

Laboratorinė medicina.
2018, t. 20, Nr. 1(77), p. 13–20.

CACNA1C geno pokyčių sukelto ilgo QT intervalo sindromo 8 tipas: literatūros apžvalga ir variantų analizė

Renata Šalkevič¹
Dovilė Jančiauskaitė^{1,5}
Violeta Mikštienė²
Živilė Katliorienė^{1,3}
Vilija Černiauskienė^{1,4}
Lina Gumbienė^{1,5}
Jūratė Barysienė^{1,5}
Germanas Marinskis^{1,5}
Audrius Aidietis^{1,5}

¹Vilniaus universiteto
Medicinos fakultetas
Faculty of Medicine, Vilnius University
El. paštas: r.salkevic@gmail.com

²Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto
Žmogaus ir medicininės genetikos katedra
Department of Human and Medical
Genetics, Faculty of Medicine,
Vilnius University

³Vilniaus universiteto ligoninės
Santaros klinikų Širdies ir krūtinės
chirurgijos centras
Heart and Chest Surgery Center, Vilnius
University Hospital Santaros Klinikos

⁴Vaikų ligoninės, VšĮ Vilniaus
universiteto ligoninės Santaros klinikų
filialo, Pediatrijos centras
Paediatrics Centre, Children's Hospital,
Affiliate of Vilnius University Hospital
Santaros Klinikos

⁵Vilniaus universiteto ligoninės
Santaros klinikų Kardiologijos
ir angiologijos centras
Centre of Cardiology and Angiology,
Vilnius University Hospital Santaros
Klinikos

Santrauka

Įvadas. Ilgo QT intervalo sindromas – tai miokardo repoliarizacijos sutrikimas, kuriam būdingas pailgėjęs QT intervalas elektrokardiogramoje. Šiuo metu nustatyta ne mažiau nei 16 genų, siejamų su šia patologija. Ilgo QT intervalo sindromo 8 tipui būdingas CACNA1C geno patogeninis pokytis, kuris nustatomas mažiau kaip 1 % visų įgimto ilgo QT intervalo sindromo atvejų. CACNA1C genas koduoja CaV1.2 kalcio jonų kanalų α_1 subvienetą. Šio geno variantai skirstomi į funkcijos netekimo ir funkcijos įgijimo. Funkcijos įgijimo patologinis pokytis sukelia ilgo QT intervalo sindromo 8 tipą ir Timothy sindromą. Ne mažiau kaip 16 skirtingų variantų CACNA1C gene yra siejama su ilgo QT intervalo sindromo 8 tipu. Dauguma šių variantų literatūroje aprašyti tik kartą, todėl išlieka neaiški skirtingų genetinių variantų fenotipinė įvairovė, jų sukeliamą riziką ir pacientų prognozę.

Tikslas, metodika. Šio straipsnio tikslas – palyginti mūsų turimų klinikinių atvejų duomenis su literatūros duomenimis. Analizuojami penki besimptomiai pacientai, kuriems nustatytas ilgo QT intervalo sindromo 8 tipas.

Rezultatai. Dviem pacientams nustatyta CACNA1C geno (NM_199460.2) variantas c. 1552C>T p.(Arg518Cys) (rs1057517711), kuris siejamas su ilgo QT intervalo sindromu, hipertrofine kardiomiopatija, įgimtomis širdies ydomis ir staigia mirtimi. Kitiems trims pacientams nustatyta CACNA1C geno (NM_199460.2) variantas c.2573G>A, p.(Arg858His) (rs786205753), kuris siejamas su sinkopėmis, pasikartojančiomis skilvelinėmis tachiaritmijomis ir staigia mirtimi. Trys iš šių pacientų aktyviai sportavo.

Išvados. Nors šiuo metu surinkta nemažai duomenų apie ilgo QT intervalo sindromo 8 tipo patogenezę, tačiau dėl patologijos retumo ir fenotipo heterogeniškumo trūksta šių pacientų stebėjimo ir gydymo rekomendacijų.

Reikšminiai žodžiai: CaV1.2, L tipo kalcio kanalai, kalcio kanalopatija, genetika, aritmija.

ĮŽANGA

Ilgo QT intervalo sindromas (IQTS) – tai miokardo repoliarizacijos sutrikimas, kurį apibūdina pailgėjęs QT intervalas elektrokardiogramoje (EKG) [1]. Šiam sindromui būdingos skilveli-

nės tachikardijos, padidėjusi staigios mirties rizika, sinkopės, traukuliai, bradikardija. Šiuo metu žinoma ne mažiau nei 16 su IQTS susijusių genų (1 lentelė) [2].

Dažniausi, iki 75 % genetiškai patvirtintų IQTS sindromo atvejų, yra

1 lentelė. Paveldimų aritmijos genų sąrašas: IQTS

Table 1. Summary of heritable arrhythmia syndrome susceptibility genes: Long QT syndrome

Genas	Lokusas	Baltymas	Patologija
KCNQ1	11p15.5	I _{Ks} kalio kanalų alfa subvienetas (KVLQT1, Kv7.1)	IQTS1
KCNH2	7q35-36	I _{Kr} kalio kanalų alfa subvienetas (HERG, Kv11.1)	IQTS2
SCN5A	3p21-p24	Natrio kanalų alfa subvienetas (NaV1.5)	IQTS3
ANK2	4q25-q26	ankrilinas-2	IQTS4
KCNE1	21q22.1	Kalio kanal beta subvienetas (MinK)	IQTS5
KCNE2	21q22.1	Kalio kanalų beta subvienetas (MiRP1)	IQTS6
KCNJ2	17q24.3	Vidulastelinis kalio jonų kanalas 2	IQTS7
CACNA1C	12p.13.3	Įtampos valdomi L tipo kalcio kanalai (Cav1.2)	IQTS8
CAV3	3p25.3	Kaveolinas-3	IQTS9
SCN4B	11q23.3	Natrio kanalų beta 4 subvienetas	IQTS10
AKAP9	7q21-q22	Yotiao	IQTS11
SNTA1	20q11.2	Sintropinas – alfa 4	IQTS12
KCNJ5	11q24.3	I _{KACH} kanalo Kir3.4 subvienetas	IQTS13
CALM1	14q32.11	Kalmodulinas 1	IQTS14
CALM2	2p21	Kalmodulinas 2	IQTS15
CALM3	19q13.2-q13.3	Kalmodulinas 3	su CALM3 susijęs IQTS

IQTS – ilgo QT intervalo sindromas

In: Tester DJ, Ackerman MJ. Genetics of long QT syndrome. Methodist Debakey Cardiovasc J 2014; 10(1): 29–33.

