvenciákat mutatják.



35. ábra. A HCM-es betegcsoportban észlelt MYBPC3 génmutációk elektroferogramjai. Panel A: GT 2-bp mikrodélécio a 18-as exonban a H 92.0 betegben (c.1776\_1777delGT), mely p.Ser593ProfsTer11 mutációhoz vezet; Panel C: ACT 3-bp mikrodélécio a 31-es exonban a H 76.0 betegben (c.3407\_3409delACT), mely egy aminosav deléciohoz, p.Tyr1136del mutációhoz vezet; Panel E: GT 2-bp mikrodélécio a 4-es exonban a H 55.0 betegben (c.431\_432delGT), mely p.Gly144AlafsTer8 mutációhoz vezet. A mutációk piros kerettel vannak kiemelve. Panel B, D és F a megfelelő normál szekvenciákat mutatják.

## APPENDIX VIII: Az azonosított MYBPC3 génmutációt hordozó index betegek részletes kórtörténetei

### 1. c.3697C>T, p.Gln1233ter mutáció

A gén p.Gln1233ter mutációját egy 49 esztendőskorában elhunyt nőbetegben azonosítottuk. A proband kórelőzményében lényeges belgyógyászati megbetegedés nem szerepelt. Panaszai 43 éves korában, első észlelése előtt egy évvel kezdődtek fáradékonyság, lábdagadás formájában. EKG-ján sinus ritmus, bal anterior hemiblokk, bal pitvari terhelés, normális PQ és QT intervallum, V1-3 elvezetésekben jelzett ST eleváció, V1-6 elvezetésekben mély S hullám, I-aVL elvezetésekben jelzett ST eleváció mellett T negativitás, II-III-aVF elvezetésekben ST depresszió volt megfigyelhető. Echocardiographiás vizsgálata aszimmetrikus septum hypertrophia képében megnyilvánuló (interventrikularis septum: 32 mm, hátsó fal: 9 mm) HCM-et igazolt, tággabb bal pitvarral (45 mm), szűk bal kamrai átmérővel (BKEDD: 39 mm, BKESD: 20 mm), jó globális bal kamra funkcióval, kiáramlási gradiens és systolic anterior motion (SAM) jelenség nélkül, jelzett mitrális insufficienciával. Kezdetben béta blokkoló, majd retard verapamil terápia mellett rendszeres ambulanter megjelenésekor időnkénti palpitióérzés mellett panaszai progressziót nem mutattak. Sinus ritmusban volt, mellkasi fájdalom, fulladás, eszméletvesztés követése alatt nem jelentkezett. Echoparamétereiben az évek során a septum vastagság csökkenését, a bal pitvari és a bal kamrai átmérők enyhe növekedését lehetett észlelni, de bal kamrai dilatatio nem alakult ki. Negyvenkilenc éves korában, hat éves utánkövetés után otthonában hirtelen eszméletét veszítette, s négy napos intézti észlelés után meghalt. Boncolásakor hypertrophizált, 490 g súlyú szívet találtak, régi myocardium hegesedéssel, melyhez bal kamrai thrombozissal társult. A balkamrai thrombozissal embolizációhoz vezetett a nyúltvelőben, a jobb vesében és a májban. hasonlóképpen thromboembolizáció volt észlelhető a bal tüdőfélben, melynek forrása a kismedencei vénás plexus phlebothrombozisa volt. Szöveti vizsgálat a szívizom kimetszésekben HCM-re jellemző 'myofiber disarray'-t, valamint myocytahypertrophiát, kiterjedt fibrózist és kísérőbetegséget lehetett észlelni. Családi anamnézise szerint édesanyja 55 éves korában exitált collum-carcinoma miatt, édesapja 66 éves korában halt meg, közelebbről nem ismert „szívbetegség” következtében.

