Funkční význam hERG: od fyziologické role po cíl protinádorové terapie

Júlia Šatková, Markéta Bébarová

Fyziologický ústav LF MU, Brno

Souhrn

Lidský *ether-à-go-go* příbuzný gen (*hERG*; oficiálně označovaný jako *KCNH2*), kóduje strukturu proteinu tvořícího α podjednotku napětově řízeného iontového kanálu, který vede rychlou složku opožděného K^+ proudu z buňky (I_{Kr}). Tento proud hraje významnou úlohu zejména v repolarizaci srdečních buněk. Mutace v genu *hERG* vedou k projevům dědičných syndromů, které jsou charakteristické prodloužením nebo zkrácením intervalu QT na elektrokardiogramu a vznikem život ohrožujících arytmií. Tato práce představuje kanály *hERG* i jako součást regulačních mechanismů kontraktilní činnosti hladkého svalstva, aktivity neuronů, uvolňování některých hormonů i proliferace a apoptózy nádorových buněk. Zmíněná jsou rovněž onemocnění plynoucí z poruchy funkce těchto kanálů a také možnosti využití genu/kanálu *hERG* jakožto diagnostického markeru a možného terapeutického cíle u různých onemocnění, zejména u nádorových.

Klíčová slova: epilepsie – *hERG* – *KCNH2* – kontrakce svalu – K^+ kanál – LQTS – membránové napětí – nádorové onemocnění – proliferace – schizofrenie

Functional impact of hERG: from physiological role to target of anticancer therapy

Summary

The human *ether-à-go-go* related gene (*hERG*; officially designated as *KCNH2*) encodes the structure of protein forming α -subunit of voltage-gated ion channel which conducts the rapid component of delayed rectifier K^+ current (I_{Kr}). This current plays an important role namely in the cardiac repolarization. Mutations in *hERG* result in inherited arrhythmogenic syndromes characterized by a lengthening or shortening of QT interval on the electrocardiogram and by an increased occurrence of life-threatening arrhythmias. This review also introduces *hERG* channels as a part of regulatory mechanisms of the smooth muscle contractility, neuronal activity, release of several hormones, and of proliferation and apoptosis of cancer cells. There are also mentioned some of the diseases arising from *hERG* channel dysfunction, and some possibilities of use of *hERG* gene/channel as a diagnostic marker and potential therapeutic target in various diseases, namely in cancer.

Key words: cancer – epilepsy – *hERG* – *KCNH2* – K^+ channel – LQTS – membrane potential – muscle contraction – proliferation – schizophrenia

Úvod

Objevení lidského *ether-à-go-go* příbuzného genu (*hERG*) mělo velký dopad zejména v oblasti kardiovaskulárního výzkumu. Gen *hERG* totiž kóduje strukturu α podjednotky napětově řízeného iontového kanálu vedoucího významný repolarizační K^+ proud srdečních buněk. Narušení funkce tohoto kanálu vede ke změnám trvání repolarizace akčního napětí, a tím ke změnám délky intervalu QT na elektrokardiogramu (EKG), případně až k život ohrožujícím arytmiím. V posledních letech se pozornost vědců zaměřuje na úlohu genu *hERG* a jím kódovaného proteinu i v jiných tkáních, zejména ve tkáni nervové, en-

dokrinní, v hladkém svalstvu a ve tkáních nádorových. Tato práce podává přehled nejnovějších poznatků v této oblasti a rovněž zmiňuje potenciální možnosti využití genu *hERG* a jeho produktu v diagnostice a terapii.

Charakteristika genu hERG

Gen *hERG* je oficiálně nazýván jako *KCNH2*; označení *hERG* je však používáno mnohem častěji a bude proto užíváno i v této práci. Gen *hERG* se nachází v oblasti 36.1 dlouhého raménka 7. chromozomu a skládá se z 33,3 kbp; je tvořen 19 exony (NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3757). Poprvé byl tento gen nalezen v hipo-

kampu, a to porovnáním DNA z knihovny komplemen-tárních DNA fragmentů s myším homologním genem *ether-à-go-go* (*EAG*).

Stavba a funkce proteinu kódovaného genem hERG

Jak již bylo zmíněno, gen *hERG* kóduje strukturu α podjednotky tvořící napěťově řízený K^+ kanál oficiálně nazývaný Kv11.1, častěji však *hERG* [1,2]. Existence několika startů transkripce genu umožňuje vznik 5 různých izoform proteinu; konkrétně *hERG1a*, *hERG1b*, *hERG1c*, *hERG1a_{USO}* a *hERG1b_{USO}*. Zmíněné izoformy se navzájem liší počtem a uspořádáním aminokyselin [3] a rovněž některými vlastnostmi vrátkování kanálu [4]. V nehumánních tkáních se tento gen označuje jen jako *ether-à-go-go* příbuzný gen (*ERG*) [5].

Produkt genu *hERG* se ve formě podjednotek se-skupuje do tetrameru. Každá podjednotka obsahuje 6 α -helikálních transmembránových segmentů S1 až S6 (obr. 1A). Mezi segmenty S5 a S6 se nachází selektivní pór pro K^+ . Segment S4 představuje napěťový senzor obsahující aminokyseliny s kladným nábojem. Transmembránové segmenty jsou v cytosolu lemované amino- (N-) a karboxylovými (C-) terminálními regiony [6]. N-konec některých izoform obsahuje Per-Arnt-Sim (PAS) doménu, která má regulační funkci [7]. Na C-konci se nachází cyklická doména vážící nukleotidy (cNBD) [8]. Výsledný tetramer se začlení do plazmatické membrány buňky a tvoří kanál hERG (obr. 1B).

Iontové kanály se obecně vyskytují v 3 možných stavech: jako zavřené, otevřené a inaktivované [9]. Přechod mezi těmito stavy je u napěťově řízených kanálů, mezi které řadíme i kanál hERG, závislý na membránovém napětí (V_m). Jak na příkladu akčního napětí buňky pracovního myokardu ukazuje obr. 1C, pohyb aktivačních a inaktivačních vrátek hERG kanálu vykazuje při změnách V_m významně rozdílnou kinetiku – aktivační vrátka se pohybují velmi pomalu, zatímco inaktivační vrátka rychle [2,10]. Díky tomu dochází během depolarizace V_m k rychlé inaktivaci kanálu a proud tekoucí

hERG kanály, tzv. rychlá složka opožděného K^+ proudu z buňky (I_{Kr}), je minimální. Při nastupující repolarizaci dojde naopak k rychlému zotavení hERG kanálů z inaktivační stavy za současného velmi pomalého zavírání aktivačních vrátek (tzv. deaktivace). V důsledku toho teče během probíhající repolarizace významný I_{Kr} .

Fyziologický význam kanálů hERG v různých tkáních

Kanály hERG jsou za fyziologických podmínek expri-movány v mnoha různých tkáních, zejména ve tkáních excita-bilních (srdeční, nervové a hladkém svalstvu) a rovněž v některých endokrinních žlázách. Exprese hERG kanálů se zde podílí na regulaci V_m , což je podstatné pro funkci těchto tkání [6,11–13]. Fyziologická role hERG kanálů ve tkáních je názorně patrná v situacích, kdy dojde k jejich dysfunkci, jak bude dokumentováno v této podkapitole.

Srdeční tkáň: arytmogenní syndromy spojené s genem hERG

Jak vyplývá z výše uvedených vlastností vrátkování kanálů hERG, důležitou úlohu sehrává proud procházející tímto kanálem nazývaný I_{Kr} zejména ve fázi repolarizace (tj. ve fázi 3) akčního napětí srdečních buněk (graf 1) [2,14]. V souhrě s dalšími repolarizačními proudy se tak I_{Kr} podílí na udržování adekvátní délky akčního napětí srdečních buněk.

