

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

  
Е.Л.Богдан

«31» 03 2021 г.

Регистрационный № 198 - 1220

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ  
ДРУГИХ УТОЧНЕННЫХ НАРУШЕНИЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА  
(СИНДРОМ УДЛИНЕННОГО ИНТЕРВАЛА QT, СИНДРОМ  
БРУГАДА)**

(инструкция по применению)

**УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:**

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

**АВТОРЫ:** д.м.н., доцент С.М. Комиссарова, к.б.н. Н.Н. Чакова, С.С. Ниязова, к.б.н. Т.В. Долматович, к.м.н. Е.С. Ребеко

Минск 2020

## **ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

СМ ЭКГ – суточное мониторирование ЭКГ

ЖТ – желудочковая тахикардия

ФЖ – фибрилляция желудочков

LQTS – синдром удлиненного интервала QT

QTc – скорректированный интервал QT

BrS – синдром Бругада

NGS – высокопроизводительное секвенирование

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод определения вероятности развития других уточненных нарушений сердечного ритма (синдром удлиненного интервала QT, синдром Бругада), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику наследственных нарушений ритма.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-кардиологов, врачей-терапевтов, врачей-аритмологов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с нарушениями сердечного ритма в амбулаторных и стационарных условиях.

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ И МАТЕРИАЛОВ**

1. Электрокардиограф.
2. Аппарат для проведения суточного мониторирования ЭКГ (СМ ЭКГ).
3. Шкала Шварца.
4. Термостат.
5. Морозильная камера на  $-20^{\circ}\text{C}$ .
6. Медицинская центрифуга.
7. Микроцентрифуга.
8. Флуориметр Quantus.
9. Амплификатор.
10. Автоматические пипетки переменного объема.
11. Шейкер.
12. Секвенатор нового поколения, предназначенный для

высокопроизводительного секвенирования (NGS).

13. Хлорид натрия (NaCl).
14. Дигидрат динатриевой соли (Na<sub>2</sub>EDTA).
15. Гидроксид натрия (NaOH).
16. Неионное поверхностно активное вещество Triton X-100.
17. Хлорид магния (MgCl<sub>2</sub>).
18. Сахароза.
19. Раствор SDS.
20. Протеиназа К.
21. Смесь фенол-хлороформ-изоамиловый спирт.
22. Хлороформ.
23. Этиловый спирт.
24. Деионизированная вода.
25. Набор реагентов для NGS, включающий праймеры для кодирующих последовательностей генов *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *ANK2*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *CACNA1C*, *CAV3*, *SCNB4*, *AKAP9*, *SNTA1*, *KCNJ5*, *CALM1*, *CALM2*, *GPD1L*, *CACNB2b*, *CACNA2D1*, *KCNE3*, *KCNE5*, *KCND3*, *KCNJ8*, *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B*, *ABCC9*, *SLMAP*, *PKP2* и *RANGRF*, кодирующих субъединицы ионных каналов и ассоциированные с ними белки.

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Другие уточненные нарушения сердечного ритма (149.8):

- Синдром Бругада (BrS)
- Синдром удлиненного интервала QT (LQTS)

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Нет

## ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

### 1. Синдром удлиненного интервала QT

1.1 Этап – определение длительности интервала  $QT_c \geq 480$  мс на серии ЭКГ в 12 отведениях (при отсутствии вторичных причин удлинения интервала QT) или оценка риска LQTS по шкале Шварца  $> 3$  балла.

Предпочтительно производить измерения длительности интервала QT в отведениях II и V5 на ЭКГ-12. Волна U должна быть исключена из анализа, если она отличается и меньше по амплитуде волны T (однозначным основанием для исключения является наличие изолинии между волнами T и U и величина амплитуды волны U менее  $\frac{1}{2}$  амплитуды T-волны) (рис.1).

Определение длительности интервала  $QT_c \geq 460$  мс на серии ЭКГ-12 у пациента с необъяснимыми обмороками при отсутствии вторичных причин удлинения интервала QT или документированных ЖТ/ФЖ.