### 2. c.821+1G>A mutáció

A második kóroki MYBPC3 mutációt egy 54 esztendőskorában elhunyt férfibetegben azonosítottuk, akit először 24 éves korában, mellkasi fájdalom miatt észleltünk klinikánkon, melynek háttérében HCM-et diagnosztizáltunk, mérsékelt septum hypertrophiával (maximális bal kamrafal vastagság 21 mm), 'systolic anterior motion' (SAM) jelenséggel. A beteg kórtörténetéből kiemelendő, hogy a HCM-en kívül veleszületett süketnémaságot is szenved. Utolsó kontrolljakor, 53 éves korában 22 mm-es septumvastagságot, megnagyobbodott bal pitvart (61 mm), megnagyobbodott bal kamrai paramétereket

(BKESD: 59 mm, BKESD: 36 mm), csökkentebb bal kamrai ejekciós frakciót észleltünk (48%), a SAM eltűnésével, pitvarfibrilláció kifejlődése mellett.

Mutációanalízise a *MYBPC3* gén 7-es exon és intron határán egy, az exon donor splice-site-ját érintő G-A tranzíciót azonosítottunk (c.821+1G>A). A mutáció az Eco72I nevű restrikciós endonukleáz felismerési helyét is érinti, mely alapján a mutációt endonukleázos emésztéssel igazolni tudtuk.

### 3. c.2864\_2865delCT, p.Ala955fsTer95 mutáció

A harmadik *MYBPC3* génmutációt (c.2864\_2865delCT, p.Ala955fsTer95) egy 68 esztendős nőbetegünkben találtuk, akit először 54 évesen észleltünk klinikánkon mellkasi fájdalom miatt, melynek hátterében echocardiographiával közepsúlyos bal kamra hypertrophiával járó (maximális bal kamrafal vastagság 26 mm) non-obstruktív HCM igazolódott. Rizikóstratifikációja alacsony rizikójú betegséget jelzett. A beteg a kombinált  $\beta$ -blokkoló és a kalcium-csatorna blokkoló terápia mellett kielégítő klinikai állapotban van, legutolsó kontrolljakor lényegi progresszió nem mutatkozott. Családjában egy testvére is HCM-ben szenved. Molekuláris genetikai vizsgálattal a *MYBPC3* gén 25-ös exonjában egy 2 bázispárnyi CT mikrodeléciót azonosítottunk (c.2864\_2865delCT). A mutáció a kodonhatárok eltolásával járó frame-shift mutáció, amelyről az valószínűsíthető, hogy a 955-es pozícióban meglévő normális alanin aminosav után 94 aberráns aminosav épül be a fehérjeláncba, majd a transzláció ezen a ponton egy rejtett stop kodon miatt leáll.

### 4. c.1776\_1777delGT, p.Ser593ProfsTer11 mutáció

A negyedik *MYBPC3* génmutációt egy 43 esztendős férfitbetegben azonosítottuk, akinek a betegségére nyugalomban jelentkező mellkasi fájdalmak, dyspnoe és pre-syncopés panaszok következtében derült fény. Echocardiographiás vizsgálata enyhe septum hypertrophiát (16 mm), nem szignifikáns bal kamra kiáramlási grádiens mutatott. Az évek során megfigyelhető volt betegségének dilatatív fázisba történő átalakulása, a bal kamrai paraméterek növekedésével és a bal kamrai ejekciós frakció csökkenésével. Utolsó kontrolljakor 15 mm-es septumvastagságot, 55 mm-es bal pitvari átmérőt, 55 mm-es bal kamrai végdiasztolés, 44 mm-es bal kamrai végszisztolés átmérőt észleltünk, 31%-os bal kamrai ejekciós frakciót mellett, pitvarfibrilláció kialakulásától kísértén. Halála 59 esztendős korában, hirtelen következett be. A molekuláris genetikai analízis során a *MYBPC3* gén 18-as exonjában egy 2 bázispárnyi GT mikrodeléciót találtunk (c.1776\_1777delGT). Ezen mutáció is a kodonhatárokat eltoló frame-shift mutáció, amelyről az valószínűsíthető, hogy az 592-es pozícióban meglévő normális lysin aminosav után 11 darab aberráns aminosav épül be a fehérjeláncba, majd a transzláció ezt követően is egy rejtett TGA stop kodon miatt leáll.