IQTS 1 tipas (*KCNQ1* geno variantas 30–35 %), IQTS 2 tipas (*KCNH2* geno variantas 25–30 %), sukeliantys pokyčius kalio jonų kanaluose, ir IQTS 3 tipas (*SCN5A* 5–10 %), sukeliantis pokyčius natrio jonų kanaluose. Likę IQTS variantai sudaro mažiau kaip 5 % visų IQTS atvejų [3]. Ilgo QT sindromo 8 tipas (IQTS8) – *CACNA1C* geno variantų bei Cav1.2 L tipo kalcio jonų kanalų pokyčių nulemtas IQTS sindromas, priskiriamas ypač retų IQTS variantų grupei (dažnis <1 % visų IQTS) [4].

CACNA1C IR L TIPO KALCIO KANALŲ STRUKTŪRA

Žmogaus miokarde išskiriami T, P ir L tipo kalcio jonų kanalai. Skilvelių miokarde didžiąją dalį sudaro L tipo kalcio jonų kanalai (LTKK). Cav1.2 kanalų ertmę formuoja pagrindinis subvienetas α_1 ir pagalbiniai subvienetai (α_2 , α_3 , α_4 subvienetai santykiu 1:1:1:1 [5], kitų autorių duomenimis – α_2 , α_3 subvienetai [6]). α_1 subvienetas nulemia kanalo biofizikines ir farmakologines savybes [7]. Šis subvienetas sudaro keturi homologiniai domenai (DI-DIV). Kiekvienas domenas yra sudarytas iš šešių segmentų (S1–S6). Do-

menus tarpusavyje jungia keturios jungtys (I–II, II–III, III–IV).

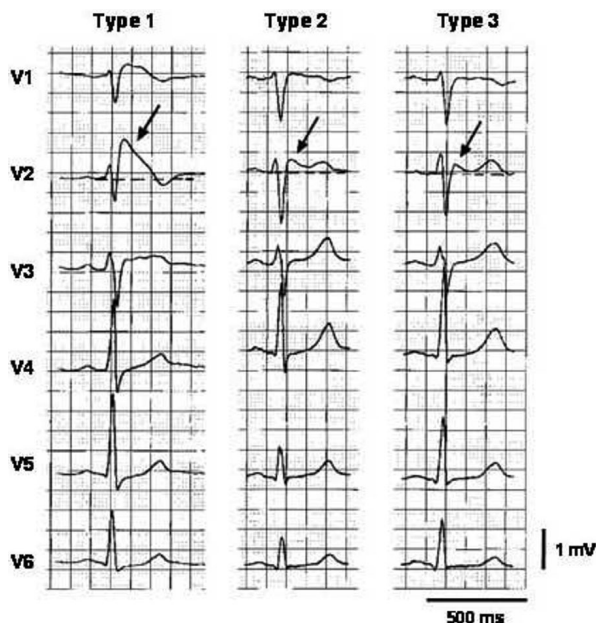
CACNA1C yra sudėtingos genetinės architektūros bei transkripcijos genas, kuris koduoja L tipo Cav1.2 kalcio jonų kanalų α_1 subvienetą [5, 6, 8].

LTKK INAKTYVACIJOS MECHANIZMAS IR KONFORMACINIAI POKYČIAI

Inaktyvacija yra būtina tinkamam kanalo funkcionavimui. Daugumos patologiškai pakitusių kalcio kanalų elektrofiziologiniai tyrimai nukreipti į inaktyvacijos mechanizmo pokyčius. Manoma, kad didžiausią įtaką inaktyvacijai turi α_1 subvieneto S6 segmentai I–IV domenuose bei jungtyje tarp I–II domenų. Iš pagalbinių kanalų struktūrų svarbiausi subvienetai [9]. Kitos funkcinio požiūriu svarbios Cav1.2 dalys yra II–III jungtis, susijusi su kanalo stabilumu ir degradacija [3], ir C baltymo galas, svarbus taisyklingam kanalo pozicionavimui ląstelės membranoje [10]. Pokyčiams šiose Cav1.2 jonų kanalų struktūrose būdingas didesnis aritmogeniškumas.

MIOKARDO LAIDUMO SUTRIKIMAS PRIKLAUSO NUO KONKRETAUS CACNA1C GENO VARIANTO

CACNA1C geno variantai atsižvelgiant į patologiškai pakitusių Cav1.2 kanalų elektrofiziologines savybes yra skirstomi į funkcijos netekimo (būdinga Brugada sindromui) ir funkcijos įgijimo (IQTS8 ir Timothy sindromai) [11].



1 pav. Brugada sindromo ypatumai priešširdinėse derivacijose

Fig. 1. Signs of Brugada syndrome in precordial leads

In: Dizon JM, Nazif TM, Talavera F, Oudiz RJ, Rottman JN, Pearlman JD. Brugada syndrome. Medscape [Internet]. 2017 [cited 2018 01 17]. Available from emedicine.medscape.com/article/163751-overview

2 lentelė. Fenotipinė Timothy sindromo (TS) išraiška mozaikiškuose organizmuose
Table 2. Phenotypic Timothy syndrome variance in mosaic organisms

Variantas	Publikacijos autorius	Mozaikinio organizmo fenotipas	Mozaikinio organizmo palikuonys
(NM_000719.6) variantas c.1216G>A, (Gly406Arg) (rs79891110)	Splawski et al., 2004	nėra simptomų	du vaikai paveldėjo TS
(NM_001167625.1) variantas c.1216G>A, (Gly406Arg) (rs80315385)	Splawski et al., 2005	širdies sustojimas, daugybiniai aritmijų epizodai	–
(NM_000719.6) variantas c.1216G>A, (Gly406Arg) (rs79891110)	Gao et al., 2012	sindaktilija, QTc pailgėjimas 470–490 ms	vienas vaikas paveldėjo TS
(NM_000719.6) variantas c.1216G>A, (Gly406Arg) (rs79891110)	Dufendach et al., 2013	sidaktilija	vienas vaikas paveldėjo TS
(NM_001167623.1) variantas c.1204G>A, (Gly402Ser) (rs587782933)	Fröhler et al., 2014	sidaktilija	du vaikai paveldėjo TS
(NM_000719.6) variantas c.1216G>A, (Gly406Arg) (rs79891110)	Baurand et al., 2016	QTc pailgėjimas 500 ms, ST, širdies sustojimas, sindaktilija	–

BRUGADA SINDROMAS

Brugada sindromas – tai miokardo laidumo sutrikimas, kuriam būdingas ST segmento pokytis V1–V3 krūtininėse derivacijose EKG (1 pav.), didelė širdies ritmo sutrikimų (skilvelių virpėjimo, *torsades de pointes*) ir staigios širdinės mirties rizika. Trečio tipo Brugada sindromo diagnozė patvirtinama nustatius patologinį pokytį CACNA1C gene [12].

