

Phát hiện đột biến mới D252N trên gen SCN5A ở bệnh nhân hội chứng Brugada

Đặng Duy Phương¹, Nguyễn Minh Hà², Đỗ Doãn Lợi^{1,3}, Trần Văn Khánh¹, Trần Huy Thịnh^{1*}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

³Viện Tim mạch Việt Nam

Ngày nhận bài 10/5/2021; ngày chuyển phản biện 12/5/2021; ngày nhận phản biện 15/6/2021; ngày chấp nhận đăng 21/6/2021

Tóm tắt:

Hội chứng Brugada là tình trạng rối loạn nhịp tim di truyền, mang tính trội trên nhiễm sắc thể thường, gây đột tử do tim. Nghiên cứu này báo cáo một trường hợp hội chứng Brugada ở bệnh nhân nam 43 tuổi không triệu chứng, được phát hiện tình cờ qua đo điện tâm đồ. Điện tâm đồ biểu hiện đặc điểm của hội chứng Brugada típ 2, nghiệm pháp flecainide dương tính. Phân tích gen cho thấy người bệnh có một đột biến thay thế acid amin D252N trên gen SCN5A. Đây là đột biến chưa được báo cáo trên các cơ sở dữ liệu di truyền liên quan đến hội chứng Brugada. Phân tích chức năng protein bằng phần mềm cho thấy đột biến xảy ra ở vùng gen được bảo tồn cao và có khả năng gây bệnh cao. Đây là trường hợp hội chứng Brugada đầu tiên được báo cáo có đột biến trên gen SCN5A tại Việt Nam.

Từ khóa: đột biến thay thế mới, gen SCN5A, hội chứng Brugada, phần mềm Polyphen-2.

Chỉ số phân loại: 3.1

Brugada syndrome with a novel missense mutation D252N in SCN5A gene: a case report

Duy Phuong Dang¹, Minh Ha Nguyen², Doan Loi Do^{1,3}, Van Khanh Tran¹, Huy Thinh Tran^{1*}

¹Hanoi Medical University

²University of Medicine Pham Ngoc Thach

³Vietnam National Heart Institute

Received 10 May 2021; accepted 21 June 2021

Abstract:

Brugada syndrome is an inherited cardiac arrhythmia that follows autosomal dominant transmission and can cause sudden death. This paper reported a case of Brugada syndrome in a 43-year-old male patient with no clinical symptoms. Brugada-type 2-ECG changes were accidentally detected. Flecainide test was done and proved positive. Gene analysis revealed a novel missense mutation in the SCN5A gene with a genetic variation of D252N. This novel mutation has not been reported on any genetic databases related to Brugada syndrome. Functional protein analysis software suggested that the mutation occurs in the highly conserved gene and probably has a damaging effect. This is the first Brugada syndrome case reported with a mutation in the SCN5A gene in Vietnam.

Keywords: Brugada syndrome, novel missense mutation, Polyphen-2 software, SCN5A gene.

Classification number: 3.1

Tổng quan

Được tìm ra vào năm 1992, hội chứng Brugada là một tình trạng rối loạn dẫn truyền điện tim, làm tăng mạnh nguy cơ rung thất và đột tử. Hội chứng này chiếm khoảng 4-12%

các trường hợp đột tử do tim nói chung và ít nhất 20% các trường hợp đột tử không do bất thường cấu trúc tim [1]. Bệnh nhân có triệu chứng và tử vong ở độ tuổi 40, xảy ra ở nam nhiều gấp 9 lần nữ, gây gánh nặng về kinh tế cho gia đình người bệnh [2]. Tần suất của bệnh khó xác định chính

*Tác giả liên hệ: Email: tranhuythinh@hmu.edu.vn

xác, khoảng 5/10.000 trên toàn thế giới, nhưng tập trung cao hơn ở vùng Đông Nam Á (1-14/1.000) [2]. Bệnh không có triệu chứng đặc hiệu nên khó chẩn đoán, chủ yếu dựa vào các hậu quả đã xuất hiện như nhịp nhanh thất, ngất, ngưng tim và biến đổi đoạn ST-T ở các chuyển đạo trước ngực phải (V1-V3) trên điện tâm đồ (ECG). Bệnh được chia làm ba típ, trong đó ECG Brugada típ 1 (ST-T cong vòm) được xem là thể điển hình (có thể là típ 1 tự phát hoặc do thuốc). Các ECG típ 2 (ST-T hình yên ngựa có độ chênh ≥ 1 mm) và típ 3 (ST-T hình yên ngựa có độ chênh < 1 mm) được chẩn đoán xác định khi thử nghiệm tiêm flecainide dương tính [3].

