

## ИМПЛАНТАЦИЯ КАРДИОВЕРТЕРОВ-ДЕФИБРИЛЛЯТОРОВ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ПОДТВЕРЖДЕННЫМИ ФАКТОРАМИ РИСКА ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ

Л. А. Бокерия, А. Ш. Ревшвили, И. В. Проничева, Е. В. Заклязьминская,  
А. В. Поляков (Москва)

Одна из важнейших проблем современного здравоохранения – предупреждение внезапной сердечной смерти (ВСС), что требует своевременного применения хирургических и медикаментозных пособий. Одним из наиболее распространенных генетически детерминированных заболеваний, протекающих с высоким риском ВСС, является синдром удлиненного интервала  $Q-T$  (LQTS). Синдром удлиненного интервала  $Q-T$  отличается генетической гетерогенностью и клиническим полиморфизмом, а также высоким риском развития фибрилляции желудочков (ФЖ) и ВСС при первом синкопальном эпизоде в отсутствии выраженных структурных и анатомических изменений миокарда. Тяжесть течения заболевания значительно варьирует даже в пределах одной семьи. Это может быть обусловлено как наличием мутаций более чем в одном гене, ответственном за заболевание, так и модифицирующим влиянием на проявление мутаций полиморфных аллелей гена. Согласно последним молекулярно-генетическим исследованиям риск развития ВСС и соответственно подходы к лечению в значительной степени могут определяться пораженным геном, то есть для разных молекулярно-генетических вариантов оптимальное лечение может быть различным. Однако даже с современными схемами стратификационного риска ВСС пациенты, отнесенные к группе низкого риска, могут иметь тридцатипроцентный риск возникновения ВСС. Учитывая пожизненность терапии имплантируемыми устройствами, хотелось бы иметь более надежные пособия для идентификации пациентов действительно низкого риска, которым, возможно, не требуется имплантация устройств.

Целью данной работы явился анализ эффективности молекулярно-генетических методов диагностики в оценке риска развития ВСС и выборе оптимального метода лечения среди пациентов с генетически подтвержденным LQTS и его аллельными формами.

Методы исследования включали в себя в первую очередь анализ электрокардиограмм пробанда и доступных кровных родственников, сбор анамнеза с выявлением случаев внезапной смерти в семье, кроме того, проводились нагрузочные пробы для выявления дополнительных факторов

риска ВСС. ДНК-диагностика проводилась на базе медико-генетического центра РАМН.

Всего были обследованы 48 пациентов, среди них мужчин – 19, женщин – 29, средний возраст больных составил  $25,8 \pm 17,9$  года (от 5 лет до 51 года). Синкопальные состояния на догоспитальном этапе были отмечены у 40 (83%) пациентов, 16 (33%) из них пережили клиническую смерть с успешными реанимационными мероприятиями. Из сопутствующих нарушений ритма и проводимости хотелось бы отметить синусовую брадикардию у 32 (66%) пациентов, что затрудняло прием адекватных доз антиаритмических препаратов. У 16 (33%) пациентов отмечена ВСС в семье. В целом, все пациенты были сохранными, трудоспособными, относились к I–II ФК по NYHA, имели удовлетворительную сократительную способность миокарда левого желудочка (ЛЖ), из клапанной патологии на ЭхоКГ отмечен только пролапс митрального клапана у 15 (31%) пациентов.

Из 48 генотипированных пациентов у 31% был подтвержден LQT1, у 13% пациентов – LQT2, в такой же доле был представлен LQT3, пациенты с 5-м и 6-м типом синдрома были представлены единичными случаями (по 2%). У двух пациентов был выявлен синдром Бругада, что составило 4% от всей обследованной группы. И впервые был верифицирован синдром короткого интервала  $Q-T$  у одного пациента, что составило 2% от обследованной группы.

В таблице представлены все верифицированные мутации по ответственным генам, выявленные у 32 пациентов. Красным цветом отмечены новые мутации, ранее не описанные. К развитию клинического фенотипа LQT3 привели миссенс-мутации (F2004L – 1, A572D – 2, E1784K – 2, S1431R – 1), реализующиеся по типу «gain of function». В результате мутации такого характера нарушается инактивация натриевого канала и формируется персистирующий поздний натриевый ток, отсутствующий в норме. Постоянный приток ионов  $Na^+$  в клетку приводит к неполной реполяризации мембраны и ее гипервозбудимости. Мутации, выявленные у больных с синдромом Бругада, представляют собой мутации сплайсинга, которые реализуются через механизм гаплонедостаточности вследствие деградации мРНК, содержащей

преждевременный стоп-кодон. В результате, несмотря на то что мутантный белок с аномальными свойствами не транслируется, снижение плотности нормальных  $\alpha$ -субъединиц натриевого канала приводит к снижению входящего натриевого тока.

