

На правах рукописи

Сабер Сиамак

**ИНТЕРВЕНЦИОННОЕ ЛЕЧЕНИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ
БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ БРУГАДА**

14.01.26 «Сердечно-сосудистая хирургия»

03.02.07 «Генетика»

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва
2015

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность темы. Наследственные заболевания, сопровождающиеся высоким риском внезапной сердечной смерти (ВСС), являются важной проблемой современной медицины [Сапельников О.В., 2011]. Около 4 - 12% случаев ВСС лиц молодого возраста приходится на долю синдрома Бругада (СБ) [Benito V., 2009]. Однако это заболевание было описано относительно недавно [Brugada P., 1992]. Поэтому распространённость и клинический полиморфизм заболевания, эффективность различных подходов к терапии, оценка риска ВСС, число генов, ответственных за заболевание и спектр мутаций в них всё ещё недостаточно изучены. У значительной части таких больных диагноз устанавливается поздно, после перенесенных эпизодов остановки сердца или посмертно, зачастую в семьях, в которых несколько кровных родственников уже погибли при сходных обстоятельствах. По данным Brugada P. (2005), около 20% больных асимптомны, при этом риск ВСС остаётся высоким.

СБ – клинико-электрокардиографический синдром, характеризующийся блокадой правой ножки пучка Гиса (БПНПГ), подъемом сегмента ST в отведениях V_1 - V_3 , синкопальными состояниями и высоким риском ВСС вследствие развития приступов полиморфной желудочковой тахикардии (ПЖТ). Заболевание наследуется по аутосомно-доминантному типу, что позволяет предположить высокую частоту синдрома среди кровных родственников пробанда. Однако выраженный клинический полиморфизм заболевания зачастую не позволяет точно выяснить статус членов семьи больного, что приводит к задержкам в постановке диагноза, хирургического лечения, а в ряде случаев – к накоплению случаев внезапной смерти в семье.

Единственным подходом к лечению и профилактике внезапной смерти у пациентов, страдающих СБ, в настоящее время является имплантация ИКД. Однако показания к имплантации, стратификация риска и предикторы ВСС,

диагностическая эффективность эндокардиального ЭФИ всё ещё остаются дискуссионными [Antzelevitch C., 2005; Benito V., 2009].

Имеются данные, что частота СБ в России составляет не менее 1/10000 [Дупляков и соавт., 2007], что позволяет предположить наличие не менее 15 тысяч больных с СБ в России. Существенная частота заболевания и потенциальная угроза ВСС делают изучение этой проблемы социально значимым.

Современные подходы к диагностике наследственных аритмий, оценке риска внезапной смерти, своевременное выявление лиц с высоким риском ВСС среди родственников пробанда и выработка тактики лечения в значительной степени базируются на информации о молекулярно-генетической природе заболевания [Sammargiva E., 2013].

Систематического исследования генетического разнообразия причин СБ, спектра мутаций, изучения корреляции генотип-фенотип не проводилось, что определяет актуальность настоящей работы.

Цель работы. Целью настоящей работы является анализ клинического полиморфизма, эффективности хирургического лечения, а также спектра мутаций в генах *SCN5A*, *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B*, *SCN4B*, *SNTA1* и *MOG1* у больных с СБ из России и Ирана.

Задачи исследования.

- 1) Изучить спектр клинических проявлений СБ и оценить их вклад в риск ВСС у пациентов с СБ.
- 2) Оценить эффективность хирургического лечения (имплантации кардиовертера-дефибриллятора) у больных с СБ.
- 3) Изучить спектр мутаций в генах *SCN5A*, *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B*, *SCN4B*, *SNTA1* и *MOG1* в исследуемой группе больных и предложить алгоритм ДНК-диагностики СБ.
- 4) Провести анализ корреляций между генетическими изменениями и клиническими особенностями у больных с выявленными мутациями.

5) Предложить оптимизированный алгоритм стратификации риска ВСС и уточнить показания к имплантации кардиовертера-дефибриллятора с учетом антропометрических, клинических и генетических данных.

Научная новизна исследования. Впервые проведён систематический анализ клинических проявлений на большой группе больных с редким наследственным нарушением ритма. Получены новые данные о клиническом полиморфизме СБ и предикторах ПЖТ. Изучен спектр мутаций в 7 генах у российских и иранских больных с СБ, ряд мутаций выявлен впервые. Впервые у больных с синдромом Бругада идентифицированы мутации в гене *SNTA1*. Проведен анализ клинических и электрокардиографических особенностей пациентов с идентифицированными мутациями и предложен алгоритм стратификации риска.

Практическая значимость работы. Создан регистр больных с СБ (клинические данные, семейные данные и биологический материал) и биобанк данных образцов, который может стать основой единого регистра. Обследованы 81 больной с СБ и члены их семей (225 человек), 59 из них проведено хирургическое лечение (имплантация кардиовертера-дефибриллятора). Уточнены подходы к оценке риска ВСС и показания к имплантации кардиовертера – дефибриллятора при этом заболевании.

Оценена диагностическая эффективность молекулярно-генетического исследования, основанного на определении мутаций в 7 генах, ответственных за синдром Бругада. Предложен алгоритм прямой ДНК-диагностики заболевания с учетом антропометрических и клинико-электрокардиографических данных.

Разработанные подходы к оценке результатов молекулярно-генетического исследования могут быть использованы в практической работе специализированных кардиологических и кардиохирургических центров и

отделений, при медико-генетическом консультировании, а также в образовательной деятельности кафедр профессионального образования врачей.

Внедрение результатов исследования. Результаты работы внедрены в клиническую практику отделения хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции и лаборатории медицинской генетики ФГБНУ «РНЦХ им. академика Б.В. Петровского», а также в образовательную деятельность кафедры сердечно-сосудистой хирургии №1 им. академика Б.В. Петровского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Апробация работы. Результаты научно-исследовательской работы доложены на 6-м всероссийском конгрессе «Клиническая электрокардиология» и 14-м Конгрессе Российского общества холтеровского мониторирования и неинвазивной электрофизиологии (РОХМиНЭ) в 2013 г. (Иркутск, Россия); пятом (V) Всероссийском съезде аритмологов в 2013 г. (Москва, Россия); Международной конференции “Наследственные каналопатии” в 2013 г. (Москва, Россия); Denis Escande симпозиуме в 2013 г. (Амстердам, Нидерланды); ежегодной конференции Европейского общества генетики человека (ESHG) в 2014 г. (Милан, Италия).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 3 научные статьи в рецензируемых научных журналах, из них 2 – в изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 143 страницах машинописного текста и содержит 32 таблицы, 49 рисунков; библиографический указатель включает 114 работ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