Nguyên nhân của hội chứng Brugada đã được xác định là do đột biến gây mất hoặc giảm chức năng của ít nhất một trong hai mươi gen liên quan đến hoạt động của các kênh ion dẫn truyền điện thế ở màng tế bào cơ tim [2]. Trong đó, đột biến trên gen SCN5A mã hóa cho bán đơn vị alpha của kênh natri phụ thuộc điện thế trên màng tế bào cơ tim chiếm tần suất cao nhất, khoảng 25-30% trong nhóm bệnh nhân được chẩn đoán hội chứng Brugada. Y văn đã ghi nhận hơn 200 loại đột biến gây hội chứng Brugada khác nhau, phân bố trên khắp 28 exon của gen SCN5A. Khoảng 95% là các đột biến điểm, loại thay thế một nucleotid dẫn đến thay thế một acid amin, còn lại là các loại đột biến xóa đoạn hoặc chèn đoạn ngắn [4]. Nếu được xác định tình trạng đột biến, người bệnh và người mang gen bệnh có thể được áp dụng các liệu pháp điều trị dự phòng như cấy máy phá rung tự động (ICD), dùng thuốc và theo dõi sát [2].

Trên toàn thế giới, các nghiên cứu lâm sàng và di truyền về nhóm bệnh rối loạn nhịp tim nói chung và hội chứng Brugada nói riêng tăng lên rất nhanh trong những năm gần

đây. Tại Việt Nam, lĩnh vực này còn hạn chế và hầu như chưa có nghiên cứu nào xác định dạng rối loạn di truyền ở bệnh nhân Brugada và người mang gen bệnh. Chúng tôi báo cáo một trường hợp bệnh nhân nam, tình cờ phát hiện mắc hội chứng Brugada khi đo ECG. Nghiệm pháp flecainide được tiến hành tại Viện Tim TP Hồ Chí Minh cho kết quả dương tính. Xét nghiệm gen được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu Gen - Protein, Trường Đại học Y Hà Nội. Phân tích hai mươi gen liên quan [2] bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới và kỹ thuật giải trình tự Sanger, phát hiện một đột biến thay thế trên exon 5 gen SCN5A chưa được công bố trước đây. Đột biến được phân tích dự đoán khả năng gây bệnh bằng phần mềm Polyphen-2 [5, 6].

Giới thiệu ca lâm sàng

Bệnh nhân nam 43 tuổi là nhân viên kinh doanh, không có tiền căn bệnh lý gì trước đây, không ngất, không thờ kiểu hấp hối về đêm, không có tiền căn đột tử trong gia đình. Bệnh nhân đi khám ở phòng khám tư nhân vì hồi hộp, thường xuyên cảm giác hụt hơi. ECG lúc nghỉ ngơi tại phòng khám tư ghi nhận hình ảnh của hội chứng Brugada típ 2 gồm sóng T hai pha, đoạn ST-T dạng yên ngựa ở V1 (hình 1A). Bệnh nhân được chỉ định thực hiện nghiệm pháp tiêm flecainide để khẳng định chẩn đoán. Ngày 23/4/2018, bệnh nhân đến khám tại Viện Tim TP Hồ Chí Minh.

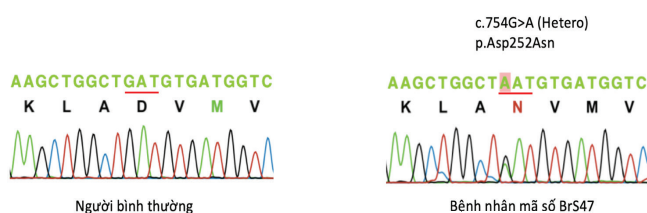
Hồ sơ khám không ghi nhận triệu chứng bất thường. ECG vẫn cho thấy hình ảnh sóng T hai pha và ST-T dạng yên ngựa ở V1. Các xét nghiệm huyết học, hóa sinh miễn dịch (ion đồ, troponin tim, công thức máu, độ lọc cầu thận ước tính...) và X-quang tim phổi thẳng của người bệnh đều