Ниже представлена схема калиевого канала, обеспечивающего медленный ток замедленного выпрямления фазы реполяризации, что важно для поддержания адекватной продолжительности потенциала действия по отношению к ЧСС, а также для поддержания калиевого гомеостаза в эндолимфе внутреннего уха. Полноценно работать канал может только при ассоциации 2 субъединиц:  $\alpha$ -субъединицы калиевого канала, которая кодируется геном *KCNQ1* и  $\alpha$ -субъединицы, которая кодируется геном *KCNE1*.  $\alpha$ -субъединица состоит из 6 трансмембранных доменов (*S1–S6*). Субъединицы ориентированы таким образом, что образуют центральное отверстие (пору) с обращенными внутрь поры доменами *S5* и *S6*. Другим важным компонентом  $K^+$ -канала является потенциалзависимый чувствительный центр, образованный доменом *S4*. Каждая третья аминокислота, входящая в состав домена *S4*, положительно заряжена, что обеспечивает домену суммарный положительный заряд. При деполяризации происходит его перемещение наружу, что вызывает дальнейшие конформационные изменения и приводит к открытию «ворот» канала и его активации. При этом регистрируется выходящий  $K^+$ -ток. Максимальная амплитуда этого тока регистрируется в 4-ю фазу потенциала действия. На схеме показаны мутации, выявленные у разных больных, проходивших лечение в нашем отделении. Каждая из мутаций приводит к изменению свойств белка, и, следовательно, к нарушению калиевой проводимости. Мутация A341V затрагивает важный участок — мембраносвязанный домен *S6*, а мутация R243C — домен *S4*, что приводит к значимому снижению исходящих калиевых токов.

У пациента с мутацией A341V, с неоднократно зафиксированными эпизодами желудочковой тахикардии (ЖТ) типа пируэт был выявлен отягощенный семейный анамнез по внезапной смерти, что повышает вероятность развития этого события у нашего пациента.

У каждого пациента с генетически подтвержденным LQTS или его аллельной формой проводилось выявление фенотипических предикторов ВСС. Одним из таких неблагоприятных фенотипических предикторов является увеличение дисперсии интервала  $Q-T$ , которую мы определяли как разность между максимальным и минимальным значением интервала  $Q-T$  в каждом из 12 стандартных отведений, снятых одновременно.

У большинства пациентов выявлялось увеличение  $Q-Tc$  свыше 440 мс. У больных с мутациями A341V и R243C наблюдалось значительное увеличение значений  $Q-Tc$  и показателей дисперсии интервала  $Q-T$ , что в целом характеризует повышенную готовность миокарда к аритмогенезу. Также к неблагоприятным фенотипическим предикторам относится выявление желудочковых экстрасистол (ЖЭ) высоких градаций по Лауну, поэтому мы проводили оценку частоты выявляемости ЖЭ различных градаций, которые регистрировали при записях суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру и/или во время проведения электрофизиологического исследования.

При проведении сравнительной оценки количества пароксизмов ЖТ, полученных при записи суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру, было выявлено их статистически достоверное увеличение при наличии мутации A341V.

Таким образом, анализ распределения неблагоприятных фенотипических предикторов среди 16 пациентов с генетически подтвержденными 1-м и 5-м типом синдрома показал, что наиболее злокачественно протекают мутации A341V и R243C, что согласуется с литературными данными.

У одного пациента, который поступил к нам с диагнозом «идиопатическая фибрилляция желудочков», с неоднократно перенесенными реанимационными мероприятиями и положительным семейным анамнезом по внезапной смерти, на ЭКГ покоя было зарегистрировано уменьшение скорректированного интервала  $Q-T$ . После генотипирования была верифицирована новая мутация, детерминирующая синдром короткого интервала  $Q-T$ .

