

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

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Е. Л. Богдан

31.03.2021

Регистрационный № 198-1220

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

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр “Кардиология”», ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, доц. С. М. Комиссарова, канд. биол. наук Н. Н. Чакова, С. С. Ниязова, канд. биол. наук Т. В. Долматович, канд. мед. наук Е. С. Ребеко

Минск 2020

Список сокращений

- 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 НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Электрокардиограф.
2. Аппарат для СМ ЭКГ.
3. Шкала Шварца.
4. Термостат.
5. Морозильная камера на -20 °С.
6. Медицинская центрифуга.
7. Микроцентрифуга.
8. Флуориметр Quantus.
9. Амплификатор.
10. Автоматические пипетки переменного объема.
11. Шейкер.
12. Секвенатор нового поколения для высокопроизводительного секвенирования (NGS).
13. Хлорид натрия (NaCl).
14. Дигидрат динатриевой соли (Na₂EDTA).
15. Гидроксид натрия (NaOH).
16. Неионное поверхностно активное вещество Triton X-100.
17. Хлорид магния (MgCl₂).
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 (МКБ-10: I49.8):
синдром Бругада (BrS);
синдром удлиненного интервала QT (LQTS).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Синдром удлиненного интервала QT

Этап 1.1 — определение длительности интервала QTc ≥ 480 мс на серии ЭКГ в 12 отведениях (при отсутствии вторичных причин удлинения интервала QT) или оценка риска LQTS по шкале Шварца >3 баллов

Предпочтительно измерять длительность 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) (рисунок 1).

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

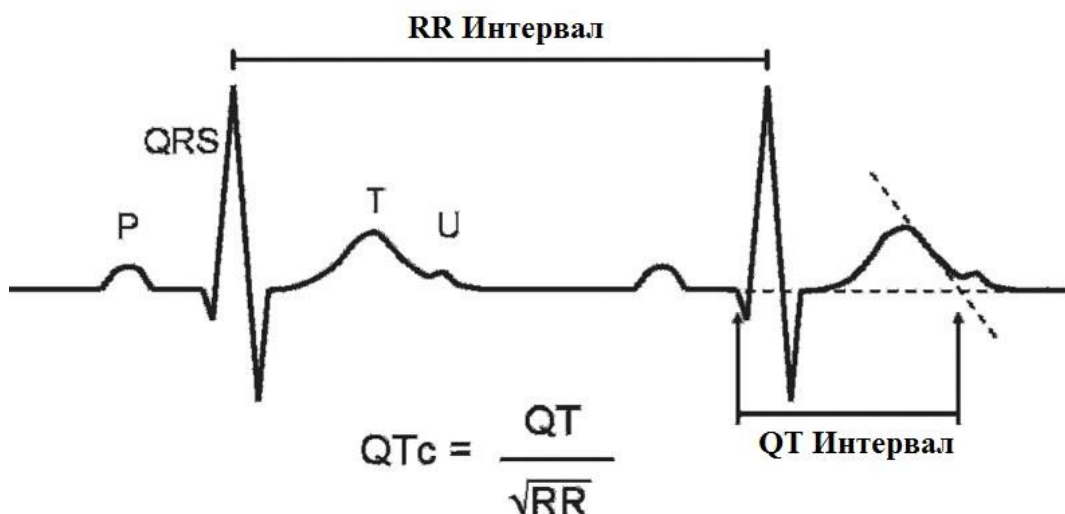


Рисунок 1. — Определение длительности интервала QTc

Этап 1.2 — 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/протеин | 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, Yataio</i> | ↓IKs | <1 | 2 |
| LQTS12 | 20 | <i>SNTA1, a1 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 — Тавиля;

** — синдром Тимоти.

Последовательность проведения генетического тестирования:

1.2.1 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 2-цепочечной ДНК и довести концентрацию ДНК сначала до значения 10 мкг/мл, а затем до 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 выполнить 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 удлиненного интервала QT.