Svarbu diferencijuoti 3 tipo Brugada sindromą nuo IQTS8 ir Timothy sindromo. Trečias Brugada sindromo tipas skiriasi nuo IQTS8 patologiškai pakitusių kalcio kanalų elektrofiziologinėmis savybėmis tyrimuose *in vitro* bei EKG pokyčiais. Brugada sindromui, priešingai nei Timothy sindromui, nebūdinga ekstrakardinė patologija [13].

TIMOTHY SINDROMAS

Šiuo metu išskiriami penki fenotipiškai skirtingi Timothy sindromą (TS) sukeliantys CACNA1C geno variantai. Splawski ir bendraautorai 2004 m. aprašė septyniolika (NM_001167625.1) c.1216G>A, (Gly406Arg), (rs80315385), (NM_001167623.1) c.1204G>A, (Gly402Ser) (rs587782933), (NM_000719.6) c.3497T>C, p.(Ile1166Thr) (rs797044881) yra dar retesni, o variantas (NM_000719.6) c.4418C>G, (Ala1473Gly) aprašytas tik kartą [14–18]. Dėl sunkaus psichomotorinės raidos sutrikimo TS paprastai diagno-

zuojamas kūdikystėje arba ankstyvoje vaikystėje. QTc intervalo pailgėjimas ir dauginiai aritmijų epizodai yra pagrindiniai TS būdingi elektrinės širdies sistemos pažeidimo požymiai. TS variantai tarpusavyje skiriasi ir su širdimi nesusijusiais, ekstrakardinaliais, požymiais (pvz., Ala1473Gly variantas sietas su dauginėmis šnarių kontraktūromis). Variantai Gly406Arg rs79891110, Gly406Arg rs80315385, Gly402Ser lemia aminorūgščių pokytį I domeno S6 segmente [14, 15]. Ile1166Thr variantas lokalizuotas III domeno S6 subvienete [16], o Ala1473Gly nutolęs per tris aminorūgštis nuo IV domeno S6 subvieneto [18]. Manoma, kad dėl pataloginių pokyčių šiose CaV1.2 kanalų nuo įtampos priklausomai inaktyvacijai svarbiose zonose gali ilgėti kanalų inaktyvacija ir bendra veikimo potencialo trukmė. Sutrikdytą inaktyvaciją Gly406Arg rs79891110, Gly406Arg rs80315385, Gly402Ser patvirtino ir bandymai *in vitro* [14, 15].

DALINIS TIMOTHY SINDROMAS DĖL LAŠTELIŲ MOZAIKIŠKUMO

Literatūroje aprašoma keletas TS atvejų, kuriuos lėmė mozaikiškumas motininėse arba tėvinėse gametose (2 lentelė). Mozaikiškumas – tai dviejų genetiškai skirtingų ląstelių populiacijų buvimas tame pačiame organizme. Tai yra pataloginių pokyčių ankstyvoje embriono mitozėje rezultatas, kuris gali būti susijęs su gonadomis, somatinėmis ląstelėmis arba gonadomis ir somatinėmis ląstelėmis [19]. Šis genetinis fenomenas paaiškina dalinę sindromo fenotipo išraišką, ypač *de novo* ligos atvejais. Esat mozaikiškumui, organizmo fenotipas priklauso nuo pataloginį pokytį turinčių ląstelių skaičiaus ir paplitimo audiniuose bei organuose [20]. Įtariant ląstelių mozaikiš-

kumą pirmenybė teikiama naujos kartos sekoskaitos, genetinio tyrimo metodui. Sangerio metodas yra jautrus, kai mutantinį alelį turi 20 % ląstelių, o naujos kartos sekoskaitos metodu genetinio kodo pokytį galima nustatyti, kai jį turi tik 1 % ląstelių [21].

PATOLOGINIAI CACNA1C GENO VARIANTAI SUKELIA IQTS8 VARIANTĄ BE EKSTRAKARDINIŲ POŽYMIŲ

IQTS8 būdingas miokardo repoliarizacijos sutrikimas, kuris pasireiškia pailgėjusiu QT intervalu elektrokardiogramoje, tačiau nėra ekstrakardinių pokyčių. Patologiją sukelia CACNA1C geno ir CaV1.2 kalcio jonų kanalų pokyčiai.

Nuo 2013 m. 20-yeje šeimų aprašyta 17 skirtingų CACNA1C variantų (3 lentelė), kurie sukėlė izoliuotą QTc intervalo pailgėjimą be kitų TS būdingų požymių. Tokia būklė vadinama 8 tipo ilgo QT intervalo sindromu. Iš 20 probandų 16 (Pro857Arg, Lys834Glu, Arg1906Gln, Pro381Ser, Met456Ile, Ala582Asp, Arg858His, Gly178Cys, Arg518Cys, Arg518His, Arg518His, Ile1166Val, Ile1475Met, Glu1496Lys, Ala28Thr, Leu762Phe) buvo moterys [3, 7, 11, 16, 17, 22]. Jaunesni nei 18 metų buvo 11 probandų (Lys834Glu, Pro857Leu, Pro381Ser, Met456Ile, Ala582Asp, Arg858His dukart, Ile1166Val, Ile1475Met, Ala28Thr, Leu762Phe) [3, 7, 11, 16, 17, 22]. Simptomų neturėjo 5 probandai (Pro857Leu, Pro381Ser, Met456Ile, Ala582Asp, Arg858His). Dalis individų patyrė sinkopę (Lys834Glu, Arg1906Gln, Arg518His, Gly178Cys, Ile1166Val, Ala28Thr, Leu762Phe), kiti – skilvelinę tachikardiją, *torsades de pointes* (TdP) arba staigios širdinės mirties epizodą

3 lentelė. Ilgo QT intervalo 8 tipo variantai
Table 3. Long QT syndrome type 8 mutations

