

Mutační analýza LQT genů u jedinců s polékovým prodloužením QT intervalu

T. Novotný¹, J. Kadlecová², I. Papoušek³, K. Chroust³, A. Bittnerová², A. Floriánová¹, E. Češková⁴, M. Weislamplová¹, V. Pálenský⁴, M. Šišáková¹, O. Toman¹, R. Gaillyová², J. Špinar¹

¹ Interní kardiologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bobunice, přednosta prof. MUDr. Jindřich Špinar, CSc., FESC

² Oddělení lékařské genetiky FN Brno, pracoviště Fakultní dětská nemocnice J. G. Mendla, přednostka prim. MUDr. Renata Gaillyová

³ Katedra genetiky a molekulární biologie Přírodovědecké fakulty MU Brno, vedoucí prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc.

⁴ Psychiatrická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bobunice, přednosta prof. MUDr. Eva Češková, CSc.

Souhrn: Úvod: U celé řady nekarđiovaskulárních léků bylo popsáno riziko prodloužení QT intervalu, a tím i zvýšení rizika maligních arytmií. Mechanismus jevu zůstává nejasný. Řada z těchto léků jsou účinné blokátory iontových kanálů kardiomyocytů. Prodloužení repolarizace by tedy mohlo být způsobeno dosud latentními mutacemi genů pro tyto kanály, které se odhalí až v zátěžové situaci. *Soubor a metody:* V rámci vlastního screeningu pacientů léčených preparáty s proarytmickým potenciálem a sporadických případů odeslaných na naše pracoviště z okresních nemocnic byly celkem u 13 osob zachyceny patologické hodnoty korigovaného QT intervalu (nad 0,44 s u mužů, nad 0,46 s u žen). Jedenáct pacientů dalo svůj souhlas k mutační analýze genů KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, KCNE2 a KCNJ2 (genů asociovaných se syndromem dlouhého QT intervalu). *Výsledky:* Kompletní výsledky mutační analýzy jsou k dispozici do dnešního dne u 8 pacientů. U 5 jedinců byly nalezeny odchylky v sekvenci DNA, které jsou v literatuře označovány jako varianty normy (nukleotidové a aminokyselinové polymorfismy, varianty intronu). U jednoho muže byla v genu KCNQ1 detekována mutace A590T dosud ve světové literatuře nepopsaná. *Závěr:* Mechanismus polékového prodloužení QT intervalu je komplexní a nelze jej vysvětlit pouhým postižením na úrovni iontových membránových kanálů.

Klíčová slova: gen – iontový kanál – mutace – proarytmie – QT interval

Mutational analysis of LQT genes in individuals with drug induced QT interval prolongation

Summary: *Background:* In a long list of non-cardiovascular drugs a risk of QT interval prolongation and thus an increased risk of malignant arrhythmias has been described. The precise mechanism remains unclear. Many of these drugs are potent blockers of cardiac ion channels. Thus, prolongation of repolarization could be caused by latent ion channel genes mutations which are revealed under stress conditions. *Group of patients and methods:* Patients were recruited in screening of antipsychotic drugs with proarrhythmic potential, another sporadic cases were referred from regional hospitals. In 13 individuals pathologic values of corrected QT interval (> 0.44 s in males, > 0.46 s in females) were observed. Eleven patients gave their consent to mutational analysis of KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, KCNE2 and KCNJ2 genes (associated with congenital long QT syndrome). *Results:* At present complete results of mutational analysis are available in 8 patients. In 5 individuals changes in DNA sequence were found which are considered normal variants according to the literature (nucleotide and aminoacid polymorphisms, intronic variants). In 1 male a KCNQ1 gene mutation A590T was identified (yet not reported in literature). *Conclusion:* Mechanisms of drug-induced QT interval prolongation is complex and it cannot be explained simply by ion channel disorders.

Key words: gene – ion channel – mutation – proarrhythmia – QT interval

Úvod

Při podávání celé řady nekarđiovaskulárních léků bylo popsáno riziko proarytmie – prodloužení QT intervalu, a tím i zvýšení rizika vzniku maligních arytmií, synkop i náhlé smrti [5,9]. QT interval povrchového elektrokardiogramu (EKG) odráží trvání akčního potenciálu komorových myocytů, především trvání re-

polarizace. Je to proces tvořený křehkou rovnováhou mezi celou řadou iontových proudů dovnitř a ven z buňky. Z tohoto hlediska je důležité, že společnou vlastností prakticky všech preparátů prodlužujících QT interval je blokáda draslíkového kanálu I_{Kr} v srdečních myocytech [1]. Zvýšené riziko maligních arytmií mají především ti jedinci, u nichž po

nasazení léčiva dojde k prodloužení korigovaného QT intervalu povrchového EKG, zejména při prodloužení nad 0,5 sekundy [2].