Funkční změny kanálu hERG (a tedy i I_{Kr}) mohou vést v srdeční tkáni ke změnám rychlosti repolarizace akčního napětí srdečních buněk, a tím ke změnám délky intervalu QT na EKG, případně až ke vzniku arytmií včetně život ohrožujících arytmií. Samotná funkční změna jediného repolarizačního proudu však obvykle nemá

Obr. 1A, 1B. Stavba a funkce hERG kanálu

A. Stavba podjednotky hERG kanálu: znázorněny jsou transmembránové segmenty S1–S6, doména PAS – Per-Arnt-Sim a cNBD – cyklická doména vážící nukleotidy, symbolem + jsou značeny aminokyseliny s kladným nábojem, které jsou koncentrovány v segmentu S4 (napěťový senzor kanálu), selektivní pór pro K^+ se nachází mezi segmenty S5 a S6

B. Tetramer složený ze 4 podjednotek zobrazených v části A tvoří po začlenění do plazmatické membrány buňky hERG kanál

Obr. 1C. Stavba a funkce hERG kanálu

C. Vrátkování hERG kanálu: kanály se vyskytují jako zavřené (Z), otevřené (O) a inaktivované (I), přechody mezi těmito funkčními stavy kanálu jsou závislé na membránovém napětí; aktivační vrátka se pohybují velmi pomalu, inaktivační vrátka naopak rychle (zde na příkladu změn stavu hERG kanálu během akčního napětí srdeční buňky), což je podkladem specifického toku proudu přes hERG kanály během akčního napětí (graf 1)

výrazné účinky na srdeční elektrofiziologii. Celková repolarizační síla je dána aktivitou řady repolarizačních proudů, které se mohou do jisté míry zastupovat – tzv. repolarizační rezerva popsána poprvé v roce 1998 [15]. Projevy dysfunkce jednotlivých repolarizačních proudů včetně I_{Kr} jsou proto obvykle patrné jen za situace, v níž dojde k současné změně funkce u několika z nich.

Co se týká možné dysfunkce I_{Kr} může dojít jednak ke snížení jeho funkce, a tím k prodloužení intervalu QT na EKG (graf 2, levá část). Pak vzniká tzv. syndrom dlouhého intervalu QT (LQTS), který může být buď dědičný [1] nebo získaný [16]. Méně často je funkce I_{Kr} navýšena, interval QT se zkracuje a vzniká syndrom krátkého intervalu QT (SQTS); graf 2, pravá část [17]. Jelikož tyto syndromy jsou dobře známy, omezily jsme jejich popis na nutné minimum.

Dědičný LQTS je autosomálně dominantně dědičná porucha způsobená převážně mutacemi v genech kódujících strukturu srdečních iontových kanálů. Méně než 12 % mutací se vyskytuje de novo [18]. Mutace v genu *hERG* jsou spolu s mutacemi v genu *KCNQ1* nejčastějším typem mutací asociovaných s LQTS; společně se podílí na 87 % diagnostikovaných dědičných LQTS. Samotné mutace v genu *hERG* jsou diagnostikovány až u 45 % všech pacientů s LQTS – tzv. LQTS typu 2 (LQT2) [1,19]. Doposud bylo identifikováno již více než 160 různých mutací v genu *hERG*; 61,7 % tvoří bodové substituční mutace jedné aminokyseliny, převážně se nacházející na C- a N-terminální konci a v oblasti póru kanálu [6]. Mutace vedou u LQT2 ke snížení I_{Kr} . Tok K^+ v buňkách myokardu důležitých pro jejich repolarizaci se tak významně sníží, což se projeví prodloužením repolarizace akčního napětí, a tím i prodloužením intervalu QT na EKG (graf 2, levá část) [2].

Klinicky je LQT2 charakterizován výskytem synkop v důsledku přechodného nedokrvení mozku během tachyarytmie, konkrétně obvykle polymorfní komorové tachykardie typu torsades de pointes. Tato arytmie může vyústit ve fibrilaci komor a vést tak až k náhlé

srdeční smrti [20]. Arytmie postihují jedince s dysfunkcí genu *hERG* nejčastěji během spánku, méně častým spouštěčem bývá emocionální stres [21], což souvisí s existencí výše zmíněné repolarizační rezervy [22]. Prodloužený interval QT je často identifikován až po první synkopě či srdeční příhodě. Až u 30 % nediagnostikovaných pacientů s LQT2 je právě náhlá srdeční smrt první známkou choroby. Klinický průběh závisí na délce intervalu QT, pohlaví, věku, genotypu, počtu synkop a na pozitivní rodinné anamnéze [23].

Z hlediska diagnózy má určující význam právě délka intervalu QT na EKG. V praxi se používá hodnota intervalu QT korigovaného na srdeční frekvenci (QTc) [24]. Hraníční hodnoty pro QTc jsou (mimo jiné i v závislosti na pohlaví) 420–470 ms [25]. Délka více než 500 ms již znamená značné riziko, přičemž každý nárůst hodnoty o 10 ms zvyší riziko srdečních příhod o 5 % [20]. Kromě prodlouženého intervalu QT je viditelná i specifická vlna T s nízkou amplitudou a často dvojí vrcholem (graf 2, levá část) [26].

K léčbě a preventivním opatřením LQT2 se využívá antiadrenergní terapie v podobě podávání betablokátorů, případně sympatické denervace srdce [27]. Vysoce rizikovým pacientům a těm, u kterých i přes preventivní podávání betablokátorů synkopy přetrvávají, je doporučena implantace kardioverteru-defibrilátoru [28].

Získaný LQTS může vzniknout na různém podkladě, např. vlivem elektrolytové dysbalance nebo v důsledku aplikace léků (tzv. léky indukovaný LQTS). Nejčastější příčinou tohoto nežádoucího účinku léčiv je právě blokáda *hERG* kanálů. K lékům vyvolávajícím získaný LQTS patří široké spektrum antihistaminik, antibiotik, antipsychotik či antiarytmik [16]. Léčiva způsobující získaný LQTS snižují I_{Kr} dvěma způsoby. Mohou buď přímo blokovat kanál navázáním na specifická vazebná místa, nebo účinkují nepřímo přerušováním tvorby kanálového proteinu [29]. Podobně jako u dědičného LQTS může být výsledkem prodloužení intervalu QT a vznik komorových tachykardií typu torsades de pointes či náhlé úmrtí. Celkové proarytmické působení těchto léků však

Graf 1. Význam hERG kanálů v srdeční tkáni

Průběh akčního napětí srdečních buněk se znázorněním aktivity *hERG* kanálů, tj. rychlé složky opožděného K^+ proudu z buňky I_{Kr} (simulováno s využitím matematického modelu komorové srdeční buňky člověka). Upraveno podle [14]

Graf 2. Význam hERG kanálů v srdeční tkáni

Křivka EKG znázorňující délku intervalu QT u zdravého jedince (uprostřed), pacienta se syndromem dlouhého intervalu QT (LQTS; vlevo) a pacienta se syndromem krátkého intervalu QT (SQTS; vpravo). Tyto syndromy mohou být podmíněny mimo jiné i změnou funkcí *hERG* kanálů, konkrétně LQTS jejich sníženou funkcí, a tedy snížením velikosti rychlé složky opožděného K^+ proudu z buňky I_{Kr} , a SQTS naopak jejich hyperfunkcí, a tedy navýšením I_{Kr} , jak je vyznačeno na obrázku

závisí i na predispozicích a rizikových faktorech jednotlivých pacientů [30].

SQTS je porucha činnosti srdce charakteristická zkráceným intervalem QT na EKG a vysokou incidencí komorových arytmií [31]. Dědičnost je stejná jako u LQTS autosomálně dominantní. SQTS je asociován s vysokým rizikem náhlé srdeční smrti hlavně během prvních měsíců života. Diagnostika se opírá o EKG obraz, výskyt arytmií a o pozitivní rodinnou anamnézu [32]. Mutace v genu *hERG* jsou příčinou SQTS typu 1. Bylo identifikováno několik mutací vyúsťujících do substituce jedné aminokyseliny [17,33]. Všechny vedou k nárůstu I_{Kr} a tím ke zkrácení akčního napětí [17]. Výsledkem je zkrácení intervalu QT < 340 ms a vyšší vlna T na křivce EKG (graf 2, pravá část) [32].