Nukleotidų pokytis	Amino rūgščių pokytis	Patologija	Autorius, publikacijos data
c.2570 C>G	Pro857Arg	IQTS8	Boczek et al., 2013
c.2500A>G	Lys834Glu	IQTS8	Boczek et al., 2013
c.2570C>T	Pro857Leu	IQTS8	Boczek et al., 2013
c.5717G>A	Arg1906Gln	IQTS8	Boczek et al., 2013
c.1141C>T	Pro381Ser	IQTS8	Fukuyama et al., 2014
c.1368G>A	Met456Ile	IQTS8	Fukuyama et al., 2014
c.1745C>A	Ala582Asp	IQTS8	Fukuyama et al., 2014
c.2573G>A	Arg858His	IQTS8	Fukuyama et al., 2014
c.2573G>A	Arg858His	LQTS8	Fukuyama et al., 2014
c.2573G>A	Arg858His	LQTS8	Fukuyama et al., 2014
c.5347G>T	Gly178Cys	LQTS8	Fukuyama et al., 2014
c.155, 2C>T	Arg518Cys	Su širdimi susijęs TS	Boczek et al., 2015
c.1552C>T	Arg518Cys	Su širdimi susijęs TS	Boczek et al., 2015
c.1553G>A	Arg518His	Su širdimi susijęs TS	Boczek et al., 2015
c.2578C>G	Arg860Gly	IQTS8	Wemhöner et al., 2015
c.3496A>G	Ile1166Val	IQTS8	Wemhöner et al., 2015
c.4425C>G	Ile1475Met	IQTS8	Wemhöner et al., 2015
c.4486G>A	Glu1496Lys	IQTS8	Wemhöner et al., 2015
c.82G>A	Ala28Thr	IQTS8	Wemhöner et al., 2015
c.1216G>A	Gly406Arg	TS	Baurand et al., 2016
c.2284C>T	Leu762Phe	IQTS8	Boczek et al., 2016

IQTS – ilgo QT intervalo sindromas, TS – Timothy sindromas

(Pro857Arg, Arg860Gly, Ile1475Met, Glu1496Lys, Arg858His) [3, 7, 11, 16, 17, 22].

Yra žinoma, kad IQTS simptomus provokuojantys dirgikliai priklauso nuo sindromo tipo. IQTS1 atveju provokuojantis veiksnys dažniausiai yra fizinis krūvis, ypač plaukimas. IQTS2 atveju – išgastis, netikėtas triukšmas, staigus pabudimas iš miego, IQTS3 atveju ritmo sutrikimų epizodas dažniausiai pasireiškia miegant, ilsintis

[23]. IQTS8 atveju provokuojanti veiksnį nusakyti yra sudėtinga. Iš literatūroje aprašytų klinikinių atvejų būtų galima daryti išvadą, kad skilvelinę tachiaritmiją ir staigią mirtį esant IQTS8 dažniausiai provokuoja fizinis krūvis, rečiau – miegas (4 lentelė) [3, 7, 11, 16, 17, 22]. Nė vienu iš minėtų variantų nebuvo ekstrakardinių pokyčių [3, 7, 11, 16, 17, 22]. Atsitiktiniai matavimai parodė, kad probandų QTc intervalas EKG svyravo nuo 420 ms

(Met456Ile) iki 620 ms (Ala582Asp), tačiau dauguma atvejų (Pro857Arg, Lys834Glu, Pro381Ser, Met456Ile, Arg858His, Gly178Cys, Arg860Gly, Ile1166Val, Ile1475Met, Glu1496Lys, Ala28Thr) nesiekė 500 ms, t. y. pailgėjimas buvo ne toks ryškus kaip esant TS.

Iš 17 skirtingų *CACNA1C* geno IQTS8 variantų tik Ala28Thr (N baltymo gale) ir Ala582Asp (DII S2/S3) lokalizacija buvo už kanalo funkcijai reikšmingų struktūrinių regionų. Pro381Ser lokalizuota DIS6, Ile1166Val DIIS6, Ile1475Met DIVS6, Met456Ile, Arg518Cys, Arg518His išsidėstė I–II jungtyje, Pro857Arg, Lys834Glu, Pro857Leu, Arg858His, Arg860Gly, Leu762Phe – II–III jungtyje. C baltymo gale aprašyta Arg1906Gln, Gly178Cys, Glu1496Lys variantai [3, 7, 11, 16, 17, 22].

Elektrofiziologiniuose eksperimentuose su pakitusiais kalcio jonų kanalais nustatyta, kad 11 (Pro857Arg, Ala582Asp, Arg858His, Arg518Cys, Arg518His, Arg860Gly, Ile1166Val, Ile1475Met, Glu1496Lys, Ala28Thr, Leu762Phe) iš 17 variantų turėjo funkcijos igijimo fenotipą. Tokiems variantams būdingas padidėjęs arba sumažėjęs jonų srovės tankis, sutrikdyta srovės stiprio priklausomybė nuo įtampos esant kanalo aktyvacijai arba inaktyvacijai [3, 7, 11, 16, 17, 22]. Kitų variantų atvejais reikšmingų LTKK kinetikos pokyčių nerasta.

KLINIKINIŲ ATVEJŲ APŽVALGA

Vilniaus universiteto ligoninėje Santaros klinikose penkiems pacientams nustatytas 8 tipo ilgo QT sindromas. Gautas informuotas rašytinis visų pa-

4 lentelė. IQTS8: aritmiją provokuojantys veiksniai
Table 4. LQTS8: arrhythmia provoking factors

Nukleotidų pokytis	Aminorūgščių pokytis	Publikacijos autorius	ST/TdP/sinkopės trigeris			Kita
			fizinis aktyvumas	miegas	garsas	
c.2570 C>G	Pro857Arg	Boczek et al., 2013	+	+	–	agoninis alsavimas po gimdymo; teta patyrė sinkopę nėštumo metu
c.1141C>T	Pro381Ser	Fukuyama et al., 2014	+	–	–	–
c.1368G>A	Met1456Ile	Fukuyama et al., 2014	+	–	–	–
c.1745C>A	Ala582Asp	Fukuyama et al., 2014	–	–	–	širdies sustojimas, šeiminės anamnezės duomenimis
c.2573G>A	Arg858His	Fukuyama et al., 2014	+	+	–	–
c.2573G>A	Arg858His	Fukuyama et al., 2014	–	–	–	besimptomis; dėdė mirė staiga fizinio krūvio metu
c.2573G>A	Arg858His	Fukuyama et al., 2014	–	–	–	sinkopė pakeliui į mokyklą
c.5347G>T	Gly178Cys	Fukuyama et al., 2014	+	–	–	–
c.1553G>A	Arg518His	Boczek et al., 2015	–	–	–	TdP operacijos metu
c.1552C>T	Arg518Cys	Boczek et al., 2015	–	–	–	kardiomiopatija po gimdymo
c.2284C>T	Leu762Phe	Boczek et al., 2016	–	–	–	sinkopė sėdint prie stalo

cientų sutikimas nuasmenintiems duomenims paskelbti.

