Klinická charakteristika tří českých rodin s katecholaminergní polymorfní komorovou tachykardií a pilotní výsledky mutační analýzy genu *RyR2*

Tomáš Novotný¹, Peter Kubuš², Pavel Vít³, Alena Floriánová¹, Irena Dohnalová¹, Iveta Valášková⁴, Jitka Kadlecová⁴, Renata Gaillyová⁴, Eva Švandová⁴, Jindřich Špinar¹

¹Interní kardiologická klinika, Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, ²Dětské kardiocentrum a Centrum výzkumu chorob srdce a cév, Fakultní nemocnice Motol, Praha, ³Dětská klinika, Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, ⁴Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, Česká republika

Novotný T, Kubuš P, Vít P, Floriánová A, et al. **Klinická charakteristika tří českých rodin s katecholaminergní polymorfní komorovou tachykardií a pilotní výsledky mutační analýzy genu *RyR2*.** *Cor Vasa* 2010;52:39–42.

Cíl: Katecholaminergní polymorfní komorová tachykardie (CPVT) je vzácná dědičná arytmie, která se manifestuje nejčastěji už v dětském věku, typicky při zátěži. Cílem naší práce je klinický popis tří českých rodin s výskytem CPVT a pilotní výsledky mutační analýzy genu *RyR2*.

Metodika: Na zúčastněných pracovištích jsou vyšetřováni probandi a jejich nejbližší příbuzní. Absolvují základní klinické vyšetření, anamnéza je cílena na možné projevy CPVT – synkopy při zátěži. Dále podstupují bicyklovou ergometrii za účelem získání EKG křivek při adrenergní stimulaci. U všech vyšetřených jedinců je proveden odběr krve na izolaci DNA. U probandů byla zahájena analýza genu *RyR2*.

Výsledky: Celkem byly vyšetřeny tři rodiny – jedenáct dospělých, pět dětí, ve kterých se v každé u jednoho z dětí vyskytla synkopa. Indikací k vyšetření byla ve všech třech případech synkopa při zátěži. Diagnóza byla stanovena pomocí ergometrie provokací polymorfní komorové tachykardie. U dalších příbuzných arytmií nebyla vyvolána. Všichni tři postižení byli léčeni beta-blokátorem, u jednoho z nich musel být pro recidivy synkop implantován kardioverter-defibrilátor. U jednoho z probandů byla detekována sekvenční změna c.14101-6A>G a 14101-21A>G blízko 3'-konce intronu 94-95 a 14231+12A>C blízko 5'-konce intronu 95-96. Detekované sekvenční změny nejsou zařazeny do databáze mutací CPVT a dosud nebyly publikovány.

Závěry: CPVT je vzácné onemocnění s velmi vysokým rizikem náhlé smrti. Na tuto diagnózu je třeba vždy myslet v případě synkop při zátěži. Klidový elektrokardiogram je zcela normální, k potvrzení diagnózy je nutný zátěžový test. Mutační analýza souvisejících genů umožní identifikovat asymptomatické jedince, u nichž je pak indikována léčba beta-blokátorem.

Klíčová slova: Gen – Mutace – Náhlá srdeční smrt – Polymorfní komorová tachykardie – *RyR2*

Novotný T, Kubuš P, Vít P, Floriánová A, et al. **Clinical characteristics of three Czech families with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia and pilot results of *RyR2* gene mutation analysis.** *Cor Vasa* 2010;52:39–42.

Aim: Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT) is a rare hereditary arrhythmia. The onset of clinical symptoms usually occurs during childhood, and is typically related to stress. The aim of our study is to provide clinical characteristics of three Czech families with CPVT and pilot results of mutation analysis of the *RyR2* gene.

Methods: The subjects and their relatives are investigated at the participating departments. They undergo basic clinical investigation, with their history-taking focused on possible CPVT symptoms, i.e. syncope during stress. Bicycle ergometry is performed to obtain ECG recordings during adrenergic stimulation. In all the investigated individuals, blood samples are taken for DNA isolation, with mutation analysis of the *RyR2* gene started in subjects.

Results: To date, three families (11 adults and five children) have been investigated. In three CPVT patients, the indication for examination was syncope during stress. The diagnosis was confirmed with bicycle ergometry-induced polymorphic ventricular tachycardia. The arrhythmia was not induced in any other relatives. All three affected individuals were treated with a beta-blocker, with one having a cardioverter-defibrillator implanted because of recurrent syncope. Sequence changes c.14101-6A>G and 14101-21A>G close to 3'-end

Projekt je podpořen grantem MŠMT 2B08061.

of intron 94-95, and in 14231+12A>C close to 5'-end of intron 95-96 were detected in one subject. The detected sequence changes have not been included in the CPVT mutation database and published yet.

