

**Рубрика: неинвазивная аритмология**

© Л.А. БОКЕРИЯ, И.В. ПРОНИЧЕВА, С.Ю. СЕРГУЛАДЗЕ, Б.И. КВАША, Е.С. КОТАНОВА, 2018

© АННАЛЫ АРИТМОЛОГИИ, 2018

УДК 616.124-008.318:575.224.2

DOI: 10.15275/annaritmol.2018.1.5

**СИНДРОМ БРУГАДА И ПЕРЕКРЕСТНЫЕ СИНДРОМЫ СЕРДЕЧНОЙ НАТРИЕВОЙ КАНАЛОПАТИИ: РАЗЛИЧНЫЕ МАСКИ МУТАЦИЙ ГЕНА SCN5A***Тип статьи: оригинальная статья**Л.А. Бокерия, И.В. Проничева, С.Ю. Сергуладзе, Б.И. Кваша, Е.С. Котанова*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» (директор – академик РАН и РАМН Л.А. Бокерия) Минздрава России, Рублевское ш., 135, Москва, 121552, Российская Федерация

Бокерия Лео Антонович, доктор мед. наук, профессор, академик РАН и РАМН, директор Центра;  
Проничева Ирина Владимировна, канд. мед. наук, кардиолог, E-mail: Irene\_Pr@mail.ru;  
Сергуладзе Сергей Юрьевич, доктор мед. наук, ст. науч. сотр., зам. заведующего отделением;  
Кваша Борис Игоревич, канд. мед. наук, мл. науч. сотр.;  
Котанова Евгения Савовна, канд. мед. наук, науч. сотр.

**Цель.** Изучить спектр клинических проявлений у пациентов с сердечной натриевой каналопатией и провести сравнительный анализ результатов фенотипирования и генотипирования с целью определения взаимосвязи функционального эффекта мутации гена SCN5A и развития синдрома Бругада, а также установить отличия в функциональных эффектах, которые могут обуславливать развитие перекрестного синдрома (если они имеются).

**Материал и методы.** Изучен фенотипический профиль 14 неродственных пробандов (10 мужчин, средний возраст  $35,6 \pm 19,2$  года) с генетически подтвержденным синдромом Бругада. Обследованы отвечающие критериям исследования семьи 3 пробандов ( $n=18$ ), которые представили вариабельность фенотипа среди 11 носителей мутаций гена SCN5A.

**Результаты.** Шесть (43%) пробандов демонстрировали изолированный синдром Бругада. Восемь (57%) пробандов, помимо фенотипа синдрома Бругада, показали различные клинические проявления: дисфункцию синусно-предсердного узла – 6 (43%), нарушения сердечной проводимости – 6 (43%), предсердные аритмии – 4 (29%), из них 3 (21%) – фибрилляцию предсердий, а также единичное увеличение интервала Q–T до 520 мс. Фенотипический скрининг всех 25 генотип-позитивных пациентов выявил у 9 (36%) дисфункцию синусно-предсердного узла, у 9 (36%) – предсердные аритмии и у 17 (68%) – аномалии предсердно-желудочковой и внутрижелудочковой проводимости, включая полную (6) или неполную (10) блокаду правой ножки пучка Гиса, блокаду ветвей левой ножки пучка Гиса (1), блокаду правой ножки пучка Гиса плюс гемиблок (2) и атриовентрикулярную блокаду (10). Наконец, у 3 (12%) неродственных членов семей ведущим клиническим фенотипом были нарушения проводимости и синдром слабости синусного узла в отсутствие жизнеугрожающих желудочковых аритмий, что привело к имплантации электрокардиостимулятора, тогда как у 18 (72%) носителей имплантирован кардиовертер-дефибриллятор.

**Заключение.** Было обнаружено значительное фенотипическое перекрытие между синдромом Бругада, дефектами проводимости и синдромом слабости синусного узла у пациентов, несущих мутации с потерей функции гена натриевого канала SCN5A. Возможно, что фенотипическое многообразие обуславливается взаимодействием многих факторов, таких как возраст, пол, а также другие модифицирующие гены и белки. Углубленное обследование и дальнейший генетический скрининг пациентов и членов их семей важны для стратификации жизнеугрожающих желудочковых аритмий и дифференциации дефектов проводимости, поскольку и первые, и вторые способны привести к внезапной сердечной смерти.

**Ключевые слова:** синдром Бругада; дефекты проводимости; синдром слабости синусного узла; перекрестный синдром; генотипирование; мутации с потерей функции.

## BRUGADA SYNDROME AND CARDIAC SODIUM CHANNELOPATHY OVERLAP SYNDROMES: DIFFERENT FACES OF SCN5A MUTATIONS

L.A. Bockeria, I.V. Pronicheva, S.Yu. Serguladze, B.I. Kvasha, E.S. Kotanova

Bakoulev National Medical and Research Center for Cardiovascular Surgery, Rublevskoe shosse, 135, Moscow, 121552, Russian Federation

Leo A. Bockeria, Dr. Med. Sc., Professor, Academician of RAS and RAMS, Director;

Irena V. Pronicheva, Cand. Med. Sc., Cardiologist, E-mail: Irene\_Pr@mail.ru;

Sergey Yu. Serguladze, Dr. Med. Sc., Senior Researcher, Deputy Head of Department;

Boris I. Kvasha, Cand. Med. Sc., Junior Researcher;

Evgeniya S. Kotanova, Cand. Med. Sc., Researcher

**Objective.** To study the spectrum of clinical manifestations for patients with cardiac sodium channelopathy and to perform the comparative analysis of the results of phenotyping and genotyping in order to determine the relationship between the functional effect of SCN5A gene mutation and the development of Brugada syndrome, and also to establish the differences in functional effects that may cause development of overlap syndrome (if exist).

**Material and methods.** The phenotypic profile of 14 unrelated probands (10 males, mean age  $35.6 \pm 19.2$  years) with genetically confirmed Brugada syndrome was studied. Three families met the study criteria and presented phenotype variability among 11 carriers.

**Results.** Six (43%) probands demonstrated isolated Brugada syndrome. Eight (57%) probands, in addition to the phenotype of the Brugada syndrome, exhibited distinct clinical manifestations: sinus-atrial node dysfunction – 6 (43%), cardiac conduction defect – 6 (43%), atrial arrhythmias – 4 (29%), 3 (21%) of them – atrial fibrillation, as well as a single 520 ms increase in the Q–Tc interval. Phenotypic screening of all 25 genotype-positive patients revealed the sinus-atrial node dysfunction in 9 (36%) cases, atrial arrhythmias in 9 (36%) cases and anomalies of atrioventricular and intraventricular conduction in 17 (68%) cases, including a complete (6) or incomplete (10) right bundle branch block, left bundle branch block (1), right bundle branch block plus hemiblock (2), and atrioventricular block (10). Finally, for 3 (12%) unrelated family members, the main clinical phenotype was conduction defect and sinus node disease in the absence of life-threatening ventricular arrhythmias, which led to pacemaker implantation, while for 18 (72%) carriers cardioverter-defibrillators were implanted.

**Conclusions.** A significant phenotypic overlap was found between Brugada syndrome, conduction defects and sinus node weakness syndrome in patients carrying loss-of-function mutation of the cardiac SCN5A sodium channel gene. It is possible that phenotypic diversity could interact with many factors such as age, sex, and other modifying genes and proteins. In-depth examination and further genetic screening of patients and family members are important for risk stratification of life-threatening ventricular arrhythmias and differentiation of conduction defects, for both are capable of leading to sudden cardiac death.

**Keywords:** Brugada syndrome; conduction defect; sinus node disease; overlap syndrome; genetic screening; loss-of-function mutations.

### Введение

Ген SCN5A кодирует синтез сердечной  $\alpha$ -субъединицы потенциал-зависимого натриевого канала Nav1.5, через который осуществляется быстрый деполярирующий натриевый ток (INa). Также этот канал обеспечивает поздний входящий натриевый ток (INaL), влияющий на реполяризацию и рефрактерность. Мутации гена SCN5A, которые увеличивают поздний ток INaL (gain of function – усиление функции), вызывают синдром удлиненного интервала Q–T, тип 3 (LQTS3) [1], а мутации, которые уменьшают пиковый компонент INa (loss of function – потеря функции), ведут к нескольким различным фенотипам, включая синдром Бругада [2], синдром слабости синусового узла (СССУ) [3, 4] и нарушения сердечной проводимости [5], кото-

рые могут быть прогрессирующими по своей природе (болезнь Леви–Ленегра) [6].

Хотя эти различные аритмические синдромы первоначально считались отдельными нозологиями, последние данные указывают на большее совпадение клинических проявлений и биофизических дефектов, ассоциированных с мутациями в гене натриевого канала, чем это оценивалось ранее.

Описаны отдельные мутации гена SCN5A, индуцирующие сложный фенотип заболевания, включающий брадикардию, дефекты проводимости, LQTS3 и синдром Бругада. Например, мутация 1795insD приводит к СССУ, нарушениям проводимости, синдрому Бругада и LQTS3 [7]. Удаление лизина (delK1500) в линкере DIV SCN5A отображается вариабельностью фенотипа с признаками LQTS3, синдрома Бругада

и болезни Ленегра [8]. Замена глицина на аргинин (G1406R в оригинальной публикации, G1408R в настоящей нумерации) в регионе DIII-S5/S6 вызывает синдром Бругада и нарушения проводимости [9], а замена глутаминовой кислоты лизином (E161K) в области DI-S2 к этим двум нарушениям добавляет CCCU [4]. Отмечено сочетание признаков синдрома Бругада с CCCU и фибрилляцией предсердий (ФП) [10]. Клинические признаки LQTS3 и нарушения проводимости описаны у пациентов с мутацией delKRPQ1505-1507, расположенной рядом с делецией delK1500 [11]. Дополнительные доказательства наличия перекрещивания фенотипов мутаций сердечного натриевого канала были получены из наблюдения S.G. Priori et al., когда блокаторы натриевых каналов, позволяющие обнажить маску синдрома Бругада в случае скрытого течения болезни, индуцировали подъем сегмента ST в правых грудных отведениях не только при синдроме Бругада, но также у пациентов с LQTS3 [12].