Этап 1.3 — определение вероятности развития синдрома удлиненного интервала QT

1.3.1 высокая вероятность (100 %):

длительность интервала QTc ≥ 480 мс;

количество баллов по шкале Шварца > 3 баллов;

длительность интервала QTc ≥ 460 мс у пациентов с необъяснимыми синкопальными состояниями или документированной ЖТ/ФЖ;

наличие диагностически значимой мутации в одном из генов, ответственных за развитие LQTS (таблица 1);

1.3.2. низкая вероятность (< 50 %):

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

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

Синдром Бругада

Этап 2.1 — регистрация подъема сегмента ST ≥ 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 2013 г. HRS/EHRA/APQRS) характеризуется восходящим подъемом сегмента ST ≥ 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 мс от вершины зубца T ≤ 4 мм; высота ST в точке, отстоящей от вершины зубца T на 40 мс больше, чем в точке, отстоящей от вершины зубца T на 80 мс (рисунок 2).



Рисунок 2. — «Сводчатый» паттерн BrS (тип 1)

Этап 2.2 — 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, Na_v1.5</i> | ↓ I _{Na} | 11–28 | 21 |
| BrS2 | 3 | <i>GPD1L</i> | ↓ I _{Na} | <1 | 0 |
| BrS3 | 12 | <i>CACNA1C, Ca_v1.2</i> | ↓ I _{Ca} | 7 | 0 |
| BrS4 | 10 | <i>CACNB2b, Ca_vβ2b</i> | ↓ I _{Ca} | 5 | 0 |
| BrS5 | 191 | <i>SCN1B, Na_vβ1</i> | ↓ I _{Na} | 1 | 4 |
| BrS6 | 11 | <i>KCNE3, MiRP2</i> | ↑ I _{to} | <1 | 0 |
| BrS7 | 11 | <i>SCN3B, Na_vβ3</i> | ↓ I _{Na} | <1 | 0 |
| BrS8 | 12 | <i>KCNJ8, Kir6.1</i> | ↑ I _{K-ATP} | 2 | 4 |
| BrS9 | 7 | <i>CACNA2D1, Ca_vα2δ</i> | ↓ I _{Ca} | 2 | 0 |
| BrS10 | 1 | <i>KCND3, K_v4.3</i> | ↑ I _{to} | <1 | 0 |
| BrS11 | 17 | <i>RANGRF, MOG1</i> | ↓ I _{Na} | <1 | 0 |
| BrS12 | 3 | <i>SLMAP</i> | ↓ I _{Na} | <1 | 0 |
| BrS13 | 12 | <i>ABCC9, SUR2A</i> | ↑ I _{K-ATP} | <1 | 0 |
| BrS14 | 11 | <i>SCN2B, Na_vβ2</i> | ↓ I _{Na} | <1 | 0 |
| BrS15 | 12 | <i>PKP2, Plakophilin-2</i> | ↓ I _{Na} | <1 | 0 |
| BrS16 | 3q28 | <i>FGF12, FHAF1</i> | ↓ I _{Na} | <1 | 0 |
| BrS17 | 3p22.2 | <i>SCN10A, Na_v1.8</i> | ↓ I _{Na} | 17 | 4 |

Этап 2.3 — определение вероятности развития синдрома Бругада

2.3.1. высокая вероятность (100 %):

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

подъем сегмента ST при морфологии тип 2 в ≥ 1 правом прекардиальном отведении V1, V2, расположенных во 2, 3 или 4 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 (таблица 2);

2.3.2. низкая вероятность (<50 %):

отсутствие подъема сегмента ST ≥ 2 мм на ЭКГ-12 с морфологией типа 1 либо типа 2 в одном или более правых прекардиальных отведениях;

отсутствие диагностически значимой мутации в одном из генов, ответственных за развитие BrS (таблица 2).

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Отсутствуют.