Conclusions: CPVT is a rare disease with a high risk of sudden death. This diagnosis must be considered in all cases of exercise-related syncope. A resting electrocardiogram is completely unremarkable. For the confirmation of the diagnosis an exercise test is necessary. Mutation analysis of related genes may reveal asymptomatic individuals in whom beta-blocker therapy is recommended.

Key words: Gene – Mutation – Polymorphic ventricular tachycardia – Sudden cardiac death – *RyR2*

Adresa: MUDr. Tomáš Novotný, Ph.D., Interní kardiologická klinika, FN Brno a LF MU, Jihlavská 20, 625 00 Brno, Česká republika, e-mail: novotny-t@seznam.cz

Úvod

Katecholaminergní polymorfní komorová tachykardie (CPVT) je vzácná, většinou autosomálně dominantně dědičná arytmie, která se manifestuje nejčastěji už v dětském věku, typicky při zátěži.¹ Až 30 % nemocných náhle umírá ve věku do 30 let.^{2,3} U postižených jedinců dochází ke vzniku zátěží indukovaných komorových arytmii z více fokusů, diagnostickou arytmií je tzv. bidirekční komorová tachykardie. Ta může degenerovat do fibrilace komor a způsobit náhlou srdeční smrt. Asi u 50 % postižených se vyskytují mutace v genu pro ryanodinový receptor (*RyR2*), což je vápníkový kanál sarkoplazmatického retikula kardiomyocytů. Hraje zásadní roli v regulaci intracelulárních přesunů vápníku. Ve sporadických případech jsou nacházeny mutace v genu pro calsequestrin (*CASQ2*). Ten je součástí makromolekulárního bílkovinného komplexu ve vazbě na ryanodinový receptor.⁴

Cílem naší práce je klinický popis tří českých rodin s výskytem CPVT a pilotní výsledky mutační analýzy genu *RyR2*.

Metodika

Klinické vyšetření

Pacienti dětského věku byli vyšetřováni dětskými kardiology v Dětském kardiocentru ve Fakultní nemocnici v Praze-Motole a ve Fakultní nemocnici Brno, dospělí jedinci na Interní kardiologické klinice FN Brno. Genetická konzultace proběhla na Oddělení lékařské genetiky FN Brno.

Všichni jedinci absolvovali základní kardiologické vyšetření, anamnéza byla cílena na možné projevy CPVT (synkopa při zátěži). Dále podstoupili bicyklovou ergometrii za účelem získání EKG křivek při adrenergní stimulaci. Dvanáctisvodový EKG záznam byl prováděn v modifikaci dle Mason-Likara. Cílem bylo dosažení tepové frekvence odpovídající maximální zátěži pro danou věkovou skupinu a pohlaví. Elektrokardiogram byl hodnocen z výtisků elektronických záznamů s posunem 50 mm/s a voltáží 20 mm/mV. Kromě základních intervalů byla posuzována i přítomnost brugadovského EKG.⁵

Mutační analýza

U všech vyšetřených jedinců byl na Oddělení lékařské genetiky FN Brno po podepsání informovaného souhlasu proveden odběr krve na izolaci DNA. U probandů byla poté zahájena analýza genu *RyR2*.

Výsledky

Na výše uvedená pracoviště byly postupně odeslány tři děti ze tří nepříbuzných rodin s anamnézou synkopy při zátěži. Celkem bylo vyšetřeno jedenáct jedinců, z toho pět dětského věku (obrázek 1). Klinickou charakteristiku shrnuje tabulka 1. Diagnóza byla stanovena pomocí ergometrie provokací polymorfní komorové tachykardie (obrázky 2 a 3). U nikoho z dalších příbuzných nebyla arytmie vyvolána. Všichni tři postižení byli léčeni beta-blokátorem, jeden z našich pacientů je na kombinované terapii beta-blokátorem a verapamilem pro opakované ataky ektopické síněvé tachykardie. U jednoho nemocného musel být pro recidivy synkop implantován kardioverter-defibrilátor (ICD).