Общая характеристика обследованной группы больных. Исследование было проведено в соответствии с протоколом, утвержденным Этическим комитетом Первого Московского Государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, и с нормами Хельсинской декларации. Первый обратившийся член семьи с диагнозом СБ здесь и далее называется «пробанд». Его кровные родственники здесь и далее называются «родственники пробанда». В исследование вошли клинические, инструментальные, молекулярно-генетические данные 31 российских и 50 иранских неродственных семей, в которых хотя бы одному больному был поставлен диагноз «синдром Бругада» согласно принятым диагностическим критериям. Таким образом, в обследованную группу вошли 81 пробанд и 144 их родственника. Среди пробандов было 9 женщин (средний возраст: 41 ± 10 лет), 72 мужчины (средний возраст: 37 ± 13 лет), среди родственников 81 больной с СБ и 38 клинически здоровых лиц. Среди больных с СБ соотношение полов составило М: Ж $\approx 7:1$.

Материалы и методы.

Клиническое и инструментальное обследование.

А) Общий осмотр и биохимический анализ крови.

Б) Электро-кардиографическое обследование: разовые ЭКГ, 24-часовое холтеровское мониторирование ЭКГ, трансторакальная эхокардиография (ЭхоКГ), эндокардиальное электрофизиологическое исследование (ЭФИ) (по показаниям).

Фармакологические нагрузочные пробы. Фармакологические нагрузочные пробы проводились согласно стандартному протоколу обследования больных с подозрением на СБ. Использовались следующие антиаритмические препараты класса Ia и Ic: новокаинамид (прокаинамид) в дозе 10 мг/кг или флекаинид в дозе 2 мг/кг. Эффективность нагрузочной пробы оценивалась при помощи 12-канальной ЭКГ до появления Бругада-паттерна или каждые 10 минут до 30

минуты после введения препарата. Параллельно проводился мониторинг артериального давления.

Медико-генетическое консультирование. Медико-генетическое консультирование включало сбор и анализ родословных, объяснение семьям целей ДНК-диагностики, получение письменного информированного согласия на проведение генетического тестирования от каждого обследуемого члена семьи, объяснение членам семей особенностей аутосомно-доминантного типа наследования и риска передачи заболевания.

Молекулярно-генетическое исследование.

- Выделение ДНК из крови.
- ПЦР - амплификация исследуемых фрагментов ДНК.
- Для избирательной амплификации кодирующих последовательностей и прилегающих интронных областей генов *SCN5A*, *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B*, *SCN4B*, *SNTA1*, *MOG1* и *KCNH2* был проведен дизайн оригинальных олигопраймеров.
- Анализ последовательности амплифицированных фрагментов проводился методом прямого двунаправленного секвенирования по Сенгеру.
- Биоинформатические методы. Анализ полученных данных производился с помощью открытых Интернет-ресурсов: NCBI, Inherited Arrhythmias Database, Exome Variant Server, Net Gene2 Server, POLYPHEN-2, SIFT, Restriction Mapper V3.
- Определены частоты выявленных генетических изменений в контрольной группе из 100 здоровых лиц (неродственных добровольцев) той же этнической принадлежности.

Имплантация кардиовертера-дефибриллятора. Процедура имплантации кардиовертера-дефибриллятора включала пять последовательных этапов: подготовительный (пункция подключичной вены, формирование ложа для ИКД), имплантация электрода (или электродов), имплантация кардиовертера-

дефибриллятора, заключительный хирургический этап, внутрисердечное ЭФИ (электрофизиологическое исследование сердца).

После имплантации кардиовертера-дефибриллятора для подтверждения эффективности функционирования устройства используется индуцированная фибрилляция желудочков с последующими тестовыми электрическими разрядами (тест на определение порога дефибрилляции, DFT-Test).

Методы статистического анализа результатов исследования. Для статистического анализа полученных результатов использовался программный пакет SPSS-18. Все показатели представлены в виде среднего \pm одно стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). При оценке значимости различий между двумя группами количественных показателей применяли критерий Стьюдента или дисперсионный анализ. При сравнении более двух исследуемых групп применяли однофакторный дисперсионный анализ. Для сравнения двух групп по качественным признакам использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса или критерий Z. Для всех тестов различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Учитывая, что критерий Стьюдента не может служить показателем диагностической эффективности теста, так как на его величину оказывает влияние величина исследуемой выборки, то при оценке результатов применения диагностического критерия определяли операционные характеристики теста, позволяющие оценить вероятность ошибок I (ложноположительные) и II (ложноотрицательные) типов. Процедура Каплана-Мейера использовалась при оценке выживаемости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

1. Анализ клинического полиморфизма синдрома Бругада. Нами были обследованы 31 российская и 50 иранских неродственных семей с СБ, которые включали 81 пробандов и 144 родственников. Среди родственников у 88 человек (61%) был установлен клинический диагноз СБ, а 56 были клинически здоровы. В группе больных соотношение больных по полу (М: Ж) составило 7:1. Наши результаты согласуются с распределением больных по полу в других

странах. Природа "неравновесия" по полу в настоящее время недостаточно изучена. В нашей группе средний возраст постановки диагноза СБ составил 38 ± 13 лет, минимальный возраст 2 года, максимальный 67 лет. Проведено сравнение особенностей проявления заболевания у больных разного пола (Табл. 1).

Таблица 1

Клиническая характеристика пробандов

Клиническая характеристика	Пол, число пробандов		Достоверность значения p
	М, 72	Ж, 9	
Возраст, лет	37 ± 13	41 ± 10	$p > 0.05$
Семейный анамнез ВСС	38	7	$p > 0.05$
Синкопе	36	5	$p > 0.05$
Реанимация после ВСС	10	2	$p > 0.05$
Суправентрикулярная аритмия	8	2	$p > 0.05$
Интервал PR (мс)	181 ± 25	168 ± 29	$p > 0.05$
Интервал QTc (мс)	402 ± 62	392 ± 40	$p > 0.05$
Бругада-паттерн 1-го типа на ЭКГ	31	4	$p > 0.05$
Имплантации кардиовертера – дефибриллятора	57	3	$p > 0.05$
ЖТ/ФЖ или мотивированные разряды ИКД	32	4	$p > 0.05$

Ни по одному из изученных параметров достоверных отличий между мужчинами и женщинами выявлено не было. Мы полагаем, что если СБ проявляется у женщин, его течение не имеет гендерных особенностей. Однако небольшое число женщин в группе больных ($n=9$) может быть фактором, ограничивающим статистическую мощность исследования.