Hình 1. Hình ảnh điện tâm đồ của bệnh nhân. (A) ECG lúc nghỉ ngơi 11/4/2018 cho thấy sóng T hai pha, đoạn ST-T dạng yên ngựa ở V1; (B) ECG khi đang làm thử nghiệm flecainide 23/4/2018 cho thấy điểm J cao, T âm, ST-T dạng vòm.

trong giới hạn bình thường. Siêu âm tim cho thấy chức năng tâm thu thất trái tốt (FE 70%), hồ van hai lá 1/4 típ IIA2, không tăng áp động mạch phổi. Phim chụp MSCT 640 lát cắt cho thấy hệ động mạch vành bị hẹp 30% đoạn giữa nhánh trái trước (LAD) và đoạn giữa nhánh phải (RCA). Bệnh nhân được tiến hành nghiệm pháp tiêm flecanide. Trong lúc tiến hành, không thấy xuất hiện hiện tượng rối loạn nhịp thất. Nghiệm pháp được kết luận dương tính với sự xuất hiện điểm J cao, sóng T âm sâu, đoạn ST-T cong vòm ở V1 và V2 (hình 1B). Bệnh nhân được chẩn đoán xác định hội chứng Brugada típ 1 do thuốc.

Bệnh nhân được lấy máu tĩnh mạch và thực hiện xét nghiệm phân tích tìm đột biến trên 20 gen được báo cáo là có liên quan đến bệnh sinh của hội chứng Brugada, gồm: SCN5A, ABCC9, CACNA1C, CACNA2D1, CACNB2, GPD1L, HCN4, KCND3, KCNE3, KCNE5, KCNH2, KCNJ8, PKP2, RANGRF, SCN10A, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SLMAP, TRPM4. Kết quả giải trình tự thế hệ mới (NGS) và giải trình tự Sanger cho thấy có biến đổi thay thế acid amin D252N tại exon 5 trên gen SCN5A. Biến đổi này ở trạng thái dị hợp tử (hình 2).



Hình 2. Kết quả phát hiện đột biến bằng giải trình tự Sanger. Biểu đồ tín hiệu cho thấy biến đổi thay thế một nucleotide tại vị trí c.754G>A, tạo ra đột biến D252N ở exon 5 trên gen SCN5A (vị trí bộ ba có gạch chân).

Chúng tôi sử dụng phần mềm phân tích cấu trúc và dự đoán biến đổi chức năng protein từ đột biến. Phần mềm Polyphen-2 [5, 6] là một công cụ được phát triển bởi các nhà khoa học ở Đại học Harvard (Hoa Kỳ), giúp tiên đoán ảnh hưởng của một biến đổi loại thay thế acid amin lên cấu trúc và chức năng protein người. Phần mềm sử dụng nhiều cơ sở dữ liệu di truyền, chủ yếu là UniProtKB và SwissProt làm nguồn tham khảo cho tất cả các trình tự và chú giải về đặc tính của protein. Để dự đoán một sự thay thế acid amin nhất định trong protein, Polyphen-2 trích xuất các tính năng dựa trên cấu trúc và trình tự khác nhau của vị trí thay thế và đưa chúng vào phân loại xác suất theo hai mô hình HumDiv và HumVar. Điểm số của hai mô hình này được cho từ 0 (không có khả năng gây bệnh) đến 1 (khả năng gây bệnh lớn nhất). Cả hai mô hình khi đánh giá đột biến D252N đều cho điểm số cao: HumDiv là 1,000 và HumVar là 0,999, cho thấy phần mềm dự đoán khả năng đột biến D252N gây ảnh hưởng đến chức năng của protein $Na_v1.5$ và dẫn đến tình trạng bệnh là cao. Công cụ có bổ sung dữ liệu

về mức độ bảo tồn của vị trí acid amin giữa các loài khác nhau (multiple sequence alignment, MSA), cho thấy mức độ bảo tồn của vị trí đột biến cũng như của vùng lân cận rất cao, chứng tỏ mức độ quan trọng của vị trí này (hình 3).