Поиск мутаций, ответственных за заболевания, проводился с помощью различных методов ДНК-диагностики. Например, электрофоретическое разделение образцов 6-го экзона проводилось в полиакриламидном геле. Фрагменты перед нанесением на гель обработаны ферментом рестриктазой. Люди, у которых появляется дополнительный фрагмент, имеют мутацию. Представлены результаты прямого секвенирования. Стрелкой указана измененная нуклеотидная последовательность в виде наложения двух пиков разного цвета, приводящая к аминокислотной замене глицина на серин в положении 601.

Среди 32 пациентов в двух (6%) случаях у кровных родственников пробандов произошли дополнительные мутации в ответственных генах. Заболевание у этих родственников отличалось более выраженной клинической симптоматикой. Ни один родственник с двумя мутациями не выжил. По данным Schwartz, Priori (2004 г.); Splawski (2006, 2008 г.) выявление второй мутации встречается в 4,6–7,8% случаев и больные с двумя

мутациями клинически более тяжелые. Таким образом, мы считаем, что выявление второй независимой мутации может рассматриваться как независимый генетический фактор риска внезапной сердечной смерти. Другим независимым генетическим фактором риска внезапной сердечной смерти является выявление у больного известных мутаций или генетических форм, стабильно характеризующихся тяжелым течением (например A341V, R243C в гене *KCNQ1*, синдром Бругада).

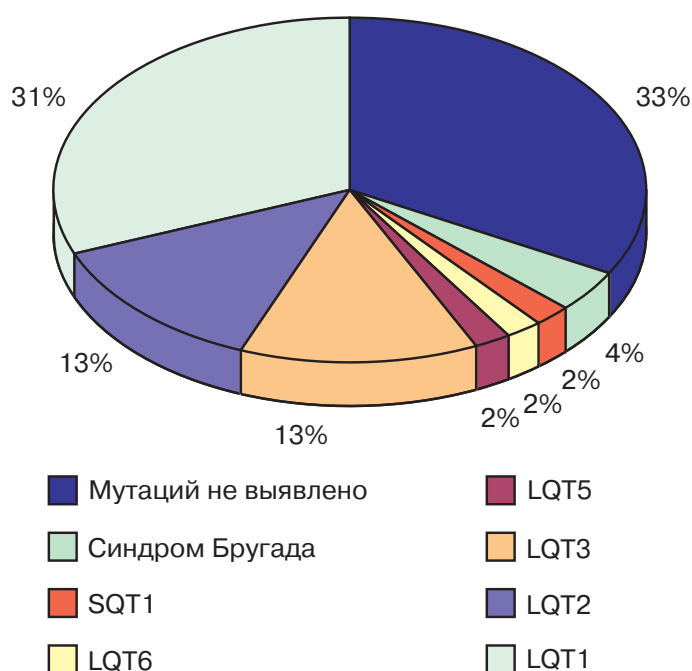
Исходя из результатов генотипирования с учетом неблагоприятных фенотипических предикторов ВСС были прооперированы 32 пациента. Имплантация ЭКС выполнена у 12 пациентов, кардиовертера-дефибриллятора – у 11. У 9 больных использовались дополнительные хирургические пособия. Наблюдались хирургические осложнения: дислокация электрода в двух случаях, нагноение ложа в одном случае при нулевой летальности. В отдаленном послеоперационном периоде отмечено статистически значимое снижение числа пароксизмов ЖТ на фоне физиологического режима стимуляции с повышенной частотой сердечных сокращений и приема антиаритмических препаратов.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что ДНК-диагностика является наиболее информативным методом исследования, позво-

ляющим решать вопросы дифференциальной и пресимптоматической диагностики, а также оптимального выбора хирургического и медикаментозного метода лечения для разных молекулярно-генетических вариантов LQTS и его аллельных форм.

В настоящее время продолжается накопление сведений о конкретных мутациях, детерминирующих различную степень тяжести клинических проявлений. По нашим данным, которые совпадают с данными, опубликованными в литературе, имеются предварительные сведения о том, что одни мутации проявляют себя более злокачественно, чем другие. Возможно, и скорее всего это произойдет в ближайшем будущем, будут разработаны locus-специфичные схемы стратификации риска, основанные или на определенных мутациях, или на их функциональных эффектах. Это позволит в случае выявления у пациента мутации, известной злокачественным течением, применить более агрессивные методы лечения, даже если отсутствуют какие-либо очевидные указания на наличие высокого риска синкопе со стороны наиболее важных фенотипических проявлений заболевания, не дожидаясь первого сердечного эпизода, который может, к глубокому сожалению, закончиться трагическим исходом, самым грозным проявлением LQTS – внезапной сердечной смертью.

