

3. Ergebnisse

3.1 Auswertung der klinischen Befunde des Patientenkollektivs mit HCM

3.1.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv bestand aus 108 Patienten von denen 69 in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden. Es waren Patienten des Deutschen Herzzentrums Berlin im Alter von 1-79 Jahren (Mittelwert: 54 ± 16 Jahren). Davon waren 66 (61 %) männlichen und 42 (39%) weiblichen Geschlechts.

Bei 97 Patienten wurde die Krankheit echokardiographisch untersucht und diagnostiziert. Bei 55 Patienten wurde die Diagnose durch eine invasive Diagnostik (Herzkatheter) bestätigt. 11 Patienten (10%) wurden im Verlauf der Behandlung myektomiert und bei 21 Patienten (19%) wurde eine Tash durchgeführt. Ein Schrittmacher (ICD) wurde in 13 % (n=14) der Fälle implantiert.

3.1.2 Familienanamnese

Bei 49 Patienten (55%) wurde bei positiver Familienanamnese eine familiäre HCM gesichert. Bei 59 Patienten (66%) trat die HCM ohne familiärer Vorbelastung auf. Die Patienten mit positiver Familienanamnese waren im Gegensatz zu Patienten mit sporadischer HCM in Ihrer Klinik und Diagnostik (invasive, echokardiographische und angiographische Parameter) nicht verschieden. In der nachfolgenden Tabelle 2 ist die statistische Auswertung des Gesamtkollektivs ersichtlich.

	Geschl. männl.	Alter (Jahre)	Alter bei Diagnose	Patienten m. invasiv. Diagnostik	IVS (mm)	FS (%)	LVEF (%)
Patienten (n=108)	61 %	54 ± 16	44 ± 16	57 %	19 ± 4	0.39 ± 0.10	66 ± 12
Patienten mit familiärer HCM (n=49)	55 %	52 ± 14	43 ± 15	60 %	19 ± 4	0.40 ± 0.10	68 ± 13
Patienten mit sporadischer HCM (n=59)	66 %	55 ± 17	45 ± 17	54 %	20 ± 5	0.38 ± 0.09	65 ± 11
p-value*	P<0.05	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Tab. 2: *p-value: Vergleich der klinischen Phänotypen von Patienten mit familiärer und sporadischer HCM. ns = nicht signifikant

3.1.3 Symptome

Nach Befragung der Patienten zu ihren Krankheitssymptomen berichteten von den 108 Patienten 59, an einer Belastungsdyspnoe zu leiden. 26 Patienten schilderten eine Angina pectoris Symptomatik. 23 Patienten gaben an, völlig beschwerdefrei zu sein. Insgesamt wurden bei 78% der Patienten HCM typische Symptome gefunden. Vom Gesamtkollektiv wurden in der Arbeit die Daten von 69 Patienten erhoben. 41 dieser Patienten leiden an einer Belastungsdyspnoe und 19 Patienten an einer Angina pectoris Symptomatik. Die nachfolgende Tabelle verdeutlicht den Vergleich untersuchten Patienten zum Gesamtkollektiv.

Ergebnisse

	Geschlecht	Alter	Auftrittalter	Patienten mit invasivem Eingriff	IVS (mm)	FS (%)	LVEF (%)	Klinik	
	männlich	(Jahren)	(Jahren)					D	AP
Patienten des Gesamtkollektivs (n=108)	61%	54 ± 16	44 ± 16	57%	19 ± 4	0.39 ± 0.10	66 ± 12	55%	23%
Patienten mit familiärer HCM (n=49)	55%	52 ± 14	43 ± 15	60%	19 ± 4	0.40 ± 0.10	68 ± 13	26%	9%
Patienten mit sporadischer HCM (n=59)	66%	55 ± 17	45 ± 17	54%	20 ± 5	0.38 ± 0.09	65 ± 11	31%	13%
In Exon 6-34 des MYBPC Gen untersuchten Patienten (n=20)	48%	49 ± 15	43 ± 15	33%	18 ± 4	0.46 ± 0.10	70 ± 12	62%	29%
In Exon 24-40 des Troponin T Gens untersuchten Patienten (n=69)	54%	55 ± 14	47 ± 14	43%	19 ± 4	0.41 ± 0.10	61 ± 11	60%	27%

Tab. 3: Vergleich der Symptomatologie und diagnostische Massnahmen der untersuchten Patienten in dieser zum Gesamtpatientenkollektiv. D: Dyspnoe, AP: Angina pectoris

3.1.4 Diagnostik

Echokardiographie

Die Echokardiographie ist die wichtigste nicht-invasive Methode zur Diagnostik der HCM. Sollte die interventrikuläre Septumdicke größer als 13 mm und der Quotient aus Septumdicke und Hinterwanddicke (IVS/HW) größer als 1,3 sein, dann ist beim Fehlen anderer Ursachen der Hypertrophie, die Diagnose hypertrophe Kardiomyopathie sehr wahrscheinlich [68, 69]. Die Septumdicke bei den untersuchten Patienten lag im Mittel bei (19±4) mm, die Hinterwanddicke bei (12±4) mm und der Mittelwert für IVS/HW-Ratio bei 1,5.

Bei 29 Patienten wurde ein SAM (systolic anterior movement) beschrieben. Hierbei handelt es sich um eine systolisch anteriore Bewegung des vorderen Mitralsegels. Zugleich ist häufig eine mesosystolische Retraktion der Aortenklappenöffnung nachweisbar, die auf eine Ausflussbahnobstruktion hinweist, auch „Dip-Phänomen“ genannt.