Наиболее частыми анамнестическими феноменами были случаи ВСС в семье (56%), обмороки (51%) и боли в грудной клетке без связи с физической нагрузкой (45%).

В обследованной группе больных наблюдались следующие кардиографические феномены: спонтанный Бругада-паттерн типа 1 был выявлен у 35 пробандов (43%), Бругада-паттерн 2 типа на ЭКГ был выявлен у 46 пробандов (57%). Проанализирована частота, характер нарушений

проводимости и сердечного ритма у больных с СБ. Хотя головокружение не было ранее описано как частый симптом при СБ, но в обследованной группе больных 17.9% пациентов указывают эту жалобу.

Мы считаем целесообразным при обследовании больных, жалующихся на головокружение, проводить ЭКГ скрининг для исключения СБ.

Суправентрикулярная аритмия (фибрилляция предсердий) и/или синдром слабости синусового узла могут быть первыми проявлениями СБ или сопровождать его классические электрокардиографические проявления.

Частота и характер нарушений проводимости и сердечного ритма у больных с СБ представлены на рис. 1.

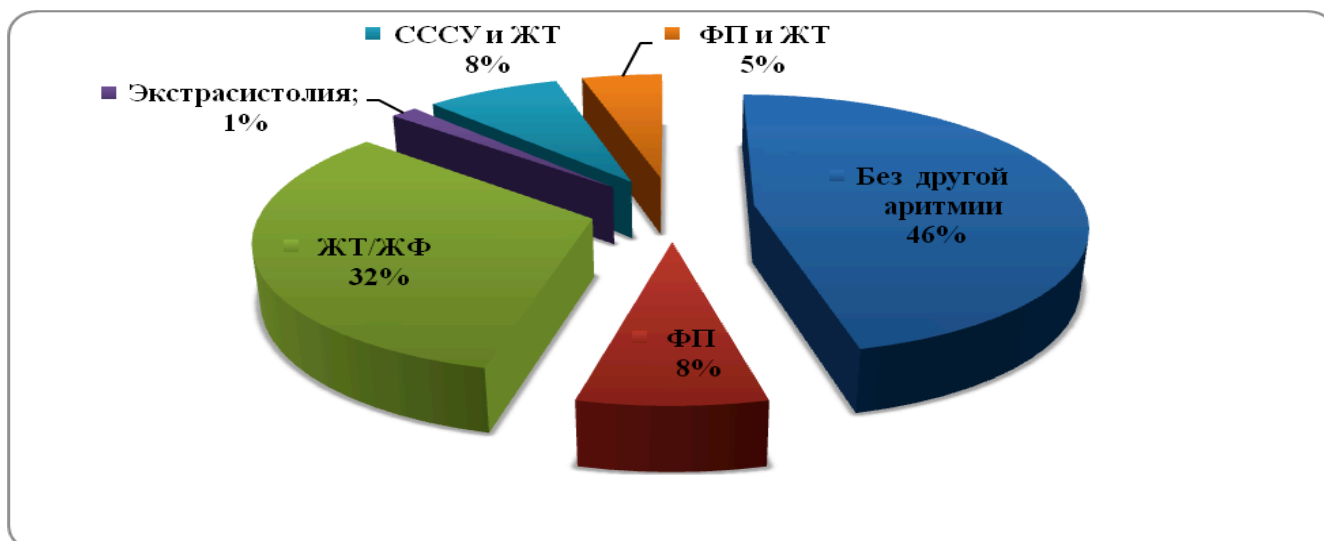


Рис. 1. Спектр нарушений ритма у больных с СБ.

Суправентрикулярные аритмии и СССУ в нашем исследовании были выявлены у 20% пациентов. Такая же частота наджелудочковых нарушений ритма наблюдалась в исследовании [Bordachar P., 2004]. Одним из главных факторов риска ВСС при СБ являются желудочковые аритмии. Известно, что даже единственный эпизод ЖТ/ФЖ может закончиться летально. В группе обследованных больных у 45% были выявлены желудочковые аритмии.

Мы считаем, что «таргетными» группами, в которых могут быть выявлены недиагностированные случаи СБ, являются не только больные с нарушениями сердечного ритма, но и пациенты с диагнозами неврологических заболеваний.

СБ следует иметь в виду при обследовании пациентов обмороками неясной этиологии, эпилепсией, резистентной к терапии, семейными формами нарушений ритма.

2. Молекулярно-генетический анализ группы больных с синдромом Бругада.

2.1 Поиск мутаций в генах *SCN5A*, *SNTA1*, *MOG1*, *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B* и *SCN4B*.

Частота выявления мутаций в гене *SCN5A* у пробандов с СБ составила 16 пробандов (20%). Десять из 16 (62.5%) мутаций были новыми, впервые выявленными в рамках настоящей работы (Табл. 2).

Таблица 2

Мутации, выявленные в гене *SCN5A* у пробандов с СБ (n=81)

	Нуклеотидная замена	Изменение белка	Экзон/Инtron	Область белка	Функциональный эффект	Ссылки
1	c.260A>G	p.Y87C	2	N-terminal	Не изучено	Новая
2	c.1657G>T	p.E553*	12	DI-DII	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедоста-точность)	Новая
3	c.2204C>T	p.A735V	14	DII-S1	Снижение натриевого тока I_{Na} в фазы 1 ПД	Vetta et al.2002; Kapplinger et al. 2010
4	c.2332C>T	p.Q778*	15	DII-S2/S3	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедоста-точность)	Новая
5	c.2542-2544del	p.I848del	16	DII-S5	Не изучено	Новая
6	c.2677G>A	p.R893H	16	DII-S5/S6	Снижение натриевого тока I_{Na} в фазы 1 ПД	Kapplinger et al. 2010
7	IVS16S-5A>G	Нарушение сплайсинга	IVS16	DII-S6	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедоста-точность)	Новая
8	c.3577C>G	p.R1193W	20	DII-DIII	Не изучено	Новая
9	c.3946C>T	p.R1316*	22	DIII/S4-S5	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедоста-точность)	Catalano et al, 2009
10	IVS24S+1 G>A	Нарушение сплайсинга	IVS24	DIII/S5-S6	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедоста-точность)	Новая

11	c.4302T>G	p.Y1434*	25	DIII/S5-S6	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедоста-точность)	Kapplinger et al, 2010
12	c. 4511-4519del	p.KPQ (1505-1507) del	26	DIII-DIV	Ускоренная инактивация	Wang et al 1995; Splawski et al, 2000; Tester et al, 2005; Postema et al 2010
13	c.4516C>T	p.P1506S	26	DIII-DIV	Ускоренная инактивация	Новая
14	c.5129C>T	p.S1710L	28	DIV/S5-S6	Ускоренная инактивация	Akai et al, 2000; Shirai, 2002
15	c.5360G>A	p.S1787N	28	c-terminal	Не изучено	Новая
16	c.5755C>T	p.R1929C	28	c-terminal	Не изучено	Новая

Новые мутации анализировали *in silico* (с помощью программного обеспечения PolyPhen-2, SIFT).