Эти данные указывают на интригующее клиническое и генетическое перекрытие между названными аритмическими синдромами, ранее считавшимися отдельными, самостоятельными заболеваниями, известное как перекрестный (overlap) синдром. Механизмы, с помощью которых один и тот же или подобный биофизический фенотип потери функции (loss of function) может вызывать несколько различных клинических фенотипов, таких как дефекты сердечной проводимости, CCCU и синдром Бругада, до конца не изучены. Проведение границы между такими разными электрофизиологическими сущностями является сложной, но необходимой задачей, позволяющей принять решение о типе имплантируемого устройства. Необходимо отметить, что наибольший риск развития желудочковой тахикардии (ЖТ), фибрилляции желудочков (ФЖ) и внезапной сердечной смерти (ВСС) имеют пациенты с синдромом Бругада, которые должны быть лучше защищены посредством имплантации кардиовертера-дефибриллятора (КД) [13], в отличие от больных с дефектами проводимости, нуждающихся в имплантации электрокардиостимулятора (ЭКС).

Предполагается, что множественные биофизические дефекты одиночных мутаций SCN5A, а также эпигенетические и генетические модифицирующие факторы могут лежать в основе многих случаев перекрывающихся клинических проявлений. Изучение семей с множественными

ми фенотипами может дать дополнительную информацию.

Мы представляем клинические наблюдения о мутациях SCN5A, часть которых связана с перекрестным синдромом натриевого канала, обсуждаем функциональные эффекты мутаций и тактику лечения в каждом случае. Цель исследования: изучить спектр клинических проявлений у пациентов с сердечной натриевой каналопатией и провести сравнительный анализ результатов фенотипирования и генотипирования с целью определения взаимосвязи функционального эффекта мутации гена SCN5A с развитием синдрома Бругада, а также установить отличия в функциональных эффектах, которые могут обуславливать развитие перекрестного синдрома (если они имеются).

## Материал исследования

Исследование включало 14 неродственных пробандов (10 (71%) мужчин, средний возраст  $35,6 \pm 19,2$  года) с генетически подтвержденным синдромом Бругада. Три семьи, насчитывающие 18 доступных кровных родственников, также вошли в исследование, условием чего была идентификация у пробанда мутации SCN5A и наличие как минимум двух членов семьи, несущих мутацию. В этих трех семьях выявлено 11 носителей. Клинический диагноз синдрома Бругада у пробандов был установлен согласно критериям, указанным в рекомендациях Европейского общества кардиологов [14]. У лиц с установленным диагнозом проводилось генетическое тестирование. Идентификация пробанда инициировала клиническую оценку членов семьи при возможности. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (Хельсинки, Финляндия, 1964 г.), пересмотренной в Эдинбурге (Шотландия) в 2000 г., и одобрено локальным этическим комитетом Центра им. А.Н. Бакулева. Письменное информированное согласие было получено от всех пациентов.

## Методы исследования

### Фенотипический скрининг

Был изучен спектр клинических проявлений когорты носителей мутаций гена SCN5A, включая симптомы (синкопе, документированная ЖТ или ФЖ, личная и семейная история ВСС), записи стандартной 12-канальной электрокардиограммы (ЭКГ) и других методов длительного мониторинга ЭКГ, результа-

ты провокационного теста с введением антиаритмических препаратов IA класса (прокаинамид в дозе 10 мг/кг в течение 10 мин). Структурная патология сердца и другие возможные сердечные заболевания были исключены эхокардиографией, магнитно-резонансной томографией сердца и коронарной ангиографией. Имплантация КД была выполнена в соответствии с международными рекомендациями на момент процедуры.

### Электрофизиологическое исследование

Электрофизиологическое исследование (ЭФИ) включало измерение интервалов проводимости и программируемую электрокардиостимуляцию (ПЭС) верхушки и выводного тракта правого желудочка с нанесением одного, двух или максимум трех экстрасимулов с тремя основными циклами стимуляции (600–500 и 400 мс), самый короткий интервал сцепления экстрасимулов был ограничен 200 мс. Результаты ПЭС считались положительными при индукции устойчивой мономорфной ЖТ, определяемой продолжительностью в 430 с, или в случае гемодинамической необходимости ее прекращения. Протокол стимуляции прерывался при индукции ФЖ или устойчивой (более 30 с) либо синкопальной полиморфной ЖТ.

### Молекулярно-генетическое исследование

Геномная ДНК была выделена из образцов цельной крови с использованием стандартных методов. Амплификацию всех исследуемых фрагментов ДНК проводили методом стандартной полимеразной цепной реакции на программируемом термоциклере MC2 фирмы «ДНК-технология» (Россия) с помощью термостабильной ДНК-полимеразы Biotaq («БиоМастер», Россия) и на термоциклере T100™ (BioRad Laboratories, США) с использованием ДНК-полимеразы Phusion HF (New England Biolabs, США). Для избирательной амплификации кодирующей последовательности и прилегающих интронных областей гена SCN5A был проведен синтез олигонуклеотидов ДНК на приборе ABI 3900 (Applied Biosystems, США). Определение нуклеотидной последовательности амплифицированного фрагмента ДНК как с прямого, так и с обратного праймера осуществляли методом прямого секвенирования по Сэнгеру на двух платформах: ABI Prism 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) и MiSeq (Illumina, США).

Использовали программное обеспечение Primer Express 3.0.

### Биоинформатические методы

Выявленные варианты идентифицировались по базам данных NHLBI Exome Sequencing Project (ESP) версии ESP6500SI-V2<sup>1</sup>; 3-й фазе проекта «1000 геномов»<sup>2</sup>; Exome Aggregation Consortium (ExAC) версии v.0.3<sup>3</sup>; Ensembl<sup>4</sup>; Human Gene Mutation Database (HGMD)<sup>5</sup>; GAD Genetic Associated Database<sup>6</sup>; базе данных нуклеотидных последовательностей GenBank<sup>7</sup>; базе данных однонуклеотидных полиморфизмов dbSNP<sup>8</sup>. Для прогнозирования возможных последствий, впервые выявленных изменений нуклеотидной последовательности были использованы интернет-ресурсы: SIFT<sup>9</sup>, Polyphen2<sup>10</sup>, MutationTaster<sup>11</sup> и GERP UCSC Genome Browser<sup>12</sup>.

### Результаты

Клинико-генетическая, электрокардиографическая и электрофизиологическая характеристики обследованных пробандов с синдромом Бругада представлены в таблицах 1 и 2.

Выявлено 7 (50%) миссенс-мутаций, в их числе 4 известных (R376H, R878C, G1319V и G1743R) и 3 новых (F919S, L1217R и T1783S). Другая половина замен представляла собой редкие генетические варианты: 2 нонсенс-мутации – 1 известную (Q1118X) и 1 новую (E1574X), 3 делеции – 2 известные (1493delK и E1823HfsX10) и 1 новую (I1762TfsX25), а также 2 мутации сплайсинга (IVS16DS-5A>G и IVS24AS+1G>A) в гетерозиготном состоянии, которые впервые были описаны сотрудниками Центра им. А.Н. Бакулева и Медико-генетического научного центра (рис. 1) [15]. Насколько нам известно, о 7 (50%) впервые выявленных (*de novo*) и, вероятно, патогенных вариантах ранее не сообщалось. Варианты отсутствовали