### 5. c.3407\_3409delACT, p.Tyr1136del mutáció

A gén p.Tyr1136del mutációját egy 56 éves korában hirtelen szívhalállal exitált férfitbetegben észleltük. A beteg észlelésére akcidentálisan észlelt szívzörej kapcsán került

sor, echocardiographiája jelentős aszimmetrikus septum hypertrophiát mutatott (28 mm), nem szignifikáns (18 Hgmm) kiáramlási grádienssel. Rizikóbecslése során alacsony rizikóprofilot találtunk, de észlelése során két alkalommal is terhelés hatására jelentkező eszméletvesztéses rosszulléte zajlott. Halála 56 esztendőskorában, hirtelen következett be. Mutációanalízise során a *MYBPC3* gén 31-es exonjában egy 3 bázispárnyi ACT mikrodeléciót azonosítottunk (c.3407\_3409delACT). A mutáció érdekes módon csupán egyetlen aminosavnak, az 1136-os pozíciójú tyrozinnak a deletálódásával járt (p.Tyr1136del).

6. *c.431\_432delGT, p.Gly144AlafsTer8 mutáció*

A *MYBPC3* gén p.Gly144AlafsTer8 mutációját egy 40 éves korában HCM-val diagnosztizált nőbetegben igazoltuk, ki mellkasi fájdalom és légszomj miatt került klinikai észlelésre. Echocardiographiás vizsgálata 28 mm-es maximális bal kamrafal vastagságot mutatott, non-obstruktív HCM képével. Utánkövetése során 43 Hgmm-es bal kamra kifolyótraktus obstrukció kialakulását figyeltük meg, következményes bal pitvari megnagyobbodással (53 mm).

Genetikai vizsgálata a *MYBPC3* gén 4-es exonjában igazolt egy GT mikrodeléciót (c.431\_432delGT). A mutáció következtében 8 aberráns aminosav beépülését követően rejtett stop kodon aktiválódás miatt a 143-as pozícióban normálisan meglévő aszparagin után a transláció vélhetően terminálódik.

## APPENDIX IX: Az azonosított *GLA* génmutációt hordozó index betegek részletes kórtörténetei

### *p.Tyr397Stop* mutáció

A második betegben a *GLA* gén 7. exonjában, a cDNS 1191. pozíciójában egy T-G tranzíciót észleltünk (c.1191T>G), mely a 397. kodonban tirozint kódoló triplet Stop kodonra való változásával járt (*p.Tyr397Stop*, nonsense mutáció). Az azonosított *p.Tyr397Stop* az irodalomban eddig még nem közölt, novel mutáció. A mutáció feltehetőleg a leolvasási keret megszakadását okozza, melynek következtében egy rövidebb, csonkolt fehérje jön létre, melynek funkciója nem megfelelő.

Az első észlelésekor 47 éves nőbeteg korábbi anamnézisében ismert és kezelt hypercholesterinaemia szerepelt. Egy órán belül spontán szűnő látászavarral, végtagremegéssel, végtagzsibbadással, beszédzavarral járó tünetcsoport kapcsán került észlelésre, melynek hátterében akut koponya CT és neurológiai vizsgálat alapján jobb a. cerebri media területi keringészavart, TIA-t vélelmeztek. Nyaki erek Doppler vizsgálata kóros eltérést nem mutatott. EKG-n sinus ritmus, normál tengelyállás, bal kamra hypertrophia jelei látszóttak, strain jeleivel, V3-6 elvezetésekben kifejezett negatív T hullámokkal. Echocardiographia koncentrikus bal kamra hypertrophiát igazolt, 15 mm-es septum, 13 mm-es hátsó fal vastagsággal, jó globális bal kamra funkcióval, kifejezett diasztolés diszfunkció jeleivel (emelkedett E/E' arány: >15, nagyobb bal pitvar). Szív MRI vizsgálat során a kamra izomzatban késői kontraszthalmozásra utaló eltérés nem volt látható.

Részletes kivizsgálása során laborleleteiben normális vesefunkciós paraméterek mellett proteinuria igazolódott. Szemészeti vizsgálattal mindkét oldali cornea verticillata-t lehetett észlelni. Bőrgyógyászati vizsgálattal angiokeratoma nem igazolódott. Koponya MRI multiplex fehérállományi léziókat és tágult koponyaalapú ereket írt le. Fül-orr-gégészeti szakvizsgálat spontán vesztibularis tüneteket nem talált. A beteg lysoGb3 szintje emelkedett volt (9,41 ng/ml, referencia <1,6 ng/ml).