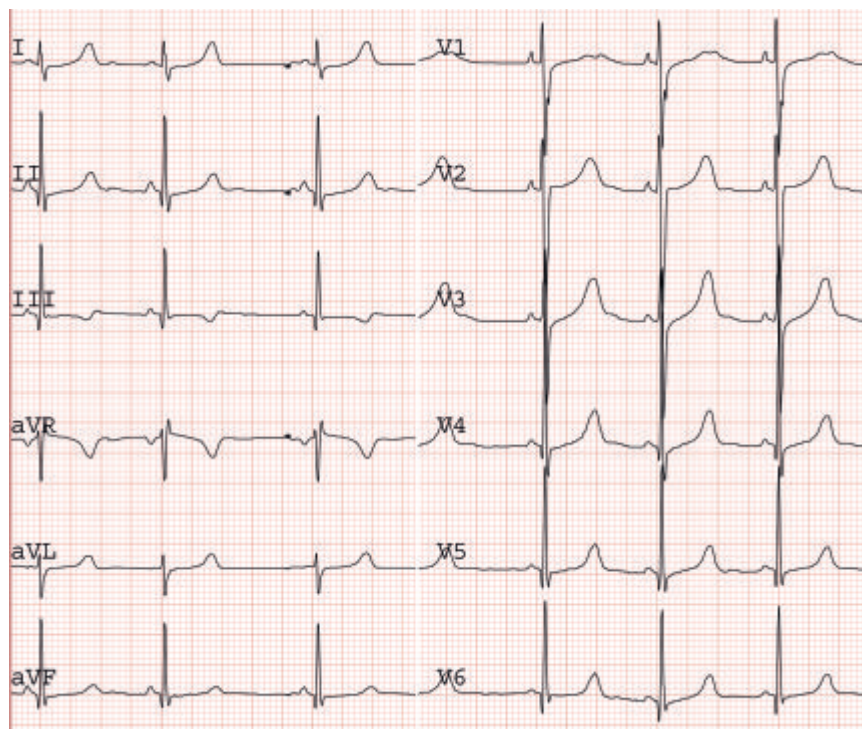
CACNA1C geno NM_199460.2 c.1552C>T variantas nustatytas dviem pacientams (paveldimas atvejais). Per profilaktinį patikrinimą sporto dispensarije registruotas pailgėjęs QTc intervalas EKG intensyviai sportuojančiam 8 metų berniukui (futbolas ir tenisas po 2 valandas per dieną 5 dienas per savaitę). Transtorakalinės echokardioskopijos metodu patologijos nenustatyta. Atlikus 24 val. EKG tyrimą Holterio monitoriumi, registruoti bradikardijos epizodai iki 43 kartų per minutę (k./min.), daugiausia vakare ir naktį, tachikardijos epizodai iki 172 k./min., vidutinis širdies susitraukimų dažnis 69 k./min., 77-ies skilvelinės ekstrasistolės. QTc intervalas svyravo nuo 460 ms iki 600 ms esant bradikardijai ir nuo 370 ms iki 440 ms esant tachikardijai (2 pav. ir 3 pav.). Bradikardijos epizodai buvo susiję su intermituojančia sinoatrialine blokada.

Bazinės EKG duomenys atliekant fizinio krūvio mėginį (veloergometrija): normali QTc intervalo trukmė, adekvatus QTc intervalo trukmės pritaikymas fizinio krūvio ir atsigavimo periodais, simptomų ir ritmo sutrikimo epizodų nenustatyta. Žinoma, kad paciento tetai (motinos seseriai) vaikystėje buvo nustatyta igimta širdies yda, tačiau genetinio tyrimo metu c.1552C>T variantas nebuvo nustatytas.

Pagal Schwartz ir Crotti [24] kriterijus apskaičiuota vidutinė paveldimo ilgo QT intervalo sindromo tikimybė (3 balai dėl QTc intervalo pailgėjimo >480 ms) ir atliktas genetinis molekulinis tyrimas. Naujos kartos sekoskaitos metodu tirti AKAP9, ANK2, CACNA1C, CALM1, CALM2, CALM3, CAV3, KCNE1, KCNE2, KCNH2, KCNJ2, KCNJ5, KCNQ1, SCN4B, SCN5A, SNTA1, TRDN genai, nustatytas CACNA1C geno 12 egzone (NM_199460.2) variantas c.1552C>T p.(Arg518Cys) (rs1057517711) heterozigotinėje būklėje, lemiantis pokytį CaV1.2 kalcio jonų kanale. Nustatyta IQTS8 diagnozė.

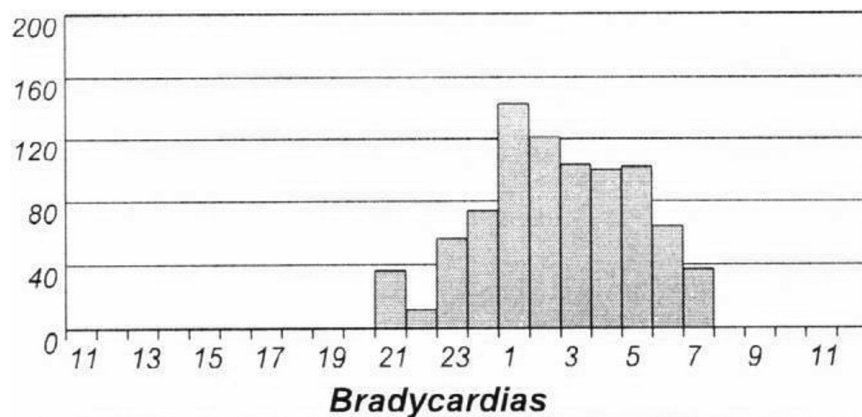
Sangerio metodu ištirta paciento motina (43 metų moteris), neturinti simptomų, echokardiografinių ir EKG pakitimų (QTc intervalas 453–455 ms). Paciento motinai nustatytas identiškas CACNA1C geno variantas.