<sup>1</sup> <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>

<sup>2</sup> <http://www.1000genomes.org/>

<sup>3</sup> <http://exac.broadinstitute.org/>

<sup>4</sup> <http://www.ensembl.org/index.html>

<sup>5</sup> <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>

<sup>6</sup> <http://geneticassociationdb.nih.gov>

<sup>7</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/index.html>

<sup>8</sup> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>

<sup>9</sup> <http://sift.bii.aster.edu.sg/>

<sup>10</sup> <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>

<sup>11</sup> <http://www.mutationtaster.org>

<sup>12</sup> <http://genome.ucsc.edu/>

Таблица 1

## Клинико-генетическая характеристика обследованных пробаандов с синдромом Бругада

№ про-банды	Экзон	Нуклеотидная замена	Мутация	Локали-зация в Nav1.5	Тип мутации / Функциональный эффект	Возраст, лет / Пол	Син-копе	Фенотип	Личная история КС с СЛР	Семей-ная история ВСС
1	9	c.1127G>A	p.R376H	D1-S5/S6	Миссенс / Снижение натриевого тока INa в фазу I ПД	42/М	Нет	СБ, ФП, ЖТ, АВБ (II), НБПНПГ	Нет	Да
2	16	c.2632C>T	p.R878C	D11-S5/S6	Миссенс / Снижение натриевого тока INa в фазу I ПД	54/М	Да	СБ, СССУ, ПБПНПГ	Нет	Нет
3	16	c.2756T>C	p.F919S*	D11-S6	Миссенс / Не изучено	21/Ж	Да	СБ, НБПНПГ	Нет	Нет
4	Интрон 16	IVS16DS-5A>G*	Нарушение сплайсинга	D11-S6	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедостаточность)	25/М	Да	СБ, ЖТ, НБПНПГ	Нет	Да
5	18	c.3352C>T	p.Q1118X	D11S6-D11S1	Нонсенс / Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедостаточность)	28/М	Да	СБ, ЖТ/ФЖ	Да	Нет
6	20	c.3650T>G	p.L1217R*	D11-S1	Миссенс / Не изучено	49/Ж	Нет	СБ, СССУ, ФП, АВБ (II), ПБПНПГ, LQTS	Нет	Нет
7	22	c.3956G>T	p.G1319V	D11-S4/S5	Миссенс / Снижение натриевого тока INa в фазу I ПД	39/М	Да	СБ, ЖТ/ФЖ, АВБ (I), НБПНПГ	Да	Да
8	Интрон 24	IVS24AS+1G>A*	Нарушение сплайсинга	D11-S5/S6	Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедостаточность)	39/М	Да	СБ, ЖТ/ФЖ, НБПНПГ	Да	Да
9	26	4477_4479delAAG	p.1493delK	D11-DIV	Делеция внутри рамки считывания / Ускоренная инактивация	26/М	Да	СБ, СССУ, АВБ (II), НБПНПГ	Нет	Да (СВДС в семье)
10	27	c.4720G>T	p.E1574X*	DIV-S2	Нонсенс/Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедостаточность)	27/М	Да	СБ	Нет	Нет
11	28	c.5227G>A	G1743R	DIV-S5/S6	Миссенс / Нет тока INa; дефекты графика + ускоренная медленная инактивация (после восстановления экспрессии мексилетиним)	38/М	Да	СБ, ЖТ/ФЖ	Да	Да
12	28	c.5285delT	p. I1762TfsX25*	DIV-S6	Делеция со сдвигом рамки считывания / Не изучено	17/Ж	Да	СБ, ЖТ/ФЖ, СССУ АВБ (I), ФП	Да	Нет
13	28	c.5348C>G	T1783S*	C-терми-нальный	Миссенс / Не изучено	24/Ж	Да	СБ, СССУ, НЖТ	Нет	Нет
14	28	c.5464_5467delTCTG	p. E1823HfsX10	C-терми-нальный	Делеция со сдвигом рамки считывания / Снижение плотности субъединиц Nav1.5 (гаплонедостаточность)	31/М	Да	СБ, ЖТ, СССУ, АВБ (II), ПБПНПГ	Нет	Да (СВДС в семье)

Примечание. КС – клиническая смерть; СЛР – сердечно-легочная реанимация; ВСС – внезапная сердечная смерть; СБ – синдром Бругада; ФП – фибрилляция предсердий; ЖТ – желудочковая тахикардия; АВБ (I или II) – атриовентрикулярная блокада I или II степени; НБПНПГ – неполная блокада правой ножки пучка Гиса; СССУ – синдром слабости синусового узла; ПБПНПГ – полная блокада правой ножки пучка Гиса; ФЖ – фибрилляция желудочков; LQTS – синдром удлиненного интервала Q-T; СВДС – синдром внезапной детской смертности.

\* Новые мутации.

Таблица 2

Электрокардиографическая и электрофизиологическая характеристика пробандов с синдромом Бругада и идентифицированными мутациями в гене SCN5A

Мутация, выявленная у пробанда	ЭКГ-параметры					ЭФИ-параметры				
	ЭКГ покоя	Введение ААП I класса	ЧСС покоя, уд/мин	P-Q, отв. П, мс	QRS, отв. П, мс	Q-Tc, отв. П (Базетт), мс	ПЭС	КВВФСУ, мс	A-H, мс	H-V, мс
R376H	Тип II	Тип I	64	165	112	418	+	540	118	67
R878C	Тип I	н. п.	47 (62 – ААI)	262	143	431	+	1400	270	94
F919S*	Тип I	н. п.	71	137	98	424	+	446	117	59
IVS16DS-A>G	Тип I	н. п.	63	154	106	401	н. п. (ЖТ документирована)	н. п.	н. п.	н. п.
Q1118X	Тип I	н. п.	68	143	82	425	н. п. (ЖТ/ФЖ документированы)	580	123	49
L1217R*	Тип II	Тип I	42 (60 – ААI)	258 (262)	127	441 (520)	+	1150	230	87
G1319V	Тип I	н. п.	55	204	119	427	н. п. (ЖТ/ФЖ документированы)	593	213	63
IVS24AS+1G>A	Тип I	н. п.	67	162	102	403	н. п. (ЖТ/ФЖ документированы)	557	78	56
I493del K	Тип II	Тип I	56	213	156	405	+	980	136	79
E1574X*	Тип I	н. п.	72	156	78	405	+	487	92	56
G1743R	Тип I	н. п.	65	128	84	417	н. п. (ЖТ/ФЖ документированы)	435	115	51
I1762TfsX25*	Тип II	Тип I	57	184	110	388	н. п. (ЖТ/ФЖ документированы)	753	141	73
T1783S*	Тип II	Тип I	52	120	82	426	+	785	92	51
E1823HfsX10	Тип I	н. п.	59	322	142	451	н. п. (ЖТ документирована)	803	168	102

Примечание. ААП – антиаритмические препараты; ЧСС – частота сердечных сокращений; Q-Tc – скорректированный интервал Q-T; ПЭС – программируемая электрическая стимуляция; КВВФСУ – скорректированное время восстановления функции синусного узла; ААI – предсердный пейсинг; ЖТ – желудочковая тахикардия; ФЖ – фибрилляция желудочков; н. п. – не проводилось.

\* Новые мутации.

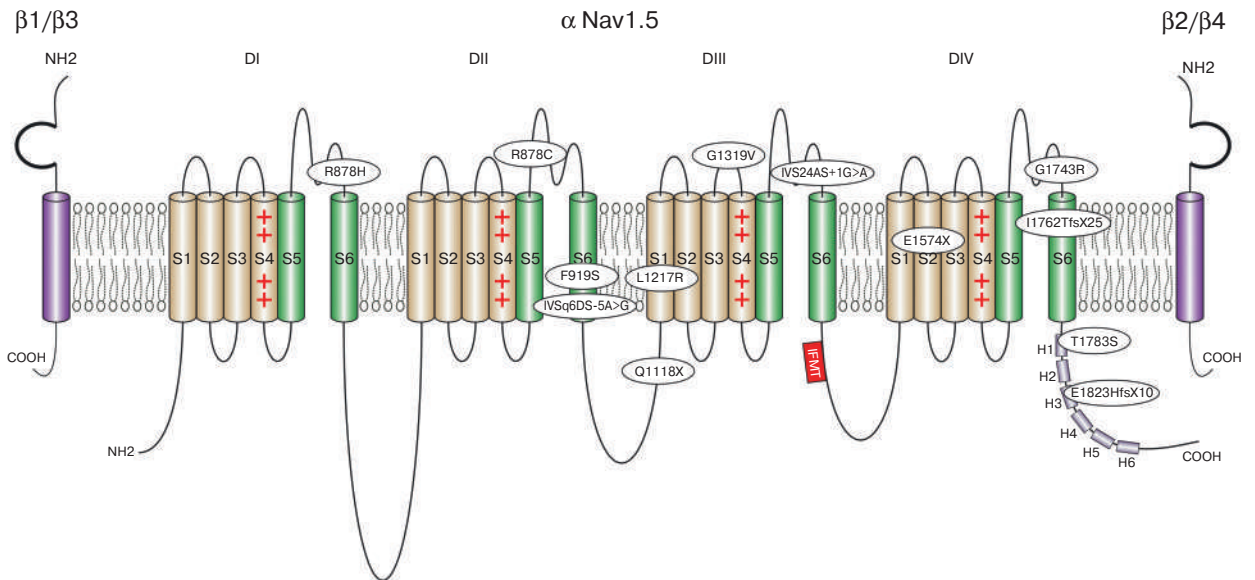


Рис. 1. Схема структуры и мембранной топологии  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц потенциальзависимого натриевого канала с указанием выявленных мутаций. Порообразующая  $\alpha$ -субъединица (Nav1.5) имеет четыре повторяющихся гомологичных домена (DI–DIV), каждый из которых содержит шесть трансмембранных сегментов (S1–S6), изображенных в виде цилиндров. Сегмент S4 содержит положительно заряженные аминокислоты и является сенсором потенциала; петля между сегментами S5 и S6 отрицательно заряжена и образует центральное отверстие (пору). Цитоплазматический линкер между доменами III и IV содержит цепочку аминокислот IFMT (изолейцин, фенилаланин, метионин и треонин), критичных для быстрой инактивации натриевого канала. Проксимальная половина С-терминального цитоплазматического домена содержит шесть спиральных петель (H1–H6), имеющих большое значение для установки свойств быстрой инактивации. Четыре  $\beta$ -субъединицы ( $\beta$ 1– $\beta$ 4) участвуют в регуляции сарколемной экспрессии и пропускной способности Nav1.5, наборе белков-адаптеров цитоскелета, ферментов и сигнальных молекул на канал, адгезии Nav1.5 к цитоскелетному каркасу и внеклеточному матриксу

в проекте «1000 геномов» и в базе данных консорциума Exome Aggregation Consortium.

Шесть (43%) пробандов с известными мутациями Q1118X [16–18] и G1743R [18–21], а также с новыми миссенс-мутацией F919S, нонсенс-мутацией E1574X и мутациями сплайсинга IVS16DS-5A>G и IVS24AS+1G>A демонстрировали изолированный фенотип синдрома Бругада. У них отмечалось синкопальное течение заболевания с личным (Q1118X, IVS24AS+1G>A, G1743R) и семейным (за исключением F919S, Q1118X и E1574X) анамнезом ВСС, спонтанным Бругада-паттерном I типа на ЭКГ, в связи с чем необходимость в фармакологических пробах отсутствовала. У пациентов с документированными эпизодами ЖТ (IVS16DS-5A>G, Q1118X, IVS24AS+1G>A и G1743R) ПЭС не рекомендовалась и не проводилась.