Nervová tkáň: zvýšená excitabilita neuronů na podkladě snížené funkce hERG kanálů

Co se týče nervového systému, funkční exprese hERG kanálů byla mimo jiné identifikována v senzorických orgánech laboratorních zvířat, konkrétně v čichovém bulbu a vnitřním uchu (jak již bylo zmíněno, v nehumánních tkáních označovány jako ERG kanály/gen) [34,35].

V myším čichovém bulbu jsou kanály součástí mitrálních buněk, speciálních neuronů účastnících se přenosu vzruchu z primárních receptorových neuronů do příslušné oblasti mozkové kůry. Soudí se, že ERG kanály regulují excitabilitu a elektrickou aktivitu těchto buněk [34]. ERG kanály jsou součástí membrán i v myších intermediálních buňkách stria vascularis a ve vláskových buňkách vnitřního ucha, kde regulují výtok K^+ z intermediálních buněk do endolymfy vnitřního ucha, čímž se podílejí na tvorbě endokochleárního potenciálu [35].

V Purkyňových buňkách mozečku myši se proud přes ERG kanály podílí na kontrole membránové excitability a frekvence výbojů neuronů včetně adaptace této frekvence [11]. Podobně je to u hybridních neuroblastomových buněk. Při depolarizaci membrány neuronů dochází k jejich výboji (tj. ke vzniku akčního napětí), který je zaznamenán na křivce jako hrot [36]. Aplikace specifického inhibitoru ERG kanálů, WAY 123,398, a následně indukovaných depolarizačních pulzů způsobuje v Purkyňových buňkách změnu trvání akčního napětí a zvýšení frekvence hrotů v porovnání s kontrolními buňkami bez inhibitoru. Tyto pokusy dokazují, že se ERG kanály účastní tvarování akčního napětí neuronů a snižování jejich excitability [11].

Uplatnění kanálů hERG v excitabilitě neuronů má své důsledky i u lidí. Dysfunkce těchto kanálů může mít v mozečku dopad na kontrolu motorických funkcí [11], jak naznačují i některé klinické práce [37,38]. Mutace nebo defektní exprese *hERG* v neuronech může vést k trvalé hyperexcitabilitě neuronů a jejich neschopnosti přizpůsobit se opakovaným stimulům. Tvoří se tak předpoklad pro vývoj některých poruch nervového systému, jako jsou schizofrenie nebo epilepsie [5,36].

Huffaker et al [39] identifikovali v mozku specifickou variantu *hERG*, izoformu *hERG-3.1* (označovanou také jako

hERG1c), která je exprimována ve zvýšené míře u schizofreniků. Jak tato studie prokázala, podkladem rozvoje schizofrenie je přítomnost jednonukleotidových polymorfizmů, které zesilují expresi izoformy *hERG-3.1* oproti obvyklé přítomnosti *hERG*. Jak již bylo zmíněno, jednotlivé izoformy *hERG* se liší nejen svou strukturou, ale i elektrofyziologickými vlastnostmi. Při zvýšené expresi *hERG-3.1* se zvýší excitabilita neuronů, což vede k nárůstu frekvence neuronových impulzů a ke vzniku neadaptivní frekvence hrotů projevující se po opakované stimulaci neuronů. Dokonce i zdraví jedinci s rizikovou alelou (tj. se vzácnější variantou nukleotidu) vykazovali nižší inteligenci a rychlost kognitivních procesů a také pozměněné funkce hipokampu.

Již byla dokumentována i korelace mezi udržováním pozornosti, krátkodobou pamětí a genotypem schizofreniků. Pacienti s rizikovou alelou T v polymorfismu označeném jako rs3800779 prospívali v kognitivních testech výrazně méně než homozygotní jedinci s genotypem GG. G je tomto případě v populaci běžnější varianta alely [40]. Sekvenční varianty v dalším polymorfismu, rs1036145, zase korelovaly s účinností antipsychotických léčiv. Homozygotní jedinci v rizikové alele T (tj. s genotypem TT) reagovali na léčbu výrazněji – příznaky se u nich zmírnily markantněji než u heterozygotních pacientů s genotypem CT nebo homozygotních pacientů s genotypem CC [41].

Kromě schizofrenie bývá ve spojitosti s *hERG* zmiňována také epilepsie. LQT2 může být nesprávně diagnostikován jako epilepsie a následně léčen antiepileptiky [42], která však nevykazují požadovaný efekt [43]. Možným podkladem může být jednak specifický ráz synkop, které jsou vyprovokovány dočasným nedostatečným prokrvením mozku během tachyarytmie asociované s LQTS. Potenciální příčinou vzniku skutečného epileptického záchvatu u pacienta s LQT2 však může být i mutace v *hERG*, která se projeví v obou systémech, v nichž je tento gen fyziologicky exprimován. Zamorano-Leon et al [43] identifikovali de novo mutaci R863X v exonu 10 genu *hERG*. Výsledná delece 296 aminokyselin v proteinu byla podkladem epilepsie i LQT2 zároveň. Zkoumaný subjekt trpěl kromě prodlouženého intervalu QT na EKG i rekurentními epizodami záchvatů a synkop vznikajících na podkladě hyperexcitability neuronů v důsledku snížené funkce hERG kanálů v mozkové tkáni. Tento patogenetický mechanismus zahrnuje gliové buňky astrocyty v hipokampu, v němž byl gen detekován [44].

Hladké svalstvo: regulace motility prostřednictvím hERG kanálů

Aktivita hERG kanálů byla zaznamenána v hladké svalovině různé lokalizace, konkrétně v trávicím traktu [45], myometriu [46] a části pohlavních žláz [47].

V gastrointestinálním traktu hERG kanály participují na kontrole motility hladkého svalstva díky schopnosti modulace elektrické aktivity buněk [12,45]. Isoformy *hERG1a* a *hERG_{USO}* byly identifikovány v podélné i kruhové svalovině a v enterických neuronech jejuny.

Význam *hERG* byl zkoumán na základě inhibice blokátory. Ty depolarizují V_m a ovlivňují tak elektrické i kontraktilní vlastnosti tkáně. Nízká koncentrace inhibitoru E-4031 zesiluje amplitudu fázických kontrakcí, naopak vysoké koncentrace E-4031 snižují jejich amplitudu i frekvenci, až se vyvinou kontrakce tonické. Při nízkých koncentracích je efekt způsoben zvýšenou frekvencí akčních napětí v buňkách, což podněcuje vstup Ca^{2+} do buněk a svalový stah [12].

Vliv ERG na motilitu hladké svaloviny byl pozorován i v žlučníku morčete. Inhibice ERG specifickým blokátorem E-4031 způsobovala excitační vzplanutí (tj. vysokou frekvenci hrotů), které nastalo díky prodloužení repolarizace po fázi plató akčního napětí buňky. V důsledku toho došlo ke zvýšení kontraktility svalů, avšak na rozdíl od studie Farrelly et al [12] byl sledován tento účinek jen při nižších koncentracích E-4031, které zvýšily sílu a zároveň snížily frekvenci fázických kontrakcí. Klidový tonus svalů vzrostl [45].