Все пробанды, у которых выявлялись мутации, были мужского пола. Таким образом, частота определения мутаций составила 22% у пробандов - мужчин. Ни у одной из 9 женщин - пробандов мутаций в гене *SCN5A* не наблюдалось. Таким образом, женский пол является негативным предсказательным признаком выявления мутаций в гене *SCN5A*.

В каждой семье определялась уникальная мутация, ответственная за заболевание. Даже те генетические изменения, о которых сообщалось в литературе ранее, не встретились в более чем в одной семье. Таким образом, у больных с СБ в России и Иране нет частых мутаций. Нам также не удалось выявить закономерностей в распределении мутаций в гене *SCN5A*. Как видно из рис. 2, мутации относительно равномерно распределены по гену.

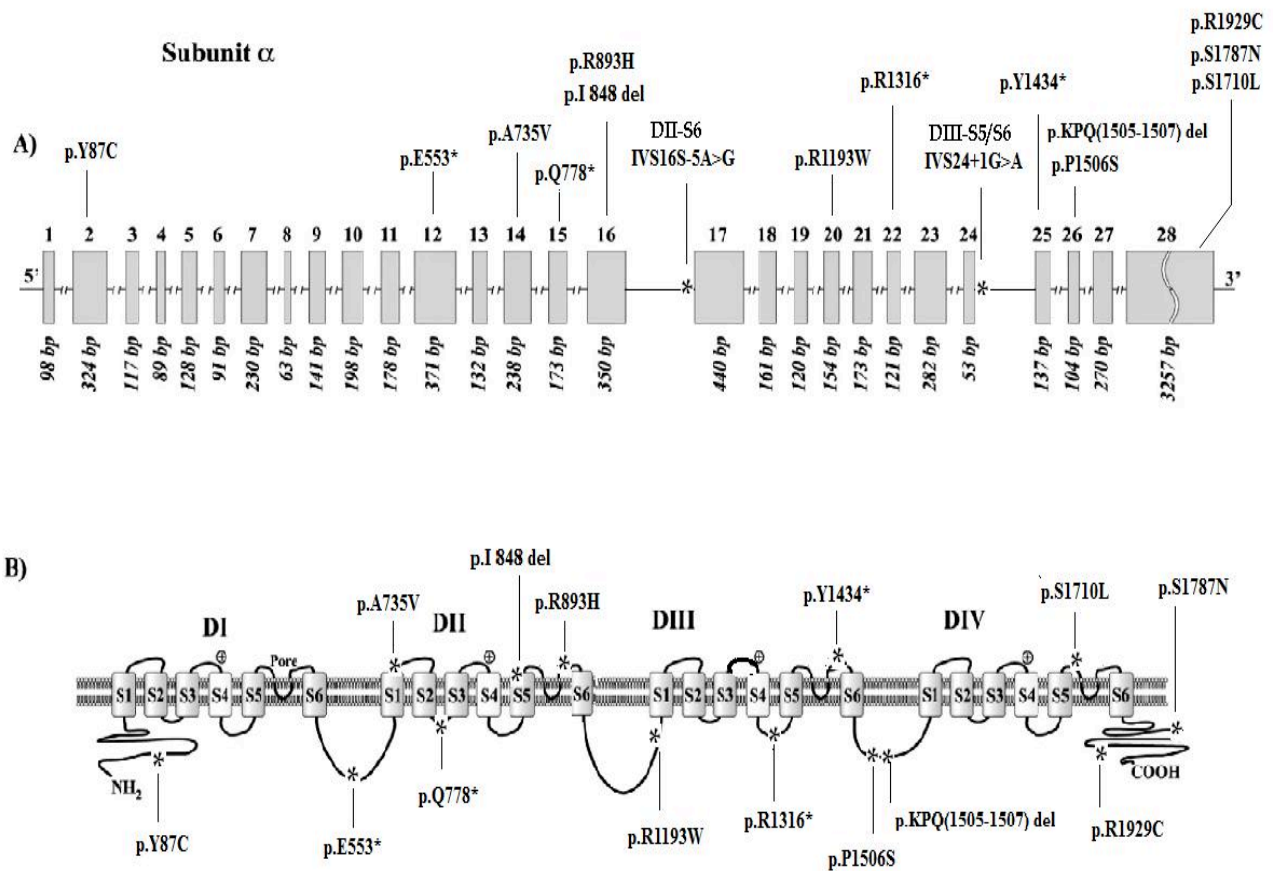


Рис. 2: (А) Схема структуры гена *SCN5A*; (Б) кодируемого им белка Nav1.5 с указанием локализации мутаций, выявленных в настоящей работе.

Таким образом, в основе подтверждающей ДНК-диагностики СБ 1 типа, может лежать только прямое секвенирование всей кодирующей последовательности и прилегающих регуляторных участков гена *SCN5A*. Мы проанализировали мутации, выявленные в гене *SCN5A*. Половина замен представляют собой нонсенс-мутации, делеции и мутация сайта сплайсинга. Вторая половина представлена миссенс-мутациями, в результате которых в первичной последовательности белка происходит замена одной аминокислоты на другую (Табл. 3).

Таблица. 3

Типы мутаций, выявленных в гене *SCN5A*

Тип мутации	Число мутаций/Доля	База данных (http://triad.fsm.it/cardmoc/)
Миссенс	8 (50%)	67%
Нонсенс	4 (25%)	11%
Делеции	2 (12.5%)	12%
Мутация сайта сплайсинга	2 (12.5%)	7%
Дупликация	0	2%
Инсерция	0	1%

В гене *SNTA1* были выявлены 3 замены в 4 неродственных семьях (Табл. 4). Соотношение полов носителей мутаций в гене *SNTA1* было 1: 1 (М: Ж), что соответствует ожидаемому при аутосомно-доминантном заболевании. Частота мутации в гене *SNTA1* у пациентов с СБ составила 2.4%. В нашей группе у пациентов с СБ только миссенс-мутации в гене *SNTA1*.