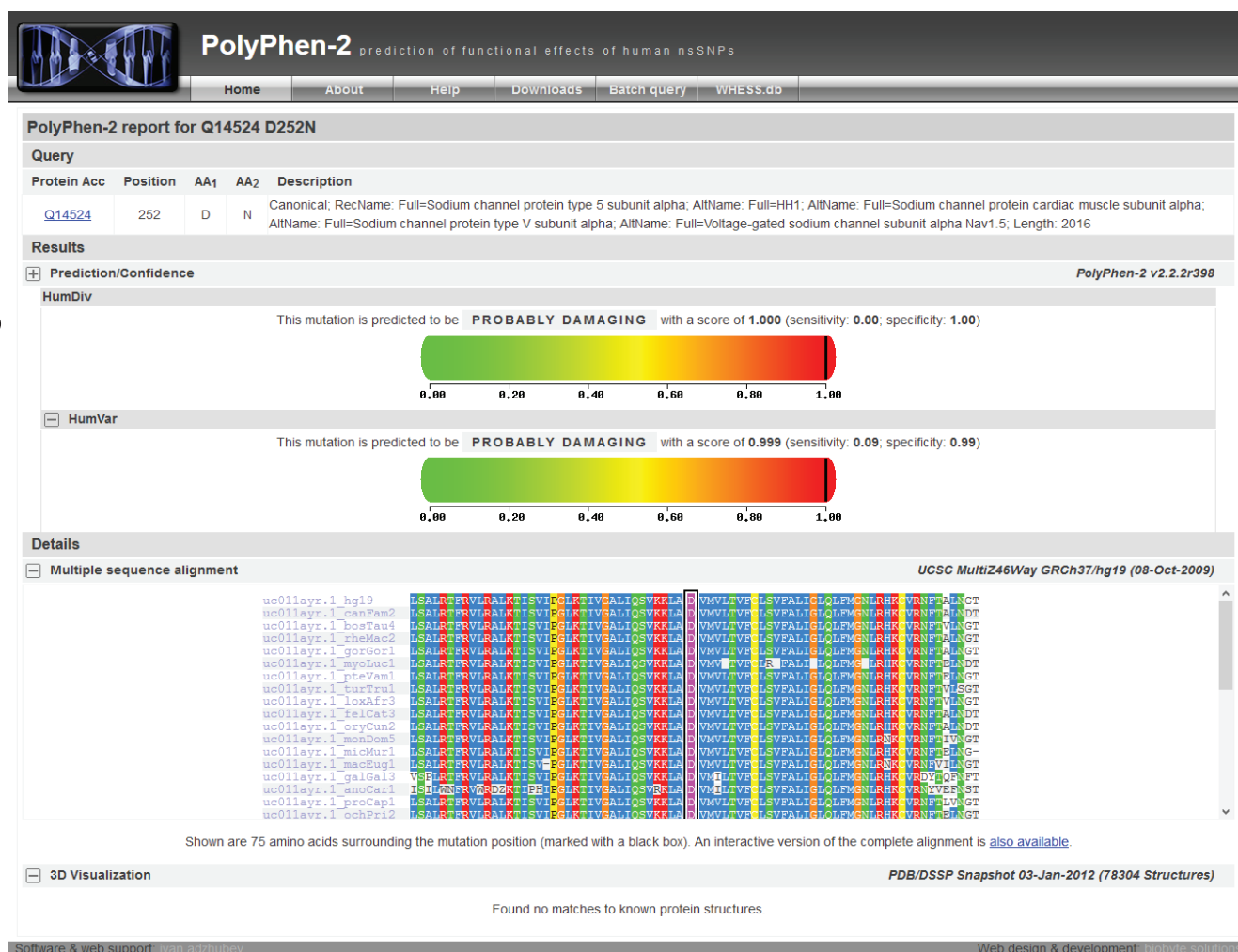
Hiện tại, bệnh nhân đang được theo dõi định kỳ tại Viện Tim TP Hồ Chí Minh, được hướng dẫn tránh tiếp xúc với các yếu tố gây khởi phát triệu chứng của hội chứng Brugada như môi trường nóng bức, kích thích tâm lý, sốt cao và dùng các thuốc chống loạn nhịp hoặc các thuốc trầm cảm có tác dụng trên kênh natri. Dù có chỉ định nhưng bệnh nhân chưa đặt máy phá rung tự động do chi phí cao.