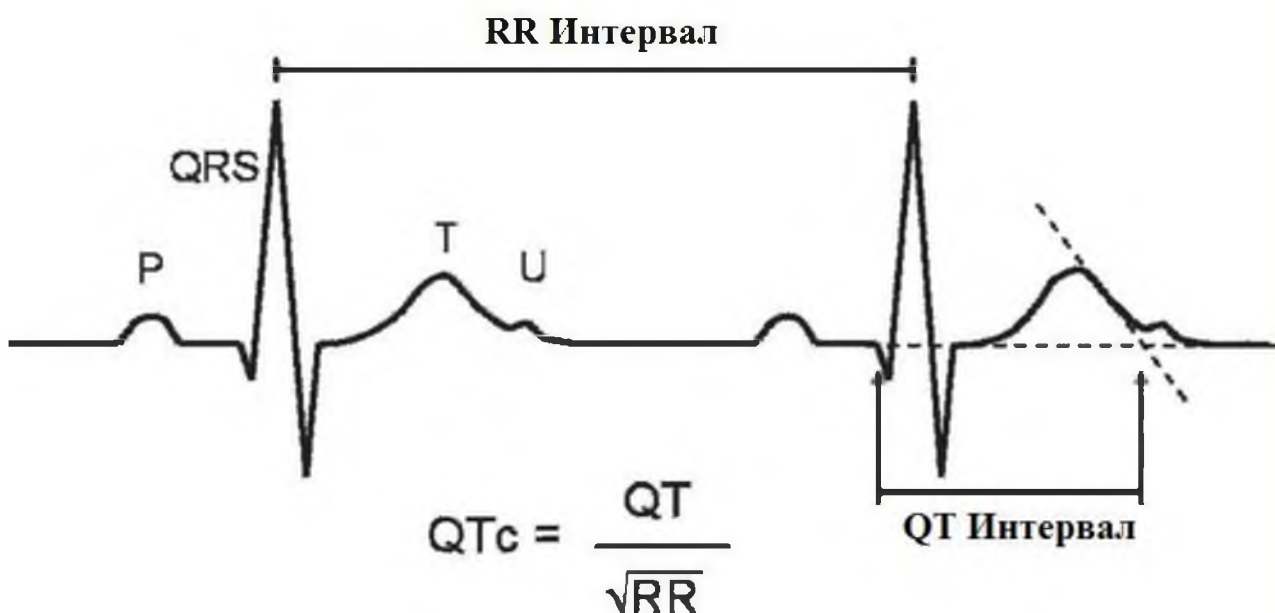


Рисунок 1 – Определение длительности интервала  $QT_c$

1.2 Этап – выявление одной или нескольких диагностически-значимых мутаций в одном или более генов, кодирующих субъединицы ионных каналов и ассоциированные с ними белки, с использованием метода высокопроизводительного секвенирования (NGS-технология) и при наличии мутации определение типа LQTS (таблица 1).

Таблица 1 – Соответствие типа LQTS обнаруженным мутациям в генах, ассоциированных с развитием синдрома удлиненного интервала QT

Типы LQTS	Хромосома	Ген/Протейн	Ионный канал	Частота встречаемости у пациентов с LQTS в мире	Частота встречаемости у белорусских пациентов
LQTS1	11	<i>KCNQ1, KvLQT1</i>	↓IKs	30–35%	28%
LQTS2	7	<i>KCNH2, HERG</i>	↓IKr	20–25%	16%
LQTS3	3	<i>SCN5A, Nav1.5</i>	↑Late INa	5–10%	4%
LQTS4	4	<i>ANK2, Ankyrin-B</i>	↑Cai, ↑Late INa	1–2%	4%
LQTS5	21	<i>KCNE1, MinK</i>	↓IKs	1%	0%
LQTS6	21	<i>KCNE2, MiRP1</i>	↓IKr	1%	0%
LQTS7*	17	<i>KCNJ2, Kir 2.1</i>	↓IK1	<1%	0%
LQTS8**	12	<i>CACNA1C, Cav1.2</i>	↑ICa	<1%	7%
LQTS9	3	<i>CAV3, Caveolin-3</i>	↑Late INa	<1%	0%
LQTS10	11	<i>SCN4B, NavB4</i>	↑Late INa	<1%	0%
LQTS11	7	<i>AKAP9, Yotiao</i>	↓IKs	<1%	2%
LQTS12	20	<i>SNTA1, <math>\alpha 1</math> Syntrophin</i>	↑Late INa	<1%	2%
LQTS13	11	<i>KCNJ5, Kir 3.4</i>	↓IK-ACh	<1%	0%
LQTS14	14	<i>CALM1, Calmodulin</i>		<1%	0%
LQTS15	2	<i>CALM2, Calmodulin</i>		<1%	0%