У пробанда (42 года, мужчина) без предшествующих синкопе документирована непрерывно рецидивирующая мономорфная ЖТ (рис. 2, а). Длительное мониторирование ЭКГ выявило Бругада-паттерн II типа, неполную блокаду правой ножки пучка Гиса (БПНПГ) и эпизоды ФП. В семье установлен случай ВСС (до 45 лет). Про-

ведена проба с новокаиномидом и отмечено нарастание элевации сегмента ST на 2 мм и более (сводчатой конфигурации) по сравнению с исходной ЭКГ в отведениях V1 и V2. ЭФИ подтвердило нарушения предсердно-желудочковой проводимости и индуцировало ФЖ. Генотипирование выявило известную мутацию R367H, локализованную в первом поровом сегменте натриевого канала между DI-S5 и DI-S6. Для мутации R367H показана связь с синдромом Бругада и дефектами сердечной проводимости [10, 22, 23]. Больному имплантирован КД, показавший при последующих проверках мотивированные срабатывания.

Пробанд (54 года, мужчина) с ФП и полной БПНПГ предъявлял жалобы на рецидивирующие обмороки. Последующее ЭФИ продемонстрировало увеличение предсердно-желудочковой проводимости (интервал А–Н 270 мс, интервал Н–V 94 мс) и скорректированного времени восстановления функции синусного узла (более 1400 мс). Выявленные нарушения компенсированы имплантацией двухкамерного ЭКС. Однако пациент продолжал испытывать обмороки, несмотря на адекватные параметры стимуляции.

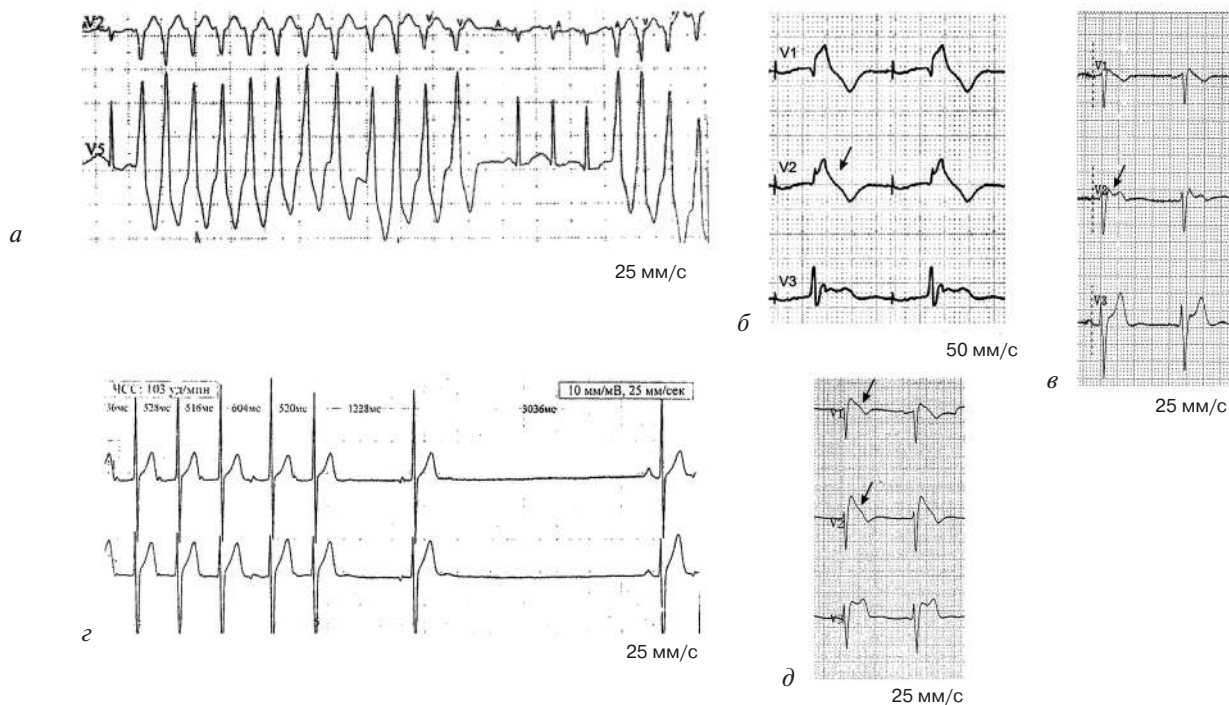


Рис. 2. Электрокардиографическая характеристика пациентов:

*a* – спонтанное возникновение мономорфной желудочковой тахикардии и спонтанное восстановление синусового ритма у пробанда (R376H) по данным 3-канального холтеровского мониторингирования (ХМ) ЭКГ, запись со скоростью ленты ЭКГ 25 мм/с; *б* – фрагмент записи 12-канального ХМ ЭКГ пробанда (R878С) на предсердной стимуляции, демонстрирующий полную блокаду правой ножки пучка Гиса ( $QRS$  143 мс), отклонение электрической оси влево и увеличение элевации сегмента  $ST$  (0,2 мВ) в отведении  $V2$  (указано стрелкой), запись со скоростью ленты ЭКГ 50 мм/с; *в* – фрагмент записи ЭКГ пробанда (1493delK) в момент регистрации седловидной элевации сегмента  $ST$  в отведении  $V2$  (указано стрелкой) в сочетании с атриовентрикулярной блокадой I степени ( $P-Q$  213 мс) и неполной блокадой правой ножки пучка Гиса ( $QRS$  156 мс) на базовой частоте сердечных сокращений 56 уд/мин,  $Q-Tc$  405 мс, запись со скоростью ленты ЭКГ 25 мм/с; *г* – фрагмент записи ХМ ЭКГ пробанда (T1783S), показывающий дисфункцию синусного узла в момент купирования эпизода предсердной тахикардии с паузой 3036 мс, запись со скоростью ленты ЭКГ 25 мм/с; *д* – фрагмент записи 12-канального ХМ ЭКГ пробанда (E1823HfsX10) с частотой сердечных сокращений 59 уд/мин,  $P-Q$  248 мс,  $QRS$  142 мс, Бругада-паттерн I типа в отведениях  $V1$  и  $V2$  указан стрелками, скорость ленты ЭКГ 25 мм/с (1 клетка по горизонтали равна 0,04 с)

Находкой длительного мониторингирования ЭКГ по 12 каналам явился транзиторный Бругада-паттерн I типа (рис. 2, *б*). Вновь проведено ЭФИ, синхронизированной парной стимуляцией индуцирована устойчивая полиморфная ЖТ, купированная электроимпульсной терапией (ЭИТ). Выполнена смена ЭКС на имплантируемый КД, который произвел один мотивированный шок за 2 года наблюдения. Генотипирование выявило известную высококонсервативную замену R878C в порообразующей области DII-S5/S6, ранее описанную в связи с синдромом Бругада, дефектами проводимости и CCCU [20, 24].

У пробанда (49 лет, женщина) с пароксизмальной ФП, предсердно-желудочковыми нарушениями проводимости на ЭКГ ( $P-Q$  238 мс во II отведении,  $P-Q$  258 мс в отведении  $V2$ ,  $QRS$  135 мс во II отведении) и ранее имплантированным ЭКС для лечения синусовой брадикардии выявлен Бругада-паттерн II типа. Личная история аритмических событий и синкопе отрицательная, случаи ВСС в семье не зарегистрирова-

ны. Введение новокаинамида в нагрузочной дозе индуцировало Бругада-паттерн I типа. Посредством ПЭС индуцирована продолжительная полиморфная ЖТ, купированная ЭИТ. Кроме того, возможным вкладчиком в фенотип пациентки считался LQTS на основе удлинения  $Q-T$  ( $Q-Tc$  520 мс) на повторных ЭКГ. Однако, учитывая, что тахикардия типа «пируэт» никогда не была задокументирована, продление  $Q-T$  можно было бы клинически связать с комбинацией терапии амиодароном и тяжестью дефектов проводимости, которые могут вызвать удлинение интервала  $Q-T$ . Генотипирование выявило в 20-м экзоне гена  $SCN5A$  новую нуклеотидную замену с.3650T>G, приводящую к замене неполярного, гидрофобного лейцина (L) положительно заряженным, гидрофильным аргинином (R) в положении 1217 (L1217R) области DIII-S1. Для расположенных рядом мутаций (S1219N и E1225K), влияющих на DIII белка  $NaV1.5$ , показана связь с синдромом Бругада [20, 25].