Đạo đức trong nghiên cứu: nghiên cứu đảm bảo tuân thủ các quy định đạo đức trong nghiên cứu y sinh học. Đề tài đã được thông qua bởi Hội đồng Đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội và Viện Tim TP Hồ Chí Minh.

Bàn luận

Hội chứng Brugada thuộc nhóm bệnh bất thường kênh ion ở tế bào cơ tim, thường gây ra những cơn nhịp nhanh thất đa dạng và rung thất dẫn đến đột tử [2, 3]. Bệnh được chú ý nhiều ở vùng Đông Nam Á, bao gồm cả Việt Nam, với rất ít biểu hiện lâm sàng. Đây là một bệnh di truyền phối hợp đa gen, đột biến trên một số gen mã hoá cho các thành phần cấu trúc hoặc điều hoà của các kênh ion trên màng tế bào cơ tim, làm biến đổi chức năng sinh lý của các protein này; tạo ra các thay đổi về dẫn truyền điện học của cơ tim, biểu hiện trên điện tâm đồ và trên lâm sàng hội chứng Brugada. Trong các gen chịu trách nhiệm đã được công bố, gen SCN5A mã hoá cho bán đơn vị alpha của kênh natri $Na_v1.5$ trên màng tế bào cơ tim và các đột biến của nó, đóng vai trò quan trọng nhất gây ra hội chứng Brugada, với tần suất lưu hành từ 11 đến 28% trong nhóm đã được chẩn đoán hội chứng Brugada và khoảng 50% trong nhóm hội chứng Brugada có đột biến gen được xác định [7, 8].

Tuy đã có nhiều báo cáo tổng kết và một vài báo cáo ca lâm sàng về hội chứng Brugada tại Việt Nam trong những năm gần đây, nhưng đây là trường hợp đầu tiên được ghi nhận về cả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đặc điểm gen tại nước ta. Bệnh nhân này được chẩn đoán hội chứng Brugada típ 1 do thuốc. Khi sàng lọc các biến đổi trên 20 gen liên quan đến bệnh (như đã nêu ở trên, gồm các gen mã hóa cho các bán đơn vị các kênh natri, kali, calci và các protein điều hòa hoạt động các kênh này) bằng kỹ thuật giải trình tự NGS và Sanger, chỉ có một biến đổi gen tại exon 5 trên gen SCN5A được ghi nhận (hình 2). Đây là một biến đổi di truyền loại thay đổi đơn nucleotid (guanine thành adenine) tại vị trí 754 (exon 5) của cDNA gen SCN5A. Tại vị trí biến đổi, có sự hiện diện của hai quần thể nucleotid guanine và adenine, cho thấy biến đổi ở trạng thái dị hợp tử. Biến đổi gen này làm cho trên phân tử protein $Na_v1.5$,



Hình 3. Dữ liệu phân tích dự đoán khả năng gây hội chứng Brugada của đột biến D252N trên gen SCN5A bằng phần mềm Polyphen-2. (A) Độ tin cậy dự đoán khả năng sẽ gây bệnh: điểm tin cậy gần như tuyệt đối HumDiv 1,000 và HumVar 0,999; (B) Phân tích MSA: vùng 75 acid amin quanh vị trí đột biến (được đóng khung màu đen) ở nhiều biến thể loài gần hầu như rất hiếm có sự thay đổi acid amin, thể hiện tính bảo tồn rất cao của vùng đột biến.