Dar trims pacientams nustatytas CACNA1C geno NM_199460.2 c.2573G>A variantas 12 egzone. Šie pacientai jautėsi gerai, tačiau buvo nusiųsti atlikti genetinį tyrimą, nes jiems atsitiktinio patikrinimo metu



2 pav. Pirmas pacientas. CACNA1C geno c.1552C>T p.(Arg518Cys) variantas. Elektrokardiograma. QTc 457 ms

Fig 2. Patient no. 1. CACNA1C gene c.1552C>T p.(Arg518Cys) variant. Electrocardiogram. QTc 457 ms



3 pav. Pirmas pacientas. CACNA1C geno c.1552C>T p.(Arg518Cys) variantas. Bradikardijos epizodai naktį. 24 val. elektrokardiograma Holterio monitoriumi.

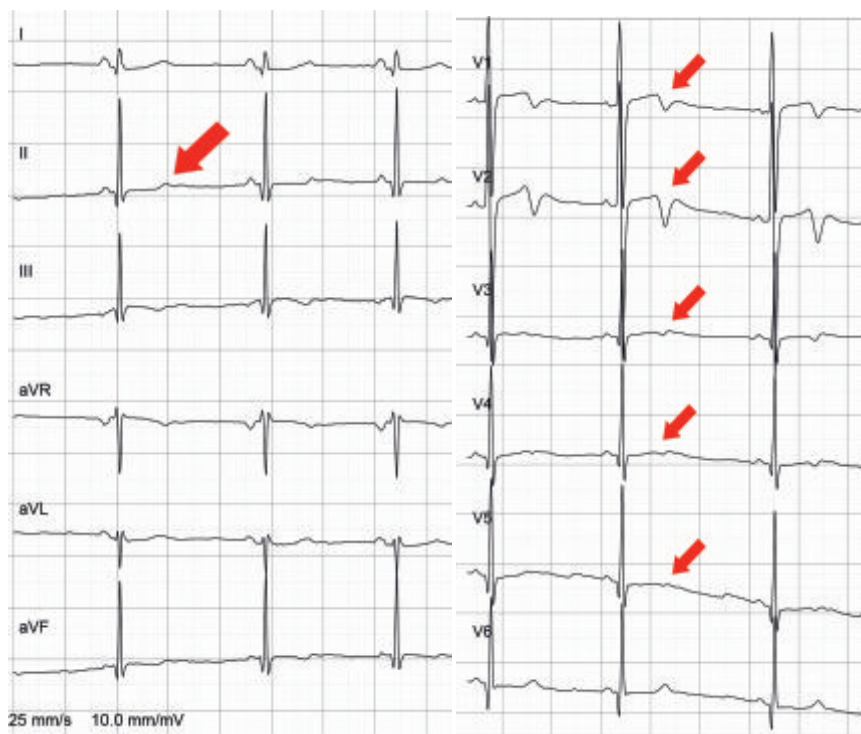
Fig 3. Patient no. 1. CACNA1C gene c.1552C>T p.(Arg518Cys) variant. Bradycardia episodes during night. 24 hour electrocardiogram Holter monitoring.

EKG buvo registruotas QTc intervalo pailgėjimas. Du iš trijų pacientų aktyviai sportavo. Šių asmenų šeimose nebuvo sinkopių, netikėtų mirties jauname amžiuje ar staigios širdinės mirties atvejų. Visi trys pacientai turėjo polinkį į bradikardiją, pailgėjęs QTc intervalas 480 ms.

Pailgėjęs QTc intervalas ir bifazinis T dantelis EKG (4 pav.) buvo penktajam pacientui. Echokardioskopijos metu nė vienam pacientui pataloginių pokyčių nerasta. Pacientai pagal Schwartz ir Crotti kriterijus surinko 3,5–4,5 balo [24] (5 lentelė).

Naujos kartos sekoskaitos metodu trims pacientams tirti KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, KCNE2, CAV3, SCN4B, AKAP9, SNTA1, KCNJ5, ANK2, CACNA1C, KCNJ2 genai. Nustatytas CACNA1C geno (NM_199460.2) variantas c.2573G>A, p.(Arg518His) (rs786205753) DII/DIII baltymo regione heterozigotinėje būklėje.

Visiems trims pacientams buvo nustatyta klinikinė ir molekulinė IQTS8 sindromo diagnozė bei skirtas gydymas pagal bendrąsias IQTS gydymo rekomendacijas. Visi pacientai tu-



4 pav. Penktas pacientas. *CACNA1C* geno c.2573G>A p.(Arg858His) variantas. Bifazinis T dantelis II, VI–V5 derivacijose elektrokardiogramoje
Fig. 4. Patient no. 5. *CACNA1C* gene c.2573G>A p.(Arg858His) variant. Biphasic T wave in II, VI–V5 derivations in electrocardiogram

rejo atsisakyti profesionalaus sporto ir jiems paskirtas nuolatinis profilaktinis gydymas beta adrenoblokatoriais (5 lentelė).

DISKUSIJA

CACNA1C c. 1552C>T variantas aprašytas dviejose giminystės ryšiais nesusijusiose šeimose. Variantas paveldimas autosominiu dominantiniu būdu.

Šeimose buvo registruoti IQTS, hipertrofinės kardiomiopatijos (HKMP), įgimtų širdies ydų, širdies ritmo sutrikimų ir staigos širdinės mirties atvejai [11]. Manoma, jog būtent c.1552C>T variantas lėmė šių požymių radimąsi. Elektrofiziologiškai variantui buvo būdingas funkcijos netekimo fenotipas dėl sumažėjusios kalcio jonų srovės tankio ir funkcijos įgavimo fenotipas dėl srovės stiprio ir įtampos priklausomybės kreivės poslinkio į de-

šinę, pailgėjusio greitojo ir lėtojo inaktyvacijos komponentų bei galbūt pailgėjusios inaktyvacijos ir veikimo potencialo trukmės. c.1552C>T variantas lemia aminorūgščių pokytį (Arg518Cys) I–II CaV1.2 kanalo jungtyje, kuri būtina normaliai kanalo inaktyvacijai [9, 11]. Dėl lėtesnės inaktyvacijos užsitęsia kalcio jonų patekimas į ląstelę ir tai gali provokuoti ankstyvą arba vėlyvą postdepolarizaciją ir TdP [25, 26]. Šiam variantui taip pat būdingas daugiau centruotas (arčiau citozolio) LTKK išsidėstymas ląstelės membranoje [11].