\* - Синдром Андерсена-Тавила; \*\* - Синдром Тимоти

Последовательность проведения генетического тестирования:

1.2.1 провести забор венозной крови в объеме 2,0 мл в вакутайнер или в стерильную пробирку, содержащие цитрат натрия. На этикетке должны быть указаны шифр пациента и дата забора крови;

1.2.2 выделить ДНК фенол-хлороформным методом с последующей очисткой ДНК спиртами согласно стандартному протоколу или любым другим способом с использованием готовых наборов реагентов для выделения ДНК;

1.2.3 измерить концентрацию 2х-цепочечной ДНК и довести концентрацию ДНК сначала до значения 10 мкг/мл, а затем – 5 мкг/мл;

1.2.4 осуществить пробоподготовку, включающую этапы тагментации, обогащения, амплификации и очистки геномной ДНК согласно протоколу производителя;

1.2.5 провести валидацию подготовленной библиотеки с использованием горизонтального электрофореза в 1,5-2% агарозном геле и измерения ее концентрации на флуориметре;

1.2.6 разбавить библиотеку до концентрации 1,25 нМ, добавить контрольную библиотеку PhiX (2%), поместить в ячейку картриджа с реагентами для секвенирования;

1.2.7 установить картридж с подготовленной библиотекой в полногеномный секвенатор Miseq (Illumina, США), загрузить все данные об образцах в программное обеспечение секвенатора и провести секвенирование;

1.2.8 проаннотировать полученные результаты секвенирования с использованием специального программного обеспечения ANNOVAR, позволяющего оценить патогенность выявленного генетического варианта на основе баз данных dbSNP, 1000genomes, GWAS, HGMD, и предсказательных модулей Polyphen2, SIFT и MutationTaster;

1.2.9 установить наличие мутации, ответственной за развитие синдрома удлинённого интервала QT.

1.3 Этап – определение вероятности развития синдрома удлиненного интервала QT

1.3.1 Высокая вероятность (100%):

длительность интервала QTс $\geq$ 480 мс;

- количество баллов по шкале Шварца > 3 баллов;
- длительность интервала QTс $\geq$ 460мс у пациентов с необъяснимыми синкопальными состояниями или документированной ЖТ/ФЖ;
- наличие диагностически-значимой мутации в одном из генов, ответственных за развитие LQTS (табл.1).

1.3.2. Низкая вероятность (<50%):

– длительность интервала QTс<460 мс при отсутствии синкопальных состояний и документированной ЖТ/ФЖ;

– отсутствие диагностически-значимой мутации в одном из генов, ответственных за развитие LQTS (табл.1).

## 2. Синдром Бругада

2.1 Этап – регистрация подъема сегмента ST $\geq$ 2 мм на ЭКГ-12 с морфологией типа 1 в одном или более правых прекардиальных отведениях (специфично в V1 и/или V2), расположенных в четвертом межреберном промежутке или на 1-2 межреберья выше, который возникает спонтанно или во время теста с провокацией блокаторами натриевых каналов (при внутривенном введении прокаинамида гидрохлорида). Тип 1 синдрома Бругада (согласно критериям консенсуса 2013г. HRS/EHRA/APHRS) характеризуется восходящим подъемом сегмента ST $\geq$ 2 мм с последующим вогнутым или прямолинейным спуском с формированием инвертированной и симметричной T-волны (сводчатый тип) без четкой волны r'. Снижение амплитуды ST на расстоянии 40 мсек от вершины зубца



$T \leq 4$  мм; высота ST в точке, отстоящей от вершины зубца T на 40 мсек больше, чем в точке, отстоящей от вершины зубца T на 80мсек (рис.2).



