



# **Mat á áhrifum stökkbreytingar í SCN5A í tengslum við Brugada heilkenni á Íslandi**

Daníel Hrafn Magnússon

**Ritgerð til B.S. gráðu  
Háskóli Íslands  
Læknadeild  
Heilbrigðisvísindasvið**



**HÁSKÓLI ÍSLANDS**  
LÆKNAEILD

Ritgerð þessi er til BS gráðu í læknisfræði og er óheimilt að afrita ritgerðina á nokkurn hátt nema með leyfi rétthafa.

© Daniel Hrafn Magnússon 2019

Prentun: Háskólaprent

# Ágrip

## Mat á áhrifum stökkbreytingar í SCN5A í tengslum við Brugada heilkenni á Íslandi

Daníel Hrafn Magnússon<sup>1</sup>, Garðar Sveinbjörnsson<sup>2</sup>, Davíð O. Arnar<sup>2,3</sup>, Hilma Hólm<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Læknadeild Háskóla Íslands, <sup>2</sup> Íslensk erfðagreining, <sup>3</sup> Landspítali háskólasjúkrahús

### Inngangur:

Brugada heilkenni er ættgengur sjúkdómur sem veldur truflun á raflífeðlisfræðilegri starfsemi hjartans og eykur áhættu á skyndidauða. Algengasta orsök sjúkdómsins eru stökkbreytingar í SCN5A geninu. Arfberar stökkbreytingar sem valda Brugada heilkenni eru oft einkennalausir og algengt er að fyrsta einkenni þeirra sé hjartastopp. Á Íslandi hafa örfáir verið grunaðir um að hafa sjúkdóminn en ekkert tilfelli verið staðfest með erfðarannsókn. Markmið þessarar rannsóknar var að kanna hvort sjaldgæf íslensk stökkbreyting í SCN5A veldur Brugada heilkenni á Íslandi.

### Efni og Aðferðir:

Rannsóknarþýðið samanstóð af Íslendingum sem hafa gefið lífsýni til Íslenskrar erfðagreiningar til erfðarannsókna. Við notuðum Íslendingabók til að rekja skyldleika þeirra einstaklinga sem höfðu stökkbreytingu í SCN5A geninu. Með upplýsingum úr 434.000 hjartalínuritum frá LSH gátum við skoðað fylgni stökkbreytingarinnar við hjartalínuritsbreytur. Upplýsingar um útskriftargreiningar hjartasjúkdóma frá LSH voru notaðar til að skoða fylgni stökkbreytingarinnar við hjartasjúkdóma. Til að meta hvort stökkbreytingin valdi Brugada heilkenni var svipgerðarupplýsingum úr sjúkraskrá safnað fyrir arfbera stökkbreytingarinnar. 28 fjölskyldumeðlimir arfbera, sem ekki höfðu stökkbreytinguna, voru notaðir sem viðmið.

### Niðurstöður:

Við fundum 34 einstaklinga sem höfðu stökkbreytinguna c.3838-3 C>G í SCN5A geninu. Tíðni samsætunnar er 0,009% og því ætti stökkbreytingin að finnast hjá einum af hverjum 5.555 Íslendingum. Stökkbreytingin hefur fylgni ( $P < 2,5 \times 10^{-6}$ ) við lengd P bylgju, PR bils og S bylgju. Meðallengd PR bils og QRS bils var 30,0 ms ( $P = 4.8 \times 10^{-6}$ ) og 18,3 ms ( $P = 3.5 \times 10^{-4}$ ) lengra hjá arfberum stökkbreytingarinnar en hjá einstaklingum án stökkbreytingarinnar. Stökkbreytingin hefur einnig fylgni við skyndidauða ( $P = 0,027$ ). Upplýsingar úr sjúkraskrá leiddu í ljós að fjórir af 34 arfberum (11,8%) höfðu látist skyndidauða samanborið við einn af 28 í viðmiðunarhóp (3,6%). Hjartalínurit voru aðgengileg fyrir 26 arfbera og 18 viðmið. Brugada mynstur af gerð 1 sást í hvorugum hópnum. Tveir arfberar (7,7%) höfðu Brugada mynstur af gerð 2 samanborið við engan í viðmiðunarhópnum.

### Ályktanir:

Í þessari rannsókn sýndum við að sjaldgæf íslensk stökkbreyting í SCN5A hefur áhrif á rafleiðni í hjartavef og veldur lengingu á bæði PR bili og QRS bili. Niðurstöður rannsóknarinnar benda til þess að stökkbreytingin valdi líklega Brugada heilkenni, en frekari rannsóknir þarf til staðfesta þau tengsl.

## **Þakkir**

Ég vil þakka leiðbeinanda mínum, Hilmu Hólm, fyrir tækifæri til að fá að vinna að þessu spennandi rannsóknarverkefni og fyrir ómetanlega aðstoð, fræðslu og leiðsögn. Ég vil þakka meðleiðbeinanda mínum, Garðari Sveinbjörnssyni fyrir mikla aðstoð við úrvinnslu gagna og hjálp við framsetningu á niðurstöðum. Davíð O. Arnar, meðleiðbeinandi minn fær þakkir fyrir aðstoð og leiðsögn við úrlestur hjartalínurita. Að lokum vil ég þakka samnemendum og leiðbeinendum í föstudagshópnum í Íslenskri erfðagreiningu fyrir stuðning og ráðleggingar.

# Efnisyfirlit

<i>Ágrip</i> .....	1
<i>Þakkir</i> .....	1
<i>Efnisyfirlit</i> .....	3
<i>Myndaskrá</i> .....	5
<i>Töfluskrá</i> .....	5
1 <i>Inngangur</i> .....	6
1.1 Frumkomnar raflífeðlisfræðilegar raskanir .....	6
1.2 Brugada heilkenni .....	7
1.3 Meðferð við Brugada heilkenni .....	8
1.4 Erfðafræði Brugada heilkennis.....	9
1.5 Meinmyndun Brugada heilkennis.....	11
1.6 Víðtæk erfðamengisleit .....	11
1.7 Íslensk erfðagreining .....	12
2 <i>Markmið</i> .....	13
3 <i>Efni og aðferðir</i> .....	14
3.1 Rannsóknarhópur .....	14
3.2 Arfgerðar- og ættfræðiupplýsingar .....	14
3.3 Tölfræðiþróf.....	14
3.4 Svipgerðarupplýsingar .....	15
3.5 Leyfi .....	15
4 <i>Niðurstöður</i> .....	16
4.1 Stökkbreyting í SCN5A .....	16
4.2 Fylgni stökkbreytingar við hjartalínuritsbreytur.....	18
4.3 Fylgni stökkbreytingar við hjarta- og æðasjúkdóma.....	18
4.4 Áhrif stökkbreytingar á rafleiðni í hjarta.....	19
4.5 Svipgerð arfbera .....	20
5 <i>Umræða</i> .....	22
5.1 SCN5A.....	22
5.2 Áhrif stökkbreytingar á rafleiðni í hjartavef.....	23
5.3 Svipgerð arfbera .....	24

5.4	Nýting arfgerðarupplýsinga .....	25
5.5	Styrkleikar og takmarkanir .....	25
5.6	Næstu skref.....	25
5.7	Ályktanir .....	26
<i>Heimildaskrá</i> .....		<i>27</i>

## Myndaskrá

<b>Mynd 1:</b> Hjartalínurit í Brugada heilkenni.....	8
<b>Mynd 2:</b> Staðsetning c.3838-3 C > G.....	16
<b>Mynd 3:</b> Skyldleiki arfbera.....	17
<b>Mynd 4:</b> Áhrif c.3838-3 C > G á rafleiðni í hjarta.....	19
<b>Mynd 5:</b> Hjartalínurit arfbera.....	23

## Töfluskrá

<b>Tafla 1:</b> Gen sem tengd hafa verið við Brugada heilkenni.....	10
<b>Tafla 2:</b> Fylgni c.3838-3 C > G við hjartalínuritsbreytur.....	18
<b>Tafla 3:</b> Fylgni c.3838-3 C > G við hjartasjúkdóma og mælingar tengdum þeim.....	18
<b>Tafla 4:</b> Almennar upplýsingar um arfbera og viðmiðunarhóp.....	20
<b>Tafla 5:</b> Tíðni svipgerða hjá arfberum og viðmiðunarhóp.....	21

# 1 Inngangur

Brugada heilkenni er ættgengur sjúkdómur sem veldur truflun á raflífeðlisfræðilegri starfsemi hjartans og eykur líkur á skyndidauða [1]. Stökkbreytingar í um 20 genum hafa verið tengdar við heilkennið, en algengasta orsök heilkennisins eru stökkbreytingar í *SCN5A* geninu [2]. Arfberar stökkbreytinga sem valda Brugada heilkenni eru oft einkennalausir og algengt er að fyrsta einkenni þeirra sé hjartastopp [3]. Á Íslandi hafa örfáir verið grunaðir um að hafa sjúkdóminn en ekkert tilfelli verið staðfest með erfðarannsókn. Markmið þessarar rannsóknar var að kanna hvort sjaldgæf íslensk stökkbreyting í *SCN5A* veldur Brugada heilkenni á Íslandi.

## 1.1 Frumkomnar raflífeðlisfræðilegar raskanir

Frumkomnar raflífeðlisfræðilegar raskanir er samheiti yfir sjúkdóma sem orsakast af stökkbreytingum í genum sem tjá fyrir jónagöngum eða próteinum sem tengjast starfsemi þeirra. Þessir sjúkdómar hafa því áhrif á boðspennu hjartavöðvafrumna og auka þannig áhættu á sleglatakttruflunum sem geta leitt til skyndidauða [4].

Skyndidauði er skilgreindur sem óvænt andlát innan við klukkustund frá upphafi einkenna og er algeng dánarorsök í vestrænum löndum, en talið er að árlega látist á bilinu 50 til 100 af hverjum 100.000 einstaklingum skyndilega [5]. Frumkomnar raflífeðlisfræðilegar raskanir eru ásamt hjartavöðvakvillum algengustu ástæður fyrir skyndidauða í ungu fólki, en talið er að 30% tilfella megi rekja til frumkomina raflífeðlisfræðilegra raskana [6]. Hjá einstaklingum yfir 35 ára aldri er það hinsvegar kransæðasjúkdómur sem er helst orsök skyndidauða og áhættuþættir þeir sömu og fyrir kransæðasjúkdóm [7].

Til frumkomina raflífeðlisfræðilegra raskana teljast heilkenni lengingar á QT bili (*e. long QT syndrome*), heilkenni styttingar á QT bili (*e. short QT syndrome*), Brugada heilkenni (*e. Brugada syndrome*) og fjölleitur sleglahraðtaktur af völdum katekólamína (*e. catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia*) [8]. Þessir sjúkdómar eiga það sameiginlegt að vera vandasamir í klínískri greiningu þar sem ummerki um þá koma ekki alltaf fram á hjartalínuriti. Arfberar stökkbreytinga sem valda þessum sjúkdómum eru því oft einkennalausir þangað til alvarlegar hjartsláttartruflanir gera vart við sig [9]. Það hafa margar stökkbreytingar hafa verið tengdar við þessa sjúkdóma, en þrátt fyrir það finnast aðeins orsakavaldandi stökkbreytingar í hluta þeirra sem greinast með þá. Þáttur erfðafræðinnar hefur því ekki verið að fullu metinn í tengslum við frumkomnar raflífeðlisfræðilegar raskanir [4].