Pozoruhodnou úlohou ERG kanálů je ovlivňování stahů myometria. V myším myometriu jsou tvořeny izoformy ERG1a a ERG1b, s převahou proteinu ERG1a. U negravidních myší vyvolá aplikace E-4031 a dofelitudu (tj. inhibitorů ERG) spontánní kontrakce. Aktivátory ERG, konkrétně PD118057 a NS1643, spontánní kontrakce naopak potlačují. Důvodem poklesu kontraktility může být repolarizace V_m umožněná aktivací ERG a zkrácení fáze plató akčního napětí myocytů. Redukuje se i tok Ca^{2+} proudících do buňky, čímž dochází ke snížení intenzity a trvání stahů [46,48].

Aplikace inhibitorů nebo aktivátorů ERG kanálů v pozdní stadiu gravidity nemá na rozdíl od negravidních myší na kontraktilitu dělohy žádný vliv. Předpokládá se tedy účast ERG kanálů na udržení plodu v děloze zejména během časně fáze gravidity [46]. Množství ERG1a nebo ERG1b je před graviditou a během ní téměř konstantní. Vystupňuje se však exprese genu *KCNE2* a jeho produktu, tj. regulační pomocné β podjednotky, která redukuje tok iontů přes α podjednotku ERG/*hERG* kanálu [46,49]. Poklesem aktivity ERG před porodem se prodlouží trvání akčního napětí buněk a délka kontrakcí. Zjistilo se, že u žen s nadváhou je aktivita *hERG* zesílená úměrně s indexem tělesné hmotnosti, a to v důsledku snížené exprese inhibiční β podjednotky. Výsledkem je zkrácení fáze plató akčního napětí, a tím pádem i zeslabení stahů myometria. Tento fakt nesporně významně přispívá k nižší incidenci porodů přirozenou cestou u obézních žen [48].

Mewe et al [47] identifikovali funkční izoformy ERG, s dominující ERG1b, ve vývodu bovinních nadvarlat. Spontánní fázické kontrakce jsou v nadvarlatech nutné pro transport spermií. Aplikace E-4031, cisapridu nebo dofelitudu zesilovala spontánní kontrakce a snižovala jejich frekvenci, zatímco přítomnost aktivátoru NS1643 stahy potlačovala.

Na rozdíl od hladké svalové tkáně je v kosterní svalovině tvorba proteinu *hERG* limitována jen na embryonální stadium, během kterého se účastní vývoje svalového systému [50].

Endokrinní buňky: regulace sekrece hormonů prostřednictvím změn aktivity *hERG* kanálů

Inhibice nebo snížení aktivity *hERG* kanálů má v některých endokrinních buňkách podobný účinek jako v hladké svalové tkáni. Přítomná je depolarizace V_m a nárůst frekvence akčních napětí vedoucí ke vzrůstajícímu uvolňování hormonů [3].

Kolísající aktivitou *hERG* kanálů je regulovaná sekrece hormonů např. v α - a β -buňkách Langerhansových ostrůvků pankreatu, které se významně podílejí na stabilizaci glykemie [13,51]. V obou typech buněk mají *hERG* kanály odlišnou úlohu – jsou negativním regulátorem sekrece inzulínu v β -buňkách a pozitivním regulátorem sekrece glukagonu v α -buňkách [13].

V β -buňkách stimuluje glukóza produkci ATP, které omezí aktivitu K^+ kanálů citlivých k ATP. Dojde k depolarizaci membrány, následnému vtoku Ca^{2+} a exocytóze inzulínu do krve. Repolarizaci β -buněk zabezpečují právě *hERG* kanály, čímž participují na regulaci sekrece inzulínu [13]. Při inhibici *hERG* kanálů dochází k hyperexcitabilitě β -buněk ústící do zvýšení sekrece inzulínu až o 77 % [52]. Inhibitor přidaný ke glukóze, která sekreci β -buněk stimuluje, způsobí nárůst vtoku Ca^{2+} , což má za následek na glukóze závislou sekreci inzulínu. U α -buněk uvolňujících glukagon působí inhibice *hERG* přechodné zvýšení Ca^{2+} naopak jen v menší míře případů. Za přítomnosti nízké koncentrace glukózy se přeruší při inhibici blokátory *hERG* kanálů uvolňování glukagonu. Dochází k tomu v důsledku výraznější depolarizace α -buněk, která inaktivuje Na^+ a Ca^{2+} kanály. Předpokládá se, že příčinou je odlišný mechanismus regulace vzniku akčních napětí v α - a β -buňkách. Různé působení *hERG* kanálů v pankreatických buňkách má potenciální terapeutické využití. Inhibice tohoto kanálu, která vede ke zvyšování hladiny inzulínu a poklesu tvorby glukagonu, by mohla být v budoucnu přínosná při léčbě diabetu [13].

Zvýšení sekrece inzulínu po aplikaci inhibitoru *hERG* kanálů naznačuje, že mutace v genu *hERG* či jinak navozené změny v aktivitě těchto kanálů mohou způsobit hyperinzulinemii. Jednou z poruch hladiny inzulínu je nezidioblastóza neboli dětská perzistující hyperinzulinemická hypoglykemie. Tuto poruchu způsobují převážně mutace v genu pro K^+ kanály citlivé k ATP, nevylučuje se však ani původ v genu *hERG* [52].

Kanály *hERG* jsou důležitým regulátorem sekrece prolaktinu a luteinizačního hormonu. Aktivita *hERG* kanálů zajišťuje nízkou koncentraci Ca^{2+} v buňkách omezením jejich vtoku. Inkubace s E-4031 vede tedy k podstatnému nárůstu uvolňování prolaktinu a luteinizačního hormonu. Fyziologicky přítomným analogem inhibitoru *hERG* kanálů E-4031 je v případě prolaktinu tyreotropin uvolňující hormon (TRH). Při sekreci luteinizačního hormonu je aktivita *hERG* kanálů snížena gonadoliberinem. Podstatou uvolnění hormonů je depolarizace membrány a následně vstup Ca^{2+} , které způsobí exocytózu váčků s preformovanými molekulami hormonu. TRH navíc v první fázi svého působení zvyšuje

šuje intracelulární koncentraci iontů z buněčných zásob pomocí inozitoltrisfosfátu [53,54].

Význam kanálů hERG v nádorových tkáních hERG v buněčné proliferaci a apoptóze

Za normálních okolností se nacházejí hERG kanály kromě výše zmíněných tkání i v embryonálním stadiu vývoje periferní nervové a kosterní svalové tkáně [50]. V pozdějších etapách vývoje jsou nahrazeny kanály s K^+ proudem typu I_{K1} [55]. Nádorové buňky vycházející z těchto tkání však hERG kanály opět obsahují. Tvorba hERG kanálů zde představuje buďto obnovu exprese genu *hERG* umlčovaného v diferenciováných buňkách, anebo reaktivaci embryonálních genů [56]. Jak bude dále rozebráno, aktivita hERG kanálů poskytuje nádorovým buňkám výhodu oproti ostatním buňkám a přispívá k nekontrolovatelnému růstu nádoru [55].

Přítomnost kanálů hERG v membráně nádorových buněk sehrává prostřednictvím ovlivňování V_m během proliferace důležitou úlohu v regulaci buněčného cyklu. V_m podléhá během dělení buňky změnám (schéma), za které jsou odpovědné různé iontové proudy [57,58]. V buňkách se podle typu tkáně pohybuje hodnota V_m mezi -40 mV až -90 mV, přičemž u neproliferujících diferenciováných buněk je to -70 mV až -90 mV [59]. Negativní hodnoty V_m nutné pro ustálení, ukončení buněčného cyklu a diferenciaci udržuje v normální tkáni výše zmíněný I_{K1} . V buňkách s proudem přes hERG kanály (I_{hERG}) se posouvá V_m ke kladnějším (avšak stále záporným) hodnotám, protože kanály hERG se zavírají dříve než kanály I_{K1} v diferenciováných buňkách. Kombinace absence I_{K1} a současné přítomnosti I_{hERG} způsobuje, že V_m nedosahuje zápornějších hodnot než -40/-50 mV. Díky tomu ztrácí buňka kontrolu nad proliferací a začne se neregulovaně množit. Nádorové buňky tak utvářením I_{hERG} získávají selektivní výhodu [55], protože depolarizovanější V_m oproti zdravým buňkám té stejné tkáně je považováno za stálý signál pro proliferaci [57]. Depolarizaci V_m v pravém smyslu slova způsobují během buněčného cyklu jiné proudy, zejména vtok Na^+ a Ca^{2+} a výtok Cl^- [57,58]. I_{hERG} se rovněž účastní repolarizace na konci G1 fáze nutné pro přechod do S fáze, ve které se syntetizuje DNA [59]. Úlohu hERG kanálů v proliferaci nádorových buněk potvrdila jejich inhibice specifickými blokátory, která vedla k zástavě množení nádoro-

vých buněk přecházejících z G1 fáze buněčného cyklu do jeho S fáze, což dokazuje zapojení hERG kanálů právě do této části buněčného cyklu [60,61].