Der linksventrikuläre enddiastolische Druck lag im Mittel bei 46 ± 7 mmHg, der linksventrikuläre endsystolische Druck bei 27 ± 7 mmHg, die Verkürzungsfraction (FS) bei 39 ± 10 % und die linksventrikuläre Ejektionsfraction bei 66 ± 12 %.

3.2 Mutationen und Polymorphismen im kardialen MYBP-Gen

3.2.1 Mutationen im MYBP-C Gen (Exon 6-34)

Aminosäuresubstitution im Exon 25 : 14281G/A bei der Lab.-Nr.:2036

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit wurden 21 Patienten auf Mutationen im kardialen Myosinbindungsprotein C Gen untersucht. 28 Exons (Exons 6-34) wurden PCR amplifiziert und mittels SSCP-Analyse untersucht. Es konnte eine nichtpublizierte Mutation identifiziert werden. Beim Mutationsscreening des Indexpatienten 2036 wurde bei der SSCP-Analyse von Exon 25 eine Laufmusterabweichung beobachtet (Abb.13). Bei dem 62 jährigen Patienten (Pat.Nr.:2036) traten keine typischen Symptome, wie z.B. Dyspnoe, AP-Symptomatik oder Synkopen auf, die für eine HCM sprechen würden. Auch die erhobene Familienanamnese war unauffällig.

Elektrokardiographisch bestand ein normfrequenter Sinusrhythmus. Die durchgeführte Echokardiographie zeigte eine normale linksventrikuläre Funktion mit einer EF von ca. 60%. Das Interventrikularseptum (IVS) war mit 17mm verbreitert und die Hinterwanddicke betrug 12mm, so dass sich daraus eine IVS/HW-Ratio von 1,4 ergab.

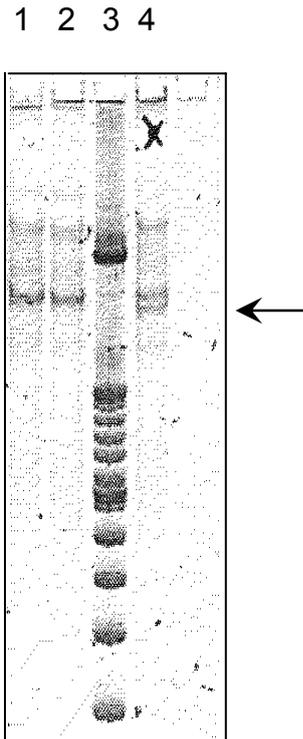


Abbildung 13: SSCP-Gel Exon 25 des MYBPC-Gens, Laufbandabweichung in Spur 4 bei Indexpatient 2036(X), die zusätzliche Bande ist durch einen Pfeil gekennzeichnet, Spuren 1 und 2 PCR Fragmente von Patienten mit Wildtypsequenz, Spur 3: 100bp-Leiter.

Mittels DNA- Sequenzierung konnte eine Nukleotidsubstitution von Alanin zu Guanin nachgewiesen werden (Abb.14). Es handelte sich an der c DNA Position 14281 um einen Aminosäureaustausch zwischen Glutamin und Arginin.

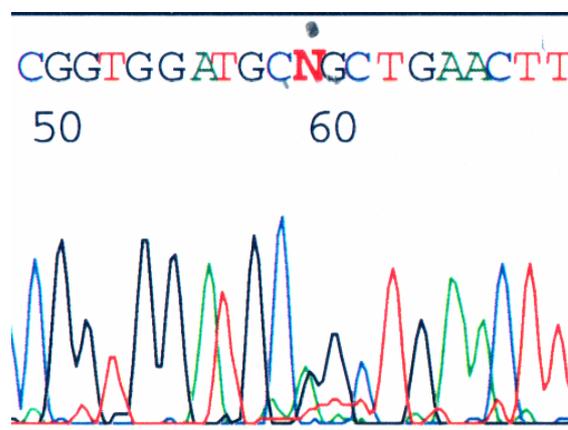


Abbildung 14: Ausschnitt einer Sequenzierungssequenz des Exons 25 des MYBPC Gens; bei Position 14281 (N) ist eine Nukleotidsubstitution von Alanin zu Guanin zu erkennen.

Ergebnisse

Diese Transition im Codon 820 wurde mittels eines Enzymverdau im PVU II bestätigt. Diese Mutation könnte mit großer Wahrscheinlichkeit HCM und HOCM verursachen, weil bei dieser Variante eine saure Aminosäure durch eine basische ersetzt wurde und dadurch sich Ladungsverhältnisse im Protein ändern. Weitere Mutationen wurden bei den 21 untersuchten Patienten nicht festgestellt.

Im Gesamtkollektiv von 108 Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie (HCM) und hypertropher obstruktiver Kardiomyopathie (HOCM) konnten mittels einer systematischen Mutationssuche im untersuchten Bereich des MYBP-C-Gen (Exon 6-34) insgesamt 18 Mutationen bei 20 Patienten identifiziert werden (Abb.15)