Við rannsóknir á frumkomnum raflífeðlisfræðilegum röskunum og öðrum erfðasjúkdómum tíðkast að leita eftir erfðabreytileikum hjá þeim sem hafa alvarleg einkenni og arfberar með væg eða engin teikn eru síður metnir. Stór hluti Íslendinga hefur tekið þátt í erfðafræðirannsóknnum á vegum Íslenskrar erfðagreiningar (ÍE) á víðtækum grundvelli sem hefur leitt til uppbyggingar á gagnabanka með ítarlegum upplýsingum um bæði arfgerð og svipgerð. Það hefur því skapast einstakur grundvöllur til að meta svipgerð út frá arfgerð sem getur gert það mögulegt að finna erfðabreytileika sem valda frumkomnum raflífeðlisfræðilegum röskunum á Íslandi ásamt því að gefa raunhæft mat á sýnd og tjáningarstigi erfðabreytileikanna.



## 1.2 Brugada heilkenni

Brugada heilkenni er ættgengur sjúkdómur sem veldur truflun á raflífeðlisfræðilegri starfsemi hjartans og eykur áhættu á skyndidauða. Heilkennið er talið orsaka 4% af öllum tilfellum skyndidauða og 20% af skyndidauða í þeim sem hafa að öðru leiti eðlilega uppbyggt hjarta [10]. Orsakir sjúkdómsins eru stökkbreytingar í genum sem tjá fyrir jónagöngum eða próteinum sem tengjast starfsemi þeirra [2]. Þessar stökkbreytingar valda þannig truflun á rafleiðni hjartans og arfberar stökkbreytinganna eru því í aukinni áhættu á hjartsláttartruflunum á borð við sleglahraðtakt (*e. ventricular tachycardia*) og sleglatíf (*e. ventricular fibrillation*) [11].

Brugada heilkenni var fyrst lýst í tímaritsgrein árið 1992 þar sem sagt var frá átta einstaklingum sem allir höfðu hægra greinrof, a.m.k. 0,1 mV ST hækkun í brjóstleiðslum V1, V2 og V3 ásamt sögu um endurteknar endurlífganir vegna hjartastopps [12]. Mikið vatn hefur runnið til sjávar frá því heilkenninu var fyrst lýst, en þrátt fyrir miklar rannsóknir er meinmyndun sjúkdómsins ekki enn að fullu skilin [3].

Erfitt er að leggja mat á faraldsfræði Brugada heilkennis þar sem stór hluti arfbera stökkbreytinga sem valda heilkenninu eru einkennalausir. Í vestrænum löndum er heilkennið sjaldgæft, en algengið er talið vera um 5 tilfelli á hverja 10.000 íbúa. Heilkennið er hinsvegar algengara í Asíu, en þar er algengið talið vera um 15 tilfelli á hverja 10.000 íbúa [13-15]. Sjúkdómurinn er algengari í karlmönnum og þeir eru oft einkenameiri. Talið er að þessi kynbundni munur á sýnd sjúkdómsins stafi af mismunandi styrk kynhormóna á milli kynja [16], en ekki hefur tekist að sýna fram á kynbundin munur í börnum [17].

Greining á Brugada heilkenni getur verið erfið og líklega er sjúkdómurinn vangreindur. Ástæðan fyrir því er að tjáningarstig stökkbreytinga sem valda heilkenninu er breytilegt og einkenni arfbera geta því verið mismunandi [1]. Arfberar stökkbreytinga sem valda Brugada heilkenni eru oft einkennalítillir og algengt er að fyrsta og eina einkenni arfbera sé hjartastopp. Ef arfberar sýna einkenni eru það oftast yfirlíð, hjartsláttarþægindi og andköf á næturnar (*e. agonal respiration*), en þessi einkenni eru afleiðingar sleglatakttruflana. Algengt er að einkennin komi fram við aukin boð frá flakktauga (*e. vagus nerve*), t.d. við hvíld, svefn eða eftir stóra máltíð. Einkennin geta komið fram á öllum aldri en eru algengust við 40 ára aldur [18]. Þar sem heilkennið orsakast af stökkbreytingum sem hafa áhrif á raflífeðlisfræðilega starfsemi hjartans hafa arfberar oft rafleiðnitruflanir sem hægt er að sjá á hjartalínuriti. Þær leiðnitruflanir sem sjást oftast í tengslum við heilkennið eru lengd P bylgja, PR bil > 200 ms og QRS bil > 120 ms. Arfberar hafa hinsvegar sjaldan lengt QT bil, og talið er að 10 til 20% þeirra fái gáttatíf [19].

Þemur mynstrum á hjartalínuriti hefur verið lýst í tengslum við Brugada heilkenni (mynd 1). Einungis mynstur af gerð 1 er talið fullnægjandi til þess að greina sjúkdóminn en hin tvö mynstrin gefa þó vísbendingar um að einstaklingur gæti verið með Brugada heilkenni [18]. Hjartalínurit hjá einstaklingum með Brugada heilkenni eru hinsvegar mjög breytileg og oft án ummerkja um heilkennið [20]. Ýmsir þættir eins og lyf, líkamspjálfun, tilfinningar, máltíðir og hiti eru taldir hafa áhrif á birtingarmynd heilkennisins á hjartalínuriti [21].

Ef einkenni og fjölskyldusaga vekja grun um Brugada heilkenni en viðkomandi er ekki með Brugada mynstur af gerð 1 á hjartalínuriti má reyna að framkalla mynstrið með lyfjagjöf. Gefið er lyf við hjartsláttartruflunum af flokki IA eða IC, en þau verka sem Na<sup>+</sup> ganga hindrar. Við inngjöf lyfsins kemur fram Brugada mynstur af gerð 1 á hjartalínuriti hjá flestum þeim sem hafa sjúkdóminn, en niðurstöðurnar

geta þó verið falskt neikvæðar í fjórðungi tilfella [22]. Hafa þer í huga að áhætta á sleglataktruflunum er fólgin í rannsókninni og því þarf að fylgjast náið með lífsmörkum sjúklings á meðan rannsókn stendur og í nokkrar klukkustundir á eftir [23].

Það er því ljóst að hér er um að ræða alvarlegt heilkenni sem getur verið einkennalítið og vandasamt í greiningu. Eftir því sem við best vitum hafa einungis örfáir verið grunaðir um að hafa Brugada heilkenni á Íslandi á grundvelli Brugada mynsturs af gerð 1. Ekkert tilfelli hefur hinsvegar verið staðfest með erfðarannsókn (Davíð O. Arnar, munnleg heimild, 10. apríl 2019).



### Mynd 1: Hjartalínurit í Brugada heilkenni

Þrjú mynstur Brugada heilkennis á hjartalínuriti. Gerð 1  $\geq 2$ mm ST-hækkun og neikvæð T-bylgja. Gerð 2  $\geq 2$ mm ST-hækkun og jákvæð eða tvífasa T-bylgja. Gerð 3  $\leq 1$ mm ST-hækkun og jákvæð eða neikvæð T-bylgja. Þessar breytingar þurfa að vera til staðar í  $\geq 1$  af brjóstleiðslum V1 og V2 [1].

### 1.3 Meðferð við Brugada heilkenni

Einstaklingar með Brugada heilkenni eru í mismikilli áhættu á skyndidauða sem mikilvægt er að leggja mat á. Meðferðarmöguleikar við sjúkdómnum er takmarkaðir, en helsta úrræðið er ígræsla bjargráðs í þá sem eru í mestri áhættu á skyndidauða. Í leiðbeiningum European Society of Cardiology er mælt með ígræðslu bjargráðs í þá sem hafa fyrri sögu um hjartastopp eða sleglahraðtakt. Einnig skal íhuga ígræðslu bjargráðs í sjúklinga sem hafa sögu um yfirið og sýna sjálfvakið Brugada mynstur af gerð 1 [24]. Einkennalausum sjúklingum er ráðlagt að forðast ákveðin lyf sem geta haft áhrif á rafleiðni í hjartanu, meðhöndla hita strax með hitalækkandi lyfjum og forðast óhóflega áfengisdrykkju [18].

Erfðaupplýsingar eru ekki nýttar mikið við greiningu á heilkenninu nú til dags, en þar sem heilkennið er vandasamt í klínískri greiningu og arfgerðagreining að verða hagkvæmari, gætu erfðarannsóknir skipað stærra hlutverk við greiningu heilkennisins í framtíðinni. Í leiðbeiningum Heart Rhythm Society og European Heart Rhythm Association frá 2011 er ekki mælt með erfðarannsóknnum til að greina Brugada heilkenni, en tekið fram að þær geti þó verið gagnlegar til að staðfesta greiningu ef sterkur grunur leikur á heilkenninu eftir ítarlega klíníska skoðun. Mælt er með erfðaráðgjöf fyrir ættingja ef fjölskyldumeðlimur greinist með sjúkdóminn, sem getur í ákveðnum tilfellum leitt til fyrirbyggjandi meðferðar. Með erfðarannsóknnum er þannig hægt að greina þá arfbera sem annars eru einkennalausir og gefa þeim ráðleggingar um lífsstílsbreytingar eins og sagt var frá hér að ofan [25].

## 1.4 Erfðafræði Brugada heilkennis

Brugada heilkenni erfist á ókynbundin ríkjandi hátt (*e. autosomal dominant*). Árið 1998 var fyrsta erfðabreytileikanum lýst í tengslum við Brugada heilkenni, en hann var staðsettur í *SCN5A* geninu [11]. Í dag hafa fundist erfðabreytileikar í um 20 genum sem valda Brugada heilkenni eins og sést í töflu 1. Margir þessara erfðabreytileika eru afar sjaldgæfir og hefur bara verið lýst í einni fjölskyldu [1].

Flest gen sem tengd hafa verið við heilkennið tjá fyrir jónagöngum eða próteinum sem tengjast starfsemi þeirra [2]. Algengasta genið er *SCN5A*, en það er talið orsaka 11 til 28% tilfella. *SCN5A* genið tjáir fyrir alfa undireiningu í spennustýrðum  $\text{Na}_v1.5 \text{ Na}^+$  jónagöngum sem gegna lykilhlutverki í raflífeðlisfræðilegri starfsemi hjartans, en yfir 300 erfðabreytileikum í *SCN5A* hefur verið lýst í tengslum við heilkennið [26]. Genið er einnig þekktur orsakavaldur fleiri hjartasjúkdóma á borð við heilkenni lengingar á QT bili, útvíkkunarhjärtavöðvakvilla (*e. dilated cardiomyopathy*), sjúkan sínushnútt (*e. sick sinus syndrome*) og leiðsluflanir (*e. cardiac conduction system dysfunction*) [27].

*SCN10A* er annað gen sem tengt hefur verið við mörg tilfelli af Brugada heilkenni, en það tjáir fyrir  $\text{Na}_v1.8 \text{ Na}^+$  jónagöngum. Tíðni erfðabreytileika í geninu meðal einstaklinga með Brugada heilkenni er misjöfn eftir rannsóknnum, en er talin vera á bilinu 5 til 16,7% [2]. Lengi var óljóst hvernig meinvaldandi breytileikar í geninu höfðu áhrif á raflífeðlisfræði hjartans. Nýleg rannsókn sýndi hinsvegar fram á að algengur breytileiki í *SCN10A* hafi áhrif á efliröð innan gensins sem víxlverkar við stýrisvæði í *SCN5A* og hafi þannig áhrif á tjáningu þess. Þessi algengi breytileiki útskýrir þannig meinmyndun í stórum hluta tilfella [28].

