

**INVESTIGACIÓN BÁSICA*****Detección de una mutación en el gen KCNQ1 (KvLQT1) causante de síndrome de Jervell, Lange-Nielsen en una familia mexicana***

Manlio F Márquez,\*§ Manuel Ramos-Kuri,\*\*§ Guadalupe Hernández-Pacheco,\*\*\* Javier Estrada,\*\* Juan R Fabregat,\*\* Nadia Pérez-Vielma,\*\*\* Jorge Gómez-Flores,\* Antonio González-Hermosillo,\* Manuel Cárdenas,\* Gilberto Vargas-Alarcón\*\*\*\*,\*\*\*\*\*

**Resumen**

**Antecedentes:** Los síndromes de QT largo son enfermedades hereditarias causadas por mutaciones en los genes que codifican las proteínas de los canales iónicos transmembranales de sodio o potasio. Se han encontrado más de 200 mutaciones en por lo menos seis genes. El síndrome de Jervell y Lange-Nielsen (JLN) es la variedad recesiva de la enfermedad y se asocia con sordera congénita. Estudios recientes sugieren correlaciones fenotipo-genotipo con implicaciones importantes para el diagnóstico y tratamiento de este padecimiento. **Métodos:** En el presente trabajo se analizó el gen KCNQ1 (KvLQT1) en una familia mexicana afectada por síndrome de JLN, utilizando el método de secuenciación automática. **Resultados:** Se encontró una mutación con cambio de sentido en tres sujetos afectados. Esta mutación se asocia con una ausencia completa de la función del canal que codifica la proteína del canal de repolarización lenta IKs. Se estableció una correlación entre la mutación y el fenotipo y se encontró un intervalo QTc prolongado y sordera en dos her-

**Summary**

**KCNQ1 (KvLQT1) MISSENSE MUTATION CAUSING CONGENITAL LONG QT SYNDROME (JERVELL-LANGE-NIELSEN) IN A MEXICAN FAMILY**

**Background:** Long QT syndromes (LQTS) are inherited cardiac disorders caused by mutations in the genes that encode sodium or potassium transmembrane ion channel proteins. More than 200 mutations, in at least six genes, have been found in these patients. The Jervell and Lange-Nielsen (JLN) syndrome is the recessive form of the disease and is associated with deafness. Few families with JLN syndrome and genetic studies are reported in the literature. **Methods:** The KCNQ1 (KvLQT1) gene in a Mexican family with Jervell-Lange-Nielsen long QT syndrome was analyzed using an automated sequence method. **Results:** A missense mutation was found in the three affected individuals. This mutation is associated with complete loss of channel function. Correlation with the phenotype showed a prolonged QTc interval and deafness in the two siblings homozygous to the mutation.

\* Departamento de Electrocardiología, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

\*\* Departamento de Biología Molecular, Escuela de Medicina, Universidad Panamericana.

\*\*\* Departamento de Fisiología, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

\*\*\*\* Grupo de Estudio en Genómica y Proteómica de Enfermedades Cardiovasculares. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

§ Las contribuciones de Manlio F. Márquez y Manuel Ramos-Kuri son iguales y el orden de los autores es arbitrario.

Correspondencia: Dr. Gilberto Vargas-Alarcón. Departamento de Fisiología, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". (INCICH, Juan Badiano Núm. 1, Col. Sección XVI, Tlalpan 14080 México, D.F.). Tel: +525 573 29 11 ext. 1278

Fax: +525 573 09 26

E-mail: gvargas63@yahoo.com

Recibido: 15 de junio de 2006

Aceptado 20 de junio de 2006

manos homocigotos a la mutación. La madre que era heterocigota para la mutación, no tenía sordera aunque su intervalo QTc era prolongado. El padre y un hermano menor tenían intervalos QTc normales. La mutación no fue detectada en 50 individuos control estudiados. **Conclusiones:** Se describe una mutación en el gen KCNQ1 en una familia mexicana con síndrome de JLN. Esta mutación produce un cambio de aminoácido (Gly-Arg) en el residuo 168 de la proteína. La mutación ha sido descrita previamente en familias de origen caucásico.