Mūsų aprašytu atveju c.1552C>T variantas nesukėlė simptomų nei pacientui, nei jo motinai. Abiejų tiriamųjų echokardioskopinio tyrimo duomenys neparodė HKMP ar kitokių patologinių požymių. Šeimoje nebuvo registruota staigos širdinės mirties atvejų. Paciento teta (motinos sesuo) yra turėjusi įgimtą širdies ydą, tačiau jai c.1552C>T variantas genetinio tyrimo metu nebuvo patvirtintas. Kol kas negalime patvirtinti c.1552C>T varianto ryšio su HKMP. Tačiau taip pat negalime atmesti galimybės, kad paciento motinai pasireiškė dalinis penetrantiškumas (dėl mozaikiškumo ar kitų priežasčių), tai galėtų paaiškinti lengvesnę ligos eigą. Tokiu atveju išlieka tikimybė, kad ritmo sutrikimai arba HKMP simptomai pacientui pasireiškė ateityje. Todėl būtina reguliariai stebėti paciento būklę.

CACNA1C c.2573G>A variantas literatūroje aprašytas trijose nesusijusiose šeimose [7]. Tai – autosominiu dominantiniu būdu paveldimas funkcijos įgavimo tipo patologinis pokytis, kuris lemia pokytį CaV1.2 II–III jungtyje, reikalingoje CaV1.2 kanalų de-

5 lentelė. IQTS8 pacientų klinikinių duomenų santrauka
Table 5. Summary of LQTS8 patients' clinical data

Paciento Nr.	1	2	3	4	5
Lytis	V	M	V	M	V
Amžius	8	43	14	15	17
Geno mutacija	<i>CACNA1C</i>	<i>CACNA1C</i>	<i>CACNA1C</i>	<i>CACNA1C</i>	<i>CACNA1C</i>
Variantas	Arg518Cys	Arg518Cys	Arg858His	Arg858His	Arg858His
Bradikardijos epizodai EKG/24 val. tyrimas Holterio monitoriumi (ŠSD < 60 k/min)	+	+	+	+	+
QTc 480 ms	+	–	+	+	+
QTc 480 ms per 4-a atsigavimo minutę po fizinio krūvio	+	–	–	–	+
T dantelio pokyčiai	–	–	–	–	+
Pokyčiai echokardiogramoje	–	–	–	–	–
Sinkopė	–	–	–	–	–
Šeiminė anamnezė	–	+	–	–	–
Jaunesnio kaip 30 m. artimo giminaičio staigi mirtis	–	–	–	–	–
Schwartz ir Crotti balai	3	1,5	3,5	4	4,5
Gydymas	Nadolol 80 mg ¼ tab. × 1	Nadolol 80 mg ½ tab. × 1	Propranolol 20 mg × 3	Propranolol 20 mg × 3	Propranolol 10 mg × 3

gradacijai. Šis variantas sukelia IQTS8. Mutavusiems kalcio jonų kanalams būdingas padidėjęs intralastelinis srovės tankis. Nors varianto įtaka inaktyvacijos ir veikimo potencialo pailgėjimui nebuvo nustatyta, tačiau, literatūros duomenimis, kliniškai du iš trijų pacientų patyrė sinkopę, o vienas – pasikartojančius skilvelinės tachikardijos ir skilvelių virpėjimo epizodus. Mūsų aptartu atveju trys probandai simptomų neturėjo, iš jų du buvo aktyviai sportuojantys.

Literatūroje aprašyti bent penki variantai, susiję su TS, 17 variantų, susijusių su IQTS8, 25 pacientai, sergantys TS, 8 pacientai, turintys TS mozaikiškumą [14–19, 21, 26–28], ir bent 25 pacientai, kuriems nustatytas IQTS8 [3, 7, 11, 17, 22]. Fukuyama ir

bendraautorius 2014 m. atrinktoje kohorte, turinčioje pailgėjusį arba ribinį QTc intervalą, IQTS8 dažnis buvo 2,5 % [7]. Kadangi dalis IQTS8 pacientų simptomų neturi ir toliau nėra tiriami, gali būti, kad šios ligos dažnis populiacijoje yra didesnis, nei iki šiol manyta.

Šiandien sudėtinga atsakyti į klausimą, kodėl individų to paties CACNA1C varianto fenotipas skiriasi. Varianto lokalizacija baltyme ir kanalo kinetika gali paaiškinti klinikinį fenotipą tik iš dalies ir ne visais atvejais. Šiandieną turimų duomenų neužtenka, kad būtų galima atskleisti mechanizmus, kurie sujungia elektrofiziologinius kanalo parametrus su realiu QTc intervalo pailgėjimu. Reikalingi tolesni introninių geno sričių, geno

RNR sukirpimo ir transkriptų paplitimo, papildomų kanalo subvienetų (γ , δ subvienetai) bei šių faktorių pleotropinio poveikio tyrimai.

IŠVADOS

IQTS8 yra fenotipiškai heterogeniškas. Nors literatūroje duomenų apie IQTS8 sindromo patogenezę ir diagnostiką yra nemažai, aprašytas mažas individualių variantų skaičius kol kas neleidžia pateikti pacientų stebėjimo ir gydymo taktikos rekomendacijų. Reikia toliau stebėti šiuos pacientus, kaupti ir analizuoti jų klinikinius duomenis. ♦

Gauta: 2018 02 09
Priimta spaudai: 2018 03 12

Summary

CACNA1C RELATED LONG QT SYNDROME TYPE 8 REVIEW AND VARIANT ANALYSIS

Renata Šalkevič, Dovilė Jančauskaitė, Violeta Mikštienė, Živilė Katliorienė, Vilija Černiauskienė, Lina Gumbienė, Jūratė Barysienė, Germanas Marinskis, Audrius Aidietis

Introduction. Long QT syndrome is a repolarisation disorder of myocardium that results in prolonged QT interval on electrocardiogram. At least 16 genes are linked to this disorder. Long QT syndrome type 8 is caused by CACNA1C mutations. It makes up <1% of all the congenital long QT syndrome cases. CACNA1C gene codes α_1 subunit of calcium channel CaV1.2. Gain of function mutations in CACNA1C are common among Timothy syndrome and long QT syndrome type 8 cases. At least 16 differ-

ent mutations in CACNA1C gene cause long QT syndrome type 8. Most of these mutations are reported only once, making it hard to establish phenotypic heterogeneity of different genetic variances.

The aim and methods. The aim of this article is to present two ultra-rare long QT syndrome type 8 variants in five individuals diagnosed in Vilnius University Hospital Santaros Klinikos and compare our clinical data with other authors'.