Erfðabreytileikar í genunum *CACNA1C* og *CACNB2b* finnast í um 11,5% sjúklinga með Brugada heilkenni [2]. Þessi gen tjá fyrir undireiningum  $\alpha1c$  (*CACNA1C*) og  $\beta-2b$  (*CACNB2b*) í spennustýrðum  $\text{Ca}^{2+}$  jónagöngum af L-gerð. Breytileikarnir draga úr innflæði  $\text{Ca}^{2+}$  jóna um göngin og valda Brugada heilkenni auk þess sem einstaklingar með erfðabreytileika í þessum genum hafa líka oft heilkenni styttingar á QT bili [29].

Erfðabreytileikar sem valda Brugada heilkenni hafa ófullkomna sýnd (*e. penetrance*) auk þess sem tjáningarstig (*e. expressivity*) þeirra er breytilegt sem útskýrir af hverju einkenni heilkennisins geta verið ólík meðal fólks með sama breytileikann. Mismunandi tjáningarstig bendir til að aðrir erfðabættir og/eða umhverfisþættir gætu haft áhrif á svipgerð arfbera [30].

Við erfðafræðirannsóknir á heilkenninu tíðkast að skima fyrir erfðabreytileikum í fyrirfram ákveðnum genum með DNA örflögutækni (e. *DNA microarray*) og því finnst erfðafræðilegur orsakavaldur einungis í hluta tilfella. Þáttur erfðabreytileika hefur því ekki verið að fullu metinn í tengslum við heilkennið [2].

**Tafla 1: Gen sem tengd hafa verið við Brugada heilkenni**

Jónagöng	Gen	Prótein	Hlutfall BrH* sem tengist geninu (%)
<b>Kalsíum</b>	<i>CACNA1C</i>	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1C	6,6
	<i>CACNB2B</i>	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit beta-2	4,8
	<i>CACNA2D1</i>	Voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-1	1,8
	<i>TRPM4</i>	Transient potential cation channel subfamily M member 4	< 1
<b>Natríum</b>	<i>SCN5A</i>	Sodium channel protein type 5 subunit alpha	11 – 28
	<i>SCN10A</i>	Neuronal sodium channel Nav 1,8	5 – 16,7
	<i>GPD1-L</i>	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like protein	< 1
	<i>SCN1B</i>	Sodium channel subunit beta-1	1,1
	<i>SCN2B</i>	Sodium channel subunit beta-2	< 1
	<i>SCN3B</i>	Ran guanine nucleotide release factor	< 1
	<i>SLMAP</i>	Sarcolemmal membrane-associated protein	< 1
	<i>PKP2</i>	Desmosomal protein plakophilin-2	< 1
	<i>RANGRF</i>	Sodium channel subunit beta-3	< 1
	<b>Kalíum</b>	<i>KCND3</i>	Potassium voltage-gated channel subfamily D member 3
<i>KCNE3</i>		Potassium voltage-gated channel subfamily E member 3	< 1
<i>KCNJ8</i>		ATP-sensitive inward rectifier potassium channel 8	2
<i>HCN4</i>		Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 4	< 1
<i>KCNE5</i>		Potassium voltage-gated channel subfamily E member 1-like protein	< 1

\*BrH: Brugada heilkenni

## 1.5 Meinmyndun Brugada heilkennis

Meinmyndun Brugada heilkennis er flókin og ekki að fullu skilin [31]. Í töflu 1 má sjá helstu erfðafræðilegu orsakir heilkennisins. Eins og áður hefur komið fram eru það gen sem tjá fyrir jónagöngum eða flutningspróteinum sem sjá um að flytja jónagöng í frumuhimnuna þar sem starfsemi þeirra fer fram, sem eru algengustu orsakavaldar heilkennisins [2].

Sínushnúturinn (*e. sinusatrial node*) er staðsettur í hægri gátt og í honum eru sérhæfðar hjartavöðvafrumur sem hafa sjálfvirkni og mynda boðspennu. Leiðslukerfi hjartans ber rafboðin eftir hjartavöðvanum auk þess sem boðspennan berst milli hjartavöðvafruma í gegnum gatatengi (*e. gap junctions*). Þessi rafboð leiða til samdráttar hjartans og eru forsendan fyrir starfsemi þess [32]. Stökkbreytingar sem valda Brugada heilkenni trufla myndun þessara rafboða og auka þannig áhættu á sleglatakttruflunum [11].

Stökkbreytingar í genum sem tjá fyrir  $\text{Na}^+$  jónagöngum eru algengustu orsakavaldar heilkennisins.  $\text{Na}^+$  jónagöng stuðla að hröðu innflæði  $\text{Na}^+$  jóna inn í hjartavöðvafrumur sem orsakar hraðann afskautunarfasa í boðspennuferli hjartavöðvafrumna [33]. Boðspenna hjartavöðvafrumna er einstök af því leiti að himnuspennan helst í kringum 0 mV í 200 millisekúndur, en á þeim tíma streyma  $\text{Ca}^{2+}$  jónir inn í hjartavöðvafrumur í gegnum  $\text{Ca}^{2+}$  jónagöng af L-gerð. Utanfrumukalsíum er mikilvægt fyrir samdrátt hjartavöðvafruma, en stökkbreytingar í genum sem tjá fyrir  $\text{Ca}^{2+}$  jónagöngum eru algengir orsakavaldar Brugada heilkennis [34]. Aukið gegndræpi fyrir  $\text{K}^+$  jónum stuðlar að endurskautun hjartavöðvafrumna, en stökkbreytingar í genum sem tjá fyrir  $\text{K}^+$  jónagöngum eru afar sjaldgæf orsök Brugada heilkennis [2].

## 1.6 Víðtæk erfðamengisleit

Víðtæk erfðamengisleit (*e. genome wide association study, GWAS*) er rannsókn þar sem erfðabreytileikar einstaklinga með ákveðna svipgerð eru bornir saman við erfðabreytileika þeirra sem ekki hafa svipgerðina. Markmið þessara rannsókna er að finna erfðabreytileika sem hafa fylgni við sjúkdóm eða aðra svipgerð [35].

Til þess að framkvæma víðtæka erfðamengisleit þarf að greina erfðabreytileika í erfðamengi þeirra sem rannsaka á. Helstu aðferðirnar til þess eru DNA örflögutækni (*e. DNA microarray*) og raðgreining (*e. whole genome sequencing*) [36]. Tilkoma DNA örflögutækninnar var mikil bylting en með henni er hægt að greina meira en milljón einbasabreytileika á fljótlegan hátt [35]. Með raðgreiningu er hinsvegar hægt að greina alla niturbasa erfðamengisins og hentar aðferðin því vel til að finna breytileika í erfðamenginu, sérstaklega sjaldgæfa breytileika [37].

Frá því fyrsta víðtæka erfðamengisrannsóknin var birt árið 2005 hafa fundist þúsundir erfðabreytileikar sem hafa tengsl við sjúkdóma [38]. Þrátt fyrir miklar framfarir eigum við samt langt í land með að skilja erfðafræði flókina sjúkdóma að fullu. Kenningar eru um að sjaldgæfir erfðabreytileikar sem ekki hafa fundist hingað til gætu orsakað stóran hluta af meinmyndun flókinna sjúkdóma sem ekki hefur tekist að skýra hingað til [39].

## 1.7 Íslensk erfðagreining

Á Íslandi hafa skapast einstakar aðstæður fyrir erfðarannsóknir og Íslensk erfðagreining (ÍE) hefur verið leiðandi á sviði erfðafræðirannsókna seinustu ár. Vegna einangrunar hafa Íslendingar orðið fyrir genaflokti (e. *genetic drift*) sem hefur haft áhrif á tíðni sjaldgæfra erfðabreytileika samanborið við nágrannalönd. Sumir sjaldgæfir erfðabreytileikar hafa horfið úr íslensku þjóðinni en tíðni annarra aukist vegna landnemaáhrifa (e. *founder effect*) sem gerir þá auðgreinanlegri [40].

Á Íslandi liggja fyrir upplýsingar um heilsufar og sjúkdóma landsmanna hjá heilbrigðisstofnunum auk þess sem ítarlegar upplýsingar um skyldleika Íslendinga má finna í Íslendingabók. Um 160 þúsund manns hafa tekið þátt í erfðafræðirannsóknum ÍE á víðtækum grundvelli. Öll lífsýni hafa verið arfgerðargreind (e. *genotyped*) og auk þess hafa tæplega 50.000 verið raðgreind [41].

Þessa þekkingu hefur ÍE nýtt til að finna erfðabreytileika sem hafa áhrif á meinmyndun sjúkdóma, þar á meðal sjúkdóma sem auka líkur á skyndidauða.

## 2 Markmið

Þetta verkefni er hluti af stærri rannsókn sem snýst um að finna hvaða stökkbreytingar valda frumkomnum raflífæðlisfræðilegum röskunum og aukinni áhættu á skyndidauða á Íslandi.

Markmiðið með þessu verkefni var að meta hvort sjaldgæf íslensk stökkbreyting í *SCN5A* geninu valdi Brugada heilkenni á Íslandi.

### 3 Efni og aðferðir

Rannsóknin var gerð í samvinnu við ÍE og Landspítala háskólasjúkrahús (LSH) og byggði að hluta til á fyrirliggjandi gögnum frá ÍE. Hlutverk mitt í rannsókninni var að safna upplýsingum um svipgerðir úr sjúkraskrár ásamt túlkun og framsetning niðurstaðna eftir að úrvinnsla gagna hafði farið fram á dulkóðuðu formi í ÍE. Garðar Sveinbjörnsson hafði umsjón með úrvinnslu gagna í ÍE.

#### 3.1 Rannsóknarhópur

Þessi rannsókn var afturskyggn og náði til allra einstaklinga sem hafa gefið lífsýni til ÍE til erfðarannsókna. Þar að auki söfnuðum við ítarlegum svipgerðarupplýsingum úr sjúkraskrár hjá 34 arfberum stökkbreytingar í *SCN5A* og 28 ættingjum þeirra, sem staðfest var að væru ekki arfberar stökkbreytingarinnar.

#### 3.2 Arfgerðar- og ættfræðiupplýsingar

Í þessari rannsókn notuðum við arfgerðarupplýsingar sem ÍE býr að og ná yfir stóran hluta Íslendinga. Arfgerðarupplýsingarnar hafa fengist með raðgreiningu og arfgerðargreiningu lífsýna. ÍE hefur raðgreint erfðamengi 48.395 Íslendinga með Illumina standard TruSeq raðgreiningartækni, þar sem hver niturbasi var lesinn að meðaltali 35 sinnum. Þar að auki hefur ÍE arfgerðargreint 151.677 Íslendinga með DNA örflögutækni frá Illumina. Með upplýsingum um skyldleika einstaklinga sem hægt er að nálgast í Íslendingabók má með mikilli vissu áætla (e. *impute*) tíðni sjaldgæfra erfðabreytileika í þeim sem einungis hafa verið arfgerðargreindir [42].

#### 3.3 Tölfræðiþróf

Við notuðum línulega aðhvarfsgreiningu (e. *linear regression*) til að skoða fylgni milli stökkbreytinga í *SCN5A* og hjartalínuritsbreyta. ÍE hefur upplýsingar um 434.000 hjartalínurit frá LSH sem mæld voru hjá 88.217 einstaklingum á árunum 1998 til 2015. Hjartalínuritin voru mæld á öllum deildum spítalans, bæði á göngudeildum og sjúklingum í innlögn. Við skoðuðum fylgni milli 33 erfðabreytileika (e. *coding variants*) í *SCN5A* og 606 hjartalínuritsbreyta. Notast var við Bonferroni leiðréttingu til að leiðrétta fyrir fjölda tilgátuprófa sem gaf þá tölfræðilegu marktæknimörkin  $2,6 \times 10^{-6}$ . Við leiðréttum fyrir kyni, fæðingarári og aldri við mælingu hjartalínurits. Ef einstaklingur átti mörg hjartalínurit tókum við meðaltal yfir þau.