The mother, who was heterozygous for the mutation, also had prolonged QTc interval without deafness. The father and younger brother had normal QTc intervals. The mutation was not found in 50 healthy controls studied. **Conclusions:** We describe for the first time a mutation in the KCNQ1 gene in a Mexican family with JLN long QT syndrome. This mutation produces an amino acid change (Gly-Arg) at protein level at the 168 residue. This mutation has been previously reported in Caucasian families with LQTS. (Arch Cardiol Mex 2006; 76: 257-262)

**Palabras clave:** Canales iónicos. Genes. Mutaciones. Síndrome de QT largo.  
**Key words:** Ionic channels. Genes. Mutations. Long-QT syndromes.

### Introducción

Los síndromes de QT largo congénitos (SQTL) son padecimientos hereditarios, genéticamente heterogéneos, que se caracterizan por alargamiento del intervalo QT, síncope, convulsiones y muerte súbita en individuos jóvenes y aparentemente sanos.<sup>1</sup> Entre los SQTL destaca, por su poca frecuencia y por acompañarse de sordera congénita, el descrito por Jervell y Lange-Nielsen<sup>2</sup> (JLN). Diversos estudios han demostrado que los SQTL se deben a mutaciones en los genes que codifican las proteínas de los canales iónicos transmembranales de sodio o de potasio. En la actualidad se han identificado mutaciones en por lo menos 6 genes en relación con los SQTL. Se han informado más de 200 casos con mutaciones en diferentes exones de los seis genes y varios de ellos son únicos en muchas familias.<sup>3,4</sup> Sin embargo, casi en 50% de los pacientes se han encontrado alteraciones en el gen KCNQ1 por lo que estas mutaciones son la causa más frecuente de SQTL. En el presente trabajo se analizó el gen KCNQ1 en una familia mexicana con síndrome de JLN con el fin de detectar mutaciones causantes de este padecimiento.

### Material y métodos

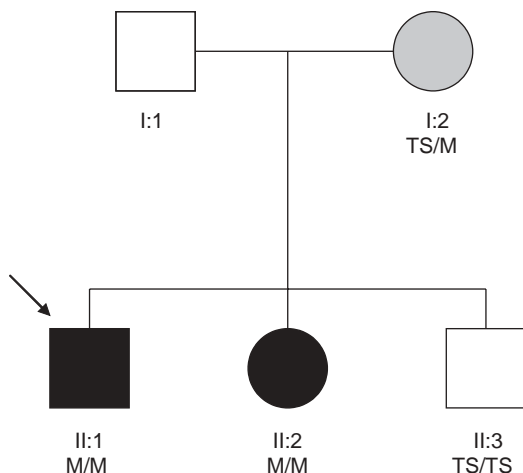
**Pacientes:** El estudio incluyó 2 generaciones de una familia mexicana cuyo árbol genealógico se muestra en la *Figura 1*. El síndrome JLN de la familia estudiada se identificó en una comunidad endogámica. Solamente se informa la familia nuclear. Había consanguinidad en los padres. Se recogieron los datos demográficos rutinarios y electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones en todos los sujetos. La caracterización fenotípica se hizo con medición del intervalo QT que

se corrigió para la frecuencia cardíaca con la fórmula de Bazett (QTc). El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética del instituto y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para los estudios de genética.