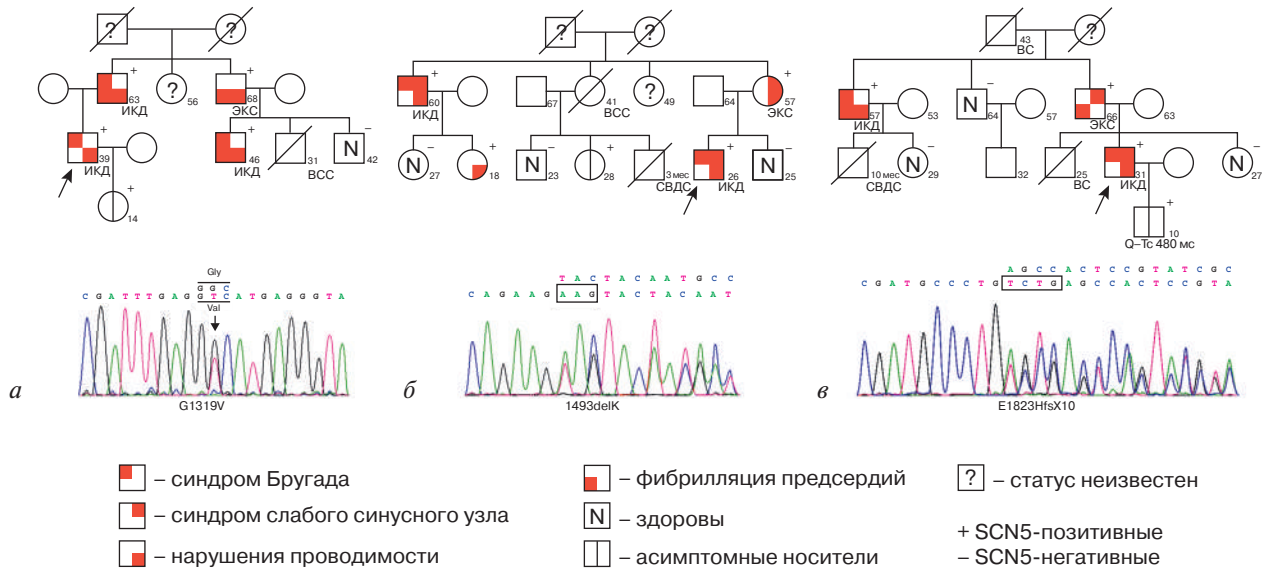


Рис. 3. Родословные семей – носителей мутаций гена *SCN5A* с указанием фенотипа, возраста, имплантированного устройства, случаев внезапной смерти кровных родственников пробандов и фрагментов прямого секвенирования по Сэнгеру гена *SCN5A* с измененной нуклеотидной последовательностью в виде наложения пиков разного цвета, приводящей к аминокислотной замене в белке Nav1.5:

*a* – родословная семьи пробанда, несущего мутацию G1319V; фрагмент последовательности 22-го экзона гена *SCN5A*, стрелкой указана однонуклеотидная замена гуанина (G) на тимин (T) в положении 3956, приводящая к аминокислотной замене глицина (G) на валин (V) в положении 1319 белка Nav1.5, обозначаемой как G1319V; *б* – родословная семьи пробанда, несущего мутацию 1493delK; фрагмент последовательности 26-го экзона гена *SCN5A*, показывающий, как утрата триплета AAG (взят в рамку) в позиции 4477\_4479 цепи ДНК, не сдвигая рамку считывания генетического кода, приводит к образованию белкового продукта с удалением (делецией) в этом участке аминокислоты лизина (K), тогда как вся остальная аминокислотная последовательность белка Nav1.5 соответствует исходной молекуле; *в* – родословная семьи пробанда, несущего мутацию E1823HfsX10; фрагмент последовательности 28-го экзона гена *SCN5A*, показывающий, как удаление четырех нуклеотидных оснований TCTG (взяты в рамку) в положении 5464\_5467 приводит к сдвигу рамки считывания, в результате чего добавляется еще десять новых аминокислот, начиная с кодона глутаминовой кислоты (GAG), измененного на гистидин (CAC) в положении 1823, с образованием преждевременного стоп-кодона в положении 10 новой рамки считывания, обозначаемой как E1823HfsX10.

ИКД – имплантируемый кардиовертер-дефибриллятор; ЭКС – электрокардиостимулятор; ВС – внезапная смерть; BCC – внезапная сердечная смерть; СВДС – синдром внезапной детской смертности

Смешанный фенотип выявлен у синкопального пробанда (39 лет, мужчина) с документированными эпизодами ЖТ/ФЖ и реанимации. Помимо спонтанного Бругада-паттерна I типа пробанд показывал на базальной ЭКГ синусовую брадикардию (55 уд/мин), неполную БПНПГ, увеличение интервалов *P–Q* (204 мс в отведении II и 211 мс в отведении V2) и *QRS* (119 мс в отведении II, 127 мс в отведении V2 и 122,5 мс в отведении V5). Генетический анализ пробанда идентифицировал мутацию G1319V (рис. 3, *a*), расположенную в петле, соединяющей 4-й и 5-й трансмембранные сегменты в III домене (DIII-S4/S5) – в области, вовлеченной в быструю инактивацию (см. рис. 1). Впервые описана в 2002 г. у больных с синдромом Бругада [26] и указана в международном сборнике мутаций *SCN5A* для синдрома Бругада [20]. Генетическое тестирование пяти кровных членов семьи, помимо пробанда, показало, что четверо из них также несут мутацию (см. рис. 3, *a*). Семейный скрининг носителей выявил аномальную

базальную ЭКГ у отца (63 года) и двоюродного брата пробанда (46 лет) с расширенным *QRS* в V1–V3 и транзиторным Бругада-паттерном I типа. Один кровный родственник пробанда умер внезапно (31 год). Дочь пробанда явилась асимптомным носителем. Интересно отметить, что среди носителей были также обнаружены другие аномалии сердечного ритма и проводимости. У отца и двоюродного брата пробанда наблюдались пароксизмальная форма ФП и атрио-вентрикулярная (AB) блокада II степени. Дядя пробанда (68 лет) показал нарушения предсердно-желудочкового и внутрижелудочкового проведения, включая неполную блокаду левой ножки пучка Гиса и преходящую АВ-блокаду III степени в сочетании с ФП. ПЭС стереотипно индуцировала продолжительные пароксизмы ЖТ, потребовавшие ЭИТ, только у синкопальных отца и двоюродного брата пробанда, в то время как у бессинкопального дяди был индуцирован пароксизм неустойчивой (менее 4 с) ЖТ, купировавшийся самостоятельно. Пробан-

ду, его отцу и двоюродному брату со смешанным фенотипом, который включал синдром Бругада, ФП и АВ-блокаду, были имплантированы КД. У дяди ведущим фенотипом были дефекты проводимости, с целью компенсации которых имплантирован ЭКС.

В большой семье с ВСС и синдромом внезапной детской смертности (СВДС) у 4 кровных родственников из 8 обследованных, включая пробанда, была идентифицирована гетерозиготная мутация 1493delK (рис. 3, б), описанная в связи с синдромом Бругада и обозначенная ранее как 1479delK [26], а позже исправленная на 1493delK [25]. Внутри этой семьи наблюдалась значительная вариабельность фенотипов от асимптомного носительства (кузина пробанда, 28 лет) до выраженных проявлений болезни, в том числе перекрытие форм клинических проявлений. Типичными изменениями на ЭКГ у носителей мутации были увеличение продолжительности *P*-волны ( $187,3 \pm 9,8$  мс в отведении II,  $121,6 \pm 12,3$  мс в отведении V2 и  $119,2 \pm 18,7$  в отведении V5 при норме 50–100 мс) и продолжительности комплекса *QRS* ( $116,4 \pm 15,8$  мс в отведении II,  $129,7 \pm 19,5$  мс в отведении V2 и  $117,4 \pm 22,3$  мс в отведении V5) с признаками и без признаков нарушений внутрижелудочковой проводимости. Кроме того, четверо носителей демонстрировали АВ-блокаду различной степени (*P–Q*  $215,8 \pm 17,2$  мс в отведении II,  $198,8 \pm 21,3$  мс в отведении V2,  $196,5 \pm 24,7$  мс в отведении V5), из них пробанд, его мать и дядя (по материнской линии), помимо проходящей АВ-блокады II степени, показывали также синусовую брадикардию (52–58 уд/мин) на базальной ЭКГ и имели в прошлом эпизоды обмороков. Интересно, что только у пробанда (рис. 2, в) и его дяди (60 лет), был зарегистрирован Бругада-паттерн II типа, который после введения прокаинамида в нагрузочной дозе трансформировался в I тип. У них же ПЭС как исходно, так и на фоне проводимых фармакологических проб стереотипно индуцировала эпизоды продолжительной полиморфной ЖТ с трансформацией в ФЖ, потребовавшие повторного проведения наружной кардиоверсии, что ассоциировано с более плохим прогнозом для жизни и большим риском ВСС. С целью предотвращения ВСС пробанду и дяде имплантированы КД. По данным ЭФИ, у пробанда, его матери и дяди подтверждены СССУ и дефекты проводимости. Результаты ПЭС у матери были отрицательны. Мы не исключаем

СССУ как причину синкопе у матери, которые прекратились после имплантации ЭКС. У остальных двух носителей отсутствовали признаки синдрома Бругада на ЭКГ покоя и после прокаинамида.

У пробанда (17 лет, женщина) с личной, но не семейной историей синкопе и ВСС выявлен Бругада-паттерн II типа на ЭКГ. Примечательно, что пробанд показывала на ЭКГ покоя по базальному статусу синусовую брадикардию и увеличение продолжительности интервалов *P–Q* (184 мс в отведении II и 195 мс в отведении V2) и *QRS* (110 мс в отведении II и 119 мс в отведении V2), а введение прокаинамида помимо трансформации Бругада-паттерна II типа в I тип вызвало еще большее усугубление АВ-блокады в сочетании с полной БПНПГ (*P–Q* 229 мс, *QRS* 138 мс в отведении II и *P–Q* 231 мс, *QRS* 145 мс в отведении V2 соответственно). ЭФИ подтвердило СССУ и АВ-блокаду. Кроме того, длительное мониторирование ЭКГ зафиксировало эпизоды ФП. Остальные родственники были бессимптомны на момент обследования. Генетическое тестирование обнаружило новый вариант с.5285delT в 28-м экзоне гена SCN5A. Делеция одного нуклеотида (T) вызывает сдвиг в рамке считывания (frameshift), начиная с кодона изолейцина (ATC), меняя его на треонин (ACG) в положении 1762, создавая преждевременный стоп-кодон в положении 25 новой рамки считывания, обозначаемой как Ile1762ThrfsX25.