U všech tří probandů byly amplifikovány a poté sekvenovány exony 93–105 (baze 4 491–4 965) a přilehlé intronové oblasti C-terminální domény genu *RyR2* a výsledky srovnány s referenční sekvencí dle databáze Ensembl.⁶ U jednoho

Obrázek 1 Rodokmeny popisovaných rodin; postižení jedinci jsou znázorněni černě, čísla udávají věk v době stanovení diagnózy

Tabulka 1 Klinická charakteristika vyšetřených jedinců

	Děti (n = 5)	Dospělí (n = 6)
Věk	15 ± 1,6 (n = 5)	44,2 ± 6,4 (n = 6)
Věk nemocných v době stanovení diagnózy	10,7 ± 2 (n = 3)	– (n = 0)
Synkopa	3	0
Bidirekční KT nativně	0	0
Bidirekční KT při ergometrii	3	0
Beta-blokátory	3	0
ICD	1	0

KT – komorová tachykardie, ICD – implantabilní kardioverter-defibrilátor

z probandů byla detekována sekvenční změna c.14101-6A>G a 14101-21A>G blízko 3'-konce intronu 94-95 a 14231+12A>C blízko 5'-konce intronu 95-96. Detekované sekvenční změny nejsou zařazeny do databáze mutací CPVT a dosud nebyly publikovány.⁷ Tyto sekvenční změny leží v oblastech důležitých pro odstranění intronů při posttranskripčních úpravách, a proto nelze vyloučit, že mohou způsobovat defekt sestřihu, a tím výrazně ovlivňovat funkčnost srdečního ryanodinového receptoru a mohou být v asociaci s katecholaminergní polymorfní komorovou tachykardií.

Analýza dalších oblastí tohoto genu probíhá.

Diskuse

Jak již bylo řečeno výše, CPVT je vzácná, většinou autosomálně dominantně dědičná arytmie manifestující se zpravidla už v dětském věku. Stejně tomu bylo i v našem malém souboru, průměrný věk při stanovení diagnózy byl 10,7 roku. Katecholaminergní polymorfní komorová tachy-

Obrázek 2 Provozkace polymorfních komorových arytmií u nemocné s katecholaminergní polymorfní komorovou tachykardií (CPVT) až s náznakem bidirekční komorové tachykardie typické pro toto onemocnění

Obrázek 3 Pro srovnání uvádíme polymorfní komorovou tachykardii „torsade de pointes“ typickou pro syndrom dlouhého intervalu QT, zřetelně je patrný jiný charakter této arytmie – postupná změna výšky a tvaru komplexů QRS

kardie se vyznačuje vysokou letalitou – u 80 % pacientů se symptomy manifestují do 40 let věku a její celková mortalita se pohybuje v rozmezí 30–50 %.⁸ Obecně nutno říci, že literární data o této chorobě jsou velmi sporá a informace o průběhu a prognóze jsou založena na sledování velmi malých souborů pacientů.

Na rozdíl od jiných hereditárních arytmií (syndrom dlouhého intervalu QT – LQT, syndrom Brugadaových) je u CPVT klidový elektrokardiogram zcela normální. Na tuto chorobu je třeba myslet vždy v případech synkop vázaných na námahu, především v dětském věku. V těchto případech je indikována ergometrie, při které se u více než 80 % pacientů s CPVT indukují komplexní formy komorových arytmií včetně typické bidirekční komorové tachykardie.⁹ Poměrně typický je i současný výskyt supraventrikulárních arytmií.² V našem souboru byla diagnóza stanovena u všech pacientů až po provedení ergometrie, což ukazuje na důležitost tohoto vyšetření, v arytmologii často opomíjeného.

Léčbou první volby jsou beta-blokátory. Jejich účinnost je však nižší než u syndromu dlouhého intervalu QT. Až u 30 % pacientů s touto léčbou nedojde k supresi arytmií při opakované ergometrii nebo mají recidivu synkopy. V těchto případech je indikována implantace kardioverter-rů-defibrilátorů (ICD).¹⁰ Dva naši pacienti jsou účinně léčeni beta-blokátory, v jednom případě bylo nutno implantovat kardioverter-defibrilátor (ICD). Tento poměr je rovněž v souladu s literárními daty.

Intracelulární a transmembránové přesuny Ca^{2+} hrají zásadní roli v mnoha aspektech srdeční činnosti (normální srdeční rytmus, spřažení excitace a kontrakce, intracelulární signalizace u hypertrofie a srdečního selhání atd.). V těchto procesech se významně uplatňuje právě ryanodinový receptor – Ca^{2+} kanál sarkoplazmatického retikula srdečních myocytů kódovaný genem *RyR2*. V tomto genu se nacházejí mutace zhruba u 50 % pacientů s katecholaminergní polymorfní komorovou tachykardií.¹¹ Arytmogenní mechanismus není dosud zcela jasný. Mutací postižený kanál zřejmě způsobuje únik Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula, což vede k „přeplnění“ intracelulárního prostoru Ca^{2+} ionty („ Ca^{2+} overload“). Tato situace podporuje aberantní proudy do buňky, které spouštějí pozdní následné potenciály (delayed afterdepolarization – DAD). Ty pak mohou nastartovat maligní arytmie. Gen *RyR2* patří mezi největší v lidském genomu. Mutace v genu *RyR2* se shlukují ve třech oblastech: N-terminální (baze 173–433), centrální (baze 2 246–2 504) a C-terminální (baze 3 778–4 959). C-terminální doména je z hlediska funkčnos-

ti proteinu nejdůležitější. Je to oblast zahrnutá do regulace procesů v cytoplazmě, tvoří Ca^{2+} pór. Nachází se v ní 32 % popsanych mutací *RyR2*.¹² I při omezení mutační analýzy na tyto oblasti bude stále ještě nutno analyzovat 41 exonů u všech zkoumaných jedinců (každý exon = 1 analýza, pro srovnání gen *KCNQ1* postižený u LQT1 má 19 exonů). Vyšetření je tedy časově, personálně i finančně náročné.