Results. Two of our patients had CACNA1C gene (NM_199460.2) c. 1552C>T

p.(Arg518Cys) (rs1057517711) variant which has been linked to severe phenotype of long QT syndrome, hypertrophic cardiomyopathy, congenital heart disease and sudden cardiac death. We also present three individuals with CACNA1C gene (NM_199460.2) c.2573G>A, p.(Arg858His) (rs786205753) variant which has been linked to syncope, electrical storm and sudden cardiac death. Three of our subjects were actively engaged in sports.

Conclusion. A lot of research has been made on long QT syndrome type 8 pathogenesis. However, due to rareness of the disease and its phenotypical heterogeneity, there is lacking data on treatment and follow-up recommendations.

Keywords: CaV1.2, L type calcium channels, calcium channelopathy, genetics, arrhythmia.

LITERATŪRA

- Zareba W, Cygankiewicz I. Long QT syndrome and short QT syndrome. *Prog Cardiovasc Dis* 2008; 51(3): 264–78.
- Schwartz PJ, Ackerman MJ, George AL, Wilde AAM. Impact of genetics on the clinical management of channelopathies. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62(3): 169–80.
- Boczek NJ, Best JM, Tester DJ, Giudicessi JR, Middha S, Evans JM, et al. Exome sequencing and systems biology converge to identify novel mutations in the L-Type calcium channel, CACNA1C, linked to autosomal dominant long QT syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 2013; 6(3): 279–89.
- Alders M, Christiaans I. Long QT syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al, eds. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2018 Jan 29]. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1129/
- CACNA1C calcium voltage-gated channel subunit alpha 1 C [Homo sapiens (human)] – Gene – NCBI [Internet]. [cited 2018 Jan 27]. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/775
- Napolitano C, Antzelevitch C. Phenotypical manifestations of mutations in the genes encoding subunits of the cardiac voltage-dependent L-type calcium channel. *Circ Res* 2011; 108(5): 607–18.
- Fukuyama M, Wang Q, Kato K, Ohno S, Ding W-G, Toyoda F, et al. Long QT syndrome type 8: novel CACNA1C mutations causing QT prolongation and variant phenotypes. *Europace* 2014; 16(12): 1828–37.
- Betzenhauser MJ, Pitt GS, Antzelevitch C. Calcium channel mutations in cardiac arrhythmia syndromes. *Curr Mol Pharmacol* 2015; 8(2): 133–42.
- An MT, Zamponi GW. Voltage-dependent inactivation of voltage gated calcium channels. In: *Madame Curie Bioscience Database* [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000–2013. [cited 2018 Jan 27]. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6559/
- Gao T, Bunemann M, Gerhardstein BL, Ma H, Hosey MM. Role of the C terminus of the alpha 1C (CaV1.2) subunit in membrane targeting of cardiac L-type calcium channels. *J Biol Chem* 2000; 275(33): 25436–44.
- Boczek NJ, Ye D, Jin F, Tester DJ, Huseby A, Bos JM, et al. Identification and functional characterization of a novel CACNA1C-mediated cardiac disorder characterized by prolonged QT intervals with hypertrophic cardiomyopathy, congenital heart defects, and sudden cardiac death. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2015; 8(5): 1122–32.

12. Brugada R, Campuzano O, Sarquella-Brugada G, Brugada P, Brugada J, Hong K. Brugada syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al, eds. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2018 Jan 27]. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1517/
13. Sacher F, Arsac F, Wilton SB, Derval N, Denis A, Guillebon M de, et al. Syncope in Brugada syndrome patients: Prevalence, characteristics, and outcome. *Heart Rhythm* 2012; 9(8): 1272–9.
14. Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, Decher N, Kumar P, Bloise R, et al. Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell* 2004; 119(1): 19–31.
15. Splawski I, Timothy KW, Decher N, Kumar P, Sachse FB, Beggs AH, et al. Severe arrhythmia disorder caused by cardiac L-type calcium channel mutations. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102(23): 8089–96.
16. Boczek NJ, Miller EM, Ye D, Nesterenko VV, Tester DJ, Antzelevitch C, et al. Novel Timothy syndrome mutation leading to increase in CACNA1C window current. *Heart Rhythm* 2015; 12(1): 211–9.
17. Wemhöner K, Friedrich C, Stallmeyer B, Coffey AJ, Grace A, Zumhagen S, 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: 186–95.
18. Gillis J, Burashnikov E, Antzelevitch C, Blaser S, Gross G, Turner L, et al. Long QT, syndactyly, joint contractures, stroke and novel CACNA1C mutation: expanding the spectrum of Timothy syndrome. *Am J Med Genet* 2012; 158A(1): 182–7.
19. Dufendach KA, Giudicessi JR, Boczek NJ, Ackerman MJ. Maternal mosaicism confounds the neonatal diagnosis of Type 1 Timothy syndrome. *Pediatrics* 2013; 131(6): e1991–5.
20. Freed D, Stevens EL, Pevsner J. Somatic mosaicism in the human genome. *Genes* 2014; 5(4): 1064–94.
21. Baurand A, Falcon-Eicher S, Laurent G, Villain E, Bonnet C, Thauvin-Robinet C, et al. Incomplete Timothy syndrome secondary to a mosaic mutation of the CACNA1C gene diagnosed using next-generation sequencing. *Am J Med Genet A* 2017; 173(2): 531–6.
22. Landstrom AP, Boczek NJ, Ye D, Miyake CY, De la Uz CM, Allen HD, et al. Novel long QT syndrome-associated missense mutation, L762F, in CACNA1C-encoded L-type calcium channel imparts a slower inactivation tau and increased sustained and window current. *Int J Cardiol* 2016; 220: 290–8.
23. Themes UFO. Genetics of Cardiac Arrhythmias [Internet]. Thoracic Key. 2016 [cited 2018 Jan 27]. Available from: thoracickey.com/genetics-of-cardiac-arrhythmias/
24. Schwartz PJ, Crotti L, Insolia R. Long QT syndrome: from genetics to management. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2012; 5(4): 868–77.
25. Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Chen P-S, Qu Z. Early afterdepolarizations and cardiac arrhythmias. *Heart Rhythm* 2010; 7(12): 1891–9.
26. Ko CY, Liu MB, Song Z, Qu Z, Weiss JN. Multiscale determinants of delayed afterdepolarization amplitude in cardiac tissue. *Biophys J* 2017; 112(9): 1949–61.