A betegnél ACE gátlót és béta blokkolót tartalmazó konzervatív terápia mellett enzimpótló kezelés indult (agalzidáz alfa), mely mellett a beteg klinikai státusza nem progrediált.

A család szűrésre során további 1 nő és 1 férfi családtag bizonyult érintettnek.

### *c.548-57\_-56dupTA* mutáció

A harmadik betegben igazolt variáns egy, a gén 3. intronjában található két bázispár duplikáció volt (c.548-57\_-56dupTA). A c.548-57\_-56dupTA variáns szintén korábban még nem közölt heterozigóta variáns a *GLA* gén 3. intronjában. Predikciós analízis alapján a variáns hatása neutrálisnak volt tartható, a mRNS 'splicing'-jára feltételezett közömbös hatás miatt. Utóbbi alapján a variáns inkább 'bizonytalan hatású variáns'-nak ('variant of unknown significance', VUS)-nak tartható, bár a beteg kórszövettani vizsgálata Fabry betegségre jellemző eltéréseket igazolt.

A variánst egy atípusos, rapidan progrediáló, restriktív cardiomyopathiában szenvedő, 40 éves nőbetegben észleltük. A beteg systemas lupus erythematosus (SLE) miatt állt gondozás alatt, laborjaiban észlelt nekroenzim emelkedés háttérében kezdetben lényegi kardiális eltérés nem igazolódott, echocardiographia során megtartott systoles funkció mellett enyhe diastoles dysfunctio jeleit láttuk. Ismétlődő eszméletvesztései háttérében III. fokú AV-blokk igazolódott, mely miatt pacemaker implantációt végeztek. Szívelégtelensége a terápia ellenére gyorsan progrediált, fél év elteltével NYHA I. stádiumból NYHA III. stádiumba került. Echocardiographia ekkor már súlyosan károsodott diastoles funkciót mutatott, laborleleteiben igen magas, 7982 pg/ml NT-pro-BNP értékekkel. Szívizombiopszia történt, mely Fabry-szerű cardiomyopathiát véleményezett. A konzervatív terápia ellenére rapidan progrediáló állapot miatt szívtranszplantációs listára került, majd átmeneti VAD kezelést követően sikeres szívtranszplantáció történt, azonban rejectio lépett fel, majd minden terápiás erőfeszítés ellenére a beteg exitált.

*p.Glu358Lys mutáció*

A negyedik beteg esetén a GLA gén 7. exonjában egy G-A tranzíció volt megfigyelhető (c.1072G>A), melynek eredményeként a 358. kodonban a savas glutaminsavat kódoló triplet bázikus lizinre változott (p.Glu358Lys).

Az első észlelésekor 28 éves nőbeteg korábbi anamnézisében tinnitus ill. chr. tonsillitis miatti tonsillectomia szerepelt. Szembe került idegen-test miatti szemészeti szakvizsgálatkor cornea verticillata-t észleltek, mely miatt kivizsgálása indult. Utóbbi során kórosan alacsony alfa galactosidase enzimaktivitás értéket észleltek (3,7 nmol/mg/h, norm: >15,6 nmol/mg/h).