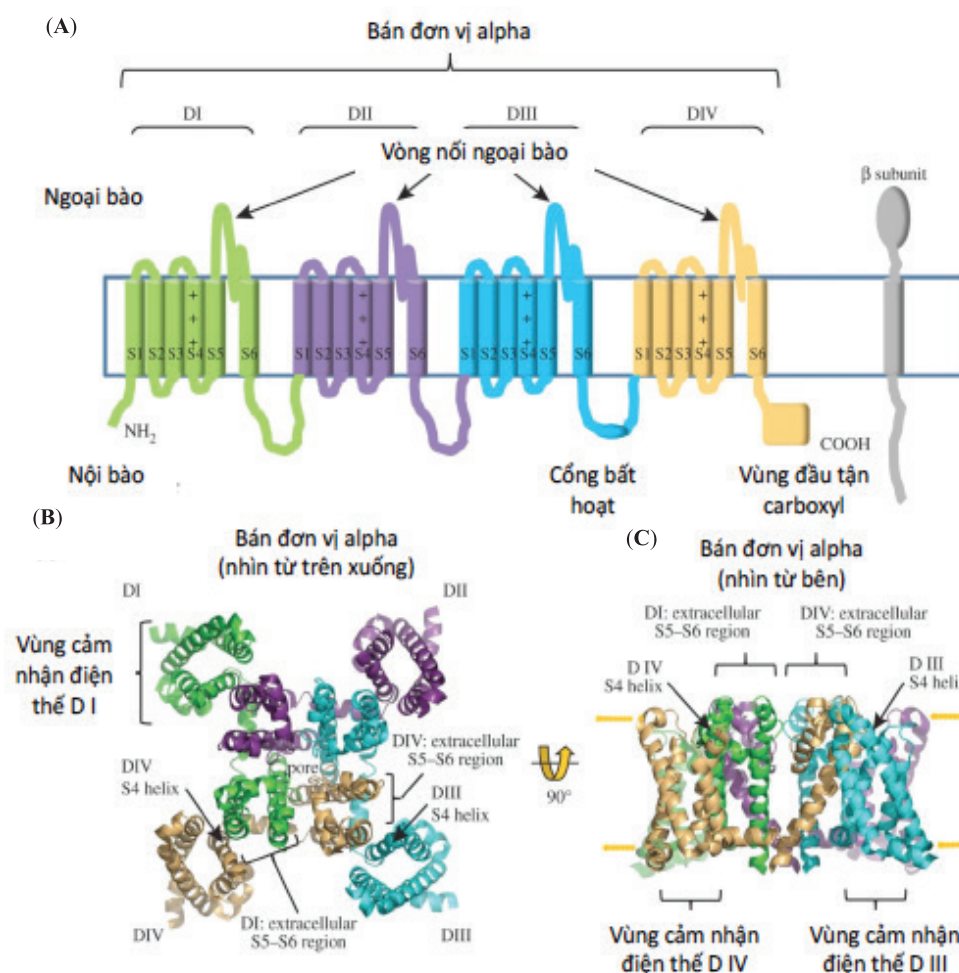
tại vị trí codon 252, acid amin aspartate (acid amin tích điện âm) bị thay thế bởi asparagine (acid amin tích điện dương), tạo ra biến đổi D252N. Vị trí đột biến xảy ra tại đoạn xoắn S1-S4/S5 của vùng xuyên màng D₁ của protein bán đơn vị alpha kênh natri. Đây là một trong bốn vùng cảm nhận điện thế của kênh, có nhiệm vụ khởi động cho quá trình mở lỗ trung tâm của kênh (cho dòng natri đi ra, đi vào tế bào cơ tim) (hình 4). Do đó, đột biến thay thế acid amin khác biệt về tính tích điện có thể gây ra biến đổi cấu trúc protein, gây ảnh hưởng đến chức năng.

Khi tìm hiểu về biến đổi D252N trên gen SCN5A trên một số cơ sở dữ liệu di truyền sinh học như ClinVar của NCBI hoặc Ensembl, đều chưa ghi nhận được thông tin về biến đổi này ở bệnh nhân hội chứng Brugada, cho thấy đây có thể là một đột biến mới trên gen SCN5A.

Theo kết quả dự đoán từ phần mềm Polyphen-2, tính

gây tổn hại hoặc lành tính của đột biến được thể hiện thông qua một “điểm số” (score), điểm số càng cao chứng tỏ càng có khả năng gây bệnh (cao nhất là 1,000). Độ tin cậy của điểm số này thể hiện qua độ nhạy và độ đặc hiệu dự đoán. Hiệu ứng gây hại dự đoán cũng được trực quan hóa bằng một điểm đánh dấu màu đen dọc bên trong thanh chuyển màu, trong đó màu xanh lá cây là lành tính và màu đỏ là gây hại (hình 3A). Đột biến D252N này có điểm số HumDiv và HumVar lần lượt là 1,000 và 0,999, chứng tỏ khả năng gây bệnh rất cao. Ngoài ra, khi xét tính bảo tồn của loại biến đổi này, kết quả phân tích MSA cho thấy biến đổi D252N này được bảo tồn cao so với các biến thể loài gần (hình 3B) cũng góp phần thể hiện tính quan trọng của vùng gen này.