Við notuðum tvíkosta aðhvarfsgreiningu (e. *logistic regression*) til að skoða fylgni stökkbreytingar í *SCN5A* við hjarta- og æðasjúkdóma og mælingar tengdum þeim. ÍE hefur upplýsingar um rafrænar útskriftargreiningar hjarta- og æðasjúkdóma frá LSH frá árunum 1987 til 2014. Við skoðuðum fylgni stökkbreytingar í *SCN5A* við 23 hjartasjúkdóma og skyldar mælingar. Við notuðum Bonferroni leiðréttingu til að leiðrétta fyrir fjölda tilgátuprófa sem gaf þá tölfræðilegu marktæknimörkin 0,0022. Leiðrétt var fyrir kyni og aldri.

Notast var við tölfræðihugbúnaðinn R (útgáfa 3.5.3) við úrvinnslu gagna.



### 3.4 Svipgerðarupplýsingar

Við söfnuðum svipgerðarupplýsingum úr rafrænu sjúkraskrárkerfi LSH og úr sjúkraskrá á pappírformi. Við skoðuðum sjúkraskrár arfbera ( $n = 34$ ) c.3838-3 C > G stökkbreytingarinnar og viðmiða ( $n = 28$ ) til þess að meta hvort stökkbreytingin valdi Brugada heilkenni. Viðmiðin voru ættingjar arfbera sem höfðu ekki stökkbreytinguna og reynt var að para eftir aldri og kyni. Við söfnun svipgerðarupplýsinga var ég blindaður, þ.e. ég vissi ekki hverjir voru arfberar stökkbreytingarinnar og hverjir voru viðmið til að koma í veg fyrir bjögun (*e. bias*).

Við söfnuðum upplýsingum um blóðkalíumhækkun, kransæðastíflu, lungnablóðrek, hjartavöðvabólgu og gollurshúsbólgu, en þekkt er að þessir sjúkdómar geti valdið hjartalínuritsbreytingum sem svipa til Brugada heilkennis [43]. Við söfnuðum einnig upplýsingum um breytur tengdar Brugada heilkenni, þ.e. yfirið, flog, hjartsláttarþægindi, ígræsla bjargráðs, ígræðsla gangráðs, skyndidauði og fjölskyldusaga um hjartasjúkdóma [44], ásamt upplýsingum um aðra sjúkdóma sem geta valdið svipuðum einkennum: hjartabilun, hjartavöðvakvilli, kransæðasjúkdómur, kransæðaþræðing, lokusjúkdómar, meðfæddir hjartagallar, heilablóðfall, háþrýstingur, járnofhleðsla, sykursýki, offita, krabbamein, áfengismisnotkun, astmi, langvinn lungnateppa, kæfisvefn, bláæðasegar, lungnaháþrýstingur, skjaldkirtilssjúkdómar og dánarorsök.

Til að meta betur áhrif stökkbreytingarinnar á rafleiðni hjartans söfnuðum við ítarlegum upplýsingum um hjartsláttartruflanir og hjartalínuritsbreytur. Hjartalínurit fundust hjá 26 arfberum (76,7%) og 18 einstaklingum í viðmiðunarahópi (64,3%). Við skráðum eftirfarandi breytur: gáttatif, gáttaflökt, sjúkur sínus hnútur, 1° gáttasleglarof, 2° gáttasleglarof, 3° gáttasleglarof, ofansleglahraðtaktur, sleglahraðtaktur, Wolf Parkisons White heilkenni, sleglatif, hjartastopp, hjartsláttartíðni, lengd PR bils, vinstra greinrof, hægra greinrof, vinstra fremra knippisrof, vinstra aftara knippisrof, lengd QRS bils, lengd QT bils, QTc lengd, ST hækkun og Brugada mynstur af gerð 1,2 eða 3.

Við skráðum upplýsingar í forritið Microsoft Excel og notast var við fisher's exact test til að kanna hvort tölfræðilega marktækur munur væri á tíðni svipgerða milli arfbera og viðmiðunarahóps.

### 3.5 Leyfi

Þátttakendur í rannsókninni sem höfðu gefið lífsýni veittu upplýst samþykki fyrir erfðarannsóknnum á vegum ÍE. Þessi rannsókn fellur undir leyfin: VSNb2015030024/03.01, VSNb2015030021-0301, VSNb2015080003-03.01.

Gögn sem send voru til ÍE voru dulkóðuð með IPS dulkóðunarkerfi sem fengið hefur samþykki Persónuverndar. Þjónustumiðstöð rannsóknarverkefna sá um dulkóðun upplýsinga. Öll arfgerðar gögn eru varðveitt hjá ÍE og einungis aðgengileg þeim sem að koma að rannsókninni undir dulkóðuðum kennitölum.

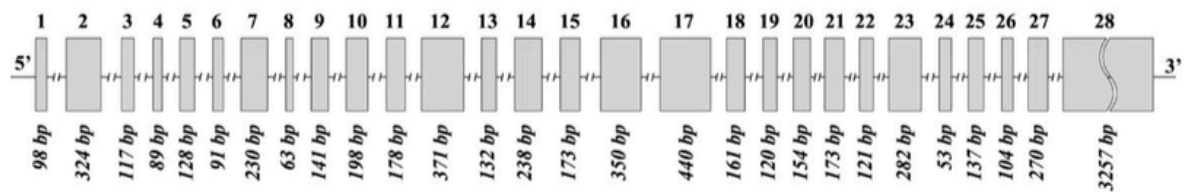
## 4 Niðurstöður

### 4.1 Stökkbreyting í SCN5A

Raðgreining á tæplega 50 þúsund Íslendingum leiddi í ljós 33 sjaldgæfar stökkbreytingar (tíðni samsætu < 1%) í SCN5A geninu og tvær þeirra reyndust hafa fylgni við hjartalínuritsbreytur. Þar sem stökkbreytingin c.3838-3 C > G hefur sterka fylgni við hjartalínuritsbreytur vildum við kanna hvort þessi stökkbreyting valdi Brugada heilkenni á Íslandi.

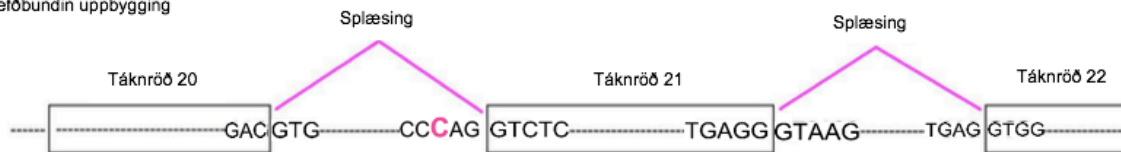
Af þeim Íslendingum sem hafa verið arfgerðargreindir fundust 27 arfberar c.3838-3 C > G stökkbreytingarinnar. Þar að auki var hægt að staðfesta sjö arfbera út frá fjölskyldumynstri. Alls greindust því 34 arfberar stökkbreytingarinnar. Stökkbreytingin c.3838-3 C > G veldur því að niturbasinn gúanín kemur í stað sýtósín í stöðu 3838-3 (NM\_000335.4) eins og sést á mynd 2. Þessi einbasabreytileiki er staðsettur þremur basapörum á undan táknröð 21 og er því á mótum innraðar og táknraðar. Stökkbreytingin er mjög sjaldgæf, en tíðni samsætunnar (*e. allele frequency*) er 0,009% á Íslandi og því ætti stökkbreytingin að finnast í einum af hverjum 5.555 Íslendingum.

A)

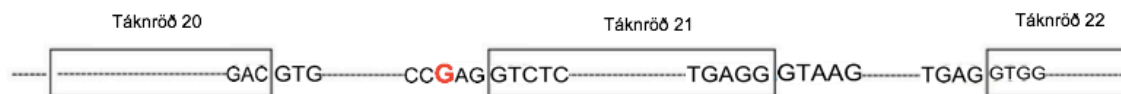


B)

Hefðbundin uppbygging

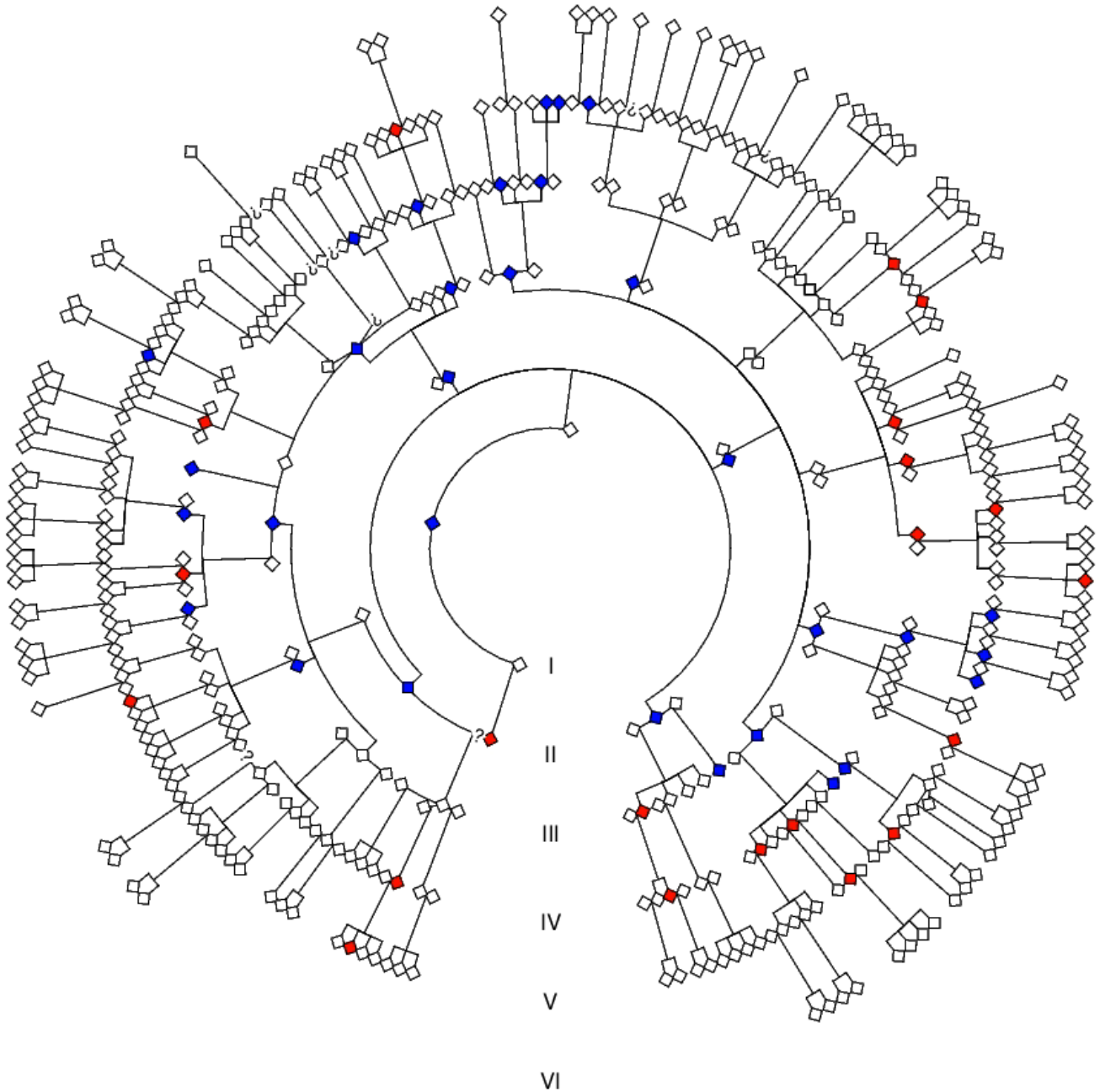


Stökkbreytingin C. 3838-3 C > G



#### Mynd 2: Staðsetning c.3838-3 C > G

A) Myndin sýnir uppbyggingu SCN5A gensins. Genið inniheldur 28 táknraðir. Stökkbreytingin c.3838-3 C > G er staðsett 3 basapörum fyrir framan 5' enda táknraðar 21. B) Efri hluti myndarinnar sýnir hefðbundna uppbyggingu gensins og hvernig táknröðum er splæst saman. Neðri hluti myndarinnar sýnir að niturbasinn gúanín (G) er kominn í stað sýtósín (C), 3 basapörum á undan táknröð 21.