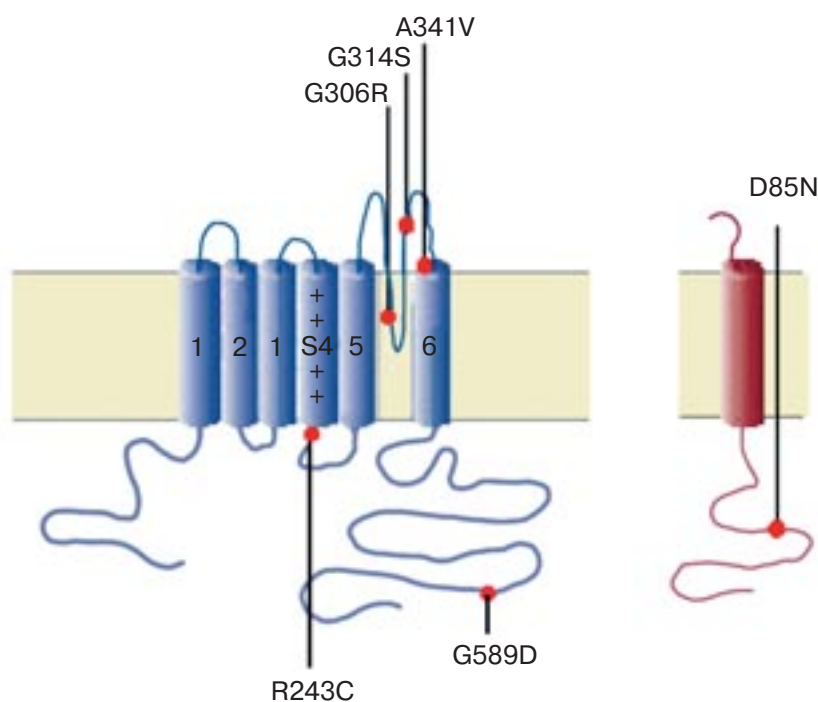
### Доля различных молекулярно-генетических вариантов синдрома удлиненного интервала Q–T и его аллельных форм среди генотипированных пациентов ( $n=48$ )



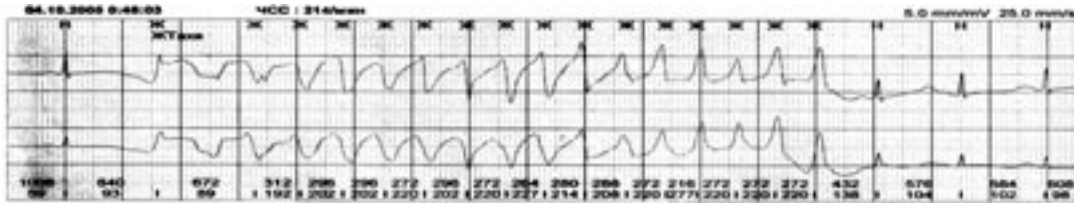
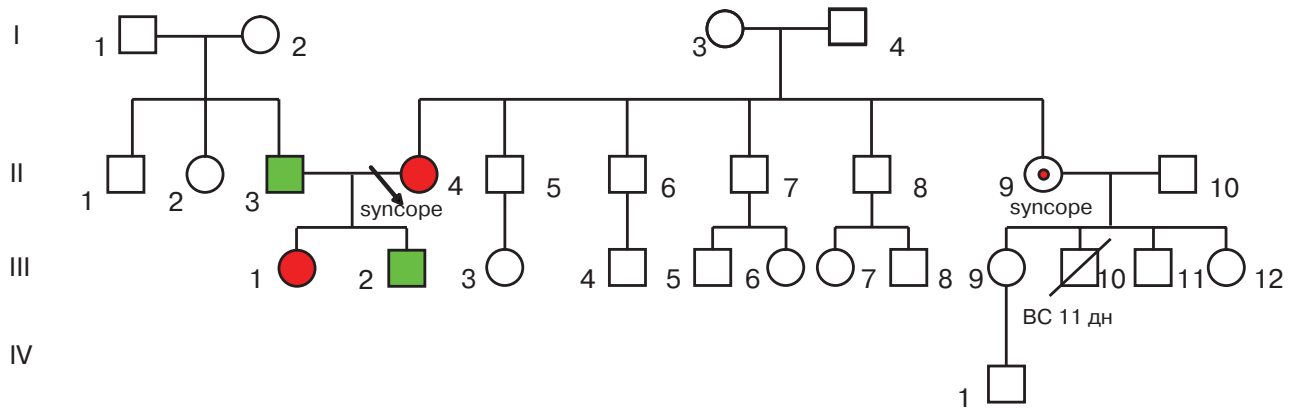
Мутации, выявленные у обследованных пациентов ( $n=32$ )