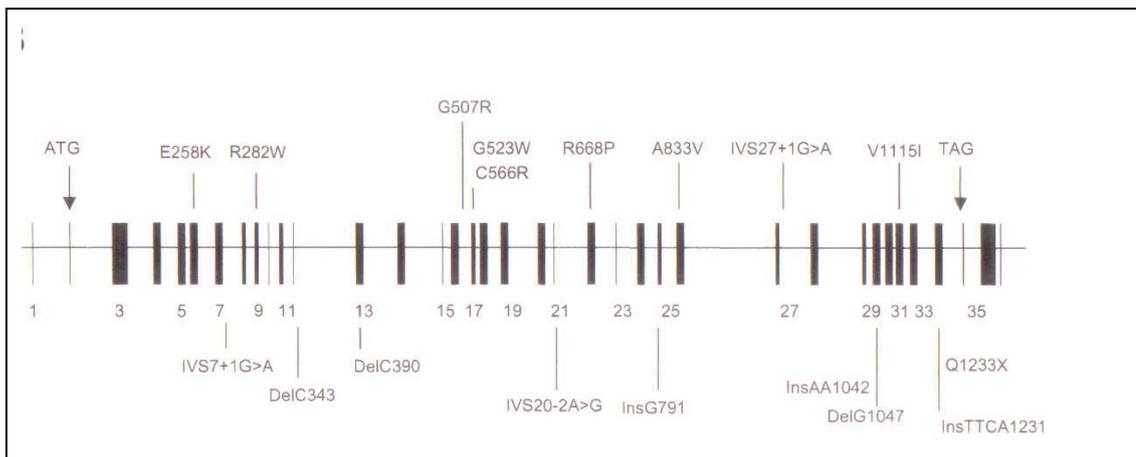


Abbildung 15: MYBP-Gen mit eingezeichneten Mutationen

Es wurden acht Aminosäuresubstitutionen, drei Spleicemutationen, eine Nonsense Mutation und je drei Insertionen und Deletionen beschrieben.

3.2.2 Polymorphismen im MYBP-C Gen (Exon 6-34)

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten bei 21 untersuchten Patienten insgesamt 10 Sequenzvarianten gefunden werden. Sie traten mit einer Frequenz > 0.01 im MYBPC auf, also mit einer Allelfrequenz von über 1% in der untersuchten Gruppe auf. Deshalb wurden die Varianten als Polymorphismen charakterisiert.

Durch SSCP-Analyse stellte man in den entsprechenden Exons Laufmusterabweichungen bei Temperaturen von 20°C und 4°C fest. Durch die Sequenzierung auffälliger DNA-Proben konnten die Varianten identifiziert und durch wiederholte Sequenzierung oder RLFP-Analyse bestätigt werden. Folgende Varianten wurden identifiziert: ein Einzelbasen-austausch im Exon 30 ohne Aminosäureaustausch, zwei Einzelbasenaustausche im Exon 6 und 12 mit Aminosäureaustausch und 5 Einzelbasensubstitutionen (Tab. 4).

EXON/IVS	Nucleotidposition	Polymorphismen	Substitution	Besonderheiten
6	4229 A/G	Ser 236 Gly	AGC → GGC	Transition
12	6396 G/A	Arg 326 Gln	CGG → CAG	Transition
IVS 12	8175 C/T	IVS 12 -24	C → T	Transversion
IVS 13	8360 G/A	IVS 13 +29	G → A	Transition
IVS 21	12209 A/T	IVS 21 +38	A → T	Transversion
IVS 23	13314 C/G	IVS 23 +18	C → G	Transversion
IVS 29	18325 A/G	IVS 29 -21	A → G	Transition
30	18443 A/G	E 1096 E	GAA → GAG	Transition
IVS 33	19731 C/T	IVS 33 -66	C → T	Transition

Tab.4: Überblick über die identifizierten Polymorphismen (Frequenz $>0,01$) im MYBPC bei Patienten mit HCM.

Die Varianten, die in den Introns gefunden wurden, liegen außerhalb der Konsensussequenzen, so dass ein Einfluss auf das Spleißen der MYBPC mRNA unwahrscheinlich erscheint.

Im untersuchten Gesamtpatientenkollektiv (n=108) konnten insgesamt 16 Sequenzvarianten gefunden werden. Davon traten 3 Varianten mit einer Frequenz ≤ 0.01 bei Patienten mit HCM selten auf. Die restlichen 13

Ergebnisse

Sequenzvarianten, die bei den Patienten mit einer Frequenz > 0.01 im MYBPC3 auftraten, wurden als Polymorphismen charakterisiert (Tab. 5, 6). Im Gesamtprojekt wurde auch ein Kollektiv von 50 gesunden Personen ohne HCM Anamnese auf Mutationen gescreent. Einen Anhalt für Mutationen gab es nicht.

Gen	Exon / IVS	Sequenzalteration	Nucleotidposition und Substitution
MYBPC3	IVS 9	IVS 9 -36 G/A	5651 G/A
MYBPC3	IVS 17	IVS 17 +11 C/G	9256 C/G
MYBPC3	IVS 26	IVS 26 +12 C/T	15814 C/T

Tab. 5: seltene Sequenzvarianten (Frequenz ≤ 0.01) bei Patienten mit HCM.

Gen	Exon / IVS	Polymorphismen	Nucleotidposition und Substitution
MYBPC3	6	S236G	4229 A/G
MYBPC3	7	T262T	4825 C/T
MYBPC3	12	R326Q	6396 G/A
MYBPC3	IVS 12	IVS 12 -24 C/T	8175 C/T
MYBPC3	IVS 13	IVS13 +29 G/A	8360 G/A
MYBPC3	IVS 19	IVS 19 +47 G/A	10732 G/A
MYBPC3	IVS 21	IVS 21 +38 A/T	12209 A/T
MYBPC3	IVS 23	IVS 23 +18 C/G	13314 C/G
MYBPC3	IVS 29	IVS 29 -21 A/G	18325 A/G
MYBPC3	30	E1096E	18443 A/G
MYBPC3	IVS 32	IVS 32 +49 C/T	19162 C/T
MYBPC3	IVS 33	IVS 33 -91 G/A	19706 G/A

Tab. 6: Polymorphismen (Frequenz > 0.01) im MYBPC3 bei Patienten mit HCM.