Stejně příznaky (tzn. prodloužení QT intervalu, polymorfni komorová tachykardie torsade des pointes – TdP, synkopy, náhlá smrt) charakterizují také onemocnění zvané kongenitální syndrom dlouhého QT intervalu.

Tab. 1. Charakteristika vyšetřených jedinců a výsledky mutační analýzy.

pacient	pohlaví	QTc (s) arytmie	medikace	mutační analýza genu					
				KCNQ1	KCNH2	SCN5A	KCNE1	KCNE2	KCNJ2
1.	M	0,45	citalopram	non	IVS8/non	non	D85N/non	non	non
2.	M	0,47	sertralin	Y662Y/non	non	non	non	non	non
3.	Ž	0,48	quetiapin	non	non	non	non	non	non
4.	Ž	0,48	quetiapin	Y662Y/Y662Y	IVS13/IVS13IVS8/non I484I/non F513F/non	non	G38S/non	non	non
5.	M	0,45	venlafaxin	A590T/non	non	non	non	non	non
6.	Ž	0,49	cisaprid	non	non	non	non	non	non
7.	Ž	0,5 TdP	terfenadin, itrokonazol	non	Y652Y/Y662Y F513F/non I489I/non	non	non	non	non
8.	M	0,61 TdP	sotalol	non	I489I/I489I F513F/F513F IVS13+22G>A/ IVS13+22G>A	non	G38S/non D85N/non	non	non

TdP – torsade des pointes, tučně je uvedena mutace, šedě aminokyselinové polymorfizmy. V ostatních případech se jedná o nukleotidové polymorfizmy, které nemění sekvenci aminokyselin, nebo varianty intronu.

lu (LQTS). Dnes toto onemocnění chápeme jako společné fenotypové vyjádření nejméně 9 geneticky odlišných nozologických jednotek, jejichž příčinou jsou v převážné většině případů mutace genů kódujících jednotlivé podjednotky iontových membránových kanálů, které hrají důležitou roli v tvorbě a trvání akčního potenciálu kardiomyocytů. V rodinách s výskytem LQTS se nezřídka vyskytují jedinci – nositelé patologických mutací – jejichž QT interval nedosahuje patologických hodnot [8].

Prodloužení repolarizace při tzv. polékovém syndromu dlouhého QT intervalu by tedy mohlo být způsobeno dosud latentními mutacemi genů pro tyto kanály, které se odkryjí až v zátěžové situaci, kterou může být právě podání léku s rizikem proarytmie. Cílem naší studie bylo ověřit tuto hypotézu.

Soubor a metody

V rámci našeho vlastního screeningu pacientů léčených preparáty s proa-

rytmickým potenciálem [7] a sporadických případů odeslaných na naše pracoviště z regionálních nemocnic jsme celkem u 13 osob zachytili patologické hodnoty korigovaného QT intervalu (nad 0,44 s u mužů, nad 0,46 s u žen). QT interval byl odečítán nezávisle na sobě dvěma vyšetřujícími z 12svodového povrchového EKG s posunem 50 mm/s a voltáží 20 mV/mm a korigován dle Bazettovy formule ($QTc = QT/RR^{0.5}$).

Jedenáct pacientů dalo svůj souhlas s odběrem periferní krve k izolaci DNA a s následnou mutační analýzou genů KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, KCNE2 a KCNJ2 (asociovaných s kongenitálním syndromem dlouhého QT intervalu), která byla prováděna metodami v minulosti již podrobně popsanými (PCR, SSCP, DNA sekvenování).

Výsledky

Kompletní výsledky mutační analýzy jsou k dispozici do dnešního dne u 8 pacientů. Výsledky shrnuje tab. 1.

U 5 jedinců byly nalezeny odchylky v sekvenci DNA, které jsou v literatuře označovány jako varianty normy (nukleotidové polymorfizmy, varianty intronu, aminokyselinové polymorfizmy). U jednoho muže – pacienta č. 5 – byla v genu KCNQ1 detekována mutace A590T (genotyp A590T/non), dosud ve světové literatuře nepopsaná.