Ген	Генетическая форма	Мутация	Белковый продукт
<i>KCNQ1</i>	LQT1 – 15 (47%)	G306R – 4 A341V – 5 G314S – 2 G589D – 2 R243C – 2 (Franqueza, 1999)	$\alpha$ -субъединица калиевого канала (IKs)
<i>SCN5A</i>	LQT3 – 6 (19%)	F2004L – 1 A572D – 2 E1784K – 2 S1431R – 1	$\alpha$ -субъединица натриевого канала (INa)
	Синдром Бругада – 2 (6%)	IVS24AS+1G>A – 1 IVS16DS5A>G – 1	
<i>KCNH2</i>	LQT2 – 6 (19%)	P596T – 2 de novo G601S – 3 K638N – 1 de novo	$\alpha$ -субъединица калиевого канала (IKr)
	SQT1 – 1 (3%)	T983I – 1 de novo	
<i>KCNE1</i>	LQT5 – 1 (3%)	D85N – 1 (Tesson et al., 1996)	$\beta$ -субъединица калиевого канала (IKs)
<i>KCNE2</i>	LQT6 – 1 (3%)	T8A – 1 (Abbott, 1999)	$\beta$ -субъединица калиевого канала (IKr)

Схема  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц калиевого канала IKs, кодируемых генами *KCNQ1* (LQT1) и *KCNE1* (LQT5) соответственно, с указанием верифицированных мутаций ( $n=16$ )



### Отягощенный семейный анамнез по внезапной смерти и фрагмент электрокардиограммы пробанда с мутацией A341V в гене KCNQ1



- Мутация не выявлена
- Не обследованы
- Мутация выявлена.  $Q-Tc > 460$  мс
- Мутация выявлена, нет ЭКГ-признаков LQTS/BS
- Умершие

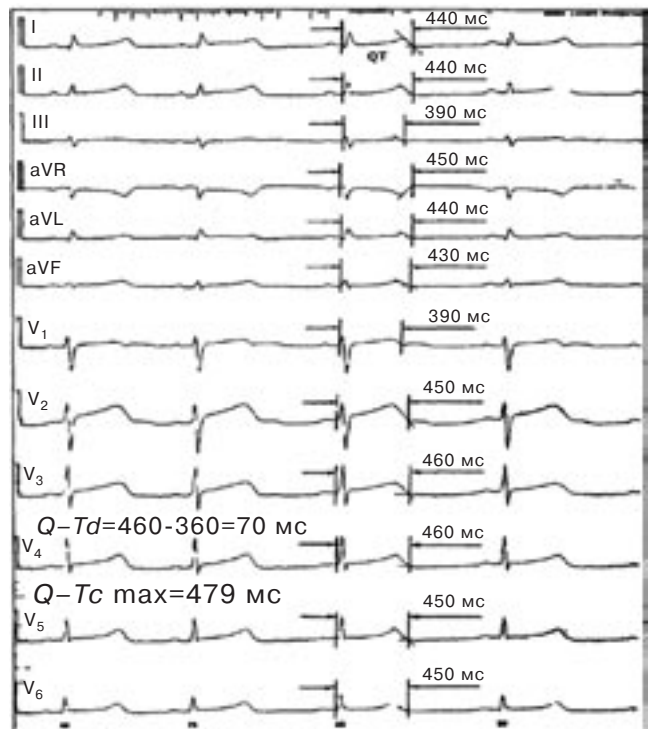
### Пример вычисления дисперсии интервала Q-T