Exon 6 , Ser236Gly (S236G)

Es konnte durch SSCP-Analyse des Exons 6 diese Variante durch Laufmusterabweichung bei Raumtemperatur und 4°C identifiziert werden.

Durch die Sequenzierung wurde die Variante als ein A < G Austausch in Nukleotidposition +4229 identifiziert (Abb.16). Da diese Variante durch keine kommerzielle Restriktionsendonuklease nachweisbar war, konnte zur Genotypisierung keine RFLP-Analyse etabliert werden. Deshalb wurde dieses Fragment mehrmals mittels Primer F/R Exon 6 MYBP-C sequenziert.

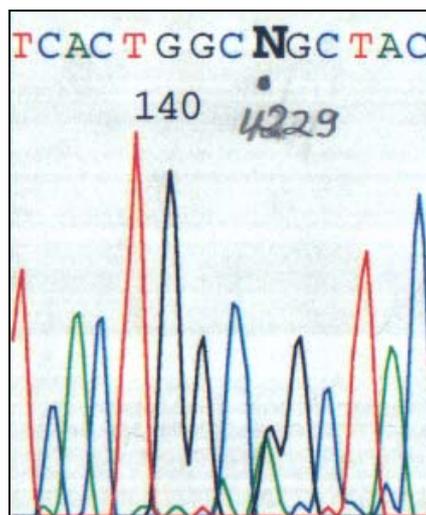


Abbildung 16: Ausschnitt aus der DNA-Sequenzen des GA-Allels. Der Punkt kennzeichnet die Position des A →G Austausches im Kodon der cDNA-position 4229.

Exon 12, Arg326Gln (R326Q)

Bei der systematischen SSCP-Analyse des Exons 12 wurden bei einigen Patienten bei Raumtemperatur eine Laufmusterabweichung (n=21) beobachtet.

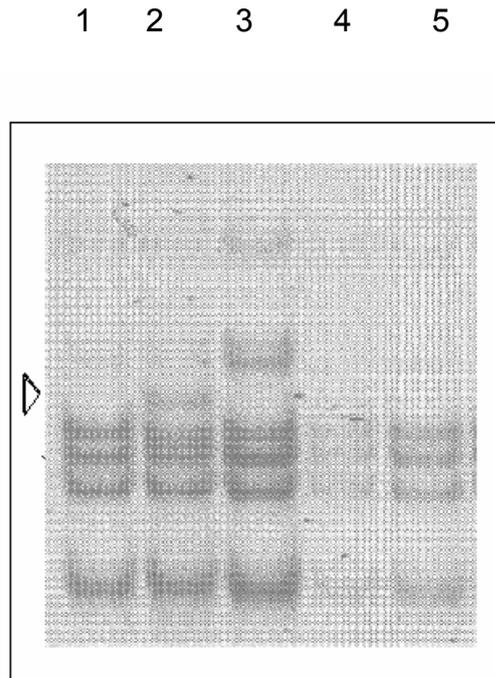


Abbildung 17: SSCP Gel Exon 12 des MYBPC Gens, Laufbandabweichung in Spur 2 bei Indexpatient 2031, die zusätzl. Bande ist durch einen Pfeil gekennzeichnet. Spuren 1,3,4 u. 5 sind Fragmente von Patienten mit Wildtypsequenz.

Mittels der DNA-Sequenzierung konnte ein G > A Austausch in Position 6396 identifiziert werden (Abb.:18).

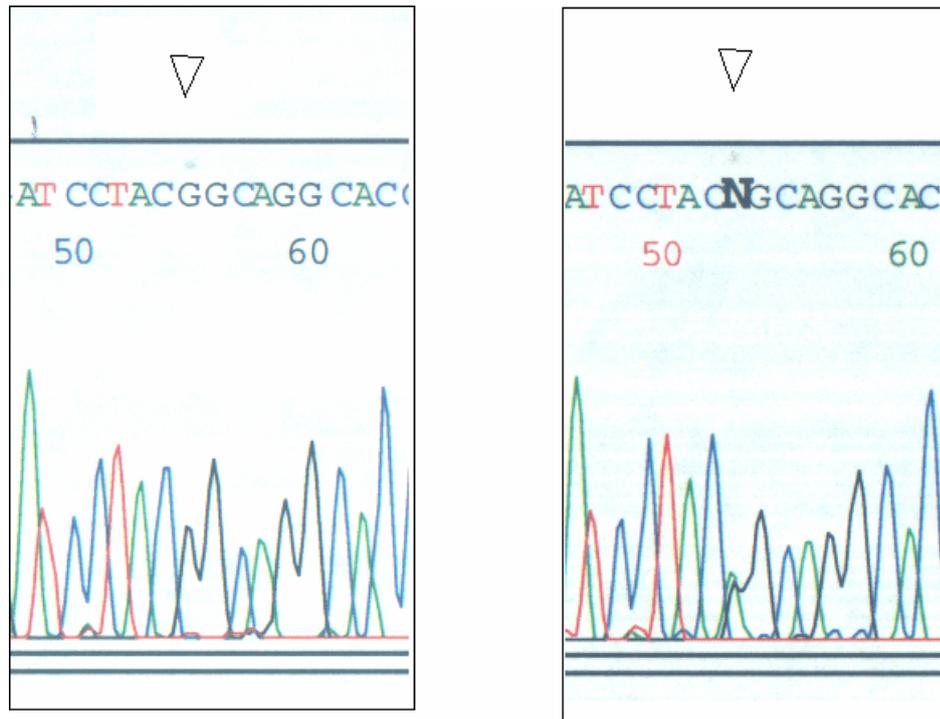


Abbildung 18: Ausschnitt aus der DNA-Sequenzen des Exons 12 des MYBP C Gens des G-Allels (Wild-Typ) links und des GA-Allels. Der Pfeil kennzeichnet bei Position 6396 (N) eine Nukleotidsubstitution von Guanin zu Alanin.