**Extracción del ADN:** El ADN genómico se extrajo de linfocitos de sangre periférica por el método de expulsión salina.<sup>5</sup>

**Análisis del gen KCNQ1 por PCR-SSCP (reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismo conformacional de una sola cadena):** Los exones del gen KCNQ1 fueron amplificados por la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) utilizando iniciadores específicos previamente reportados.<sup>6</sup> Las reacciones de PCR incluyeron 100 pmoles de cada iniciador, 50 mM KCL, 10 mM tris-HCL, 0.1% Triton X-100, concentraciones variables de MgCl<sub>2</sub> para la optimización de cada reacción, 200 µM de dATP, dTTP, dCTP, dGTP y 2.5 unidades de Taq polimerasa (Promega, Madison, WI) en 25 µL de volumen final. Las amplificaciones se hicieron en un termociclador Perkin Elmer modelo 9700 con las siguientes temperaturas: 94°C por 4 minutos seguidos de 34 ciclos de 94°C 20s, 67°C 20s y 72°C 40s para terminar con 7 minutos a 72°C. Cada fragmento amplificado fue corrido en geles de poliacrilamida no desnaturalizados con el fin de visualizar la formación de polimorfismos de cadena sencilla.

**Secuenciación de los conformeros mutados y normales:** Una vez realizada la PCR-SSCP se procedió a detectar aquellos conformeros que migraron diferente en el gel de poliacrilamida. Éstos fueron nuevamente amplificados con los iniciadores correspondientes y se procedió a realizar la secuenciación de cada uno de ellos. Una



**Fig. 1.** Árbol genealógico de la familia con síndrome de JLN. Los individuos con intervalos QT prolongados y sordera son indicados por un círculo y un cuadrado en negro. El individuo con intervalo QT prolongado sin sordera se indica por un círculo en gris. M: Mutación en la posición G502A (codón 168). TS: Secuencia tipo silvestre.

vez obtenidos los productos deseados amplificados por PCR, éstos fueron purificados utilizando un kit especializado para tal efecto (Wizard, Promega, Madison, USA). Los productos purificados fueron secuenciados con el kit "Dye terminator" (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). En la reacción de secuenciación se utilizaron los mismos iniciadores que para la PCR inicial. Finalmente se realizó la secuenciación automatizada de los productos de la PCR en un secuenciador de capilar Perkin Elmer tipo ABI 3100 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

**Análisis de las secuencias:** Las secuencias obtenidas fueron ordenadas y comparadas con aquellas previamente publicadas y con las que se encuentran en los bancos de secuencias.

## Resultados

**Caracterización clínica.** El caso índice (II:1) era un niño de seis años de edad que fue referido para la evaluación de síncope convulsivo recurrente. Tenía pérdida congénita de la audición y se había tratado como epiléptico hasta que se hizo el diagnóstico de SQT. Se colocó un marcapaso tras observar el fracaso del tratamiento con bloqueadores beta-adrenérgicos. El análisis clínico de la familia mostró que su hermana (II:2) también presentaba sordera. Por otra parte, los dos padres así como el hermano menor presentaron audición normal. La historia familiar reveló

la existencia de muerte súbita en tres familiares de primer grado a los 18, 6 y 4 años de edad. No se encontraron otros eventos con significación clínica en el resto de los familiares.

**ECG.** Las características de la repolarización ventricular fueron analizadas en los ECG de 12 derivaciones de todos los pacientes. En la *Figura 2* se pueden observar los trazos de las derivaciones II, aVF, V2 y V5 de todos los miembros de la familia. Los ECG de los dos niños con sordera y de la madre mostraron prolongación del intervalo QTc de 0.46 (II:1), 0.49 (II:2) y 0.48 (I:2) respectivamente. El hermano menor y el padre tenían intervalos QTc normales (0.43 y 0.40). En los afectados se encontró en V5 una onda T de base muy ancha con T de larga duración como la descrita en quienes tienen el gen anormal en el cromosoma 11.<sup>7,8</sup>