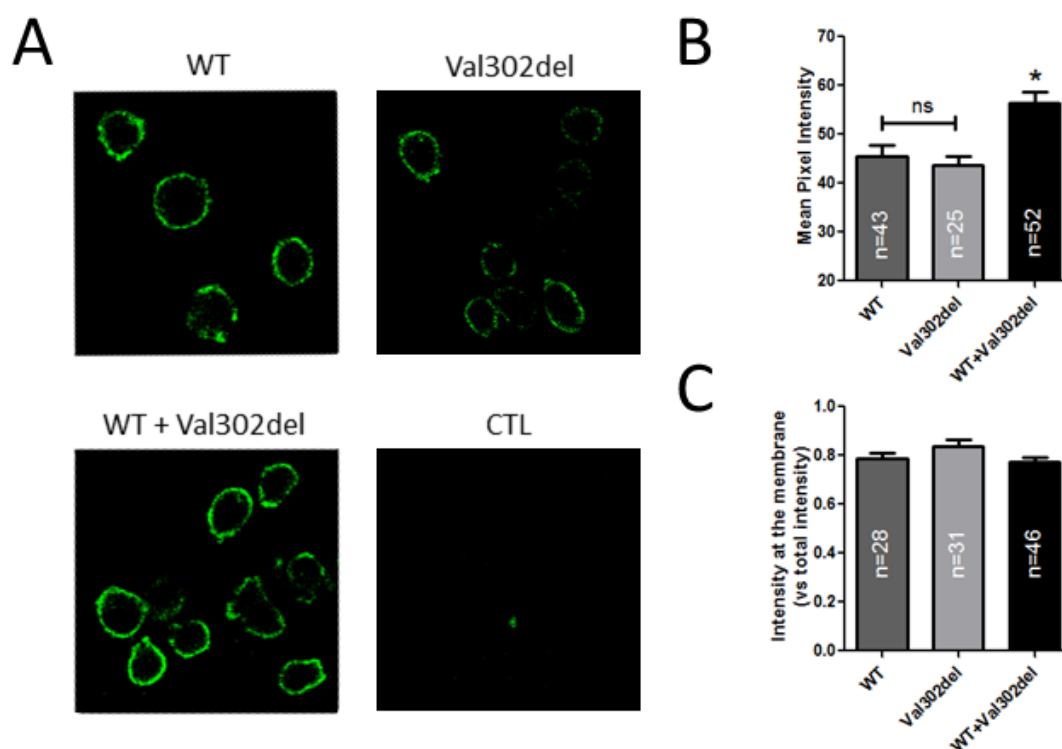
Részletes kivizsgálásakor EKG-n sinus ritmust, normális PQ és QTc távolságot, keskeny QRS szélességet észleltünk, III elvezetésben lapos, negatív T hullámokkal. Echocardiographiás vizsgálattal normális tágasságú szívüregeket, jó globális bal kamra funkciót, jelzett mitralis insufficientiat találtunk, szegmentális falmozgászavar nélkül, 9 mm-es maximális bal kamra fal vastagsággal. Szív MR történt, mely bal kamra hypertrophiát nem igazolt, késői kontraszt halmozódás sem látszódott.

Neurológiai és nephrológiai szakvizsgálata Fabry kórra utaló eltérést nem igazolt, laborleleteiben lényegi kóros eltérés nem igazolódott.