$$(Q-T)d = (Q-T)_{max} - (Q-T)_{min}$$

$$(Q-Tc)d = (Q-Tc)_{max} - (Q-Tc)_{min}$$

Расчет скорректированного интервала Q-T по формуле Базетта

$$Q-Tc = \frac{Q-T, \text{ мс}}{\sqrt{R-R, \text{ с}}}$$



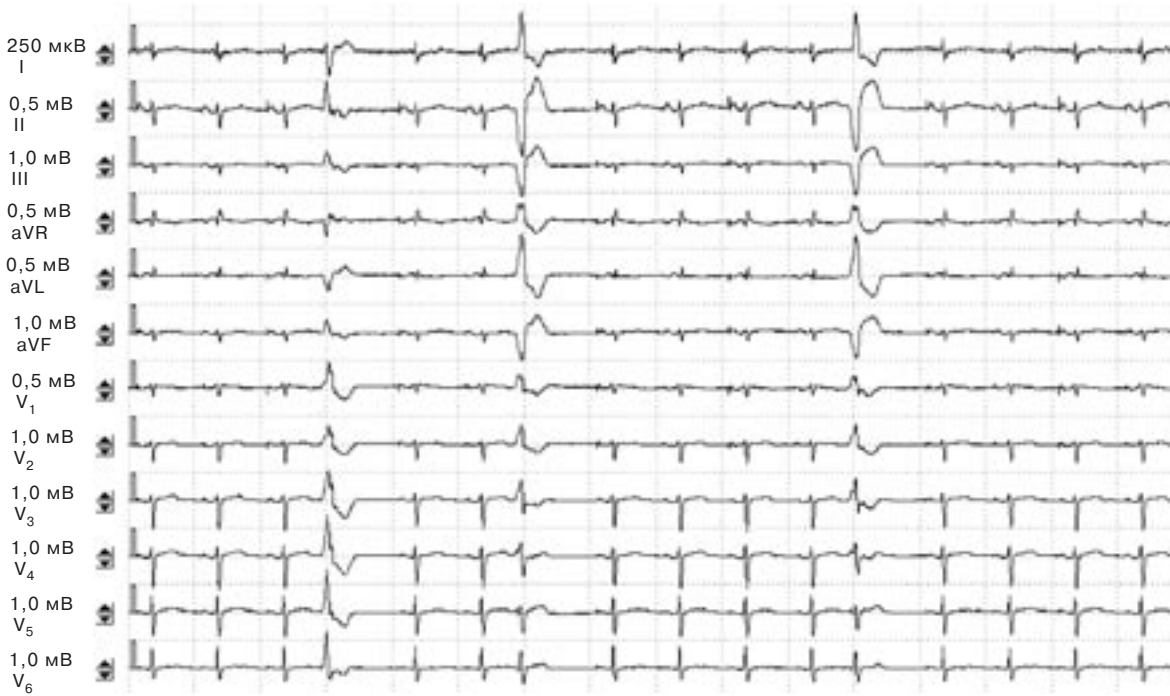


### Электрокардиографический полиморфизм у пациентов с генетически подтвержденным *LQT1* (n=15)

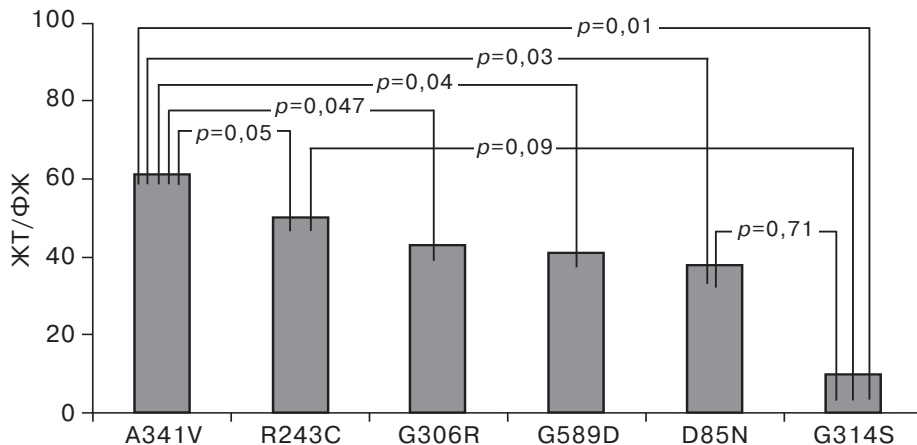
Мутации в гене <i>KCNQ1</i>	Q-T min мс	Q-T max мс	Q-Tc мс	Q-Td мс	Q-Tcd мс
A34IV	437±13	565±16	492±22**	132±24*	107±19
G589D	436±8	456±13	442±9	55±18	59±16
G306R	432±15	492±18	447±16	75±19	65±18
G314S	348±19	445±16	429±18	37±12	22±14
R243C	476±11	565±15	502±19**	106±17	59±18