Nález mutace však může potvrdit diagnózu a u CPVT je indikována léčba beta-blokátorem i u asymptomatických nosičů.¹⁰ U CPVT byl zjištěn významný podíl asymptomatických nosičů mutací, penetrance onemocnění se pohybuje kolem 75–80 %.¹³ To může být důvodem absence klinických známek onemocnění u dalších členů námi vyšetřených rodin. Dalším možným vysvětlením je recesivní varianta, která ale byla zatím popsána jen velmi vzácně v souvislosti s postižením calsequestrinu.^{14,15} Tento protein slouží jako hlavní zásobárna Ca^{2+} iontů v sarkoplazmatickém retikulu a je součástí makromolekulárního komplexu s ryanodinovým receptorem. Je kódován genem *CASQ2*, jehož mutační analýza u nás zatím není dostupná.

Závěr

CPVT patří do spektra hereditárních arytmiických onemocnění společně se syndromem LQT a syndromem Brugadaových. Společným znakem je absence strukturálního postižení srdce. Katecholaminergní polymorfni komorová tachykardie je mnohem vzácnější, letalita je však vyšší. Na tuto diagnózu je třeba vždy myslet v případech synkop při zátěži, především v dětském věku. Klidový EKG je zcela normální, k potvrzení diagnózy je nutný zátěžový test. Mutační analýza souvisejících genů umožní identifikovat asymptomatické jedince, u nichž je pak indikována léčba beta-blokátorem. Tento projekt rozšiřuje spektrum genů souvisejících s arytmiickými syndromy, jejichž mutační analýza je v České republice dostupná.

Literatura

1. Coumel P, Fidelle J, Lucet V, et al. Catecholaminergic induced severe ventricular arrhythmias with Adams-Stokes syndrome in children: Report of four cases. *Br Heart J* 1978;40:28–37.

2. Leenhardt A, Lucet V, Denjoy I, et al. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in children: a 7-year follow-up of 21 patients. *Circulation* 1995;91:1512–1519.
3. Priori SG, Napolitano C, Memmi M, et al. Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2002;106:69–74.
4. Postma AV, Denjoy I, Hoorntje TM, et al. Absence of calsequestrin 2 causes severe forms of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circ Res* 2002;91:e21–e26.
5. Antzelevitch C, Brugada P, Borggrefe M, et al. Brugada Syndrome: Report of the Second Consensus Conference: Endorsed by the Heart Rhythm Society and the European Heart Rhythm Association. *Circulation* 2005;111:659–70.
6. <http://www.ensembl.org/>.
7. <http://www.fsm.it/cardmoc/>.
8. Cerrone M, Colombi B, Bloise R, et al. Clinical and molecular characterization of a large cohort of patients affected with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (abstract). *Circulation* 2004;110(Suppl II):552.
9. Mohamed U, Napolitano C, Priori GS. Molecular and electrophysiological bases of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2007;18:791–797.
10. Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, et al. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for practice guidelines (writing committee to develop guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death) developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Europace* 2006;8:746–837.
11. Napolitano C, Priori SG. Diagnosis and treatment of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm* 2007;4:675–678.
12. George GH, Jundi H, Thomas NL, et al. Ryanodine receptor regulation by intramolecular interaction between cytoplasmic and transmembrane domains. *Mol Biol Cell* 2004;15:2627–2638.
13. Postma AV, Denjoy I, Jamblock J, et al. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: RYR2 mutations, bradycardia, and follow up of the patients. *J Med Genet* 2005;42:863–870.
14. Lahat H, Pras E, Olender T, et al. A missense mutation in a highly conserved region of *CASQ2* is associated with autosomal recessive catecholamine-induced polymorphic ventricular tachycardia in Bedouin families from Israel. *Am J Hum Genet* 2001;69:1378–1384.
15. di Barletta MR, Viatchenko-Karpinski S, Nori A, et al. Clinical phenotype and functional characterization of *CASQ2* mutations associated with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2006;114:1012–1019.

Došlo do redakce 21. 10. 2009

Přijato 3. 1. 2010