У симптомной пациентки (24 года) при проведении холтеровского мониторирования ЭКГ выявлены эпизоды предсердной тахикардии с синоатриальными паузами (более 3 с), которые рассматривались как причина синкопе (рис. 2, г). Личный и семейный анамнез ВСС отрицательный. Дальнейшее обследование выявило транзиторный Бругада-паттерн II типа. Проведены фармакопробы и ПЭС, результаты положительные. Данные ЭФИ не противоречили дисфункции синусно-предсердного узла (СПУ). Генетическое тестирование выявило изменение в 28-м экзоне гена SCN5A (смена цитозина на гуанин в нуклеотидной последовательности под номером 5348), приводящее к аминокислотной замене треонина (ACC) на серин (AGC) в положении 1783 белка Nav1.5 (T1783S). О других мутациях в близлежащих положениях – T1779M [27], E1781G [28], S1784N [29] и L1786Q [28] – сообщалось в связи с LQTS и аритмией, что подтверждает функциональную значимость этой области белка.

У симптомного пробанда (31 год, мужчина) с документированной ЖТ, АВ-блокадой I степени и преходящей полной БПНПГ длительное 12-канальное холтеровское мониторирование ЭКГ обнаружило транзиторный Бругада-паттерн I типа (рис. 2, д). Генотипирование идентифицировало мутацию E1823HfsX10 (с.5464\_5467delTCTG), искажающую аминокислотную последовательность в протяженной области С-терминального конца  $\alpha$ -субъединицы Nav1.5, вслед за местом делеции с образованием нонсенс-кодона, что приводит к преждевременному прекращению синтеза полипептида и образованию усеченного и потому нефункционального белка. Для этого варианта показана связь с синдромом Бругада, остановкой сердца, CCCY, нарушениями сердечной проводимости и LQTS [30, 31]. Последующий скрининг семьи показал накопление случаев ВСС и СВДС (двоюродный брат – 10 мес, брат – 25 лет), Бругада-паттерн I типа, АВ-блокаду I степени и ФП у дяди (57 лет), ФП и синусовую брадикардию без признаков изменений реполяризации у отца (66 лет) (рис. 3, в). ЭФИ выявило CCCY (отец), дефекты проводимости (дядя) и их сочетание (пробанд). Результаты ПЭС пробанда и дяди положительны, им имплантированы КД. Бессинкопальному отцу пробанда с отрицательными результатами фармакопробы и ПЭС имплантирован ЭКС. Генетическое тестирование подтвердило наличие мутации у затронутых членов семьи. Интересно, что сын пробанда (10 лет), оказавшийся асимптомным носителем в этом семействе, представил удлинение  $Q-Tc$  до 480 мс на двух ЭКГ.

Все пробанды ( $n=14$ ) демонстрировали клинически выраженный фенотип, включавший гемодинамически значимые документированные или индуцированные пароксизмы ЖТ/ФЖ, и получили лечение посредством имплантации КД. У 6 (43%) из них выявлен изолированный синдром Бругада. У остальных 8 (57%) пробандов помимо фенотипа синдрома Бругада были отмечены другие аритмические синдромы: у 6 (43%) – CCCY, у 6 (43%) – АВ-блокада I–II степени, у 4 (29%) – предсердные аритмии, из них 3 (21%) случая ФП и 1 случай увеличения интервала  $Q-Tc$  до 520 мс на повторных ЭКГ. Три обследованные семьи ( $n=18$ ) показали вариабельность фенотипа среди носителей ( $n=11$ ) мутаций гена SCN5A, при этом у 3 неродственных носителей ведущим клиническим фенотипом были прогрессирующие нарушения проводимо-

сти и дисфункция СПУ, что потребовало имплантации ЭКС. Остальным 4 носителям, исходя из клинической картины и данных обследования, имплантирован КД. Таким образом, у всех 25 переносчиков генетических дефектов гена SCN5A имплантировано 21 устройство – 18 (72%) КД и 3 (12%) ЭКС. Четверо (16%) асимптомных пациентов из 25 носителей оставлены под наблюдением.

## Обсуждение

Каждая из выявленных мутаций в гене SCN5A разнообразно изменяет структуру белка Nav1.5, влияя на его проницаемость для ионов натрия или уменьшая численность натриевых каналов на мембране кардиомиоцитов вследствие нарушения перемещения измененных каналов к плазматической мембране.

Мутация R367H подавляет ток INav1.5 из-за потери одного функционального аллеля [10]. Близлежащая к новой замене L1217R изученная мутация S1218I вызывает нарушение транспорта натриевых каналов, а не активационные или инактивационные кинетические дефекты, приводя к 50%-му снижению пиковой плотности тока натрия в гетерозиготном состоянии и появлению признаков синдрома Бругада [32]. В случае мутации R878C мутантные каналы, несмотря на нормальную поверхностную локализацию, оказывались нефункциональными из-за нарушений воротной функции канала [33].

Биофизический анализ мутантных каналов G1319V после трансфекции почечных клеток эмбриона человека линии НЕК 293 (Human Embryonic Kidney) показал, что максимальный пик INav1.5 и постоянный натриевый ток были одинаковыми в каналах дикого типа (wild type – WT) и каналах, образованных G1319V [34]. Однако мутация G1319V сдвигает потенциал полумаксимальной  $V(1/2)$  активации к более положительным значениям (+3,7 мВ), что увеличивает степень деполяризации, необходимой для активации. Быстрая составляющая восстановления от инактивации каналов G1319V замедлилась. Наконец, мутация G1319V вызвала двукратное увеличение склонности каналов к входу в медленно инактивированное состояние. Выявленное у мутации G1319V многообразие биофизических свойств способствует уменьшению тока INav1.5 в соответствии с предложенным механизмом, лежащим в основе синдрома Бругада, и может повлечь за собой расширение фенотипа, наблюдаемого как у пробанда, так

и среди членов его семьи и связанного с высоким уровнем АВ-блокады и дефектами проводимости.

Известная делеция 1493delK, выявленная в исследовании, находится в цитоплазматическом линкере между доменами DIII и DIV, который, как известно, отвечает за потенциалзависимую инактивацию канала и функционирует как закрывающий воротный механизм. Важную роль в закрытии поры в фазу быстрой инактивации играет участок петли из последовательности четырех аминокислот изолейцина-фенилаланина-метионина-треонина (Ile-Phe-Met-Thr – IFMT), который служит в качестве гидрофобной «задвижки», причем фланкирующие IFMT остатки глицина и пролина сообщают необходимую гибкость «петле задвижки» (см. рис. 1). Замена аминокислот в этой критической области инактивации (затвор инактивации) может нарушить процесс инактивации канала [35]. В непосредственной близости от 1493delK, ниже IFMT-мотива, расположена другая делеция с потерей лизина (1500delK), которая обуславливает развитие перекрестного синдрома с характерными признаками LQTS, синдрома Бругада и нарушениями проводимости [8].

Клетки HEK-293, трансфицированные 1493delK, показали сильное (в 5 раз) сокращение натриевого тока с измененной кинетикой инактивации по сравнению с каналами WT [36]. Иммуноцитохимическое окрашивание продемонстрировало значительное снижение мутантных каналов 1493delK в сарколемме, что согласуется с дефектом внутриклеточного транспорта и, следовательно, потерей функции натриевого канала, что объясняет фенотип синдрома Бругада и нарушения проводимости, выявленных в нашем исследовании у носителей этой мутации. В обследованной семье гетерозиготная мутация 1493delK больше предрасполагала к замедлению проводимости, чем к синдрому Бругада, что объясняется превалированием нарушения транспорта мутантных натриевых каналов к плазматической мембране. Провоцирующая проба с новокаиномидом, проведенная у 5 пациентов, которые, как было доказано, несли мутацию 1493delK, индуцировала Бругада-паттерн I типа только у 2 из них, в то время как большинство носителей мутации показали признаки нарушения проводимости различного уровня на ЭКГ покоя.

В случае Ile1762ThrfsX25 ожидается, что появление преждевременного стоп-кодона приве-

дет либо к синтезу укороченной мРНК и трансляции аномально усеченного белкового продукта, не способного нормально функционировать, либо к потере белка из этого аллеля через нонсенс-опосредованный распад мРНК (nonsense-mediated mRNA decay – NMD). По механизму NMD разрушаются мРНК, содержащие стоп-кодона в неправильных местах, что защищает клетку от синтеза аномально укороченных белков [37]. В результате, несмотря на то что аберрантные белки не транслируются, снижение плотности нормальных  $\alpha$ -субъединиц натриевого канала приводит к снижению плотности суммарного натриевого тока на поверхности кардиомиоцита. В смежном положении 5280 ранее была описана делеция одного нуклеотида – гуанина (G), которая также приводит к сдвигу рамки считывания, производя преждевременный стоп-кодон на С-конце, и носители которой показывали дефекты проводимости с рождения, что указывает на немедленный эффект появления преждевременного стоп-кодона [6]. Делеция 5280delG приводит к трансляции нефункциональных белковых каналов, которые не достигают плазматической мембраны, в результате чего натриевый ток не определяется [38]. Делеция 5285delT (Ile1762ThrfsX25), обнаруженная в нашем исследовании, может иметь такой же механизм, благодаря которому функциональные аномалии порождают клинические особенности в виде присоединения фенотипа нарушенной проводимости у данной больной.