\* $p < 0,005$   
 \*\* $p < 0,001$

### Политопная желудочковая экстрасистолия (ЗАС и 1MS по Kuchar)



### Анализ статистической достоверности различий в количестве эпизодов ЖТ/ФЖ среди пациентов с *LQT1* и *LQT5* (n=16)

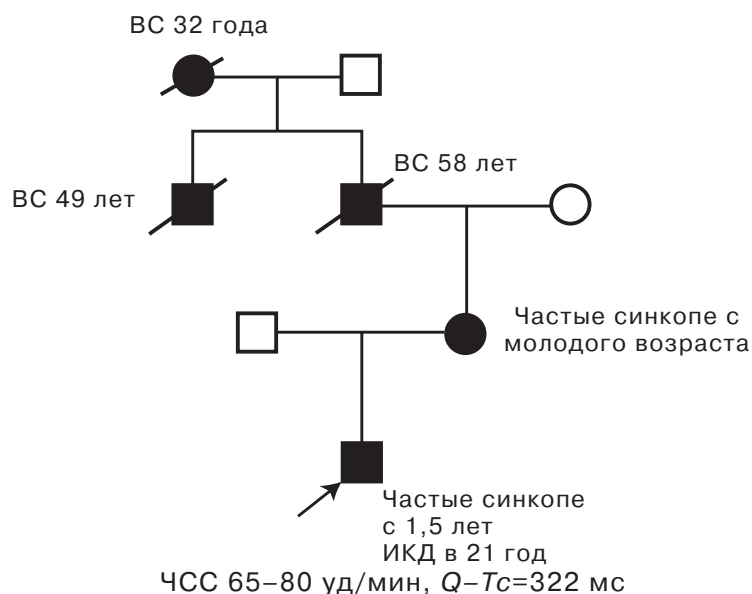
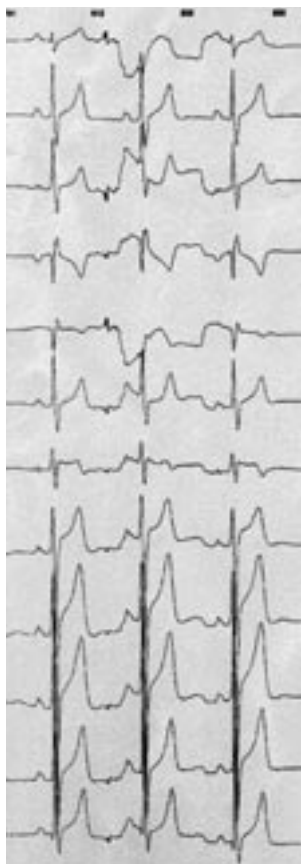


### Оценка риска ВВС: выявление мутаций, приводящих к тяжелому течению заболевания среди пациентов с LQT1 ( $n=15$ )

Клинические особенности больных с выявленными мутациями в гене <i>KCNQ1</i>	G306R	G314S	A341V	G589D	R243C
$Q-Tc > 440$ мс	4 (100%)	1 (50%)	<b>5 (100%)</b>	1 (50%)	<b>2 (100%)</b>
$Q-Td$ , мс	75±19	37±12	<b>132±24</b>	55±18	<b>106±17</b>
Синусовая брадикардия	3 (75%)	1 (50%)	<b>5 (100%)</b>	2 (100%)	<b>1</b>
Клиническая смерть в анамнезе	2 (50%)	0	<b>4 (80%)</b>	1 (50%)	<b>2 (100%)</b>
ЖТ/ФЖ	2 (50%)	0	<b>4 (80%)</b>	1 (50%)	<b>2 (100%)</b>
ЖЭ высоких градаций	1 (25%)	0	<b>2 (40%)</b>	1 (50%)	<b>1 (50%)</b>
Альтернация зубца Т	2 (50%)	1 (50%)	<b>4 (80%)</b>	0	<b>2 (100%)</b>
Ригидность циркадного ритма	3 (75%)	0	<b>3 (60%)</b>	0	<b>1 (50%)</b>
ВСС в семье	–	–	+	–	+
Резистентность к ААТ	1 (25%)	0	<b>4 (80%)</b>	0	<b>2 (100%)</b>