Рисунок 2 – «Сводчатый» паттерн BrS (тип1)

2.2 Этап – выявление одной или нескольких диагностически-значимых мутаций в одном или более генов, кодирующих субъединицы ионных каналов и ассоциированные с ними белки, методом высокопроизводительного секвенирования (NGS-технология) и при наличии мутации определение варианта синдрома Бругада (таблица 2).

Таблица 2 – Соответствие типа синдрома Бругада обнаруженным мутациям в генах, ассоциированные с развитием данной патологии

Тип BrS	Хромо-сома	Ген/Протеин	Ионный канал	Частота встречаемости у пациентов с BrS в мире	Частота встречаемости у белорусских пациентов
BrS1	3	<i>SCN5A, Nav1.5</i>	↓ I <sub>Na</sub>	11–28%	21%
BrS2	3	<i>GPD1L</i>	↓ I <sub>Na</sub>	<1%	0%
BrS3	12	<i>CACNA1C, Ca<sub>v</sub>1.2</i>	↓ I <sub>Ca</sub>	7%	0%
BrS4	10	<i>CACNB2b, Ca<sub>v</sub>β2b</i>	↓ I <sub>Ca</sub>	5%	0%
BrS5	191	<i>SCN1B, Navβ1</i>	↓ I <sub>Na</sub>	1%	4%

BrS6	11	<i>KCNE3, MiRP2</i>	↑ I <sub>to</sub>	<1%	0%
BrS7	11	<i>SCN3B, Na<sub>v</sub>β3</i>	↓ I <sub>Na</sub>	<1%	0%
BrS8	12	<i>KCNJ8, Kir6.1</i>	↑ I <sub>K-ATP</sub>	2%	4%
BrS9	7	<i>CACNA2D1, Ca<sub>v</sub>α2δ</i>	↓ I <sub>Ca</sub>	2%	0%
BrS10	1	<i>KCND3, K<sub>v</sub>4.3</i>	↑ I <sub>to</sub>	<1%	0%
BrS11	17	<i>RANGRF, MOG1</i>	↓ I <sub>Na</sub>	<1%	0%
BrS12	3	<i>SLMAP</i>	↓ I <sub>Na</sub>	<1%	0%
BrS13	12	<i>ABCC9, SUR2A</i>	↑ I <sub>K-ATP</sub>	<1%	0%
BrS14	11	<i>SCN2B, Na<sub>v</sub>β2</i>	↓ I <sub>Na</sub>	<1%	0%
BrS15	12	<i>PKP2, Plakophilin-2</i>	↓ I <sub>Na</sub>	<1%	0%
BrS16	3q28	<i>FGF12, FHAF1</i>	↓ I <sub>Na</sub>	<1%	0%
BrS17	3p22.2	<i>SCN10A, Na<sub>v</sub>1.8</i>	↓ I <sub>Na</sub>	17%	4%

## 2.3 Этап – определение вероятности развития синдрома Бругада

### 2.3.1. Высокая вероятность (100%):

– подъем сегмента ST при морфологии тип 1  $\geq 2$  мм в  $\geq 1$  правом прекардиальном отведении V1, V2, расположенных во 2м, 3м или 4м межреберных промежутках, возникающий либо спонтанно, либо после провокационного теста с внутривенным введением антиаритмических препаратов 1С класса;

– подъем сегмента ST при морфологии тип 2 в  $\geq 1$  правом прекардиальном отведении V1, V2, расположенных во 2м, 3м или 4м межреберных промежутках, когда провокационный тест с внутривенным введением антиаритмических препаратов 1С класса индуцирует тип 1 морфологию на ЭКГ;

– наличие диагностически-значимой мутации в одном из генов, ответственных за развитие BrS (табл.2).

### 2.3.2. Низкая вероятность (<50%):

- отсутствие подъема сегмента ST  $\geq 2$  мм на ЭКГ-12 с морфологией типа 1 либо тип 2 в одном или более правых прекардиальных отведениях;
- отсутствие диагностически-значимой мутации в одном из генов, ответственных за развитие BrS (табл.2).

## **ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ МЕТОДА**

Нет