## APPENDIX X. Az Andersen-Tawil szindrómát okozó *KCNJ2* Val302del génmutáció funkcionális jellemzése

### *A Kir2.1 fehérje membrántranszportja*

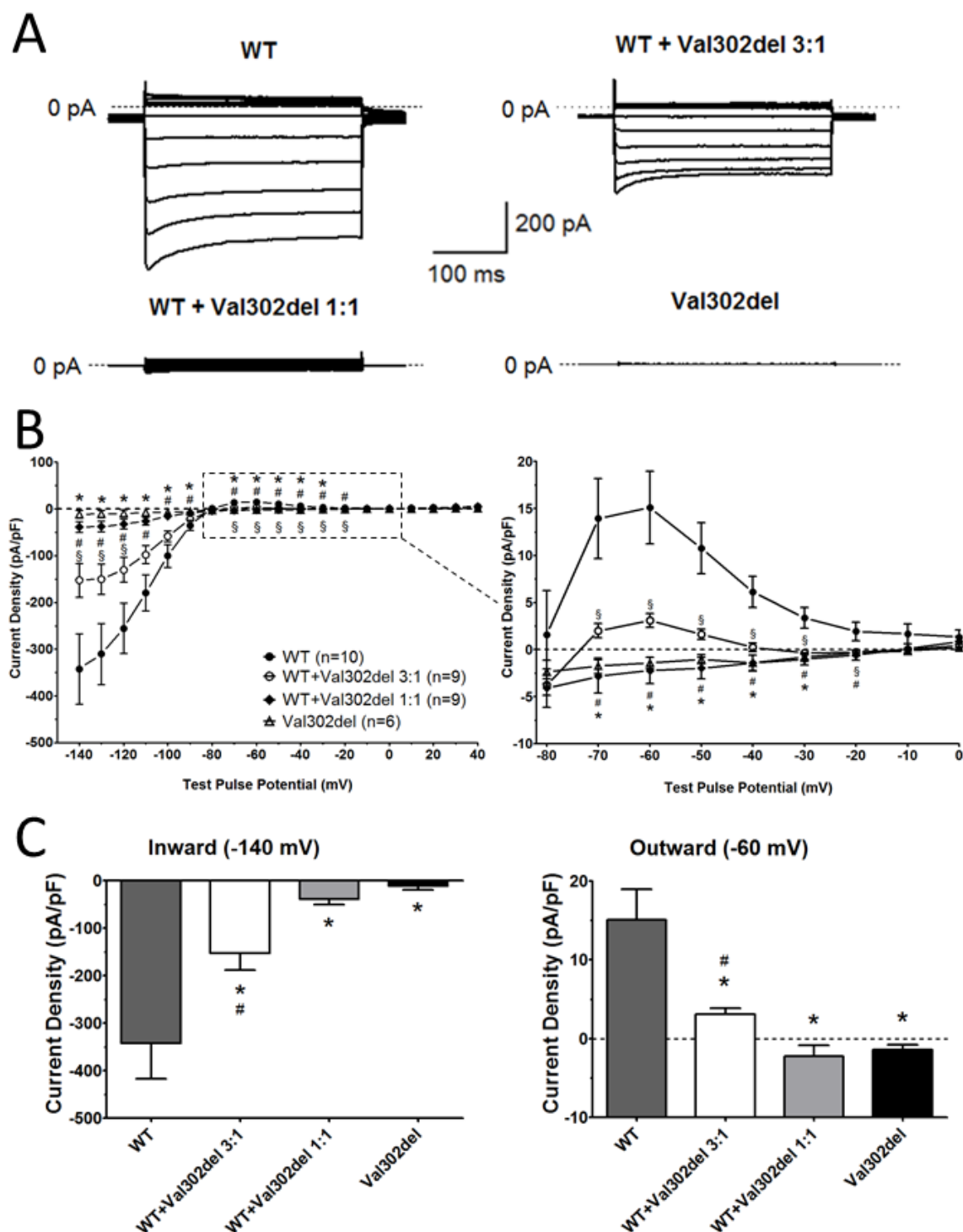
Egy korábbi közlés szerint a Kir2.1 fehérje valin 302-es aminosavját érintő misszensz mutáció az érintett fehérje membrán transzportját károsítja. Ennek megfelelően, először a vad típusú (WT) és Val302del mutáns Kir2.1 szubcelluláris lokalizációját vizsgáltuk heterológ expressziós rendszerben. A WT (1.5 µg), Val302del (1.5 µg) vagy a kettő keverékéből álló cDNS-ekkel (mindkettőből 1.5 µg) transzfektált CHO sejtek fluoreszcens képe a Kir2.1 fehérje eloszlását hasonlónak mutatta, erős fluoreszcens jellel a membrán régióban, míg küszöbérték alatti jellel a cytoplazma régióban (36. ábra, A panel). A mind a membrán, mind a cytoplazma régiót tartalmazó teljes sejt fluoreszcencia intenzitás konzisztens volt a transzfekcióhoz felhasznált cDNS mennyiségével (36. ábra, B panel), míg a membrán régióban megfigyelt fluoreszcens jel intenzitás a teljes mennyiséghez viszonyítva szignifikánsan nem különbözött a csoportokban (WT: 0.79; Val302del: 0.84; WT + Val302del: 0.77), ezzel alátámasztva, hogy Val302del Kir2.1 fehérje membrán transzportja normális (36. ábra, C panel).