Mnohé nádorové buněčné linie exprimují kromě *hERG* i jeho izoformu *hERG1b*. Alternativní transkript *hERG1b* vytváří N-terminálně zkrácený protein neobsahující doménu PAS [56]. Kanály se dále liší elektrofyziologickými vlastnostmi – kanály hERG1b se aktivují i deaktivují rychleji [62]. Na plazmatické membráně nádorové buňky mohou tvořit *hERG* a *hERG1b* heterotetramerní struktury. Tyto proteiny jsou tvořeny v odlišných množstvích v závislosti na fázi buněčného cyklu, čímž mohou regulovat proliferaci buněk a poskytovat výhodu nádorovým buňkám v hypoxickém prostředí [56].

Kromě proliferace jsou hERG kanály zahrnuté i v některých apoptotických drahách. Mezi inhibitory hERG kanálů, které mohou indukovat apoptózu v nádorových buňkách a zabránit tak růstu nádoru, patří např. doxazosin, řadící se do skupiny léčiv s antihypertenzním účinkem. V buňkách glioblastomu obsahujících hERG kanály navozuje apoptózu aktivací proapoptotických faktorů a inaktivací antiapoptotických faktorů. Jako proapoptotické faktory se tu uplatňují p38 mitogenem aktivovaná protein kináza (MAPK) a apoptotické enzymy, jmenovitě kaspázy 9, 7 a 3. Apoptóze zamezuje poly ADP-ribóza polymeráza, opravující chyby v DNA, která je však působením doxazosinu inaktivována. S apoptózou navozenou doxazosinem je spojena i redukce proteinu *hERG*. Soudí se tedy, že inhibice *hERG* indukuje apoptózu glioblastomových buněk. Podobné výsledky jako doxazosin vyvolává i antidepresivum desipramin a krátká interferující RNA (siRNA), která snižuje expresi genu *hERG* [63].

Možným vysvětlením pro apoptózu vyvolanou doxazosinem je aktivace kaspáz, která vyústí do rozštěpení fokální adhezivní kinázy (FAK) a následné apoptózy. FAK tvoří kromě toho v buňkách neuroblastomu i makromolekulární komplex s *hERG* a integrinem $\beta 1$. Integrin $\beta 1$ je membránový receptor důležitý pro interakci buněk, jejich adhezi a aktivaci signálních drah. Adheze buněk pomocí integrinu $\beta 1$ způsobuje aktivaci hERG kanálů, které jsou nutné pro fosforylaci FAK. FAK sehrává důležitou úlohu v adhezi a migraci buněk. Inhibice *hERG* tedy způsobí, že FAK se nemůže fosforylovat a účastnit se buněčné signalizace, což vyústí do

Schéma. Průběh buněčného cyklu se zaměřením na změny membránového napětí způsobené kolísající aktivitou jednotlivých iontových proudů. Upraveno dle [58]

buněčné smrti způsobené neschopností adheze. Nadměrná produkce FAK je naopak spojená se vzrůstající invazivitou nádoru [59,64].

hERG a různé typy nádorů

Expresí genu *hERG* byla prokázána v lidských nádorových buňkách různého původu [55]. Odpovídající protein chyběl v normálně funkčních buňkách, ze kterých se nádorové buňky vyvinuly [65].

Mezi epitelové nádory spojené s *hERG* se řadí karcinom endometria, tlustého střeva, žaludku a kůže [59]. V karcinomu endometria je gen *hERG* exprimován v mnohem vyšší míře než v endometriu bez neoplastických změn. Hyperplastické endometrium vyznačující se zmnožením počtu buněk bez maligní transformace gen neexprimuje [65]. Podobný výsledek byl zaznamenán i v kolorektálním karcinomu. Příslušný protein byl lokalizován ve všech patologických vzorcích bez ohledu na lokalizaci nebo stupeň diferenciaci nádoru. V adenomech a histopatologicky negativních kontrolních vzorcích se jeho přítomnost neprojevila. *hERG* kanály tedy nemají v normální zdravé epitelální tkáni tlustého střeva nejspíše žádnou funkci [66]. Aktivita *hERG* kanálů může v karcinomu kolorekta modulovat i invazivitu buněk. Jak ukázali Lastraioli et al [67], množství proteinu *hERG* přítomného na plazmatické membráně nádorových buněk stoupá s invazivitou nádoru; jeho vysoký výskyt je spojený s metastazujícími karcinomy.

V buňkách karcinomu žaludku se navíc od předchozí studie ukázala korelace mezi mírou exprese proteinu *hERG*, zralostí nádoru a jeho rozšířením v těle. Množství *hERG* bylo prokazatelně vyšší v málo diferencovaných buňkách karcinomu nežli v buňkách dobře diferencovaných. Proliferaci buněk karcinomu žaludku, a tím i růst tumoru a jeho invazivitu, je možné inhibovat pomocí umlčení genu pomocí siRNA, což dokazuje významnou úlohu těchto kanálů v procesu karcinogeneze buněk žaludku [68]. Induktor *hERG* kanálů PD118057 naproti tomu zvyšoval počet migrujících a invazivních buněk v melanomu [69].

Dominantní úlohu má *hERG* během fáze repolarizace akčního napětí v buňkách izolovaných od SH-SY5Y klonů neuroblastomu [70]. Vyšší exprese *hERG* vykazují též gliomy, nádory z podpůrných gliových buněk – astrocytů a oligodendrocytů. Bylo prokázáno, že tato exprese koreluje se stupněm diferencovanosti tumoru. Vysoká míra aktivity proteinu *hERG* v gliomech se zdá být spjatá s procesem neoangiogeneze. Proces je modulován sekrecí vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) na úrovni mediátorové RNA [71].

V souvislosti s *hERG* kanály jsou také často zmiňovány leukemie, zejména akutní myeloidní a lymfoblastická leukemie [72]. Gen *hERG* se exprimuje v 78 % případů akutních myeloidních leukemií, a to v leukemických blastech periferní krve. V nepatologických mononukleárních buňkách je nedetekovatelný, rovněž i v buňkách CD34⁺, hemopoetických progenitorních buňkách kolujících v krvi. Jeho aktivace v buňkách CD34⁺ nastává po

indukci mitotického cyklu cytokiny a růstovými faktory [61].

Při akutní myeloidní leukemii byla častěji evidována exprese genu *hERG1b* ve srovnání s *hERG* [73]. Následně tvořený protein *hERG* nebo *hERG1b* reguluje motilitu a migraci leukemických buněk přes endotel. Protein *hERG1b* vytváří makromolekulární signální komplex s receptorem pro VEGF a s $\beta 1$ podjednotkou receptoru pro integrin. VEGF produkovaný leukemickými buňkami hraje významnou roli v procesu neoangiogeneze. Spolupráce integrinů, VEGF a *hERG1b* kanálu stimuluje signální cestu fosfatidylinositol-3-kinázy/Akt, která je nutná pro migraci leukemických blastů. Akt je protein kináza B. Společně se signální cestou se aktivuje i MAPK zodpovědná za proliferaci buněk [74].