**Análisis de las mutaciones.** El análisis de SSCP reveló una conformación anormal en el exón 3 del gen KCNQ1 en los pacientes I:2, II:1, y II:2. Los fragmentos aberrantes de PCR fueron secuenciados y se encontró una mutación con cambio de sentido (posición G502A) en ese exón como se muestra en la *Figura 3*. Esta transición se asocia con cambio en el codón 168 (GGG a AGG) que produce un cambio en el aminoácido final (Gly-Arg). Este cambio de nucleótido se encontró como una forma homocigota en los dos individuos afectados (II:1 y II:2) con sordera y como heterocigota en la madre (I:2) que no sufría sordera. Sólo un sujeto era homocigoto tipo silvestre (II:3) el cual no estaba afectado. No fue posible hacer el análisis de la mutación en el padre. Esta mutación no se encontró en 50 sujetos controles sanos analizados.

## Discusión

Las arritmias hereditarias ventriculares del SQT son resultado de la mutación en genes que codifican canales iónicos. Las arritmias más frecuentes en pacientes con SQT son la taquicardia helicoidal ("torsades de pointes") y la fibrilación ventricular.<sup>1,9</sup> Los SQT se encuentran en dos formas clínicas, el síndrome JLN y el de Romano-Ward (RW). Últimamente se ha descrito una entidad clínica diferente, el síndrome de Andersen que se incluye en SQT y que se ha encontrado también en mexicanos.<sup>10</sup> El síndrome de JLN es una enfermedad con un patrón hereditario autonómico recesivo que se caracteriza por sordera congénita e intervalos QT más prolongados que el RW, además de que en el RW