Durch diese Substitution entstehen zwei Restriktionsschnittstellen für die Restriktionsendonuklease Bfm I, so dass eine RFLP-Analyse etabliert werden konnte. Nach Amplifikation der DNA mit den Vorwärts- und Rückwärts-Primern MYBPC, Exon 12 F/R entstand ein 268 Bp langes PCR-Produkt. Nach Verdau der PCR-Produkte mit Restriktionsenzym Bfm I, entstanden bei der Gelelektrophorese beim Wildtyp eine Bande von 267 Bp; bei Personen, die heterozygot für die Variante sind, zeigten sich zusätzlich zwei Banden von 196 Bp und 71 Bp.

IVS12-24C/T und IVS13+29G/A

Nach auffälliger SSCP-Analyse von Exon 13 bei Raumtemperatur wurden auffallende PCR Produkte mittels DNA-Sequenzierung näher charakterisiert. Erkennbar war, dass es sich in den untersuchten Fragmenten um zwei unabhängige Polymorphismen handelte. Die DNA-Sequenzierung ergab in Position 8175 ein C > T Austausch (IVS12-24C/T) und in Position 8359 einen G > A Austausch (IVS13+29G/A).

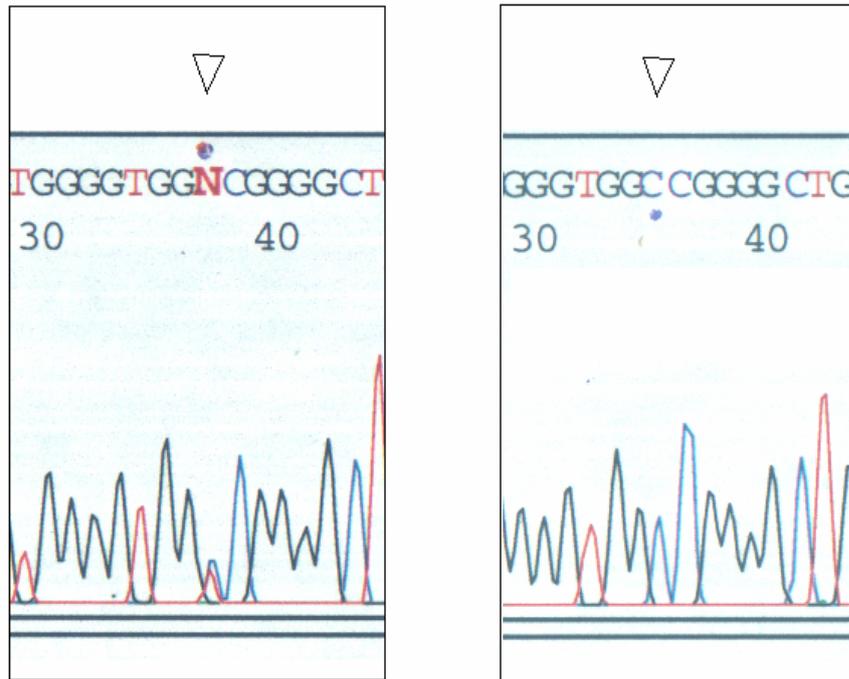


Abbildung 19: DNA-Sequenzierung des Exon 12. C > T Austausch bei IVS12-24. Der Pfeil kennzeichnet bei Position 8175 (N) eine Nucleotidsubstitution von Cytosin zu Thymin.

Durch diesen C>T Basenaustausch in Position 8175 wird eine Erkennungssequenz der Restriktionsendonuklease EaeI zerstört. Nach der RFLP-Analyse der entsprechenden PCR-Produkte enthält man beim Wildtyp drei Banden von 133 Bp, 89 Bp und 54 Bp; vier Restriktionsfragmente der Größe 187 Bp, 133 Bp, 89 Bp und 54 Bp sind charakteristisch für den heterozygoten Fall des C > T Basenaustauschs und zwei Fragmente der Größe 187 Bp und 89 Bp für den homozygoten Fall dieser Variante.

Beim zweiten Polymorphismus IVS13+29G/A handelt es sich um G>A Austausch in Position 8359. Mittels der Restriktionsendonuklease Aval wurde eine RFLP-Analyse durchgeführt. Beim Wildtyp zeigte sich bei der gelelektrophoretischen Auftrennung der Verdauungsprodukte eine Bande von 239 Basenpaare. Bei Personen, die für diese Variante heterozygot sind, wurden zwei Banden von 276 Bp und 239 Bp beobachtet. Eine Bande von der Größe 276 wurde bei Personen, die für die Variante homozygot sind, beobachtet. Die Genotypisierung des Patientenkollektiv wurde mittels RFLP-Analyse untersucht.