Таблица.4

Замены, выявленные в гене *SNTA1*.

№	Нуклеотидная замена	Замена белка	Пол	Вероятная значимость	Область белка	Частота аллеля в группе больных с СБ	Частота аллеля в контрольной группе
1	с. 317 G>A	p.R106Q	М	Полиморфизм	PDZ-домен	2/162 (0.01%)	1/200
2	с. 317G>A	p.R106Q	Ж		PDZ-домен	2/162 (0.01%)	1/200
3	с.784A>C	p.T262P	М	VUCS* (предположительно патогенный)	PH1-домен	1/162 (0.006%)	0/200
4	с.869G>A	p.G290E	Ж	Мутация	Между PH1 и PH2	1/162 (0.006%)	0/200

*VUCS (Variant of Unknown Clinical significance) (вариант с неизвестным клиническим значением)

На основании полученных данных был сделан вывод о возможной роли гена *SNTA1* как нового гена-кандидата при СБ, особенно у женщин-пробандов.

В группе больных в генах *MOG1*, *SCN2B*, *SCN3B* и *SCN4B* не было выявлено генетических изменений. По полученным данным, диагностическая

эффективность анализа генов *MOG1*, *SCN1B*, *SCN3B* и *SCN4B* очень низкая: мутаций в этих генах в нашей выборке пациентов обнаружено не было. Таким образом, мы не рекомендуем анализ генов *MOG1*, *SCN1B*, *SCN3B* и *SCN4B* в качестве первого этапа генетической диагностики у российских и иранских пациентов с СБ.

2.2. Дополнительные генетические находки в группе больных с синдромом Бругада.

В одной из семей было выявлено нарушение сегрегации мутации с СБ, что потребовало проведения дополнительных исследований. В семье №46 было проведено исследование методом полупроводникового секвенирования на платформе PGM IonTorrent (Life technology, USA), так как при проведении каскадного клинического генетического скрининга семьи был выявлен пациент с клиническими симптомами СБ, не являющийся носителем мутации в гене *SCN5A*. У пациента (III.9) отмечены признаки СБ на ЭКГ и синкопальные состояния в анамнезе, но мутация в гене *SCN5A* не обнаружена (миссенс мутация p.P1506S была найдена в этой семье). Его отец (II.5) в 54 года умер внезапно после трёх синкопальных атак. Одним из возможных объяснений отсутствия сегрегации мутации с заболеванием может быть наличие в семье независимой формы СБ, обусловленной мутациями в другом гене. У больного с СБ без мутаций в гене *SCN5A* (III.9) была выявлена миссенс-мутация (p.R25W) в гене *KCNH2* – изоформе С (*heg-b*). Затем было выполнено тестирование членов семьи на мутацию p.R25W в гене *heg-b*. В результате данная мутация была обнаружена у следующих членов семьи: II.3, II.5, III.3, III.6, III.7 и III.8 (Рис. 3).

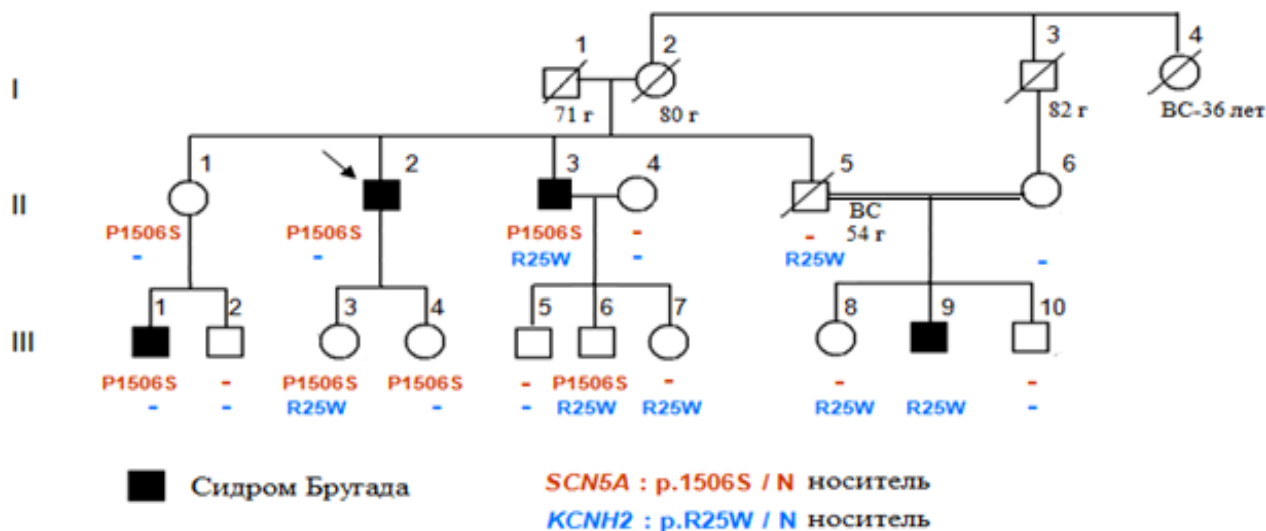


Рис. 3. Родословная семьи №46 и из трех поколений (I-II-III), пробанд указан стрелкой.

3. Хирургическое лечение синдрома Бругада.

В рамках настоящей работы с целью решения вопроса об имплантации кардиовертера–дефибриллятора были обследованы 81 пробанд с СБ, 88 больных родственников и 56 клинически здоровых родственников. Было проведено 69 нагрузочных тестов по протоколу (флекаинид - 2 мг/кг или прокаинамид- внутривенно, 10мг/10мин). У 9 пациентов (23%) результаты нагрузочных тестов были отрицательными, однако после внутривенного введения прокаинамида (10мг/10мин) все 9 человек показали положительный результат проб. По данным нашего исследования, рекомендуется использовать препарат прокаинамида (10мг/10мин). В нашей группе во время эндокардиального ЭФИ, ФЖ или ПЖТ были индуцированы у 3 из 6 пробандов с СБ (прогностическая ценность составила 66%). В опубликованных ранее исследованиях, прогностическая ценность положительного ЭФИ оценена как невысокая в отношении ЖТ/ФЖ/ВСС [Brugada P., 2003, Giustetto C., 2009].