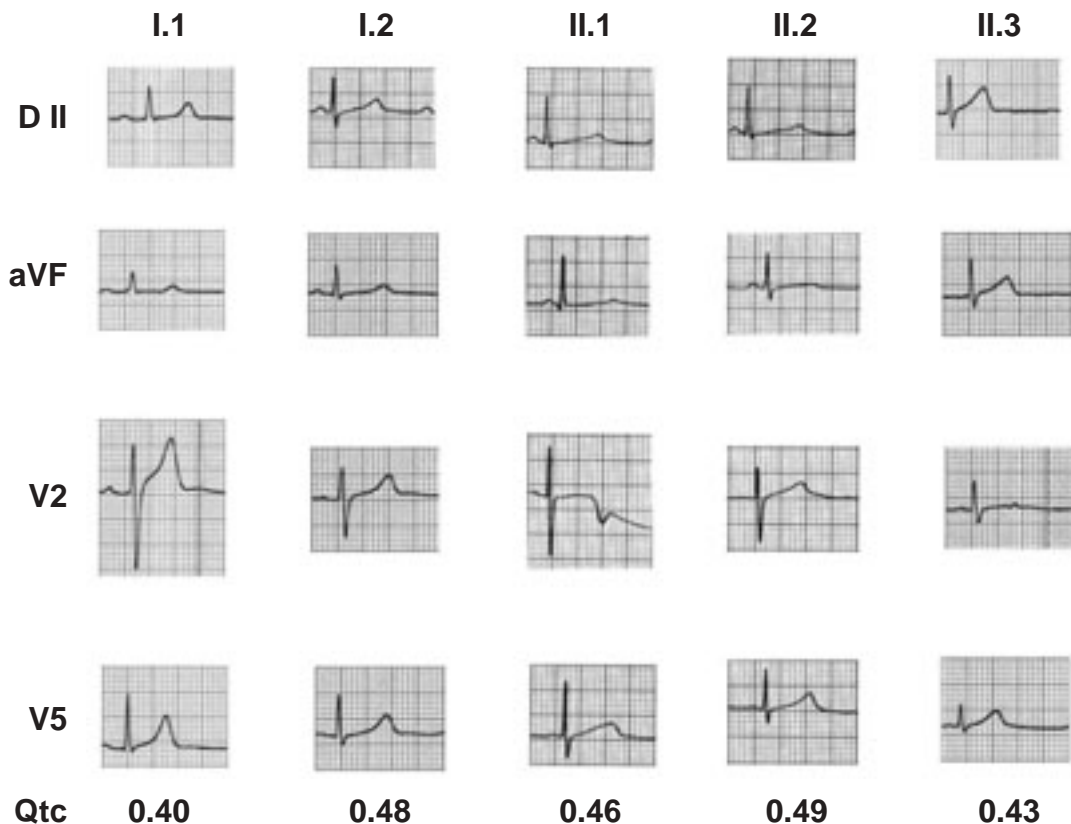


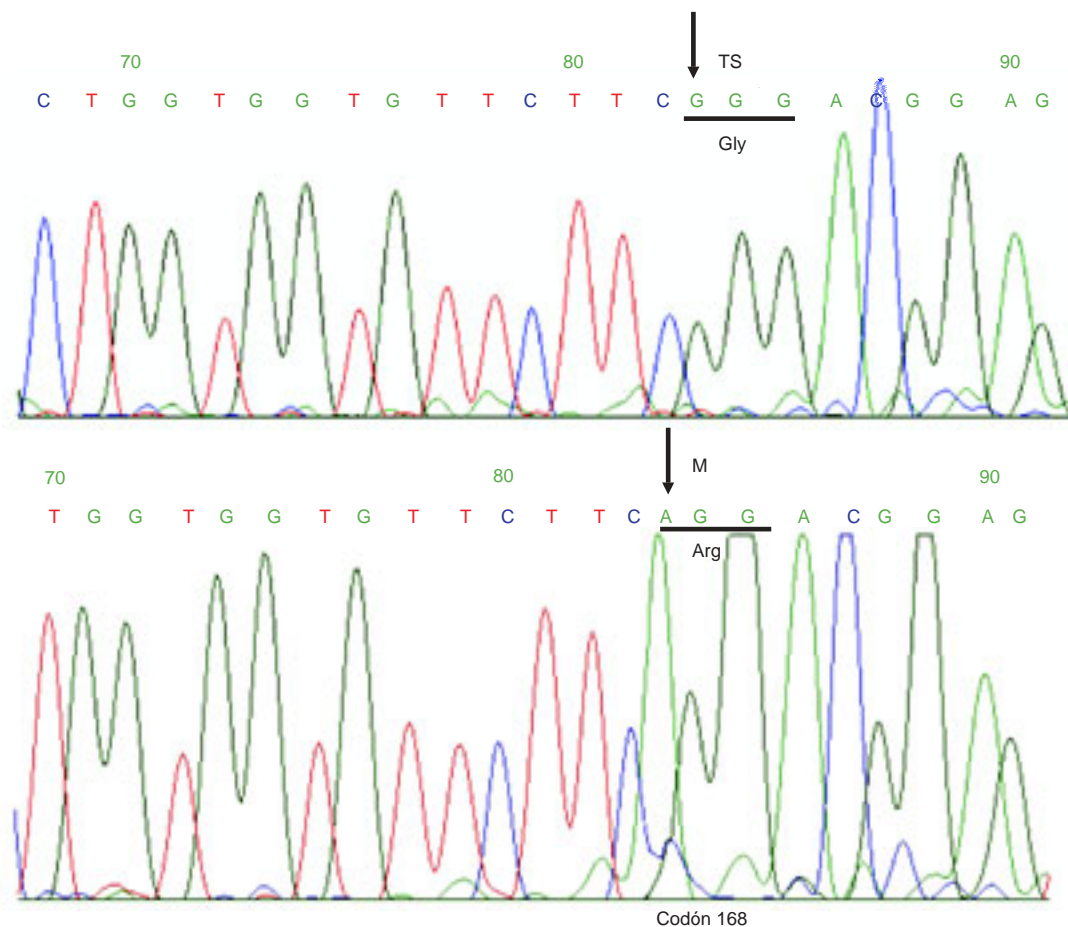
Fig. 2. ECG con los trazos de las derivaciones II, aVF, V2, y V5 de todos los miembros de la familia. Los intervalos QTc para cada individuo son indicados en la parte de debajo de la figura.

no hay sordera.<sup>11,12</sup> El gen afectado puede producir diferentes manifestaciones clínicas dependientes de las mutaciones específicas.