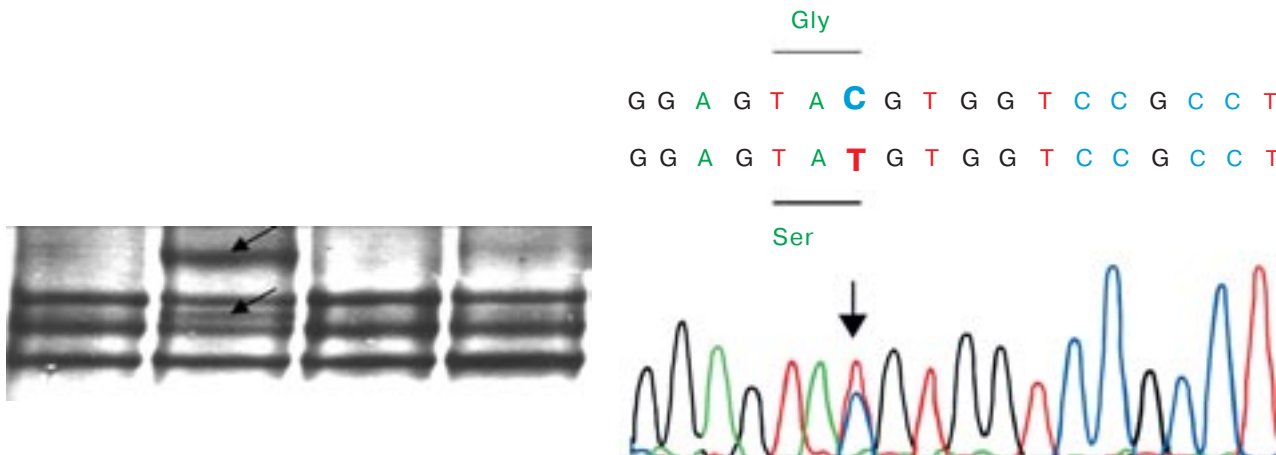
### Идиопатическая фибрилляция желудочков или SQTs?

Верифицирована новая мутация **T9831** в гене *KCNH2*, ответственная за синдром короткого интервала  $Q-T$

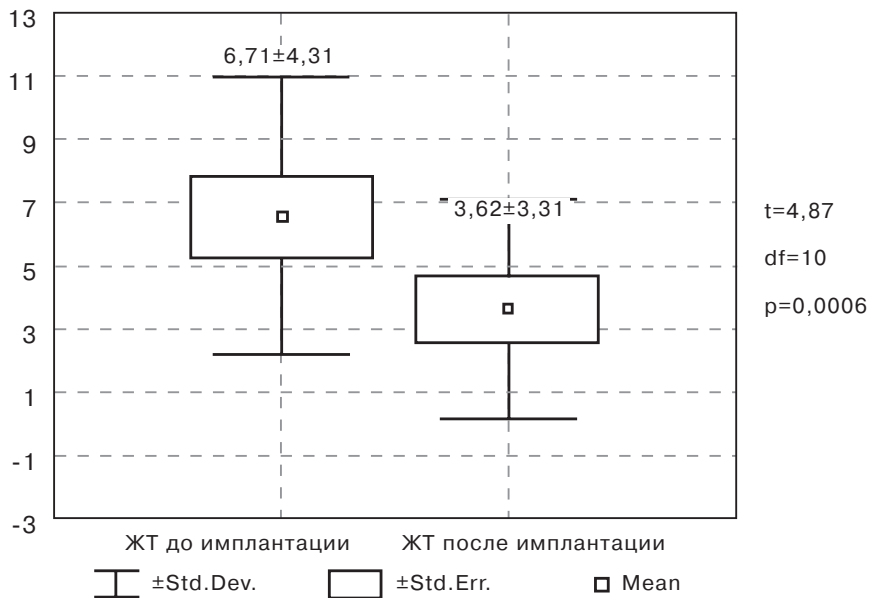


### Фрагмент полиакриламидного геля с результатами рестрикционного анализа 6-го экзона гена *KCNH2* (LQT2)

Прямое секвенирование фрагмента 6-го экзона гена *KCNH2* с измененной электрофоретической подвижностью, выявляющее мутацию G601S\*



Снижение среднего числа пароксизмов ЖТ на фоне стимуляции в физиологическом режиме и ААТ у пациентов с каналопатиями после имплантации КВД



Период наблюдения от 7 до 96 мес (59,2±37,4 мес)