IVS 21 + 38A/T

An Position 12209 wurde eine weitere Variante gefunden. Nach SSCP-Analyse bei Raumtemperatur und bei 4°C konnte man ein verändertes Laufverhalten beobachten. Eine DNA-Sequenzierung ergab, dass diese Personen heterozygot für ein A>T Austausch in Nukleotidposition 12209 waren. Dieser Polymorphismus wurde durch mehrmalige Sequenzierung bestätigt. Die Genotypisierung der Variante erfolgte mittels SSCP-Analyse.

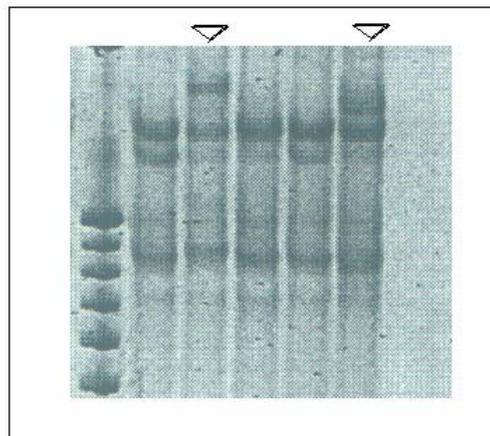


Abbildung 20: SSCP-Gel Exon 21 des MYBPC-Gens, Laufbandabweichung in Spur 3 und 6 bei Indexpatient 2031 und 2090 (Pfeil), Spur 1: 100bp-Leiter.

IVS 23 + 18C/G

An Position 13314 wurde eine weitere Variante gefunden. Es wurde nach SSCP-Analyse bei Raumtemperatur und bei 4°C ein verändertes Laufverhalten bei einigen Patienten beobachtet. Eine DNA-Sequenzierung ergab, dass diese Personen heterozygot für einen C>G Austausch in Nukleotidposition 13314 waren. Dieser Polymorphismus wurde durch mehrmalige Sequenzierung bestätigt. Die Genotypisierung der Variante erfolgte mittels SSCP-Analyse.

IVS 29 – 21A/G

Bei der SSCP-Analyse von Exon 29 zeigte sich eine Laufbandabweichung der Banden. Die ausgewählten PCR-Fragmente konnten wieder mittels DNA-Sequenzierung näher charakterisiert werden (Abb. 21). Die DNA-Sequenzierung ergab in Position 18325 einen A >G Austausch.

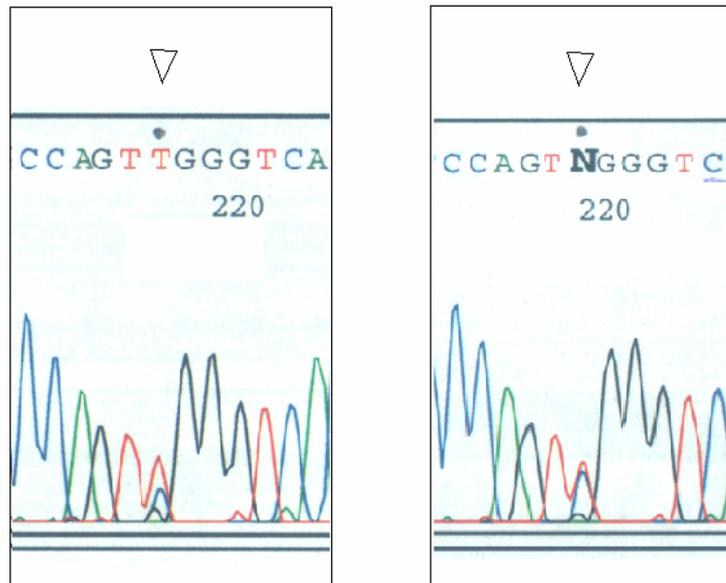


Abbildung 21: DNA-Sequenzierung des Exon 29. A >G Transition bei IVS29-21. Der Pfeil kennzeichnet bei Position 18325 (N) eine Nukleotidsubstitution von Alanin zu Guanin.

Exon 30 Glu1096Glu (E1096E)

Bei der systematischen SSCP-Analyse des Exons 30 beobachtete man bei zwei verschiedenen Temperaturen eine Laufmusterabweichung (Abb. 22).

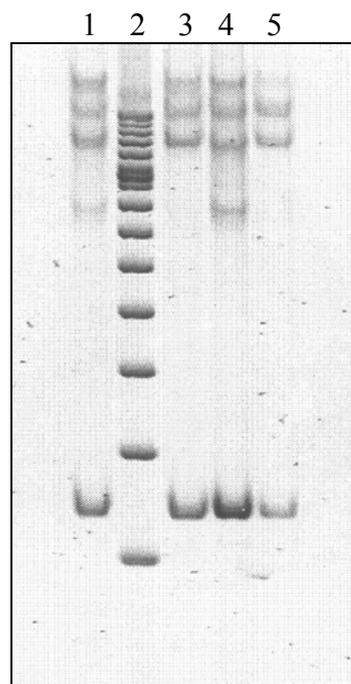


Abbildung 22: SSCP-Gel Exon 30 des MYBP C-Gens, Laufbandabweichung in Spur 1 u.4, Spur 3: 100bp-Leiter.

Mittels der DNA-Sequenzierung konnte hier ein A> G Austausch in Position 18443 identifiziert werden.