Известно, что проксимальная половина С-конца содержит шесть спиральных структур (H1–H6), которые имеют решающее значение для установления межцепочечных контактов, а также внутримолекулярных взаимодействий с линкером доменов III и IV, стабилизирующих инактивированное состояние [39]. Мутация E1823HfsX10 усекает С-конец за счет удаления H3–H6, оставляя H1 и H2 неизменными, что может способствовать различиям в вариантах пропускной способности, объясняющим разнообразие клинических проявлений в обследованной семье. Альтернативно, эффективность NMD также может обуславливать различную степень выраженности симптомов, которую мы обнаружили у носителей мутации E1823HfsX10. Экспрессия в клетках HEK 293 показала, что, несмотря на серьезное нарушение структуры каналов, они генерируют натриевый ток, хотя и резко уменьшенный с преобладанием потери функции (сдвиг кривой активации в сторону бо-

лее положительных значений, ускоренная инактивация), но также и демонстрируют частичный эффект gain of function (смещение кривой инактивации к негативным потенциалам и увеличение плотности позднего натриевого тока  $I_{NaL}$ ) [31]. Эти уникальные функциональные характеристики мутации E1823HfsX10 объясняют добавление LQTS в сложный фенотип, включающий синдром Бругада, дисфункцию СПУ, нарушения проводимости и ФП, что влияет на тактику лечения. В данном случае у асимптомного сына пробанда были назначены  $\beta$ -блокаторы без дополнительного приема блокаторов натриевых каналов, согласно рекомендациям, учитывая величину  $Q-Tc$ , не превышающую 500 мс [14].

Несмотря на разнообразные нарушения функционирования натриевых каналов, которые характеризуют мутации с биофизическим фенотипом loss of function в исследованиях *in vitro*, общим для всех мутаций результатом явилось снижение или утрата входящего натриевого тока.

Несмотря на общий биофизический фенотип потери функции, выявленные в исследовании мутации характеризовались как изолированными проявлениями синдрома Бругада, так и смещением различных фенотипов. Фенотипический скрининг всех 25 генотип-позитивных пациентов выявил у 9 (36%) из них CCCU, у 9 (36%) – предсердные аритмии, включая ФП, и у 17 (68%) – аномалии предсердно-желудочковой и внутрижелудочковой проводимости, включая полную (6) или неполную (10) БПНПГ, блокаду ветвей левой ножки пучка Гиса (1), БПНПГ плюс гемиблок (2) и АВ-блокаду (10). Базальная ЭКГ показала спонтанный Бругада-паттерн I типа у 12 из 25 (48%) носителей мутации гена SCN5A. Было отмечено значительное удлинение интервалов  $P-Q$  и комплексов  $QRS$  у носителей мутаций по сравнению с их родственниками, не носителями мутации.

Причины, лежащие в основе отмеченного перекрещивания фенотипов, остаются неизвестными. Мы предполагаем, что мутации (R376H, R878C, L1217R, G1319V, I493delK, I1762TfsX25, T1783S и E1823HfsX10), показавшие перекрест фенотипов, связаны с неполной пенетрантностью и переменной экспрессией, что приводит к множественным нарушениям ритма в пределах одного и того же семейства. Возможно, пол и возраст являются переменными детерминантами. Пробанды, из них большинство мужчин,

представили синдром Бругада, прогрессивные дефекты проводимости, CCCU и ФП. Среди их кровных родственников наблюдались аналогичные аномалии ЭКГ в состоянии покоя, однако женщины чаще оставались малосимптомными или бессимптомными, несмотря на носительство той же мутации SCN5A. Это изменение фенотипической тяжести может частично объясняться половыми различиями, поскольку синдром Бругада преимущественно отмечается у мужчин. Кроме того, увеличение фиброза с возрастом в сочетании с генетическим дефектом может ухудшить проводимость и выявить фенотип Леви–Ленегра [6].

Одним из потенциальных генетических модификаторов болезней натриевой каналопатии могут быть  $\beta$ -субъединицы натриевого канала (SCN1-4B), в частности  $\beta 1$ -субъединица натриевого канала, кодируемая геном SCN1B, которая, как известно, модулирует натриевый канал посредством нековалентного взаимодействия с  $\alpha$ -субъединицей, кодируемой SCN5A (см. рис. 1). Сообщалось, что SCN5A-положительные пробанды, демонстрирующие перекрестный фенотип CCCU и синдром Бругада, имели дополнительные варианты в SCN1B и DSG2. В то время как носители мутации SCN5A, у которых эти варианты отсутствовали, показали более мягкий фенотип [40].

Таким образом, на формирование конечного клинического фенотипа сердечной натриевой каналопатии с потерей функции может воздействовать множество неопределенных факторов, таких как возраст, пол и остальные модифицирующие генетические влияния со стороны других генов, отличных от SCN5A.

## Заключение

Настоящее исследование показывает, что мутации SCN5A, связанные с потерей функции натриевого канала, не менее часто, по сравнению с изолированными аритмическими синдромами, вызывают перекрестные фенотипы, включая синдром Бругада, дисфункцию СПУ и прогрессирующие дефекты сердечной проводимости, подобные фенотипу болезни Ленегра в сочетании с ФП.

С механистической точки зрения мутации SCN5A, лежащие в основе синдрома Бругада, приводят к снижению доступности натриевого канала (loss of function), сходному с дефектами проводимости и CCCU, и между этими клиническими фенотипами существует значительное

перекрытие. Это диктует необходимость проведения разностороннего обследования для стратификации риска ВСС, включающего, помимо генетического тестирования, нагрузочные фармакологические пробы, ЭФИ с проведением ПЭС, длительное мониторирование ЭКГ (позволяющее обнаружить интермиттирующий ЭКГ-паттерн). В результате мы считаем, что носителям мутаций SCN5A требуются клиническое наблюдение и ЭКГ-контроль не только из-за риска, связанного с развитием ВСС, но и в связи с развитием серьезных нарушений проводимости. Такие пациенты нуждаются в индивидуальном подходе в решении вопроса о типе имплантируемого устройства и медикаментозного лечения.

Важно отметить, что в семьях с перекрестными синдромами сердечной натриевой каналопатии, выявленными до настоящего времени, было изучено относительно большое число ее членов. Нельзя исключить вероятность того, что каждая мутация гена SCN5A на самом деле способна вызвать перекрестный синдром, поэтому мы предлагаем вовлекать в анализ максимально возможное число родственников генотип-позитивных пробандов.

Дальнейший прогресс в изучении перекрестного синдрома натриевой каналопатии мы связываем со скринингом генов SCN1B, SCN2B, SCN3B и SCN4B, которые кодируют белки с однородной молекулярной структурой ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  и  $\beta 4$  соответственно). Возможно, выявление и функциональный анализ новых мутаций подтвердит влияние генетических модификаторов на фенотип.

### Конфликт интересов

Конфликт интересов не заявляется.

### Библиографический список [References]

1. Wang Q., Shen J., Splawski I., Atkinson D., Li Z., Robinson J.L. et al. SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell*. 1995; 80 (5): 805–11.
2. Chen Q., Kirsch G.E., Zhang D., Brugada R., Brugada J., Brugada P. et al. Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature*. 1998; 392 (6673): 293–6. DOI: 10.1038/32675
3. Benson D.W., Wang D.W., Dymont M., Knilans T.K., Fish F.A., Strieper M.J. et al. Congenital sick sinus syndrome caused by recessive mutations in the cardiac sodium channel gene (SCN5A). *J. Clin. Invest.* 2003; 112 (7): 1019–28. DOI: 10.1172/JCI118062
4. Smits J.P., Koopmann T.T., Wilders R., Veldkamp M.W., Opthof T., Bhuiyan Z.A. et al. A mutation in the human cardiac sodium channel (E161K) contributes to sick sinus syndrome, conduction disease and Brugada syndrome in two families. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2005; 38 (6): 969–81. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2005.02.024
5. Tan H.L., Bink-Boelkens M.T., Bezzina C.R., Viswanathan P.C., Beaufort-Krol G.C., van Tintelen P.J. et al. A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature*. 2001; 409 (6823): 1043–7. DOI: 10.1038/35059090
6. Schott J.J., Alshinawi C., Kyndt F., Probst V., Hoortje T.M., Hulsbeek M. et al. Cardiac conduction defects associate with mutations in SCN5A. *Nat. Genet.* 1999; 23 (1): 20–1. DOI: 10.1038/12618
7. Bezzina C., Veldkamp M.W., van den Berg M.P., Postma A.V., Rook M.B., Viersma J.W. et al. A single Na<sup>+</sup> channel mutation causing both long-QT and Brugada syndromes. *Circ. Res.* 1999; 85 (12): 1206–13. DOI: 10.1161/01.RES.85.12.1206
8. Grant A.O., Carboni M.P., Neplioeva V., Starmer C.F., Memmi M., Napolitano C., Priori S. Long QT syndrome, Brugada syndrome, and conduction system disease are linked to a single sodium channel mutation. *J. Clin. Invest.* 2002; 110 (8): 1201–9. DOI: 10.1172/JCI15570
9. Kyndt F., Probst V., Potet F., Demolombe S., Chevallier J.C., Baro I. et al. Novel SCN5A mutation leading either to isolated cardiac conduction defect or Brugada syndrome in a large French family. *Circulation*. 2001; 104 (25): 3081–6. DOI: 10.1161/hc5001.100834
10. Rossenbacker T., Carroll S.J., Liu H., Kuiperi C., de Ravel T.J., Devriendt K. et al. Novel pore mutation in SCN5A manifests as a spectrum of phenotypes ranging from atrial flutter, conduction disease, and Brugada syndrome to sudden cardiac death. *Heart Rhythm*. 2004; 1 (5): 610–5. DOI: 10.1016/j.hrthm.2004.07.001
11. Zareba W., Sattari M.N., Rosero S., Couderc J.P., Moss A.J. Altered atrial, atrioventricular, and ventricular conduction in patients with the long QT syndrome caused by the DeltaKQP SCN5A sodium channel gene mutation. *Am. J. Cardiol.* 2001; 88 (11): 1311–4. DOI: 10.1016/S0002-9149(01)02097-5
12. Priori S.G., Napolitano C., Schwartz P.J., Bloise R., Crotti L., Ronchetti E. The elusive link between LQTS and Brugada syndrome: the role of flecainide challenge. *Circulation*. 2000; 102 (9): 945–7. DOI: 10.1161/01.CIR.102.9.945
13. Бокерия Л.А., Проницева И.В., Сергуладзе С.Ю., Ломидзе Н.Н., Темботова Ж.Х., Котанова Е.С. Опыт диагностики и десятилетние результаты лечения пациентов с синдромом Бругада. *Анналы аритмологии*. 2017; 14 (2): 60–72. DOI: 10.15275/annaritmol.2017.2.1 [Bockeria L.A., Pronicheva I.V., Serguladze S.Yu., Lomidze N.N., Tembotova Z.K., Kotanova E.S. Diagnostics experience and ten-year treatment outcomes of patients with Brugada syndrome. *Annaly Aritmologii (Annals of Arrhythmology)*. 2017; 14 (2): 60–72 (in Russ.). DOI: 10.15275/annaritmol.2017.2.1]
14. Priori S.G., Blomström-Lundqvist C., Mazzanti A., Blom N., Borggrefe M., Camm J. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur. Heart J.* 2015; 36 (41): 2793–867. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv316
15. Бокерия Л.А., Ревшвили А.Ш., Проницева И.В., Заклязьминская Е.В., Поляков А.В. Клиническая вариабельность и подходы к лечению жизнеугрожающих желудочковых аритмий, обусловленных мутациями в гене SCN5A. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2007; 5: 3–11. [Bokeria L.A., Revishvili A.Sh., Pronicheva I.V., Zaklyazminskaya Ye.V., Polyakov A.V. The clinical variability of and approaches to treatment of life-threatening ventricular arrhythmias caused by SCN5A gene mutations. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk (Annals of the Russian Academy of Medical Sciences)*. 2007; 5: 3–11 (in Russ.).]
16. Priori S.G., Napolitano C., Gasparini M., Pappone C., Della Bella P., Giordano U. et al. Natural history of Brugada syndrome: insights for risk stratification and management. *Circulation*. 2002; 105 (11): 1342–7. DOI: 10.1161/hc1102.105288
17. Sommariva E., Pappone C., Martinelli Boneschi F., Di Resta C., Rosaria Carbone M., Salvi E. et al. Genetics can contribute to the prognosis of Brugada syndrome: a pilot model for risk stratification. *Eur. J. Hum. Genet.* 2013; 21 (9): 911–7. DOI: 10.1038/ejhg.2012.289