**Mynd 3: Skyldleiki arfbera**

Myndin sýnir skyldleika þeirra 34 Íslendinga sem eru með stökkbreytinguna c.3838-3 C > G í SCN5A í okkar rannsókn. Blár litur táknar að viðkomandi er arfberi stökkbreytingarinnar. Þeir sem merktir eru inn á ættartréð með rauðum lit eru fjölskyldumeðlimir, sem staðfest er að beri ekki stökkbreytinguna. Á ættartrénu eru sýndir sex ættliðir. Til að átta sig betur á aldursdreifingu verða hér gefin aldursbil yfir fæðingarár einstaklinga í hverjum ættlið. Til að gera upplýsingar ópersónugreinanlegar eru fæðingarár gefin upp á 5 ára aldursbilum. I. Ættliður: 1885 – 1910. II. Ættliður: 1910 – 1915. III. Ættliður 1930 – 1950. IV. Ættliður 1950 – 1985. V. Ættliður: 1970 – 2015. VI. Ættliður: 1990 – 2020.

## 4.2 Fylgni stökkbreytingar við hjartalínuritsbreytur

Við notuðum upplýsingar úr 434.000 hjartalínuritum til að skoða fylgni 33 erfðabreytileika í SCN5A geninu við 606 hjartalínuritsbreytur. Stökkbreytingin c.3838-3 C > G hafði marktækna fylgni við lengd PR bils í brjóstleiðslu V1, lengd P bylgju í brjóstleiðslu V6 og lengd S bylgju í brjóstleiðslu V5 eins og sést í töflu 2. Sterkasta fylgnin var við PR bil í brjóstleiðslu V1 ( $P = 7,00 \times 10^{-7}$ , áhrif = 37,2 ms).

Tafla 2: Fylgni c.3838-3 C > G við hjartalínuritsbreytur

Svipgerð	Fjöldi einstaklinga <sup>a</sup>	Áhrif <sup>b</sup>	Öryggisbil	P <sup>c</sup>
PR bil (V1)	81.512	37,2	(22,6 – 52,2)	$7,00 \times 10^{-7**}$
P lengd (V6)	81.524	22,1	(13,3 - 30,8)	$7,98 \times 10^{-7**}$
S lengd (V5)	74.611	18,1	(10,9 - 25,3)	$8,89 \times 10^{-7**}$
QRS bil (V4)	81.524	15,9	(8,9 - 22,9)	$8,35 \times 10^{-6}$
Hjartsláttartíðni	81.804	- 92,5	(-171,6 - -15,1)	0,021
QT bil (V2)	81.715	24,3	(2,6 - 45,7)	0,027

<sup>a</sup> 434.000 hjartalínurit voru til frá 88.217 einstaklingum. <sup>b</sup> Áhrif stökkbreytingar á hjartalínuritsbreytur er gefin upp í millisekúnum. <sup>c</sup> Tölfræðileg marktækimörk eru  $2,5 \times 10^{-6}$ . \*\* Tölfræðilega marktækt.

## 4.3 Fylgni stökkbreytingar við hjarta- og æðasjúkdóma

Við notuðum upplýsingar um rafrænar útskriftargreiningar hjartasjúkdóma á LSH frá árunum 1987 til 2014 til að skoða fylgni c.3838-3 C > G við 23 hjarta- og æðasjúkdóma og mælingar tengdum þeim. Fylgni stökkbreytingarinnar við hjarta- og æðasjúkdóma má sjá í töflu 3. Stökkbreytingin hafði marktækna fylgni við QRS bil > 120 ms ( $P = 5,04 \times 10^{-5}$ , OR = 11,98), kransæðastíflu ( $P = 1,1 \times 10^{-4}$ , OR = 7,91) og kransæðasjúkdóm ( $P = 0,0016$ , OR = 5,50).

Tafla 3: Fylgni c.3838-3 C > G við hjartasjúkdóma og mælingar tengdum þeim

Svipgerð	Tilfelli/viðmið	OR <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>
QRS > 120 ms	8.802/336.593	11,98	$5,04 \times 10^{-5**}$
Kransæðastífla	24.755/313.040	7,91	$1,1 \times 10^{-4**}$
Kransæðasjúkdómur	39.020/319.620	5,50	0,0016**
Blóðþurrðarslag	9.888/370.834	4,67	0,019
Skyndidauði	3.446/356.693	6,13	0,027

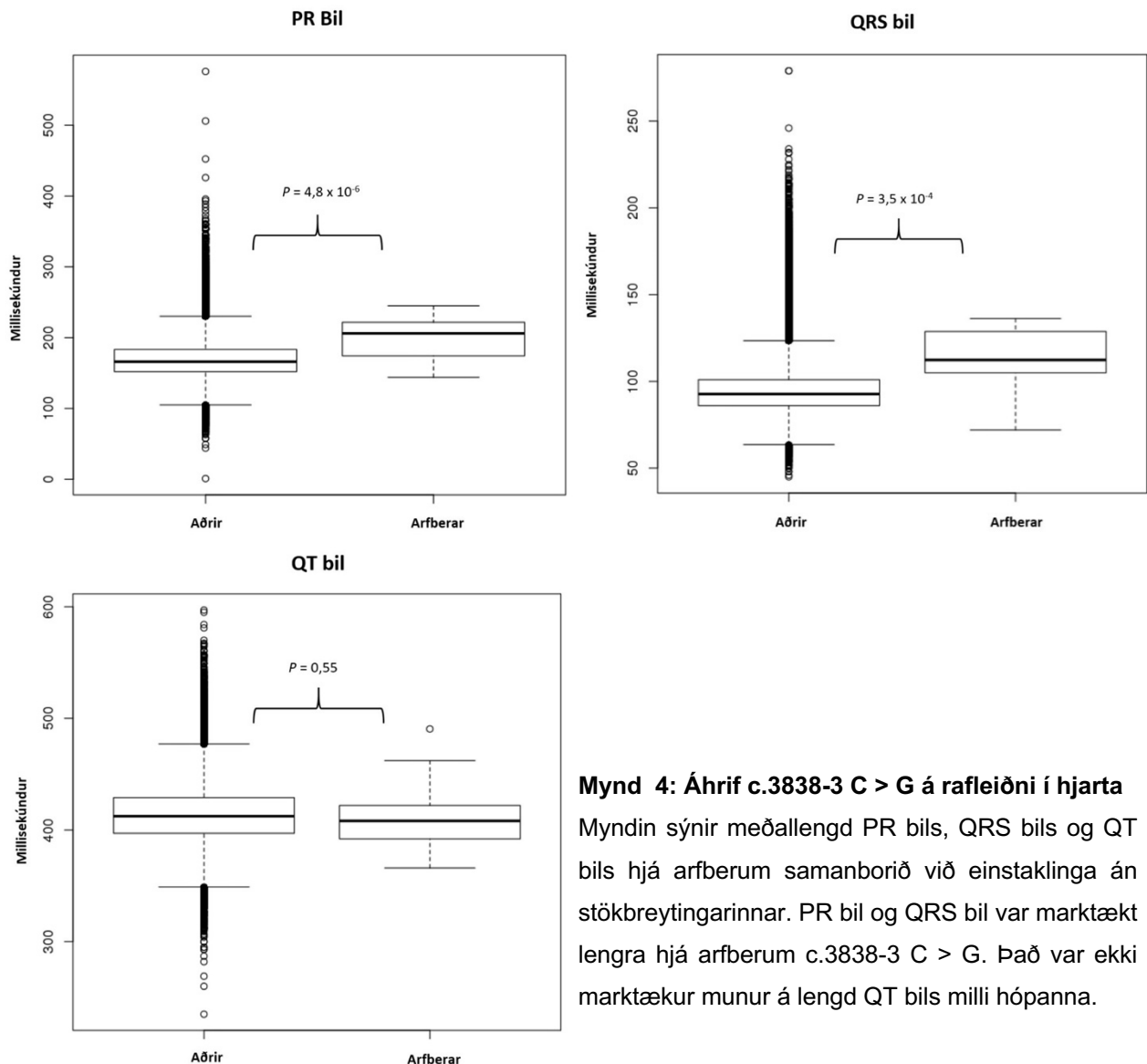
<sup>a</sup> OR: gagnlíkindahlutfall (e. Odds ratio). <sup>b</sup> Tölfræðileg marktækimörk eru 0,0022. \*\* Tölfræðilega marktækt.

#### 4.4 Áhrif stökkbreytingar á rafleiðni í hjarta

Til að meta betur áhrif stökkbreytingarinnar á rafleiðni í hjartavef skoðuðum við meðallengd PR bils, QRS bils og QT bils í öllum 12 leiðslum hjartalínurits hjá arfberum og bárum saman við einstaklinga án stökkbreytingarinnar. Ef til voru mörg hjartalínurit fyrir hvern einstakling tókum við meðaltal yfir þau. Marktækur munur var á lengd PR bils og QRS bils milli hópanna en ekki reyndist vera marktækur munur á lengd QT bils eins og sést á mynd 4.

Meðallengd PR bils á hjartalínuritum arfbera var 199,2 ms en hjá einstaklingum án stökkbreytingarinnar var meðal lengd á PR bili 169,2 ms. Stökkbreytingin veldur því lenginu á PR bili um 30,0 ms ( $P = 4,8 \times 10^{-6}$ ).

Meðallengd QRS bils á hjartalínuritum arfbera var 114,0 ms en hjá einstaklingum án stökkbreytingarinnar var meðal lengd á QRS bili 95,7 ms. Stökkbreytingin veldur því lengingu á QRS bili um 18,3 ms ( $P = 3,5 \times 10^{-4}$ ).



**Mynd 4: Áhrif c.3838-3 C > G á rafleiðni í hjarta**

Myndin sýnir meðallengd PR bils, QRS bils og QT bils hjá arfberum samanborið við einstaklinga án stökbreytingarinnar. PR bil og QRS bil var marktækt lengra hjá arfberum c.3838-3 C > G. Það var ekki marktækur munur á lengd QT bils milli hópanna.

## 4.5 Svipgerð arfbera

Vegna fylgni c.3838-3 C > G við hjartalínuritsbreytur og hjarta- og æðasjúkdóma vildum við skoða hvort stökkbreytingin valdi Brugada heilkenni. Til að meta hvort c.3838-3 C > G valdi Brugada heilkenni söfnuðum við svipgerðarupplýsingum úr sjúkraskrár arfbera. 28 fjölskyldumeðlimir sem ekki höfðu stökkbreytinguna voru notaðir sem viðmiðunarhópur. Sjúkraskrár voru aðgengilegar fyrir 33 arfbera (n = 34) og alla í viðmiðunarhópi (n = 28). Misjafnt var hversu miklar upplýsingar voru til staðar. Samanburð á aldri og kynjahlutfalli arfbera og viðmiðunarhóps má sjá í töflu 4.