Hasta ahora se han encontrado por lo menos seis genes implicados en la génesis del SQT. El gene *KCNQ1* codifica a la proteína KvLQT1 que constituye la subunidad alfa del canal de rectificación lenta (IKs).<sup>13</sup> Las mutaciones en *KCNQ1* son los defectos genéticos con mayor prevalencia en los SQT. Se han descrito más de 70 mutaciones diferentes en este gen. Las mutaciones homocigotas de *KCNQ1* se asocian con el síndrome de JLN. Los defectos en *KCNQ1* disminuyen la corriente repolarizante IKs los que prolongan la duración del potencial de acción y del intervalo QT. La correlación entre genotipo y fenotipo ha demostrado que las mutaciones *KCNQ1* aumentan el riesgo de eventos cardíacos con el estrés físico o emocional. El uso de bloqueadores beta-adrenérgicos en pacientes con SQT1 se asocia con una recurrencia de 10% de eventos cardíacos.<sup>14</sup>

En el presente estudio se encontró que una familia mexicana tenía una mutación (G502A)

la cual se asocia con defecto en el segmento transmembranal S2 del canal cardíaco de potasio en el humano. Esta mutación produjo un cambio en aminoácidos (Gly-Arg) en el residuo proteico 168. En esta familia, tres miembros tienen intervalos QT prolongados (la madre y dos hermanos), sin embargo, solamente los dos hermanos homocigotos para la mutación tenían sordera congénita. Esto está de acuerdo con informes previos de prolongación del QT con y sin sordera en familias con JLN.<sup>15</sup> La mutación encontrada ha sido informada en familias caucásicas con SQT.<sup>3,16,17</sup> También está bien establecido que esta mutación tiene un efecto importante porque provoca la pérdida total de la función del canal.<sup>17</sup> Esta es la primera vez que se informa una mutación en una familia mexicana con SQT. Un intento de definir la mezcla genética en los mexicanos, el grupo étnico se ha caracterizado por medio de marcadores genéticos de varios cromosomas. Los resultados de estos estudios han demostrado 56% de genes indígenas



**Fig. 3.** Se muestra la secuencia tipo silvestre (TS) y la secuencia mutada (M). La secuencia M presenta una adenina (A) en lugar de la guanina (G) de la secuencia TS (el sitio de cambio se indica con una flecha). El codón 168 cambia de GGG (Gly) a AGG (Arg).

americanos, 46% de caucásicos y 4% de genes negros.<sup>18-20</sup> Por lo tanto la mutación detectada en una familia mexicana puede ser el resultado de la mezcla con sujetos de origen caucásico. El hecho de que esta mutación se ha descrito antes sugiere que pudiera encontrarse en diferentes poblaciones y pudiera en el futuro

ser importante para la metodología diagnóstica en estos enfermos. El conocimiento de otras mutaciones y su correlación con el fenotipo clínico podrían establecer un diagnóstico más correcto para estos trastornos en el futuro y prevenir la muerte súbita al encontrar marcadores predictivos de la enfermedad.