U akutní lymfoblastické leukemie *hERG* moduluje signály pro přežití vysílané mikroprostředím kostní dřeně a reguluje chemorezistenci [75]. Ve vysoké míře je nalézan transkript genu *hERG1b*, který má negativní vliv na prognózu leukemie. Expres *hERG* je obecně potlačena, ale převažuje nad *hERG1b* u pacientů s T buněčnou lymfoblastickou leukemií s vysokým počtem leukocytů nebo u pacientů s pro-B lymfoblastickou leukemií [72]. Přítomnost transkriptů *hERG* se objevuje dále u chronické myeloidní leukemie, akutní promyelocytární leukemie nebo Burkittova lymfomu [60].

Diagnostické a terapeutické využití hERG kanálů

Kanály *hERG* jsou primárně cílem působení antiarytmik třídy III, která nacházejí uplatnění v léčbě poruch srdečního rytmu včetně SQTS [17]. Výskyt kanálů i v dalších tkáních však rozšiřuje potenciální možnosti jejich aplikace v terapii a diagnostice dalších poruch [5]. Týká se to např. ovlivňování sekrece inzulinu a glukagonu pomocí inhibice *hERG* kanálů, což by mohlo být podkladem pro léčbu diabetu [13].

Jako perspektivní se jeví využití *hERG* zvláště v diagnostice a léčbě nádorových onemocnění [68]. I když bylo v posledních letech v biomedicinském výzkumu identifikováno více nových biomarkerů a potenciálních terapeutických cílů, výsledky jsou doposud neuspokojivé. Východiskem by se mohlo stát zaměření na iontové kanály [76]. Jelikož se ve většině netransformovaných tkání *hERG* kanály nenacházejí, mohou být využity jako marker tumorů [59]. Příkladem je studie zabývající se kolorektálním karcinomem, v níž byl gen *hERG* se 100% specifitou a senzitivitou výhodnějším markerem než běžně určovaný karcinoembryonální antigen nebo cytokeratin 19. Pomocí imunohistochemických metod bylo možné navíc identifikovat i velmi časná stadia recidivy tumoru [66]. Expres *hERG* má i prognostický význam. U akutní myeloidní leukemie mají pacienti s nálezem funkčního genu *hERG* vyšší pravděpodobnost relapsu choroby. Znatelně se jim zkracuje délka přežití oproti pacientům neexprimujícím *hERG*, a to až o 11 měsíců [74].

Východiskem protinádorové terapie cílené na *hERG* kanály je jejich přímá inhibice s výsledným anti-prolifer-

rativním a proapoptotickým efektem vedoucím k zastavení růstu nádoru a snížení jeho invazivity [59]. V buňkách glioblastomu redukuje léčivo doxazosin expresi proteinu *hERG* a navozuje apoptotický efekt aktivací proapoptotických faktorů [63]. Kanály jsou dále citlivé i na chemoterapeutika vinkristin a paklitaxel. Makrolidové antibiotikum erytromycin s inhibičním účinkem na *hERG* potencuje antiproliferativní efekt tohoto chemoterapeutika [77].

Systémová léčba nádorových nebo jiných onemocnění pomocí antagonistů *hERG* však může zasáhnout srdeční buňky a způsobit prodloužení intervalu QT vedoucí případně až k letální komorové tachykardii [59,78]. Z tohoto důvodu bylo v posledních letech velké množství rozmanitých léčiv buď staženo z trhu (prokinetikum cisaprid, antihistaminikum astemizol), omezených v užívání (antipsychotikum sertindol), nebo vydaných s varováním (antibiotikum moxifloxacin). Časná a spolehlivá detekce účinku léčiv na *hERG* se tak díky možným konsekvencím stala důležitým aspektem při vývoji všech nových léčiv [79].

Potenciálnímu riziku vzniku arytmií by se v terapii nádorových onemocnění dalo vyhnout aplikací léčiv s kombinovaným účinkem. Mezi takovéto prostředky patří roskovitín blokující cyklin dependentní kinázu a aktivované *hERG* kanály, což je žádoucí v protinádorové terapii. Zároveň inhibuje i napětově řízené depolarizační Ca^{2+} kanály v srdci, čímž se minimalizují potenciální vedlejší činky inhibice repolarizačních *hERG* kanálů [80]. Jinou alternativou léčby může být ovlivňování exprese genu *hERG* pomocí RNA interference. Jde o posttranskripční mechanismus vedoucí k tzv. umlčování genů, jehož výsledkem je zabránění progresu nádoru [81]. Další možnosti jsou léčiva zabudovaná do nanočástic s afinitou jen k cílové tkáni, čímž se minimalizuje toxický účinek na ostatní buňky [82]. Při jakékoli metodě inhibující *hERG* je kvůli potenciálním život ohrožujícím vedlejším účinkům nutné pečlivé klinické pozorování s možností včasného odhalení nežádoucích účinků léčby.

Závěr

Kanály *hERG* byly donedávna spojovány primárně se srdeční elektrofyzologií a s poruchami funkce srdce typu LQTS nebo SQTs. Z dalších významných funkcí těchto kanálů je potřeba zdůraznit ovlivňování dráždivosti neuronů a jejich adaptaci na podněty, modulaci kontraktility hladkého svalstva, podíl na kontrole uvolňování některých hormonů a v neposlední řadě usměrňování proliferace a apoptózy nádorových buněk. Kanály *hERG* by se tak mohly v budoucnu stát významným diagnostickým markerem a modulování jejich aktivity terapeutickým nástrojem. Naděje se vkládají především do protinádorové léčby, která je však limitována možnými nežádoucími účinky léčiv ovlivňujících funkci *hERG* kanálů. Proto se hledají nové způsoby aplikace těchto léčiv nebo jiné alternativní možnosti. V nejbližších letech bude třeba provést mnohé další studie zabývající se komplexnějším prozkoumáním efektu *hERG*

kanálů na různorodé buněčné procesy a zvýšit povědomí o jejich možném využití.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 16–30571A.

Literatura

- Curran ME, Splawski I, Timothy KW et al. A molecular basis for cardiac arrhythmia: *hERG* mutations cause long QT syndrome. *Cell* 1995; 80(5): 795–803.
- Sanguinetti MC, Jiang CG, Curran ME et al. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia – *hERG* encodes the IKr potassium channel. *Cell* 1995; 81(2): 299–307.
- Vandenberg JI, Perry MD, Perrin MJ et al. *hERG* K⁺ channels: structure, function, and clinical significance. *Physiol Rev* 2012; 92(3): 1393–1478.
- Larsen AP. Role of ERG1 isoforms in modulation of ERG1 channel trafficking and function. *Pflugers Arch – Eur J Physiol* 2010; 460(5): 803–812. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00424-010-0855-8>>.
- Babcock JJ, Li M. *hERG* channel function: beyond long QT. *Acta Pharmacol Sin* 2013; 34(3): 329–335. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/aps.2013.6>>.
- Shimizu W, Moss AJ, Wilde AAM et al. Genotype-phenotype aspects of type 2 long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54(22): 2052–2062. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2009.08.028>>.
- Cabral JHM, Lee A, Cohen SL et al. Crystal structure and functional analysis of the *hERG* potassium channel N terminus: a eukaryotic PAS domain. *Cell* 1998; 95(5): 649–655.
- Warmke JW, Ganetzky B. A family of potassium channel genes related to eag in *Drosophila* and mammals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(8): 3438–3442.
- Barros F, Domínguez P, de la Peña P. Cytoplasmic domains and voltage-dependent potassium channel gating. *Front Pharmacol* 2012; 3: 49. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2012.00049>>.
- Spector PS, Curran ME, Zou AR et al. Fast inactivation causes rectification of the IKr channel. *J Gen Physiol* 1996; 107(5): 611–619.
- Sacco T, Bruno A, Wanke E et al. Functional roles of an ERG current isolated in cerebellar Purkinje neurons. *J Neurophysiol* 2003; 90(3): 1817–1828.
- Farrelly AM, Ro S, Callaghan BP et al. Expression and function of KCNH2 (*hERG*) in the human jejunum. *Am J Physiol Gastr L* 2003; 284(6): G883–G895.
- Hardy AB, Fox JEM, Giglou PR et al. Characterization of Erg K⁺ channels in α - and β -cells of mouse and human islets. *J Biol Chem* 2009; 284(44): 30441–30452. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M109.040659>>.
- Hrabcová D, Pásek M, Šimurda J et al. Effect of intracellular concentration changes in the limited extracellular spaces on sarcolemmal ion transport and Ca²⁺ turnover in a model of human ventricular cardiomyocyte. *Int J Mol Sci* 2013; 14(12): 24271–24292. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijms141224271>>.
- Roden DM. Taking the “idio” out of “idiosyncratic”: predicting torsades de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998; 21(5): 1029–1034.
- Chartrand E, Arnold AA, Gravel A et al. Potential role of the membrane in *hERG* channel functioning and drug-induced long QT syndrome. *BBA Biomembranes* 2010; 1798(9): 1651–1662. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.05.019>>.
- Brugada R, Hong K, Dumaine R et al. Sudden death associated with short QT syndrome linked to mutations in *hERG*. *Circulation* 2004; 109(1): 30–35.
- Napolitano C, Priori SG, Schwartz PJ et al. Genetic testing in the long QT syndrome. Development and validation of an efficient approach to genotyping in clinical practice. *Jama* 2005; 294(23): 2975–2980.