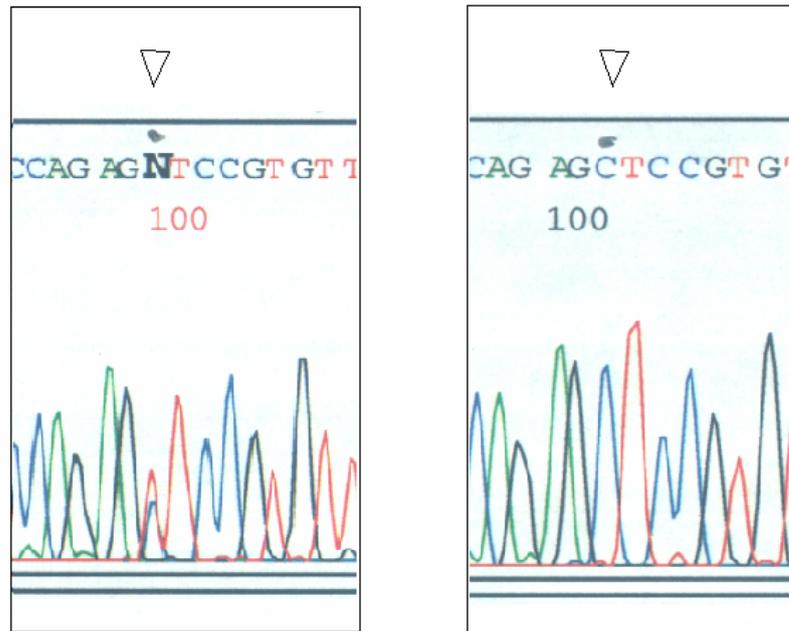


Abbildung 23: Ausschnitt aus der DNA-Sequenzen des Exons 30 des MyBP C Gens. Der Pfeil kennzeichnet bei Position 18443 (N) eine Nukleotidsubstitution von Alanin zu Guanin.

IVS 33 –66 C/T

Auch nach Analyse des Exons 33 wurde mittels der DNA-Sequenzierung eine C > T Transition in Position 19731 als Polymorphismus identifiziert und nach wiederholter Sequenzierung einzelner Fragmente bestätigt.

3.3 Mutationen und Polymorphismen im kardialen Troponin T-Gen

3.3.1 Mutationen im Troponin T

Bei der PCR- und SSCP- Analyse der 59 untersuchten Patienten mit HCM, konnte keine Mutationen nachgewiesen werden.

Im Gesamtkollektiv zeigten sich bei einem Patienten Abweichungen im Bandenmuster. Nach anschließender Sequenzierung der auffälligen PCR-Amplifikate der betreffenden Personen wurden die Ergebnisse durch Heteroduplexanalyse oder RFLP bestätigt.

Gene	Exon / IVS	Mutationen	Nucleotidposition und Substitution
TNNT2	16	R278P	81 G/C

Tab.: 7 Mutation bei Patienten mit HCM accession number # AF004409 -22

Es konnte eine Mutation im Exon 16 nachgewiesen werden. Hierbei handelt es sich um eine Aminosäuresubstitution am Kodon 278, bei der Arginin zu Prolin ausgetauscht wurde. Dieser Austausch bewirkt eine Ladungsänderung von positiv zu neutral und befindet sich in der carboxy-terminalen Domäne. So muss man davon ausgehen dass diese Substitution wegen der nahen Lage zu Troponin I und C eine krankheitsverursachende Wirkung haben kann. Diese Mutation wurde erstmals von Freeman et al. 2001 [70] beschrieben.

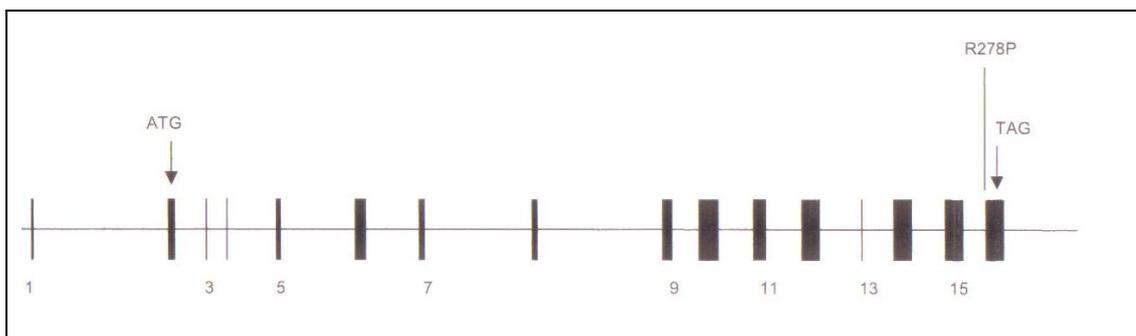


Abbildung 24: Troponin T mit eingezeichnete Mutation

3.3.2 Seltene Sequenzvarianten und Polymorphismen im Troponin T

In der vorliegenden Arbeit wurden 6 Varianten identifiziert. Davon sind 2 Einzelbasenaustausche im Exon 8 und 9 ohne Aminosäureaustausch und die 4 Einzelbasensubstitutionen. Diese befinden sich in den Introns 3, 5, 11 und 14. Die identifizierten Varianten waren Polymorphismen und hatten eine Frequenz > 0.01 im Troponin T

Exon/ IVS	Polymorphismus	Nucleotidposition und Substitution
IVS 3	IVS3-11	(CTTCT)1/(CTTCT)2
IVS 5	IVS5 -50	219 G/A
8	Ser 69 Ser	199 G/A
9	Ile 106 Ile	163 T/C
IVS 11	IVS11-32	96 A/C
IVS 14	IVS14-33	128 C/T

Tab.: 8 Polymorphismen (Frequenz > 0.01) in Troponin T bei Patienten mit HCM
 Pubmed Accession-No.: AAC359590:AF004409-22

Die Varianten in den Introns liegen außerhalb von Spleiss-Konsensussequenzen, ein Einfluss aus dem Spleißen der Troponin T mRNA ist daher unwahrscheinlich.