**Tafla 4: Almennar upplýsingar um arfbera og viðmiðunarhóp**

	Arfberar	Viðmiðunarhópur
<b>N<sup>a</sup></b>	34	28
<b>KK (%)<sup>b</sup></b>	44%	43%
<b>Meðal fæðingarár</b>	1956	1964
<b>Lifandi (%)<sup>b</sup></b>	72%	89%
<b>Meðalaldur við andlát [aldursbil]<sup>d</sup></b>	66 [35-95]	67 [50-85]
<b>Meðalaldur við skyndidauða [aldursbil]<sup>d</sup></b>	54 [35-75]	50

<sup>a</sup> N tákna fjölda einstaklinga. <sup>b</sup> KK (%) segir til um hlutfall karla í hvorum hóp. <sup>c</sup> Lifandi (%) segir til um hversu stórt hlutfall einstaklinga er á lífi. <sup>d</sup> Til þess að gera upplýsingar ópersónugreinanlegar er aldur gefinn upp í 5 ára aldursbilum.

Niðurstöður úr svipgerðargreiningu má sjá í töflu 5. Fjórir arfberar (11,8%) stökkbreytingarinnar höfðu látist skyndidauða á aldursbilinu 35 til 75 ára. Meðalaldur þeirra við skyndidauða var 54 ár. Allir fjórir einstaklingarnir fengu hjartastopp utan sjúkrahús. Einn arfberinn var mun eldri en hinir og hafði þriggja æða kransæðasjúkdóm sem líklega hefur stuðlað að hjartastoppinu. Í hinum þremur tilfellunum fundust engar upplýsingar um mögulega orsök hjartastopps. Til samanburðar lést einn einstaklingur (3,6%) skyndidauða í viðmiðunarhópnum 50 ára gamall.

Munur á tíðni kransæðastíflu og kransæðsjúkdóms var í samræmi við þá fylgni sem við höfðum áður séð í gögnum ÍE. Sjö arfberar (21,2%) höfðu fengið heilablóðfall samanborið við engan í viðmiðunarhópnum. Það var ekki marktækur munur á tíðni yfirlíðs og hjartsláttarþæginda milli hópanna.

Hjartalínurit fundust hjá 26 af 34 arfberum (76,5%) og hjá 18 af 28 í viðmiðunarhópi (64,3%). Niðurstöður svipgerðargreiningar staðfestu truflun á rafleiðni í hjartavef.

Brugada mynstur af gerð 1 sást í hvorugum hópnum. Brugada mynstur af gerð 2 sást hjá tveimur arfberum (7,7%). Annar arfberinn hafði sögu um hjartsláttarþægindi og fjölskyldusögu um skyndidauða. Hin arfberinn var einkennalaus en hafði greinst með 1<sup>o</sup> gáttasleglarof.

Alls höfðu 11 arfberar (42,3%) ST-hækkun og fjórir í viðmiðunarhópnum (22,2%). Við skiptum ST hækkunum í þrjú flokka: væg ST hækkun (< 1 mm), ST hækkun vegna kransæðastíflu og óútskýrð ST hækkun. Af 11 arfberunum höfðu sex væga ST hækkun, þrjár ST hækkun vegna kransæðastíflu og tveir óútskýrða ST hækkun. Engin í viðmiðunarhópnum hafði óútskýrða ST hækkun.

Tafla 5: Tíðni svipgerða milli arfbera og viðmiðunarhóps

	Arfberar (N = 34 <sup>a</sup> )		Viðmiðunarhópur (N = 28 )		OR <sup>c</sup>	P <sup>d</sup>
	N <sup>a</sup>	Tíðni (%) <sup>b</sup>	N <sup>a</sup>	Tíðni (%) <sup>b</sup>		
<b><u>Hjartalínurit</u></b>	<b>26</b>	<b>76,5 %</b>	<b>18</b>	<b>64,3 %</b>		
Brugada (Gerð 2)	2	7,7 %	0	0 %	3,78 (0,17 – 83,46)	0,51
PR ≥ 200 ms	14	53,8 %	2	11,1 %	9,33 (1,77 – 49,08)	0,005
QRS ≥ 120 ms	10	38,5 %	1	5,6 %	10,63 (1,22 – 92,69)	0,02
QTc ≥ 480 ms	2	7,7 %	1	5,6 %	1,42 (0,12 – 16,91)	1,00
1° gáttasleglarof	6	23,1 %	1	5,6 %	5,10 (0,56 – 46,66)	0,21
Vinstra greinrof	3	11,5 %	0	0 %	5,51 (0,27 – 113,5)	0,28
Hægra greinrof	0	0 %	1	5,6 %	0,22 (0,01 – 5,72)	0,41
ST hækkun	11	42,3 %	4	22,2 %	2,57 (0,66 – 9,97)	0,21
<b><u>Svipgerð</u></b>						
Skyndidauði	4	11,8 %	1	3,6 %	3,60 (0,38 – 34,23)	0,37
Gáttatif	3	9,1 %	1	3,6 %	2,70 (0,26 – 27,53)	0,62
Sjúkur sínus hnútur	2	6,1 %	0	0 %	4,52 (0,21 – 98,3)	0,50
Gangráður	2	6,1 %	0	0 %	4,52 (0,21 – 98,3)	0,50
Bjargráður	0	0 %	0	0 %	0,85 (0,02 – 44,26)	1,00
Kransæðastífla	8	24,2 %	1	3,6 %	8,64 (1,01 – 74,09)	0,03
Kransæðasjúkdómur	11	33,3 %	2	7,1 %	6,50 (1,30 – 35,52)	0,03
Heilablóðfall	7	21,2 %	0	0 %	16,13 (0,88 – 296,5)	0,01
Yfirlið	6	18,8 %	3	10,7 %	1,85 (0,42 – 8,21)	0,49
Hjartsláttarótt	10	30,3 %	5	17,9 %	2,00 (0,59 – 6,77)	0,37

<sup>a</sup> N táknar fjölda einstaklinga með tiltekna svipgerð. <sup>b</sup> Tíðni(%) táknar hlutfall einstaklinga með tiltekna svipgerð. <sup>c</sup> OR: Gagnlíkindahlutfall (*e. Odds ratio*). <sup>d</sup> Notað var fisher's exact test til að reikna tölfraðilega marktækni. \* Einn arfberi átti bara upplýsingar um dánarorsök og var því bara hafður með í útreikningum fyrir tíðni skyndidauða.

## 5 Umræða

Í þessari rannsókn máttum við hvort stökkbreytingin c.3838-3 C > G í *SCN5A* veldur Brugada heilkenni á Íslandi. Tíðni samsætunnar er 0,009% og því ætti stökkbreytingin að finnast hjá einum af hverjum 5.555 Íslendingum. Rannsóknin sýndi að stökkbreytingin veldur truflun á rafleiðni í hjartavef, en lengd PR bils og QRS bils var 30,0 ms og 18,3 ms lengra hjá arfberum stökkbreytingarinnar samanborið við einstaklinga sem ekki hafa stökkbreytinguna. Upplýsingar úr sjúkraskrá leiddu í ljós að fjórir af 34 arfberum (11,76%) höfðu látist skyndidauða samanborið við einn af 28 í viðmiðunarahóp (3,57%). Brugada mynstur af gerð 1 sást í hvorugum hópnum, en tveir arfberar (7,7%) höfðu Brugada mynstur af gerð 2 samanborið við engan í viðmiðunarahóp.

### 5.1 SCN5A

*SCN5A* genið er staðsett á litningi 3p21 og inniheldur 28 táknaðir [45]. Eins og áður hefur komið fram tjáir genið fyrir alfa undireiningu í Nav<sub>v</sub>1.5 jónagöngum. Alfa undireining Nav<sub>v</sub>1.5 jónaganga er stórt prótein (227 KDa) sem er samsett úr fjórum hneppum (e. *domain*) sem liggja sex sinnum í gegnum frumuhimnuna [46].

Hlutverk Nav<sub>v</sub>1.5 jónaganga er að stjórna flæði Na<sup>+</sup> jóna inn í hjartavöðvafrumur, próteinið gegnir þannig lykilhlutverki í hraðri afskautun hjartavöðvafrumna [47]. Það er vel þekkt að stökkbreytingar í *SCN5A* geninu valdi hjartasjúkdómum. Það hafa fundist yfir 700 erfðabreytileikar í *SCN5A* geninu sem hafa tengsl við hjartasjúkdóma eins og Brugada heilkenni, heilkenni lengingar á QT bili, útvíkkunarhjärtavöðvakvilla og sjúkan sínus hnút [27]. Rúmlega 300 erfðabreytileikar í geninu hafa verið tengdir við Brugada heilkenni, flestar þessar stökkbreytingar eru sjaldgæfar og finnast oft einungis í einni fjölskyldu. Það eru stökkbreytingar sem leiða til taps á virkni (e. *loss of function*) próteinsins sem eru algengustu orsakavaldar heilkennisins [26].

Stökkbreytingin c.3838-3 C > G sem við greindum í 34 Íslendingum hefur ekki verið lýst áður eftir því sem við best vitum. Stökkbreytingin er staðsett þremur basapörum á undan táknað 21 og er því á mótum táknaðar og innraðar. Það er vel þekkt að stökkbreytingar á þeim svæðum geti haft áhrif á splæsinguna gena [48]. Ástæðan fyrir því er sú að á endum innraða eru sérstakar erfðaraðir (e. *consensus sequences*) sem gera splæsikornum (e. *spliceosome*) kleyft að bera kennsl á táknaðir [49]. Stökkbreytingar sem hafa áhrif á splæsinguna gena geta þannig verið lykilþáttur í meinmyndun sjaldgæfra og algengra sjúkdóma [50].

Það getur verið erfitt að meta áhrif stökkbreytinga á splæsinguna gena. Þekkt er að stökkbreytingar á splæsisetum geta leitt til brottfalls á táknað eða valdið því að innröð eða hluti innraðar sé ekki fjarlægður [51]. Til þess að skoða áhrif stökkbreytinga á mRNA afurð gens er best að einangra RNA úr frumu og raðgreina það [52]. Þar sem *SCN5A* er nánast eingöngu tjáð í hjartavef gátum við ekki skoðað nákvæm áhrif c.3838-3 C > G á mRNA afurð gensins, en við teljum líklegt að stökkbreytingin hafi áhrif á splæsinguna gensins [53].