Khi xét từ khía cạnh lâm sàng, các triệu chứng và bối cảnh giúp phát hiện bệnh không mang tính đặc hiệu cao. Vì là bệnh di truyền theo kiểu trội [2] nên đa phần các trường



Hình 4. Cấu trúc bán đơn vị alpha của protein Na_v1.5 [9]. (A) Sơ đồ các vùng xuyên màng D_I-D_{IV}; (B) Mô hình (dạng ribbon band) bán đơn vị alpha của kênh nhìn từ trên xuống; (C) Mô hình (dạng ribbon band) bán đơn vị alpha của kênh nhìn từ bên.

hợp hội chứng Brugada có tính chất gia đình rõ ràng. Bệnh nhân này ở trạng thái dị hợp tử, điều này có thể lý giải việc tuy chưa có các biểu hiện lâm sàng nhưng đã xuất hiện ngoại tâm thu thất trong thử nghiệm tiêm flecanide. Chưa có bằng chứng cho thấy mối liên quan giữa trạng thái dị hợp hoặc đồng hợp tử với mức độ nặng hoặc triệu chứng bệnh trên lâm sàng.

Mối liên hệ giữa kiểu gen và kiểu hình của hội chứng Brugada khó phân tích do đây là một bệnh có phối hợp đa gen, đa đột biến. Các biến đổi trên gen gây thay đổi cấu trúc protein, đều là các kênh ion trên tế bào cơ tim, hoặc là các phân tử tác động lên sự hoạt động của các kênh này. Sự biến đổi cấu trúc protein làm thay đổi luồng ion đi ra hoặc đi vào tế bào, gây ra các hiện tượng khử cực muộn hoặc tái cực sớm. Đây chính là các sinh lý bệnh, làm người bệnh dễ rơi vào các rối loạn nhịp, nhất là rối loạn nhịp thất gây nguy hiểm tính mạng. Việc khảo sát cùng lúc nhiều gen giúp làm

rõ và giới hạn cơ chế này. Mặt khác, khi dùng kỹ thuật tiếp cận ở mức độ DNA, chưa thể khảo sát được quá trình điều hòa biểu hiện từ biến đổi gen ra protein. Quá trình này cũng góp phần gây ra các biểu hiện lâm sàng (kiểu hình) khác nhau cho các bệnh nhân hội chứng Brugada.

Khi xét tác động trên một gen cụ thể, sự phân bố các đột biến thường rộng khắp, rải rác nhiều exon. Mỗi exon mã hoá cho một vùng cấu trúc đặc hiệu của kênh ion, gồm: các bán đơn vị alpha, beta (được tạo thành từ các đoạn xuyên màng), lỗ trung tâm (được tạo thành từ các vòng nối nội bào) và các vùng cảm nhận điện thế. Trạng thái cấu hình của các bán đơn vị thay đổi theo thời gian và tình trạng điện thế, cho phép kênh mở hoặc đóng đối với dòng ion. Các đột biến xuất hiện trên nhiều exon, gây ảnh hưởng tăng hoặc giảm hoạt động của vùng chức năng mà chúng mã hoá, tạo kết quả là kiểu hình trên lâm sàng hết sức đa dạng. Vì vậy, việc sử dụng các bằng chứng phân tích cấu trúc và chức năng của

đột biến dựa trên mô hình *in silico* để đưa ra các tiên đoán về mức độ nguy hại của các đột biến gen mới là rất cần thiết trong hoàn cảnh hạn chế các nghiên cứu trên mô hình tế bào hoặc động vật. Tuy nhiên, các phân tích về chức năng trên thực nghiệm là không thể thay thế được. Trong khuôn khổ trường hợp này, kiểu gen liên quan đến đột biến D252N exon 5 gen SCN5A ở bố mẹ bệnh nhân chưa được khảo sát do tình hình dịch bệnh Covid-19. Đây cũng là một phần hạn chế của đề tài. Nhóm nghiên cứu đã có kế hoạch lấy mẫu làm phá hệ các trường hợp đột biến nghi ngờ gây bệnh trong một nghiên cứu tiếp theo.