В течение 3 лет у пациентов с ИКД было зафиксировано 19/59 мотивированных разрядов (33%). В таблице 5 показаны результаты по срабатыванию ИКД у больных с мутациями в гене *SCN5A*. В 52% из них (10/19) регистрировались в течение первых двух лет. Не было обнаружено корреляции

между мутацией в гене *SCN5A* и срабатыванием ИКД ($p < 0.06$) у мотивированные разряды.

Таблица 5

Срабатывания ИКД у носителей мутаций в гене *SCN5A*

Срабатывания ИКД	Больные с имплантированным устройством	
	<i>SCN5A</i> +	<i>SCN5A</i> –
немотивированные разряды	6 (37%)	5 (7%)
мотивированные разряды	8 (15%)	11 (17%)

По результатам обследования хирургическое лечение было предложено 66 (81%) пробандам. 59 пациентам была проведена имплантации кардиовертера – дефибриллятора, 7 пациентов отказались от хирургического лечения. 4 пробанда умерло во время динамического наблюдения (30 месяцев), все из них отказались имплантировать ИКД. Динамическое наблюдение было рекомендовано 15 пробандам. В соответствии с полученными результатами в течение 30 месяцев, по оценке Каплана Мейера у пациентов с СБ после проведенной имплантации ИКД, эффективность профилактики составляет ($p < 0.02$) (Рис. 4).

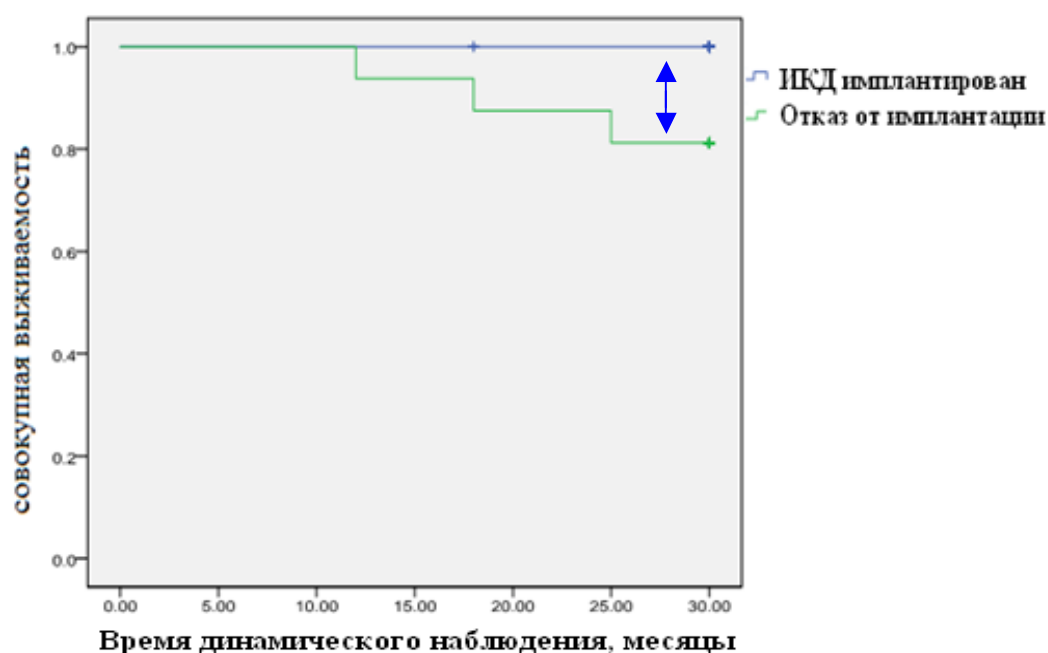


Рис. 4. Результаты хирургического лечения больных по оценке Каплана Мейера (Анализ выживаемости) ($p < 0.02$).

Таким образом, можно утверждать, что имплантация ИКД является эффективной профилактикой ВСС у больных с синдромом Бругада.

4. Анализ гено-фенотипических корреляции

Корреляции не было обнаружено между мутацией в гене *SCN5A* и наджелудочковыми аритмиями, желудочковой аритмией, эпизодами реанимации после внезапной смерти у больного и мотивированными разрядами. Корреляции не выявлено между наличием мутаций в гене *SCN5A* и длительностью QTc интервала у пациентов с СБ. В то же время, установлена достоверная корреляция между наличием мутаций в *SCN5A* и с семейным анамнезом ВСС до 45 лет, а также с синкопальными состояниями. Также было установлено наличие корреляции между мутациями в *SCN5A* и следующими электрокардиографическими признаками: спонтанный Бругада-паттерн 1 типа ($p < 0.001$) и удлинённый интервал PR ($p < 0.001$).

Найдена значимая корреляция между типом мутации и жизнеугрожающими симптомами. Прогноз при наличии нонсенс-мутации, делеций и мутаций сайтов сплайсинга оказался серьезней, чем при наличии миссенс-мутации ($p < 0.05$). Прогностическая ценность положительного результата составила 89% в оценке риска ВСС, для нонсенс-мутаций и мутаций со сдвигом рамки считывания. Эти замены реализуются по механизму гаплонедостаточности и приводят к снижению плотности нормальных субъединиц натриевого канала на мембране кардиомиоцитов. Однако для повышения статистической достоверности данного вывода необходима его верификация на больших группах больных.

По нашим результатам, выявление мутаций в гене *SCN5A* является более чувствительным предиктором риска ВСС, чем индукция ЖТ/ФЖ при ЭФИ. В нашем алгоритме мы предлагаем использовать результаты ДНК-диагностики вместо ЭФИ, а также учитывать тип мутаций в гене *SCN5A* (рис. 5).