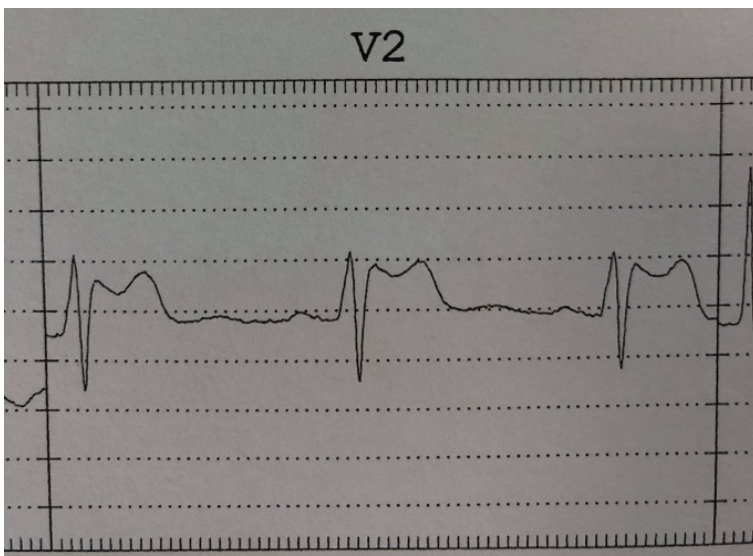


## 5.2 Áhrif stökkbreytingar á rafleiðni í hjartavef

Stökkbreytingin c.3838-3 C > G hefur áhrif á rafleiðni í hjartavef og lengir bæði PR og QRS bil. Lengd PR bils á hjartalínuriti endurspeglar þann tíma sem það tekur fyrir gáttir hjartans að afskautast og lengd QRS bils endurspeglar tímamann sem það tekur fyrir slegla hjartans að afskautast [32]. Stökkbreytingin hefur því áhrif á afskautun hjartavöðvafrumna sem er í samræmi við þá þekkingu að Nav1.5 jónagöng gegna lykilhlutverki í hröðum afskautunarfasa hjartavöðvafrumna [47]. Þessar niðurstöður eru áhugaverðar í ljósi þess að það er þekkt að arfberar stökkbreytinga sem valda Brugada heilkenni hafi oft rafleiðnitruflanir í hjarta á borð við lengt PR og QRS bil [19].

Eins og kom fram í inngangi hefur mynstrum á hjartalínuriti verið lýst í tengslum við Brugada heilkenni. Þegar hjartalínurit arfbera voru skoðuð kom í ljós að enginn arfberi c.3838-3 C > G reyndist hafa Brugada mynstur af gerð 1 en tveir arfberar stökkbreytingarinnar höfðu Brugada mynstur af gerð 2. Hjartalínurit eins af arfberum stökkbreytingarinnar má sjá á mynd 5. Brugada mynstur af gerð 2 sást því hjá 7,7% arfbera sem áttu hjartalínurit. Þetta hlutfall er mun hærra en þekktist í almennu þýði. Í rannsókn Pecini et. al sem gerð var í Danmörku var tíðni Brugada mynsturs af gerð 2 0,07% hjá þátttakendum í Copenhagen Heart Study. En í þessari rannsókn voru rúmlega 40.000 hjartalínurit skoðum með það markmið að leita eftir ummerkjum um Brugada heilkenni [54]. Rannsókn Gallagher et. al sem gerð var á Ítalíu sýndi að tíðni Brugada mynsturs af gerð 2 var 0,2% [55].

Hjartalínuritsbreytingar af völdum Brugada heilkennis fela í sér ST hækkun. Tveir arfberar stökkbreytingarinnar höfðu sögu um óútskýrða ST hækkun samanborið við engan við viðmiðunarhóp. Annar einstaklingurinn hafði enga fyrri heilsufarssögu, en þegar viðkomandi fór í svæfingu vegna kviðarholsaðgerðar og þá komu fram ST hækkarnir í brjóstleiðslum V1 - V3. Þetta er áhugavert í ljósi þess að þekkt er að lyf, þ.á.m. svæfingarlyf geti kallað fram Brugada mynstur á hjartalínuriti hjá arfberum stökkbreytinga sem valda Brugada heilkenni [56]. Í hinu tilvikinu kom fram óútskýrð ST hækkun í þolprófi hjá einstaklingi sem hafði sögu um endurtekna brjóstverki. Þessar ST hækkarnir þóttu benda til kransæðasjúkdóms en kransæðar reyndust vera eðlilegar í þræðingu. Ári seinna fékk þessi sami einstaklingur gangráð vegna sögu um endurtekna yfirliðstilfiningu.



**Mynd 5: Hjartalínurit arfbera**

Myndin sýnir hjartalínurit hjá arfbera c.3838-3 C > G stökkbreytingarinnar. Á þessu hjartalínuriti sést einkennandi ST hækkun í leiðslu V2 sem er dæmigerð fyrir Brugada mynstur af gerð 2.

### 5.3 Svipgerð arfbera

Í þessari rannsókn skoðuðum við áhrif stökkbreytingarinnar c.3838-3 C > G á svipgerð arfbera með það að markmiði að meta hvort stökkbreytingin valdi Brugada heilkenni. Upplýsingar úr sjúkraskrá sýndu að einn arfberi hafði verið í rannsóknum vegna gruns um Brugada heilkenni en enginn annar arfberi hafði verið grunaður um að hafa heilkennið.

Niðurstöður rannsóknarinnar sýndu að stökkbreytingin c.3838-3 C > G hefur fylgni við kransæðasjúkóm og kransæðastíflu. Fyri rannsóknir hafa ekki sýnt að stökkbreytingar í SCN5A auki líkur á kransæðasjúkdómi en þekkt er ST hækkanir af völdum Brugada heilkennis geti verið misgreindar sem kransæðastífla [57]. Upplýsingar úr sjúkraskrá leiddu í ljós að flest tilfelli kransæðasjúkdóms meðal arfbera voru staðfest með kransæðapræðingu og því ekki um misgreiningar að ræða. Þar að auki höfðu þeir aðrir arfberar farið í kransæðapræðingu vegna gruns um kransæðasjúkdóm, en reyndust hafa eðlilegar kransæðar. Mögulegt er því að fylgni stökkbreytingarinnar við kransæðasjúkdóm skýrist af því að arfberar stökkbreytingarinnar séu líklegri til að hafa einkenni frá hjarta og því líklegri til þess að vera sendir í kransæðapræðingu og þar af leiðandi líklegri til að greinast.

Upplýsingar úr sjúkraskrá sýndu að fjórir (11,8%) af arfberum stökkbreytingarinnar höfðu látist skyndidauða og meðalaldur þeirra var 54 ár. Erfitt er að meta algengi skyndidauða en á vestrænum löndum er það talið vera á bilinu 50 til 100 tilfelli á hverja 100.000 einstaklinga árlega [5]. Hlutfall arfbera sem látist hefur skyndidauða er því hátt.

Tveir af arfberunum sem létust skyndidauða áttu hjartalínurit. Hjartalínuritin sýndu ekki ummerki um Brugada heilkenni, en báðir arfberarnir höfðu PR bil > 200 ms og QRS bil > 120 ms. Báðir þessir einstaklingar voru einkennalítir. Annar arfberinn hafði einu sinni fengið yfirlíð og brjóstverk, hann reyndist hinsvegar hafa þriggja æða kransæðasjúkdóm sem líklega hefur orsakað hjartastoppið. Hinn arfberinn hafði einu sinni orðið þvoglumæltur og óstöðugur á fótum, sem þótti benda til heilablóðfalls. Rannsóknir sýndu hinsvegar engin ummerki um heilablóðfall og einkennin gengu yfir. Takmarkaðar upplýsingar var að finna um hina tvo arfberana sem látist höfðu skyndidauða, en hvorugur þeirra átti hjartalínurit. Þar sem niðurstöður okkar sýndu að einn einstaklingur í viðmiðunarhópi hafði látist skyndidauða þarf að fara varlega í að draga ályktanir varðandi orsakasamhengi milli c.3838-3 C > G og hjartastopps. Hafa ber í huga að þessi einstaklingur og arfberar c.3838-3 C > G gætu deilt öðrum sjaldgæfum stökkbreytingum sem gæti orsakað skyndidauða. Einstaklingurinn í viðmiðunarhópnum hafði hinsvegar enga sögu um einkenni frá hjarta- og æðakerfi og hjartalínurit hans sýndu engin merki um rafleiðnitruflanir.

Brugada heilkenni eykur líkur á sleglatakttruflunum og því geta einkenni heilkennisins verið yfirlíð og hjartsláttarónot [1]. Það reyndist ekki vera marktækur munur á tíðni yfirlíðs eða hjartsláttarónota hjá arfberum stökkbreytingarinnar samanborið við viðmiðunarhóp. Hafa ber í huga að einkenni eins og yfirlíð og hjartsláttarónot eru algeng í almennu þýði og geta orsakast af mörgum þáttum [58]. 18,8% arfbera c. 3838-3 C > G stökkbreytingarinnar höfðu sögu um yfirlíð. Til samanburðar sýndi rannsókn Arryoy et. al að tíðni yfirlíðs meðal 165 einstaklinga sem greindust með Brugada heilkenni á árunum 2003 til 2014 væri 29,7% [44]. Í þeirri rannsókn voru hinsvegar einstaklingar sem hafa verið greindir með Brugada heilkenni sem er ólíkt okkar rannsóknarhóp.

## 5.4 Nýting arfgerðarupplýsinga

Erfitt hefur reynst að rannsaka samband arfgerðar og svipgerðar Brugada heilkennis þar sem mörg gen hafa verið tengd við sjúkdóminn og tíðni hveftrar stökkbreytingar oftast lág. Þær rannsóknir sem hafa verið gerðar til að meta tjáningu og sýnd stökkbreytinga sem geta valdið Brugada heilkenni eru því oftast tilfella- eða fjölskyldurannsóknir sem gjarnan ofmeta alvarleika stökkbreytinga þar sem arfberar með væg eða engin einkenni eru síður metnir. Hér á landi hefur skapast einstakur grundvöllur til þess að meta svipgerð út frá arfgerð og þannig einstakt tækifæri til að finna stökkbreytingar sem gætu valdið Brugada heilkenni eða öðrum frumkomnum raflífeðlisfræðilegum röskunum [59].

Þessi rannsókn leiddi í ljós að stökkbreytingin c.3838-3 C > G veldur líklega Brugada heilkenni á Íslandi. Hingað til hefur stærsti hluti þeirra sem greinast með Brugada heilkenni í heiminum fengið hjartastopp sem leiðir til þess að þeir eru sendir í rannsóknir og í kjölfarið greindir með heilkennið. Framtíðarsýn okkar er að hægt verði að nýta arfgerðarupplýsingar til þess að greina og meðhöndla einstaklinga út frá því hvaða undirliggjandi erfðabreytileika þeir hafa. Þannig væri hægt að ná til einstaklinga meðan þeir eru einkennalausir og mögulega grípa inn í ef áhætta á hjartastoppi telst mikil.

Þessar upplýsingar myndu einnig gagnast heilbrigðisstarfsfólki við rannsóknir á einstaklingum sem hafa fengið óútskýrt hjartastopp. Hægt væri að raðgreina erfðamengi þeirra einstaklinga og leita eftir stökkbreytingum eins og þeirri sem við fundum og þannig væri hægt að varpa ljósi á orsakir hjartastopps.

Eftir því sem arfgerðargreining verður ódýrari og aðgengilegri mun notkun arfgerðarupplýsinga í heilbrigðisþjónustu fara vaxandi, meðal annars við áhættumat á sjúkdómum í einkennalausum arfberum. Til að hægt sé að veita greinargóðar upplýsingar um áhættu er mikilvægt að kortleggja nákvæmlega áhrif stökkbreytinga eins og c.3838-3 C > G.

## 5.5 Styrkleikar og takmarkanir

Helsti styrkleiki rannsóknarinnar liggur í arfgerðarupplýsingum ÍE. Þar sem stór hluti íslensku þjóðarinnar hefur tekið þátt í rannsóknnum ÍE á víðtækum grundvelli hefur skapast einstakur grundvöllur til að meta svipgerð út frá arfgerð. Auk þess liggja fyrir upplýsingar um skyldleika Íslendinga hjá Íslendingabók sem gerir okkur kleyft að rekja skyldleika þeirra arfbera sem fundust í rannsókninni.