36. ábra A mutáns Val302del Kir2.1 membrán transzportja. A: Konfokális képek a vad típus (WT), ATS mutáns (Val302del) vagy az egyenlő mennyiségű WT és Val302del cDNS-el transzfektált CHO sejtekről. A transzfektált sejteket 6 órával az immunfestés fixációja előtt szélesztettük a fedőlemezen. Az immunfestés specifikitását a  $K^+$  csatorna minK alegységét szuperexpresszáló (CTL) plazmidokkal transzfektált festés verifikálja. B: A teljes sejt pixel intenzitások jól mutatják a Kir2.1 relatív expresszióját. Átlag  $\pm$  SEM értékek láthatóak. n=sejtek száma, \* a statisztikai szignifikanciát mutatja ( $P < 0.05$ ), ns: nem szignifikáns. C: Kir2.1 fehérje eloszlása a sejt membrán és a cytoplazma között. Átlag  $\pm$  SEM intenzitások a membrán régiókban a teljes pixel intenzitásokhoz viszonyítva; n = analizált sejtek száma

### *A Val302del allél funkcionális karakterizálása*

A következőkben a Val302del mutáció Kir2.1 áram karakterisztájára gyakorolt hatását vizsgáltuk CHO sejten alapuló expressziós rendszerben. A CHO sejteket WT, Val302del, vagy a kettő 3:1 vagy 1:1 moláris arányú plazmidjaival transzfektáltuk, konstans teljes DNS tartalmat fenntartva a csak GFP-t hordozó plazmid transzfekciójával. A WT allélt expresszáló sejtek erős áramot mutattak kifejezett befelé egyenirányítással, míg a Val302del plazmiddal transzfektált sejtek nem mutattak az háttérzajon kívül más áramot, a mutáció 'loss of function' jellegére utalóan (37. ábra, *A és B panel*). Mivel a proband a Val302del mutációra nézve heterozigótának bizonyult, ezért a következőkben a WT és Val302del plazmidok keverékével transzfektált sejtek áramait karakterizáltuk. Az áram-feszültség karakterisztika jellegzetes volt a Kir2.1-re a WT cDNS-el transzfektált sejtekben (Schram, Pourrier, Wang, White, and Nattel, 2003), míg a WT-vel és Val302del-el egyenlő arányban transzfektált sejteknek szignifikánsan csökkent az áram sűrűsége a legtöbb feszültségértéken, mutatva a Val302del Kir2.1 áramaira kifejtett domináns negatív hatását (37. ábra, *A és B panel*). Megemlítendő, hogy a WT és mutáns plazmidd 3:1 moláris arányában végzett transzfekciónál az eredményezett áram sűrűsége (WT + Val302del 3:1, -152 pA/pF -140 mV-nál és 3 pA/pF -60 mV-nál) szignifikánsan alacsonyabb volt a WT-hez (WT, -342 pA/pF at -140 mV és 15 pA/pF -60 mV-nál,  $P < 0.05$  ANOVA-val) képest és szignifikánsan magasabb volt az 1:1 moláris arányban transzfektált két cDNS-hez képest (WT + Val302del 1:1, -38 pA/pF at -140 mV and -2 pA/pF -60 mV-nál,  $P < 0.05$  Student-féle t-teszttel; 37. ábra, *C panel*). Szignifikáns lineáris trend volt megfigyelhető a négy csoport esetén ( $P < 0.05$ ) -140 és -60 mV-nál egyaránt, mely a Val302del mutáns alegység Kir2.1 áramra kifejtett dózis dependens gátló hatására utal.



37. ábra A Val302del mutáció domináns negatív hatása vad típusú (WT), ATS mutáns (Val302del), vagy különböző moláris arányú WT és Val302del plazmidokkal (WT+Val302del 1:1 és WT+Val302del 3:1) transzfektált CHO sejteken. A: Reprezentatív teljes sejt Kir2.1 áram felvételek. B: Áram-feszültség összefüggés a WT (zárt kör), Val302del (üres háromszög) és WT/val302del (1:1: tele kör, 3:1: üres karika) csoportok esetén. \*, # és § mutatják a statisztikai szignifikanciát ( $P < 0.05$ ) a Val302del, WT+Val302del 1:1 és WT+Val302del 3:1 csoportokat illetően, a WT csoporthoz képest. C: Az áram sűrűségek statisztikai analízise, melyeket -140 és -60 mV-on vettünk fel. Átlag  $\pm$  SEM adatok. \*statisztikailag szignifikáns különbség ( $P < 0.05$ ) a WT csoporthoz képest, a Dunnett-féle post-hoc teszt; #statisztikailag szignifikáns különbség ( $P < 0.05$ ) a WT+Val302del 1:1 csoporthoz képest, Student-féle t-teszt.