Bei den 108 untersuchten Patienten konnten insgesamt 11 Sequenzvarianten identifiziert werden. Davon waren 4 Varianten bei Patienten mit HCM mit einer Frequenz ≤ 0.01 selten anzutreffen. Die anderen 7 Varianten waren Polymorphismen und hatten eine Frequenz > 0.01 (Tab.: 9, 10).

Gene	Exon / IVS	Sequenzalteration	Nucleotidposition und Substitution
TNNT2	IVS 6	IVS 6 -29 C/G	246 C/G
TNNT2	IVS 14	IVS 14 +27 G/C	180 G/C
TNNT2	16	3'UTR +6	118 C/T
TNNT2	16	3'UTR +67	179 G/A

Tab.:9 Seltene Sequenz-Varianten (Frequenz ≤ 0.01)

Gene	Exon / IVS	Polymorphismen	Nucleotidposition und Substitution
TNNT2	IVS 3	IVS 3 -11 (CTTCT) ₁ / (CTTCT) ₂	242 (CTTCT) ₁ / (CTTCT) ₂
TNNT2	IVS 5	IVS 5 -50 G/A	219 G/A
TNNT2	8	S69S	199 G/A
TNNT2	9	I106I	163 T/C
TNNT2	IVS 9	-97 (CCCCC) / (CCCC)	-97 (CCCCC) / (CCCC)
TNNT2	IVS 11	IVS 11 -32 A/C	96 A/C
TNNT2	IVS 14	IVS 14 -33 C/T	128 C/T

Tab.:10 Polymorphismen (Frequenz > 0.01) in Troponin T bei Patienten mit HCM accession number # AF004409 -22

3.3.3 Mutationen und Polymorphismen im α -Tropomyosin-Gen

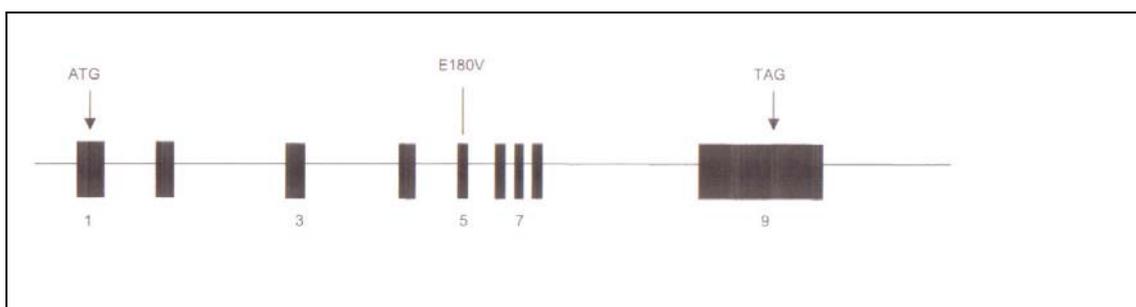


Abbildung 25: Tropomyosinogen mit eingezeichneter Mutation

Das α -Tropomyosin ist ein ungefähr 40nm langes seilartiges polares Molekül, dessen Untereinheiten sich Kopf an Schwanz zusammenlagern und damit kontinuierliche Ketten entlang der Aktinfilamente ausbilden.

Das α -Tropomyosinmolekül (Molekulargewicht 39kDa) besteht aus 284 Aminosäuren und 2 Polypeptidketten, die in Form einer Alphahelix umeinander gewunden sind.

Das Alpha-Tropomyosin-Gen (TPM1), das auf Chromosom 15 lokalisiert ist, enthält 9 Exone.

3.3.4 Mutationen im α -Tropomyosin-Gen

Bislang wurden 6 verschiedene Missense Mutationen nachgewiesen [32]. In der vorliegenden Arbeit wurde das α -Tropomyosin-Gen mittels SSCP-Analyse bei 20 Patienten untersucht. 9 Fragmente wurden PCR amplifiziert. Mutationen wurden nicht festgestellt.

Im Patientenkollektiv wurde eine Aminosäuresubstitution im Exon 5 E180V schon zu einem früheren Zeitpunkt publiziert [71].

Gen	Exon / IVS	Mutation	Nucleotidposition und Substitution
TPM1	5	E180V	595 A/T

Abb.26: Mutation bei Patienten mit HCM im Tropomyosin accession number # XM_029494

3.3.5 Polymorphismen im α -Tropomyosin-Gen

Nach PCR- und SSCP- Analyse von 9 Exonen im α -Tropomyosin bei 2 unterschiedlichen Temperaturen (20°C und 4°C), zeigten sich Abweichungen im Bandenmuster im Exon 4. Einige Patientenproben wurden daraufhin

Ergebnisse

sequenziert. Es konnte an der Nukleotidposition 525 eine Nucleotidsubstitution von Adenin zu Cytosin nachgewiesen werden. Daraus resultierte die Sequenzvariante (Frequenz<0,01) A151A, die mittels wiederholter Sequenzierung bestätigt wurde. Weitere Laufbandabweichungen wurden in den übrigen Exonen nicht festgestellt.

Gene	Exon / IVS	Polymorphismus	Nucleotidposition und Substitution
TPM1	4	A151A	525 A/C

Abb.27. Sequenzvariante (Frequenz<0,01) bei Patienten mit HCM im Tropomyosin
accession number # XM_029494