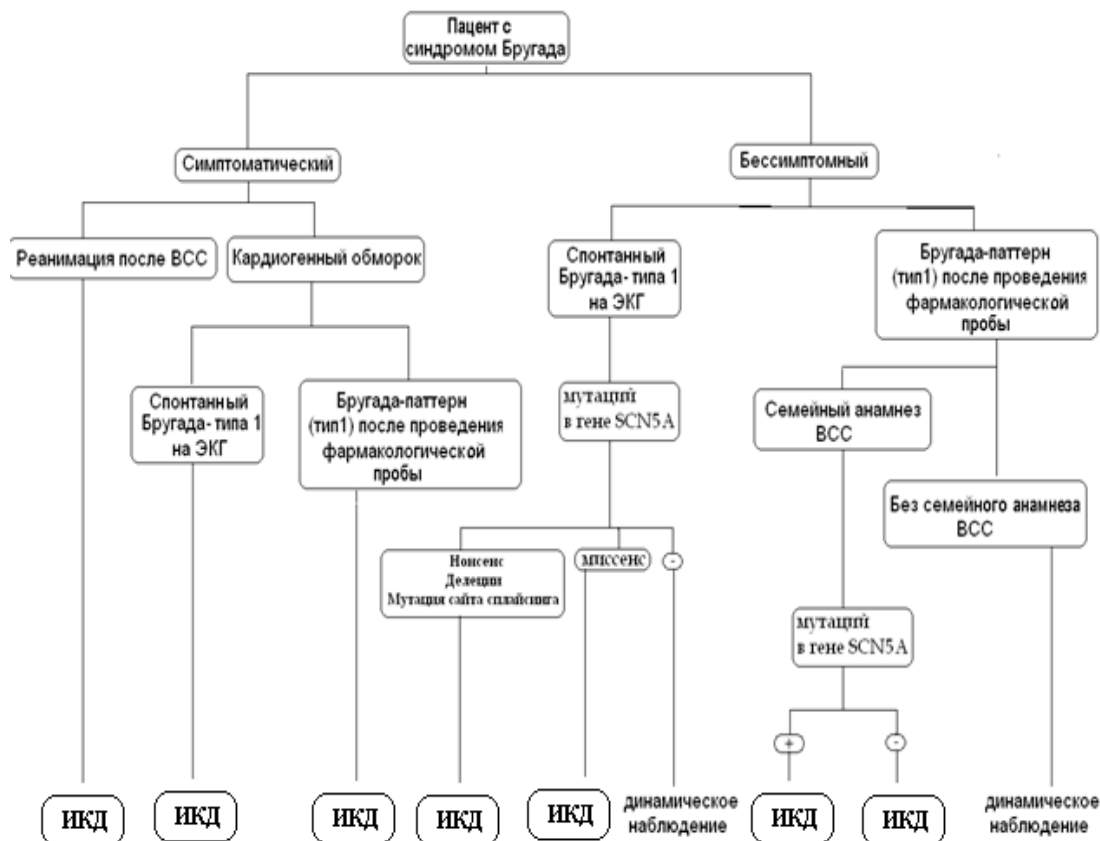


Рис. 5. Модифицированный алгоритм принятия решения об имплантации кардиовертера дефибриллятора.

Не было обнаружено корреляции между мутацией в гене *SNTA1* и отягощенным по внезапной смерти до 45 лет семейным анамнезом, наджелудочковыми (суправентрикулярными) аритмиями, желудочковой аритмией, синкопальными эпизодами, реанимацией после внезапной смерти у больного. Не было обнаружено корреляции между наличием мутации в гене *SNTA1* и длительностью интервала QTc, а также между наличием мутаций в гене *SNTA1* и длительностью интервала PR у пациентов с СБ.

В нашей выборке частота мутаций в гене *SNTA1* у женщин составила 11%, и только 1% - у мужчин. Пациенты с мутацией *SNTA1* имеют умеренные признаки, в то время как у пациентов с мутациями в гене *SCN5A* симптомы, как правило, более выражены.

В нашей выборке мутации в гене *KCNH2* были обнаружены у 2 пробандов и членов их семей. У носителей мутации в гене *KCNH2* средняя

продолжительность интервалов QTc и PR составила 380 ± 2 мс и 165 ± 15 мс, соответственно. Больные с мутациями в гене *KCNH2* чрезвычайно редки, но имеются публикации [Seiko Ohno, 2011], согласующиеся с нашими находками, о том, что QTc интервал у пациентов с мутациями в гене *KCNH2* короче, чем у больных с мутаций в гене *SCN5A* (Табл. 6).

Таблице 6

QTc интервала и интервал PR анализ у больных с мутациями в генах *SCN5A* и *KCNH2*

		Число больных	Интервал QTc (мс)	Интервал PR(мс)
Мутации в гене	<i>SCN5A</i> +	35	423 ± 43	207 ± 24
	<i>KCNH2</i> +	8	380 ± 2	165 ± 15
Без мутаций		39	397 ± 24	175 ± 21

Таким образом, согласно нашему исследованию при проведении ДНК - диагностики необходимо учитывать пол пациента и длительность интервала QTc и интервала PR.

В соответствии с полученными результатами определения корреляции генотип-фенотип в нашей группе, мы предлагаем следующий алгоритм ДНК-диагностики у пациентов с СБ (Рис. 6).

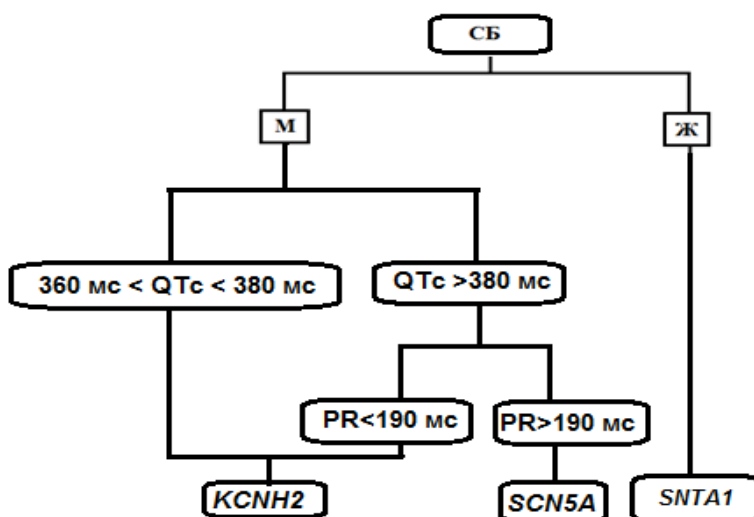


Рис. 6. Алгоритм ДНК диагностики у пациентов с СБ

ВЫВОДЫ

1. Синдром Бругада в обследованной группе был диагностирован преимущественно у мужчин (М:Ж=7:1). Однако выраженность симптомов и риск ВСС от пола не зависят. Средний возраст постановки диагноза - 38 ± 13 лет, что выше среднего возраста ВСС среди не имевших диагноза родственников (35 ± 7 лет).
2. Самыми частыми анамнестическими и клиническими признаками синдрома Бругада являются случаи ВСС среди родственников (56%); синкопальные состояния, не связанные с физической нагрузкой (51%); желудочковые НРС (45%). Частым клиническим симптомом СБ являются головокружения (17%).
3. Частота выявления мутаций в гене *SCN5A* у пробандов составила 19.7%; среди пробандов-мужчин 22.2%; среди пробандов-женщин - 0. Десять из 16 (62.5%) выявленных мутаций были идентифицированы впервые.
4. Ген *SNTA1* – новый ген, ответственный за СБ. Частота выявления мутаций в гене *SNTA1* у пробандов составила 2.5%; среди пробандов-мужчин 1.4%; среди пробандов-женщин - 11.1%.
5. Прокаиамид (10мг/10мин в/в) является более эффективным препаратом для выявления латентного течения синдрома Бругада, чем флекаинид (400 мг, per os). Ни положительные, ни отрицательные результаты эндокардиального ЭФИ не являются достаточно надежными в прогнозировании ЖТ/ФЖ и оценке риска ВСС.
6. Имплантация кардиовертера-дефибриллятора является надежным способом профилактики ВСС. Частота нелетальных осложнений имплантации составила 3.2%. В течение 30 месяцев после имплантации частота мотивированных шоков составила 27%, летальность – 0. В группе больных, отказавшихся от ИКД, летальность составила 57% за тот же период наблюдения.