19. Splawski I, Shen JX, Timothy KW et al. Spectrum of mutations in long QT syndrome genes KVLQT1, hERG, SCN5A, KCNE1 and KCNE2. *Circulation* 2000; 102(10): 1178–1185.
20. Moss AJ, Schwartz PJ, Crampton RS et al. The long QT syndrome: prospective longitudinal study of 328 families. *Circulation* 1991; 84(3): 1136–1144.
21. 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(1): 89–95.
22. Liu GX, Choi BR, Ziv O et al. Differential conditions for early after-depolarizations and triggered activity in cardiomyocytes derived from transgenic LQT1 and LQT2 rabbits. *J Physiol* 2012; 590(5): 1171–1180. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2011.218164>>.
23. Meyer JS, Mehdirdad A, Salem BI et al. Sudden arrhythmia death syndrome: importance of the long QT syndrome. *Am Fam Physician* 2003; 68(3): 483–488. Erratum in *Am Fam Physician*. 2004; 69(10): 2324.
24. Kujaník Š. Regresní rovnice pre interval QT a QTc elektrokardiogramu. *Vnitř Lék* 2005; 51(11): 1277–1288.
25. Goldenberg I, Moss AJ, Zareba W. QT interval: How to measure it and what is "normal". *J Cardiovasc Electr* 2006; 17(3): 333–336.
26. Moss AJ, Zareba W, Benhorin J et al. ECG T-wave patterns in genetically distinct forms of the hereditary long QT syndrome. *Circulation* 1995; 92(10): 2929–2934.
27. Schwartz PJ, Priori SG, Cerrone M et al. Left cardiac sympathetic denervation in the management of high-risk patients affected by the long-QT syndrome. *Circulation* 2004; 109(15): 1826–1833.
28. Zareba W, Moss AJ, Daubert JP et al. Implantable cardioverter defibrillator in high-risk long QT syndrome patients. *J Cardiovasc Electr* 2003; 14(4): 337–341.
29. Rajamani S, Eckhardt LL, Valdivia CR et al. Drug-induced long QT syndrome: hERG K⁺ channel block and disruption of protein trafficking by fluoxetine and norfluoxetine. *Br J Pharmacol* 2006; 149(5): 481–489.
30. Šišáková M, Toman O, Floriánová A et al. Prodloužení QT intervalu jako důsledek kumulace rizikových faktorů – kazuistika. *Vnitř Lék* 2006; 52(3): 271–273.
31. Gussak I, Brugada P, Brugada J et al. Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome? *Cardiology* 2000; 94(2): 99–102.
32. Giustetto C, Di Monte F, Wolpert C et al. Short QT syndrome: clinical findings and diagnostic-therapeutic implications. *Eur Heart J* 2006; 27(20): 2440–2447.
33. Sun Y, Quan XQ, Fromme S et al. A novel mutation in the KCNH2 gene associated with short QT syndrome. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 50(3): 433–441. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmcc.2010.11.017>>.
34. Hirdes W, Napp N, Wulfsen I et al. Erg K⁺ currents modulate excitability in mouse mitral/tufted neurons. *Pflugers Arch* 2009; 459(1): 55–70. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00424-009-0709-4>>.
35. Nie LP, Gratton MA, Mu KJ et al. Expression and functional phenotype of mouse ERG K⁺ channels in the inner ear: potential role in K⁺ regulation in the inner ear. *J Neurosci* 2005; 25(38): 8671–8679.
36. Chiesa N, Rosati B, Arcangeli A et al. A novel role for hERG K⁺ channels: spike-frequency adaptation. *J Physiol* 1997; 501(Pt 2): 313–318.
37. Krauser DG, Segal AZ, Kligfield P. Severe ataxia caused by amiodarone. *Am J Cardiol* 2005; 96(10): 1463–1464.
38. Hindle JV, Ibrahim A, Ramaraj R. Ataxia caused by amiodarone in older people. *Age Ageing* 2008; 37(3): 347–348.
39. Huffaker SJ, Chen J, Nicodemus KK et al. A primate-specific, brain isoform of KCNH2 affects cortical physiology, cognition, neuronal repolarization and risk of schizophrenia. *Nat Med* 2009; 15(9): 509–518. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nm.1962>>.
40. Hashimoto R, Ohi K, Yasuda Y et al. The KCNH2 gene is associated with neurocognition and the risk of schizophrenia. *World J Biol Psychiatry* 2013; 14(2): 114–120. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3109/15622975.2011.604350>>.
41. Apud JA, Zhang F, Decot H et al. Genetic variation in KCNH2 associated with expression in the brain of a unique hERG isoform modulates treatment response in patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2012; 169(7): 725–734. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.11081214>>.
42. Partemi S, Cestele S, Pezzella M et al. Loss-of-function KCNH2 mutation in a family with long QT syndrome, epilepsy, and sudden death. *Epilepsia* 2013; 54(8): 112–116. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/epi.12259>>.
43. Zamorano-Leon JJ, Yanez R, Jaime G et al. KCNH2 gene mutation: a potential link between epilepsy and long QT-2 syndrome. *J Neurogenet* 2012; 26(3–4): 382–386. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3109/01677063.2012.674993>>.
44. Emmi A, Wenzel HJ, Schwartzkroin PA et al. Do glia have heart? Expression and functional role for ether-a-go-go currents in hippocampal astrocytes. *J Neurosci* 2000; 20(10): 3915–3925.
45. Parr E, Pozo MJ, Horowitz B et al. ERG K⁺ channels modulate the electrical and contractile activities of gallbladder smooth muscle. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284(3): G392–G398.
46. Greenwood IA, Yeung SY, Tribe RM et al. Loss of functional K⁺ channels encoded by ether-a-go-go-related genes in mouse myometrium prior to labour onset. *J Physiol* 2009; 587(Pt 10): 2313–2326. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2009.171272>>.
47. Mewe M, Wulfsen I, Schuster AME et al. Erg K⁺ channels modulate contractile activity in the bovine epididymal duct. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294(3): R895–R904. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00521.2007>>.
48. Parkington HC, Stevenson J, Tonta MA et al. Diminished hERG K⁺ channel activity facilitates strong human labour contractions but is dysregulated in obese women. *Nat Commun* 2014; 5: 4108. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms5108>>.
49. Jiang M, Zhang M, Tang DG et al. KCNE2 protein is expressed in ventricles of different species, and changes in its expression contribute to electrical remodeling in diseased hearts. *Circulation* 2004; 109(14): 1783–1788.
50. Crociani O, Cherubini A, Piccini E et al. erg gene(s) expression during development of the nervous and muscular system of quail embryos. *Mech Dev* 2000; 95(1–2): 239–243.
51. Muehlbauer E, Bazwinsky I, Wolgast S et al. Circadian changes of ether-a-go-go-related-gene (Erg) potassium channel transcripts in the rat pancreas and β -cell. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64(6): 768–780.
52. Rosati B, Marchetti P, Crociani O et al. Glucose- and arginine-induced insulin secretion by human pancreatic β -cells: the role of hERG K⁺ channels in firing and release. *FASEB J* 2000; 14(15): 2601–2610.
53. Bauer CK, Schafer R, Schiemann D et al. A functional role of the ERG-like inward-rectifying K⁺ current in prolactin secretion from rat lactotrophs. *Mol Cell Endocrinol* 1999; 148(1–2): 37–45.
54. Hirdes W, Dinu C, Bauer CK et al. Gonadotropin-releasing hormone inhibits ether-a-go-go-related gene K⁺ currents in mouse gonadotropes. *Endocrinology* 2010; 151(3): 1079–1088. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1210/en.2009-0718>>.
55. Bianchi L, Wible B, Arcangeli A et al. hERG encodes a K⁺ current highly conserved in tumors of different histogenesis: a selective advantage for cancer cells? *Cancer Res* 1998; 58(4): 815–822.
56. Crociani O, Guasti L, Balzi M et al. Cell cycle-dependent expression of HERG1 and HERG1B isoforms in tumor cells. *J Biol Chem* 2003; 278(5): 2947–2955.
57. Yang M, Brackenbury WJ. Membrane potential and cancer progression. *Front Physiol* 2013; 4: 185. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2013.00185>>.
58. Rao VR, Perez-Neut M, Kaja S et al. Voltage-gated ion channels in cancer cell proliferation. *Cancers* 2015; 7(2): 849–875. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3390/cancers7020813>>.
59. Jehle J, Schweizer PA, Katus HA et al. Novel roles for hERG K⁺ channels in cell proliferation and apoptosis. *Cell Death Dis* 2011; 2: e193. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2011.77>>.
60. Smith GAM, Tsui HW, Newell EW et al. Functional up-regulation of hERG K⁺ channels in neoplastic hematopoietic cells. *J Biol Chem* 2002; 277(21): 18528–18534.
61. Pillozzi S, Brizzi MF, Balzi M et al. HERG potassium channels are constitutively expressed in primary human acute myeloid leukemias and