### Referencias

- VINCENT GM: *Long QT syndrome*. Cardiology Clinics 2000; 18: 309-325.
- JERVELL A, LANGE-NIELSEN F: *Congenital deaf-mutism. Functional heart decrease with prolongation of the QT interval and sudden death*. Am Heart J. 1957; 54: 59-68.
- HERBERT E, TRUSZ-GLUZA M, MORIC E, SMILOWSKA-DZIELICKA E, MAZUREK U, WILCZOK T: *KCNQ1 gene mutations and the respective genotype-phenotype correlations in the long QT syndrome*. Med Sci Monit 2002; 8: 240-248.
- SPLAWSKI I, SHEN J, TIMOTHY KW, LEHMANN MH, PRIORI S, ROBINSON JL, ET AL: *Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1 and KCNE2*. Circulation 2000; 102: 1178-1185.
- DAVIS RW, THOMAS M, CAMERON J, ST JOHN TP, PADGETT RA: *Rapid DNA isolation for enzymatic*

- and hybridization analysis.* Methods Enzymol 1980; 65: 404-411.
6. SPLAWSKI I, SHEN J, TIMOTHY KW, VINCENT GM, LEHMANN MH, KEATING MT: *Genomic structure of three long QT syndrome genes: KVLQT1, HERG and KCNE1.* Genomics 1998; 51: 86-97.
  7. MOSS AJ, ZAREBA W, BENHORIN J, LOCATI EH, HALL WJ, ROBINSON JL, ET AL: *ECG T-wave patterns in genetically distinct forms of the hereditary long QT syndrome.* Circulation 1995; 92: 2929-2934.
  8. HERMOSILLO AG: *El electrocardiograma en las canalopatías.* Arch Cardiol Mex. 2004; 74(suppl 1): 579-583.
  9. DUMAINE R, ANTZELEVITCH C: *Molecular mechanism underlying the long QT syndrome.* Curr Opin Cardiol. 2002; 17: 36-42.
  10. CANUN S, PÉREZ N, BEIRANA LG: *Andersen syndrome autosomal dominant in three generations.* Am J Med Genet 1999; 85: 147-156.
  11. ROBERTS R, BRUGADA R: *Genetics and arrhythmias.* Annu Rev Med 2003; 54: 257-267.
  12. VATTA M, LI H, TOWBIN JA: *Molecular biology of arrhythmic syndromes.* Curr Opin Cardiol 2000; 15: 12-22.
  13. FOZZARD HA: *Cardiac ion channels.* En: SPOONER PM, ROSEN MR: *Foundations of cardiac arrhythmias. Basic concepts and clinical approaches.* Marcel Dekker, Inc. New York 2001: 43-72.
  14. PRIORI SG, NAPOLITANO C, SCHWARTZ PJ, GRILLO M, BLOISE R, ET AL: *Association of long QT syndrome loci and cardiac events among patients treated with beta-blockers.* JAMA 2004; 292: 1341-1344.
  15. MATHEWS EC, BLOUNT AW, TOWNSEND JI: *Q-T prolongation and ventricular arrhythmias, with and without deafness, in the same family.* Am J Cardiol 1972; 29: 702-711.
  16. DONGER C, DENJOY I, BERTHET M, NEYROUD N, CRUAUD C, BENNACEUR M, ET AL: *KVLQT1 C-terminal missense mutation causes a forme fruste long-QT syndrome.* Circulation 1997; 96: 2778-2781.
  17. WESTENSKOW P, SPLAWSKI I, TIMOTHY KW, KEATING MT, SANGUINETTI MC: *Compound mutations. A common cause of severe long-QT syndrome.* Circulation 2004; 109: 1834-1841.
  18. LISKER R, PÉREZ-BRICEÑO R, GRANADOS J, BABINSKY V: *Gene frequencies and admixture estimates in a Mexican City population.* Am J Physical Anthropol 1986; 71: 203-207.
  19. LISKER R, PÉREZ-BRICEÑO R, GRANADOS J, BABINSKY V, DE RUBENS J, ARMENDARES S, ET AL: *Gene frequencies and admixture estimates in the State of Puebla, Mexico.* Am J Physical Anthropol 1987; 6: 331-335.
  20. LISKER R, RAMIREZ E, PÉREZ-BRICEÑO R, GRANADOS J, BABINSKY V: *Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican Urban Centers.* Hum Biology 1990; 62: 791-801.