Việc bệnh nhân được chẩn đoán là hội chứng Brugada típ 1, cùng với sự hiện diện của đột biến thay thế acid amin mới D252N trên exon 5 gen SCN5A, đi kèm dự đoán khả năng gây bệnh cao của đột biến cho thấy, bệnh nhân này có nguy cơ bộc lộ các biểu hiện lâm sàng của hội chứng Brugada (như loạn nhịp thất hoặc đột tử) [8, 10] và khả năng di truyền cho thế hệ sau. Việc đặt ICD dự phòng và xét nghiệm gen cho thế hệ sau là cần thiết và đúng chỉ định [11].

Đây là một trường hợp hội chứng Brugada được xem xét ở cả góc độ lâm sàng, cận lâm sàng và phân tích biến đổi gen. Việc xác định được đột biến trên gen SCN5A góp phần xác định nguyên nhân của bệnh, cũng như khả năng có thể di truyền cho thế hệ sau của người bệnh. Việc người bệnh có mang đột biến gây bệnh hay không tồn tại độc lập với các biểu hiện lâm sàng, đặc biệt ở giai đoạn chưa có hậu quả của bệnh. Do đó, việc xét nghiệm di truyền cho các bệnh nhân thể Brugada không điển hình là cần thiết.

Kết luận

Đã phát hiện một trường hợp đột biến D252N trên gen SCN5A ở bệnh nhân hội chứng Brugada. Đây là đột biến mới chưa được công bố trên y văn thế giới. Đột biến này được xếp vào nhóm đột biến gây bệnh, dựa trên các phân tích cấu trúc và chức năng trên mô hình *in silico*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Brugada, J. Brugada (1992), "Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report", *J. Amer. Coll. Cardiol.*, **20**, pp.1391-1396.
- [2] C. Antzelevitch, B. Patocskai (2016), "Brugada syndrome: clinical, genetic, molecular, cellular, and ionic aspects", *Curr. Probl. Cardiol.*, **41**, pp.7-57.
- [3] C. Antzelevitch, G.X. Yan, M.J. Ackerman, et al. (2016), "J-wave syndromes expert consensus conference report: emerging concepts and gaps in knowledge", *Heart Rhythm*, **13**, pp.e295-e324.
- [4] <http://www.uniprot.org/uniprot/Q14524>.
- [5] I.A. Adzhubei, S. Schmidt, L. Peshkin, et al. (2010), "A method and server for predicting damaging missense mutations", *Nat. Methods*, **7**(4), pp.248-249.
- [6] I.A. Adzhubei, D.M. Jordan, S.R. Sunyaev (2013), "Predicting functional effect of human missense mutations using Polyphen-2", *Curr. Protoc. Hum. Genet.*, Chapter 7, DOI: 10.1002/0471142905.hg0720s76.
- [7] Q. Chen, G.E. Kirsch, D. Zhang, et al. (1998), "Genetic basis and molecular mechanisms for idiopathic ventricular fibrillation", *Nature*, **392**(6673), pp.293-296.
- [8] J.D. Kapplinger, D.J. Tester, M. Alders, et al. (2010), "An international compendium of mutations in the SCN5A encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing", *Heart Rhythm*, **7**(1), pp.33-46.
- [9] S. Namadurai, N.R. Yereddi, F.S. Cusdin, et al. (2015), "A new look at sodium channel β subunits", *Open Biol.*, **5**(1), DOI: 10.1098/rsob.140192.
- [10] S.G. Priori, M. Gasparini, C. Napolitano, et al. (2012), "Risk stratification in Brugada syndrome: result of the PRELUDE (Programmed electrical stimulation predictive value) registry", *J. Am. Coll. Cardiol.*, **59**(1), pp.37-45, DOI: 10.1016/j.jacc.2011.08.064.
- [11] S.G. Priori, A.A. Wilde, M. Horie, et al. (2013), "HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes: document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013", *Heart Rhythm*, **10**(12), pp.1932-1963.