7. Женский пол пробанда является негативным прогностическим фактором для выявления мутаций в гене *SCN5A*.

8. Выявление мутаций, реализующихся по механизму гаплонедостаточности (нонсенс-мутации, мутации сплайсинга, делеции/инсерции со сдвигом рамки считывания) является фактором плохого прогноза и должно учитываться в алгоритме принятия решения об имплантации кардиовертера-дефибриллятора.

9. Стратегия ДНК-диагностики должна учитывать электрокардиографические параметры. Удлинение интервала PR > 190 мс более характерно для больных с мутациями в гене *SCN5A*; укорочение интервала QTc < 380 мс характерно для больных с мутациями в гене *KCNH2*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

Пациентам, страдающим головокружениями неясного генеза, рекомендуется проведение ЭКГ-скрининга с целью исключения СБ и/или других первичных аритмий.

Предложен оптимизированный алгоритм принятия решений об имплантации кардиовертера-дефибриллятора у больных с СБ, учитывающий результаты молекулярно-генетических исследований.

Предложен алгоритм ДНК-диагностики у пациентов с СБ, который может использоваться для оптимизации стратегии ДНК-диагностики.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1) Сабер С., Houshmand M., Eftekharzadeh M., Samiei Nasab M.R., Fazelifar A.F., Haghjoo M., Заклязьминская Е.В., Гавриленко А.В.; Клинический полиморфизм и подходы к лечению нарушений ритма сердца в семье с делецией KРQ1505-1507 в гене *SCN5A*; Вестник Российской академии медицинских наук журнал; 2014, № 5-6, с.52-60

2) Сабер С., Fazelifar A. F., Haghjoo M., Emkanjoo Z., Alizadeh A., Shojaifard M., Dalili M., Houshmand M., Гавриленко А. В., Заклязьминская Е. В.;

Клинический полиморфизм и тактика лечения в большой семье с синдромом Бругада Российский Кардиологический журнал; 2014 № 5, с.66-71

3) Bukaeva A., Polyak M., Glazova O., Saber S., Zaklyazminskaya E.V., Allelic drop-out in large Iranian Brugada syndrome family revealed by new generation sequencing, ESHG (European Society Human Genetic conference); Milan, Italy- 31May - 3Jun, 2014, с.227

4) Заплязьминская Е. В., Чапуриных А.В, Воронина Т.С., Ван Е.Ю., Шестак А.Г., Сабер. С., Дземешкевич С.Л.; Дилатационная кардиомиопатия, вызываемая мутацией р.Е446К в гене *SCN5A*; Кардиология 2014 №3, с.92-96

5) Сабер С., Fazelifar A.F., Haghjoo M., Emkanjoo Z., Houshmand M., Heidaribekavoli A., Гавриленко А.В, Заплязьминская. Е.В.; клинические особенности пациентов с синдромом Бругада, вызванном мутациями в гене *SCN5A*.; 6-Й всероссийский конгресс «Клиническая электрокардиология» и 14-Й Конгресс Российского общества холтеровского мониторинга и неинвазивной электрофизиологии (РОХМиНЭ) Иркутск – Россия, 11-12 Сентября 2013г., с.46

6) Saber S., Houshmand M, Fazelifar A.F, Haghjoo M, Emkanjoo Z, Eftekhazadeh M, Heidari Bakavoli A, Gavrilenko A.V, Zaklyazminskaya E.V.; Screening of NaV1.5-related genes in Iranian Brugada Syndrome patients; Denis Escande Symposium - Amsterdam University, 30 -31 August 2013, с.71

7) Поляк М.Е, Saber S., Лебедева Ю.А, Букаева А.А, Abriel H., Заплязьминская Е. В.; Редкие генетические варианты в генах *SNTA1* и *SNTG2* у российских пациентов с сердечными каналопатиями; Бюллетень ФЦСКЭ им.В.А. Алмазова (VIII Международной научно-практической конференции, Внезапная смерть: от оценки риска к профилактике) 13-15 сентября 2012, с.19

8) Holst AG, Saber S., Houshmand M, Zaklyazminskaya EV, Wang Y, Jensen HK, Refsgaard L, Haunsø S, Svendsen JH, Olesen MS, Tfelt-Hansen J.; Sodium current and potassium transient outward current genes in Brugada syndrome: screening and bioinformatics. Can J Cardiol. 2012 Mar-Apr, с. 196-200

9) Saber S; Banihashemi K; Houshmand M; Fazelifar AF; Haghjoo M; Emkanjoo Z; Alizadeh A; Zaklyazminskaya EV; New *SCN5A* genetic variant in Iranian patient with Brugada syndrome; Conference of the World Society of Arrhythmias Athens, December 2011, Pacing and Clinical Electrophysiology journal Volume 34, Issue 11, с.1332

10) Saber S; Banihashemi K; Houshmand M; Fazelifar AF; Haghjoo M; Emkanjoo Z; Alizadeh A; Eftekharzadeh. M; Zaklyazminskaya EV.; Correlation between PR-interval duration and *SCN5A* mutations in Iranian patients with Brugada syndrome, 14th congress of International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology (ISHNE 2011), с.5

Список сокращений

СБ: Синдром Бругада

ВСС: Внезапная сердечная смерть

БПНПГ: Блокада правой ножки пучка Гиса

ЖТ/ФЖ: Желудочковая тахикардия /Фибрилляция желудочков

ИКД: Имплантируемый кардиовертер-дефибриллятор

ПЖТ: Полиморфная желудочковая тахикардия

ПЦР: Полимеразная Цепная Реакция

ЭФИ: Электрофизиологического исследования