Helstu takmarkanir rannsóknarinnar eru að hún er afturskyggn og byggir því að fyrirfram skráðum upplýsingum í sjúkraskrá. Takmarkaðar upplýsingar var að finna um heilsufar nokkra einstaklinga þar sem þeir höfðu annaðhvort látist fyrir mörgum árum eða ekki leitað sér læknishjálpar. Einungis fundust hjartalínurit hjá 26 arfberum (76,5%) og flestir þeirra áttu fá hjartalínurit. Það er takmarkandi þáttur þar sem þekkt er að ummerki um Brugada heilkenni koma ekki alltaf fram á hjartalínuriti.

## 5.6 Næstu skref

Frekari rannsóknir þarf til þess að staðfesta að stökkbreytingin valdi Brugada heilkenni. Áhugavert væri að gera framskyggna framhaldsrannsókn þar sem arfberum stökkbreytingarinnar og viðmiðunarhópi væri fylgt eftir í ákveðinn tíma til þess að kortleggja hjartalínuritsbreytingar og einkenni.

## 5.7 Ályktanir

Í þessari rannsókn sýndum við fram á að sjaldgæf íslensk stökkbreyting í *SCN5A* hefur áhrif á rafleiðni í hjartavef og veldur lengingu á bæði PR bili og QRS bili. Niðurstöður rannsóknarinnar benda til þess að stökkbreytingin valdi líklega Brugada heilkenni, en frekari rannsóknir þarf til staðfesta þau tengsl.

## Heimildaskrá

1. Sieira, J. and P. Brugada, *The definition of the Brugada syndrome*. Eur Heart J, 2017. **38**(40): p. 3029-3034.
2. Juang, J.J. and M. Horie, *Genetics of Brugada syndrome*. J Arrhythm, 2016. **32**(5): p. 418-425.
3. Sieira, J., G. Dendramis, and P. Brugada, *Pathogenesis and management of Brugada syndrome*. Nat Rev Cardiol, 2016. **13**(12): p. 744-756.
4. Magi, S., et al., *Sudden cardiac death: focus on the genetics of channelopathies and cardiomyopathies*. J Biomed Sci, 2017. **24**(1): p. 56.
5. Fishman, G.I., et al., *Sudden cardiac death prediction and prevention: report from a National Heart, Lung, and Blood Institute and Heart Rhythm Society Workshop*. Circulation, 2010. **122**(22): p. 2335-48.
6. Eckart, R.E., et al., *Sudden death in young adults: an autopsy-based series of a population undergoing active surveillance*. J Am Coll Cardiol, 2011. **58**(12): p. 1254-61.
7. Thorgeirsson, G., et al., *Risk factors for out-of-hospital cardiac arrest: the Reykjavik Study*. Eur Heart J, 2005. **26**(15): p. 1499-505.
8. Wever, E.F. and E.O. Robles de Medina, *Sudden death in patients without structural heart disease*. J Am Coll Cardiol, 2004. **43**(7): p. 1137-44.
9. Coll, M., et al., *Incomplete Penetrance and Variable Expressivity: Hallmarks in Channelopathies Associated with Sudden Cardiac Death*. Biology (Basel), 2017. **7**(1).
10. Vohra, J. and S. Rajagopalan, *Update on the Diagnosis and Management of Brugada Syndrome*. Heart Lung Circ, 2015. **24**(12): p. 1141-8.
11. Chen, Q., et al., *Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation*. Nature, 1998. **392**(6673): p. 293-6.
12. Brugada, P. and J. Brugada, *Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report*. J Am Coll Cardiol, 1992. **20**(6): p. 1391-6.
13. Matsuo, K., et al., *The prevalence, incidence and prognostic value of the Brugada-type electrocardiogram: a population-based study of four decades*. J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(3): p. 765-70.
14. Miyasaka, Y., et al., *Prevalence and mortality of the Brugada-type electrocardiogram in one city in Japan*. J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(3): p. 771-4.
15. Patel, S.S., S. Anees, and K.J. Ferrick, *Prevalence of a Brugada pattern electrocardiogram in an urban population in the United States*. Pacing Clin Electrophysiol, 2009. **32**(6): p. 704-8.
16. Benito, B., et al., *Gender differences in clinical manifestations of Brugada syndrome*. J Am Coll Cardiol, 2008. **52**(19): p. 1567-73.
17. Probst, V., et al., *Clinical aspects and prognosis of Brugada syndrome in children*. Circulation, 2007. **115**(15): p. 2042-8.
18. Priori, S.G., et al., *Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes*. Heart Rhythm, 2013. **10**(12): p. e85-108.
19. Maury, P., et al., *Prevalence and prognostic role of various conduction disturbances in patients with the Brugada syndrome*. Am J Cardiol, 2013. **112**(9): p. 1384-9.
20. Veltmann, C., et al., *A prospective study on spontaneous fluctuations between diagnostic and non-diagnostic ECGs in Brugada syndrome: implications for correct phenotyping and risk stratification*. Eur Heart J, 2006. **27**(21): p. 2544-52.
21. Brugada, R., et al., *Brugada syndrome*. Methodist DeBakey Cardiovasc J, 2014. **10**(1): p. 25-8.
22. Meregalli, P.G., et al., *Diagnostic value of flecainide testing in unmasking SCN5A-related Brugada syndrome*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2006. **17**(8): p. 857-64.
23. Poli, S., et al., *Management of untreatable ventricular arrhythmias during pharmacologic challenges with sodium channel blockers for suspected Brugada syndrome*. Europace, 2018. **20**(2): p. 234-242.

24. Priori, S.G., 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): p. 2793-2867.
25. Ackerman, M.J., et al., *HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA)*. Heart Rhythm, 2011. **8**(8): p. 1308-39.
26. Kapplinger, J.D., 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): p. 33-46.
27. Li, W., et al., *SCN5A Variants: Association With Cardiac Disorders*. Front Physiol, 2018. **9**: p. 1372.
28. van den Boogaard, M., et al., *A common genetic variant within SCN10A modulates cardiac SCN5A expression*. J Clin Invest, 2014. **124**(4): p. 1844-52.
29. Antzelevitch, C., et al., *Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death*. Circulation, 2007. **115**(4): p. 442-9.
30. Giudicessi, J.R. and M.J. Ackerman, *Determinants of incomplete penetrance and variable expressivity in heritable cardiac arrhythmia syndromes*. Transl Res, 2013. **161**(1): p. 1-14.
31. Wilde, A.A., et al., *The pathophysiological mechanism underlying Brugada syndrome: depolarization versus repolarization*. J Mol Cell Cardiol, 2010. **49**(4): p. 543-53.
32. Hall, J., *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 2015: Elsevier.
33. Remme, C.A., et al., *The cardiac sodium channel displays differential distribution in the conduction system and transmural heterogeneity in the murine ventricular myocardium*. Basic Res Cardiol, 2009. **104**(5): p. 511-22.
34. Nerbonne, J.M. and R.S. Kass, *Molecular physiology of cardiac repolarization*. Physiol Rev, 2005. **85**(4): p. 1205-53.
35. Arnar, D.O. and R. Palsson, *Genetics of common complex diseases: a view from Iceland*. Eur J Intern Med, 2017. **41**: p. 3-9.
36. Hardy, J. and A. Singleton, *Genomewide association studies and human disease*. N Engl J Med, 2009. **360**(17): p. 1759-68.
37. Shendure, J. and H. Ji, *Next-generation DNA sequencing*. Nat Biotechnol, 2008. **26**(10): p. 1135-45.
38. MacArthur, J., et al., *The new NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog)*. Nucleic Acids Res, 2017. **45**(D1): p. D896-d901.
39. Manolio, T.A., et al., *Finding the missing heritability of complex diseases*. Nature, 2009. **461**(7265): p. 747-53.
40. Helgason, A., et al., *A reassessment of genetic diversity in Icelanders: strong evidence from multiple loci for relative homogeneity caused by genetic drift*. Ann Hum Genet, 2003. **67**(Pt 4): p. 281-97.
41. Gudbjartsson, D.F., et al., *Large-scale whole-genome sequencing of the Icelandic population*. Nat Genet, 2015. **47**(5): p. 435-44.
42. Kong, A., et al., *Detection of sharing by descent, long-range phasing and haplotype imputation*. Nat Genet, 2008. **40**(9): p. 1068-75.
43. Dendramis, G., *Brugada syndrome and Brugada phenocopy. The importance of a differential diagnosis*. Int J Cardiol, 2016. **210**: p. 25-7.
44. Casado-Arroyo, R., et al., *Long-Term Trends in Newly Diagnosed Brugada Syndrome: Implications for Risk Stratification*. J Am Coll Cardiol, 2016. **68**(6): p. 614-623.
45. Wang, Q., et al., *Genomic organization of the human SCN5A gene encoding the cardiac sodium channel*. Genomics, 1996. **34**(1): p. 9-16.

46. Shy, D., L. Gillet, and H. Abriel, *Cardiac sodium channel Nav1.5 distribution in myocytes via interacting proteins: the multiple pool model*. *Biochim Biophys Acta*, 2013. **1833**(4): p. 886-94.
47. Aronsen, J.M., F. Swift, and O.M. Sejersted, *Cardiac sodium transport and excitation-contraction coupling*. *J Mol Cell Cardiol*, 2013. **61**: p. 11-9.
48. Berget, S.M., *Exon recognition in vertebrate splicing*. *J Biol Chem*, 1995. **270**(6): p. 2411-4.
49. Scotti, M.M. and M.S. Swanson, *RNA mis-splicing in disease*. *Nat Rev Genet*, 2016. **17**(1): p. 19-32.
50. Cheng, J., et al., *MMSplice: modular modeling improves the predictions of genetic variant effects on splicing*. *Genome Biol*, 2019. **20**(1): p. 48.
51. Krawczak, M., et al., *Single base-pair substitutions in exon-intron junctions of human genes: nature, distribution, and consequences for mRNA splicing*. *Hum Mutat*, 2007. **28**(2): p. 150-8.
52. Anna, A. and G. Monika, *Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation*. *J Appl Genet*, 2018. **59**(3): p. 253-268.
53. Rook, M.B., et al., *Biology of cardiac sodium channel Nav1.5 expression*. *Cardiovasc Res*, 2012. **93**(1): p. 12-23.
54. Pecini, R., et al., *The prevalence and relevance of the Brugada-type electrocardiogram in the Danish general population: data from the Copenhagen City Heart Study*. *Europace*, 2010. **12**(7): p. 982-6.
55. Gallagher, M.M., et al., *Prevalence and significance of Brugada-type ECG in 12,012 apparently healthy European subjects*. *Int J Cardiol*, 2008. **130**(1): p. 44-8.
56. Yap, Y.G., E.R. Behr, and A.J. Camm, *Drug-induced Brugada syndrome*. *Europace*, 2009. **11**(8): p. 989-94.
57. Akdemir, I., V. Davutoglu, and M. Aksoy, *Intermittent Brugada syndrome misdiagnosed as acute myocardial infarction and unmasked with propafenone*. *Heart*, 2002. **87**(6): p. 543.
58. Soteriades, E.S., et al., *Incidence and prognosis of syncope*. *N Engl J Med*, 2002. **347**(12): p. 878-85.
59. Yamagata, K., et al., *Genotype-Phenotype Correlation of SCN5A Mutation for the Clinical and Electrocardiographic Characteristics of Proband With Brugada Syndrome: A Japanese Multicenter Registry*. *Circulation*, 2017. **135**(23): p. 2255-2270.