regulate cell proliferation of normal and leukemic hemopoietic progenitors. *Leukemia* 2002; 16(9): 1791–1798.

62. Larsen AP, Olesen SP, Grønnet M et al. Characterization of hERG1a and hERG1b potassium channels: a possible role for hERG1b in the IKr current. *Pflügers Arch* 2008; 456(6): 1137–1148. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00424-008-0476-7>>.

63. Staudacher I, Jehle J, Staudacher K et al. Herg K⁺ channel-dependent apoptosis and cell cycle arrest in human glioblastoma cells. *PLoS One*. 2014; 9(2): e88164. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0088164>>.

64. Cherubini A, Hofmann G, Pillozzi S et al. Human ether-a-go-go-related gene 1 channels are physically linked to β 1 integrins and modulate adhesion-dependent signaling. *Mol Biol Cell* 2005; 16(6): 2972–2983.

65. Cherubini A, Taddei GL, Crociani O et al. hERG potassium channels are more frequently expressed in human endometrial cancer as compared to non-cancerous endometrium. *Br J Cancer* 2000; 83(12): 1722–1729.

66. Dolderer JH, Schuldes H, Bockhorn H et al. hERG1 gene expression as a specific tumor marker in colorectal tissues. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36(1): 72–77. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2009.05.009>>.

67. Lastraioli E, Guasti L, Crociani O et al. hERG1 gene and hERG1 protein are overexpressed in colorectal cancers and regulate cell invasion of tumor cells. *Cancer Res* 2004; 64(2): 606–611.

68. Shao XD, Wu KC, Guo XZ et al. Expression and significance of hERG protein in gastric cancer. *Cancer Biol Ther* 2008; 7(1): 45–50.

69. Afrasiabi E, Hietamäki M, Viitanen T et al. Expression and significance of hERG (KCNH2) potassium channels in the regulation of MDA-MB-435S melanoma cell proliferation and migration. *Cell Signal* 2010; 22(1): 57–64. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2009.09.010>>.

70. D'Amico M, Biagiotti T, Fontana L et al. A hERG current sustains a cardiac-type action potential in neuroblastoma S cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302(1): 101–108.

71. Masi A, Becchetti A, Restano-Cassulini R et al. hERG1 channels are overexpressed in glioblastoma multiforme and modulate VEGF secretion in glioblastoma cell lines. *Br J Cancer* 2005; 93(7): 781–792.

72. Pillozzi S, Accordi B, Rebora P et al. Differential expression of hERG1A and hERG1B genes in pediatric acute lymphoblastic leukemia identifies different prognostic subgroups. *Leukemia* 2014; 28(6): 1352–1355. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/leu.2014.26>>.

73. Erdem M, Tekiner TA, Fejzullahu A et al. hERG1b expression as a potential specific marker in pediatric acute myeloid leukemia patients

with hERG 897K/K genotype. *Pediatr Hematol Oncol* 2015; 32(3): 182–192. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3109/08880018.2014.949941>>.

74. Pillozzi S, Brizzi MF, Bernabei PA et al. VEGFR-1 (FLT-1), β 1 integrin, and hERG K⁺ channel form a macromolecular signaling complex in acute myeloid leukemia: role in cell migration and clinical outcome. *Blood* 2007; 110(4): 1238–1250.

75. Pillozzi S, Masselli M, De Lorenzo E et al. Chemotherapy resistance in acute lymphoblastic leukemia requires hERG1 channels and is overcome by hERG1 blockers. *Blood* 2011; 117(3): 902–914. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2010-01-262691>>.

76. Lastraioli E, Lottini T, Bencini L et al. hERG1 potassium channels: novel biomarkers in human solid cancers. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 896432. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/896432>>.

77. Chen SZ, Jiang M, Zhen YS. hERG K⁺ channel expression-related chemosensitivity in cancer cells and its modulation by erythromycin. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56(2): 212–220.

78. Marek J, Linhart A, Rucklová Z et al. Kardiotoxická onkologická léčba. *Vnitř Lék* 2011; 57(5): 472–484.

79. Raschi E, Ceccarini L, De Ponti F et al. hERG-related drug toxicity and models for predicting hERG liability and QT prolongation. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009; 5(9): 1005–1021. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1517/17425250903055070>>.

80. Ganapathi SB, Kester M, Elmslie KS. State-dependent block of hERG potassium channels by R-roscovitine: implications for cancer therapy. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 296(4): C701–C710. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1152/ajpcell.00633.2008>>.

81. Zhao H, Wei XL, Jia YS et al. Silencing of hERG gene by shRNA inhibits SH-SY5Y cell growth in vitro and in vivo. *Eur J Pharmacol* 2008; 579(1–3): 50–57.

82. Cho K, Wang X, Nie S et al. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14(5): 1310–1316. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1441>>.

doc. MUDr. Markéta Bébarová, Ph.D.

✉ bebarova.lfmu@centrum.cz

Fyziologický ústav LF MU, Brno

www.med.muni.cz

Doručeno do redakce 29. 11. 2016

Přijato po recenzi 2. 2. 2017