Diskuse

V naší studii jsme provedli mutační analýzu genů pro iontové kanály v malém souboru jedinců, u kterých bylo zachyceno prodloužení QT intervalu při léčbě preparáty s proarytmogenním potenciálem. Pouze v 1 případě mutační analýza odhalila změnu sekvence DNA, kterou je možno označit za mutaci. U dalších 5 jedinců byly nalezeny změny označované jako běžné polymorfizmy. Tyto termíny (mutace, polymorfismus) samozřejmě odkazují na četnost výskytu, nikoliv na eventuelní funkční uplatnění.

Zajímavý je fakt, že ani u 2 pacientů s významným prodloužením QTc a dokonce výskytem TdP nebyla nalezena žádná mutace v analyzovaných genech. Naopak pacient s jen hraniční hodnotou QTc (0,45 s) nositelem mutace je (tab. 1). Tento nálezež je v současné době nutno brát jako fakt, pro který zatím nemáme uspokojivé vysvětlení.

Dostupná data uvádějí, že mutace genů asociovaných s LQTS jsou nacházeny u 5–10 % osob s polékovými TdP [6,10,11]. Výskyt těchto mutací u jedinců pouze s izolovaným polékovým prodloužením QT intervalu není znám. Dá se však předpokládat, že zde bude ještě nižší. Tomu odpovídají i výsledky naší studie.

I když všechny léky (kardiovaskulární i nekardiovaskulární) dosud asociované s prodloužením QT intervalu jsou účinné blokátory HERG/KCNH2 kanálu [4], nelze fenomén proarytmie vysvětlit pouhým postižením na úrovni iontových membránových kanálů. Mechanismus polékového prodloužení QT intervalu je komplexní, obecně lze říci, že podkladem interindividuálních rozdílů v reakci na určité léčivo jsou polymorfizmy genů kódujících 1) enzymy metabolismu léčiv, 2) proteiny účastnící se transportu léků, 3) cílové struktury pro léky [3].

Závěr

Přes pokroky na úrovni molekulární biologie v posledních deseti letech zůstává přesný mechanismus polékového prodloužení QT intervalu nejasný.

Výzkum je podporován grantem IGA MZ NA 7424-3.

Literatura

1. Clancy CE, Kurokawa J, Tateyama M et al. K⁺ channel structure-activity relationships and mechanisms of drug induced QT prolongation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003; 43: 441–461.
2. European Agency for the evaluation of Medicinal Products. Human Medicines Evaluation Unit. The Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Points to consider: The assessment of the potential for QT interval prolongation by noncardiovascular medicinal products. March 1997 (CPMP/986/96).
3. Evans WE, McLeod HL Pharmacogenomics – drug disposition, drug targets and side effects. *N Engl J Med* 2003; 348: 538–549.
4. Fenichel RR, Malik M, Antzelevitch C et al. Independent Academic Task Force. Drug-induced torsades de pointes and implications for drug development. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004; 15: 475–495.
5. Haverkamp W, Breithardt G, Camm AJ et al. The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-anti-arrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a Policy conference

of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 219–233.

6. Napolitano C, Schwartz PJ, Brown AM et al. Evidence for a cardiac ion channel mutation underlying drug-induced QT prolongation and life-threatening arrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000; 11: 691–696.
7. Novotný T, Florianová A, Češková E et al. Monitorace intervalu QT u pacientů léčených psychofarmaky. *Cor Vasa* 2005; 47(Suppl): 75.
8. Priori SP, Rivolta I, Napolitano C. Genetics of long QT, Brugada, and other channelopathies. In: Zipes DP, Jalife J (eds). *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders 2000: 462–470.
9. Semrád B. Od selhání antiarytmik k pochopení fenoménu proarytmie. *Vnitř Lék* 2003; 49: 700–706.
10. Sesti F, Abbot GW, Wei J et al. A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10613–10618.
11. Yang P, Kanki H, Drolet B et al. Allelic variants in long-QT disease genes in patients with drug-associated torsades des pointes. *Circulation* 2002; 105: 1943–1948.

MUDr. Tomáš Novotný

www.fnbrno.cz

e-mail: novotny-t@seznam.cz

Doručeno do redakce: 1. 11. 2005

Přijato po recenzi: 21. 11. 2005

www.urologickelisty.cz