18. Crotti L., Marcou C.A., Tester D.J., Castelletti S., Giudicesi J.R., Torchio M. et al. Spectrum and prevalence of mutations involving BrS1- through BrS12-susceptibility genes in a cohort of unrelated patients referred for Brugada syndrome genetic testing: implications for genetic testing. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 60 (15): 1410–8. DOI: 10.1016/j.jacc.2012.04.037
19. Valdivia C.R., Tester D.J., Rok B.A., Porter C.B., Munger T.M., Jahangir A. et al. A trafficking defective, Brugada syndrome-causing SCN5A mutation rescued by drugs. *Cardiovasc. Res.* 2004; 62 (1): 53–62. DOI: 10.1016/j.cardiores.2004.01.022
20. Kapplinger J.D., Tester D.J., Alders M., Benito B., Berthet M., Brugada J. et al. An international compendium of mutations in the SCN5A-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing. *Heart Rhythm.* 2010; 7 (1): 33–46. DOI: 10.1016/j.hrthm.2009.09.069
21. Chiang D.Y., Kim J.J., Valdes S.O., de la Uz C., Fan Y., Orcutt J. et al. Loss-of-function SCN5A mutations associated with sinus node dysfunction, atrial arrhythmias, and poor pacemaker capture. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2015; 8 (5): 1105–12. DOI: 10.1161/CIRCEP.115.003098
22. Frustaci A., Priori S.G., Pieroni M., Chimenti C., Napolitano C., Rivolta I. et al. Cardiac histological substrate in patients with clinical phenotype of Brugada syndrome. *Circulation.* 2005; 112 (24): 3680–7. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.520999
23. Darbar D., Kannankeril P.J., Donahue B.S., Kucera G., Stubblefield T., Haines J.L. et al. Cardiac sodium channel (SCN5A) variants associated with atrial fibrillation. *Circulation.* 2008; 117 (15): 1927–35. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.757955
24. Zhang Y., Wang T., Ma A., Zhou X., Gui J., Wan H. et al. Correlations between clinical and physiological consequences of the novel mutation R878C in a highly conserved pore residue in the cardiac Na<sup>+</sup> channel. *Acta Physiol. (Oxf.)* 2008; 194 (4): 311–23. DOI: 10.1111/j.1748-1716.2008.01883.x
25. Schulze-Bahr E., Eckardt L., Breithardt G., Seidl K., Wichter T., Wolpert C. et al. Sodium channel gene (SCN5A) mutations in 44 index patients with Brugada syndrome: different incidences in familial and sporadic disease. *Hum. Mutat.* 2003; 21 (6): 651–2. DOI: 10.1002/humu.9144
26. Smits J.P., Eckardt L., Probst V., Bezzina C.R., Schott J.J., Remme C.A. et al. Genotype-phenotype relationship in Brugada syndrome: electrocardiographic features differentiate SCN5A-related patients from non-SCN5A-related patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 40 (2): 350–6. DOI: 10.1016/S0735-1097(02)01962-9
27. Tester D.J., Will M.L., Haglund C.M., Ackerman M.J. Compendium of cardiac channel mutations in 541 consecutive unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm.* 2005; 2 (5): 507–17. DOI: 10.1016/j.hrthm.2005.01.020
28. Wilde A.A., Moss A.J., Kaufman E.S., Shimizu W., Peterson D.R., Benhorin J. et al. Clinical aspects of type 3 long QT syndrome: an international multicenter study. *Circulation.* 2016; 134 (12): 872–82. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021823
29. Splawski I., Shen J., Timothy K.W., Lehmann M.H., Priori S., Robinson J.L. et al. Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation.* 2000; 102 (10): 1178–85. DOI: 10.1161/01.CIR.102.10.1178
30. Márquez M.F., Cruz-Robles D., Inés-Real S., Gallardo G.J., Gonzalez-Hermosillo A., Cárdenas M., Vargas-Alarcón G. A novel SCN5A deletion mutation in a child with ventricular tachycardia, recurrent aborted sudden death, and Brugada electrocardiographic pattern. *Arch. Cardiol. Mex.* 2007; 77 (4): 284–7.
31. Tan B.H., Iturralde-Torres P., Medeiros-Domingo A., Nava S., Tester D.J., Valdivia C.R. et al. A novel C-terminal truncation SCN5A mutation from a patient with sick sinus syndrome, conduction disorder and ventricular tachycardia. *Cardiovasc. Res.* 2007; 76 (3): 409–17. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.08.006
32. Calloe K., Refaat M.M., Grubb S., Wojciak J., Campagna J., Thomsen N.M. et al. Characterization and mechanisms of action of novel Nav1.5 channel mutations associated with Brugada syndrome. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2013; 6 (1): 177–84. DOI: 10.1161/CIRCEP.112.974220
33. Gui J., Wang T., Jones R.P., Trump D., Zimmer T., Lei M. Multiple loss-of-function mechanisms contribute to SCN5A-related familial sick sinus syndrome. *PLoS One.* 2010; 5 (6): e10985. DOI: 10.1371/journal.pone.0010985
34. Casini S., Tan H.L., Bhuiyan Z.A., Bezzina C.R., Barnett P., Cerbai E. et al. Characterization of a novel SCN5A mutation associated with Brugada syndrome reveals involvement of DIIIS4-S5 linker in slow inactivation. *Cardiovasc. Res.* 2007; 76 (3): 418–29. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.08.005
35. Vassilev P.M., Scheuer T., Catterall W.A. Identification of an intracellular peptide segment involved in sodium channel inactivation. *Science.* 1988; 241 (4873): 1658–61. DOI: 10.1126/science.2458625
36. Zumhagen S., Veldkamp M.W., Stallmeyer B., Baartscheer A., Eckardt L., Paul M. et al. A heterozygous deletion mutation in the cardiac sodium channel gene SCN5A with loss- and gain-of-function characteristics manifests as isolated conduction disease, without signs of Brugada or long QT syndrome. *PLoS One.* 2013; 8 (6): e67963. DOI: 10.1371/journal.pone.0067963
37. He F., Jacobson A. Nonsense-mediated mRNA decay: degradation of defective transcripts is only part of the story. *Annu. Rev. Genet.* 2015; 49: 339–66. DOI: 10.1146/annurev-genet-112414-054639
38. Herfst L., Potet F., Bezzina C., Groenewegen W.A., Le Marec H., Hoorntje T.M. Na<sup>+</sup> channel mutation leading to loss of function and non-progressive cardiac conduction defects. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003; 35 (5): 549–57. DOI: 10.1016/S0022-2828(03)00078-6
39. Wang C., Chung B.C., Yan H., Lee S.Y., Pitt G.S. Crystal structure of the ternary complex of a Nav C-terminal domain, a fibroblast growth factor homologous factor, and calmodulin. *Structure.* 2012; 20 (7): 1167–76. DOI: 10.1016/j.str.2012.05.001
40. Aoki H., Nakamura Y., Ohno S., Makiyama T., Horie M. Cardiac conduction defects and Brugada syndrome: a family with overlap syndrome carrying a nonsense SCN5A mutation. *J. Arrhythm.* 2017; 33 (1): 35–9. DOI: 10.1016/j.joa.2016.05.007

Поступила 26.02.2018

Принята к печати 15.03.2018