

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖАЮ

Первый заместитель Министра

Ю.Л.Горбич

2025

Регистрационный № 123-1124



**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ
АТЕРОСКЛЕРОЗА АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА
ПОСЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РЕВАСКУЛЯРИЗИРУЮЩЕЙ
ХИРУРГИЧЕСКОЙ ОПЕРАЦИИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»,
государственное учреждение «Республиканский научно-практический
центр «Кардиология» Министерства здравоохранения Республики
Беларусь, учреждение здравоохранения «Гродненская университетская
клиника»

АВТОРЫ: Обухович А.Р., д.м.н., профессор Иоскевич Н.Н.,
к.х.н. Бабенко А.С., Гладкий М.Л., Копыцкий А.В., Ждонец С.В.

Гродно, 2025

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод определения вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполнения реваскуляризирующих хирургических операций, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Метод предназначен для врачей-хирургов, врачей-эндокринологов, врачей-терапевтов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с сахарным диабетом 2 типа в условиях медицинского стационара, и/или в амбулаторных условиях, и/или в условиях отделения дневного пребывания.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

E11 – Инсулиннезависимый сахарный диабет в сочетании с I70.2 Атеросклероз артерий нижних конечностей перед планируемым оперативным вмешательством на артериях нижних конечностей.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Аллергия на йод (T78.4).
2. Хроническая болезнь почек, стадия 4-5 (N18.4-N18.5).

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ, МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ И РЕАКТИВОВ

1. Медицинское оборудование для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (далее – ДНК) из биологического материала человека (миницентрифуга, шейкер-инкубатор, автоматические дозаторы переменного объёма).

2. Медицинское оборудование для амплификации специфических последовательностей ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

3. Расходные материалы (вакуумные системы, содержащие антикоагулянт (ЭДТА), пробирки с крышкой объёмом 1,5 мл, пробирки стрипованные низкопрофильные с крышками объёмом 0,2 мл, стерильные сменные наконечники для дозаторов различного объёма, перчатки медицинские).

4. Наборы реагентов, приборы и иные изделия медицинского назначения для выделения геномной ДНК и определения полиморфизмов A66G (rs1801394) гена метионинсинтазы-редуктазы (MTRR) и A1298C (rs1801131) гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), а также

полиморфизма rs2073617 гена остеопротегерина (TNFRSF11B) методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

5. Анализатор свертываемости крови.

6. Ангиографический аппарат или компьютерный томограф (КТ).

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

I этап. Получение венозной крови пациента с помощью вакуумных систем, содержащих антикоагулянт (ЭДТА). Получение биологического материала проводится в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 10.11.2015 г. № 1123 «Об утверждении Инструкции о порядке организации преаналитического этапа лабораторных исследований». При работе с образцами биологического материала необходимо соблюдать меры безопасности, как при работе потенциально инфицированным материалом.

II этап. Выделение геномной ДНК из биологического материала (цельная кровь). Выделение геномной ДНК осуществляется согласно инструкции производителя набора реагентов. Допускается хранение полученных образцов ДНК при температуре +2...+8°C в течение 30 суток. Для длительного хранения (более 30 суток) допускается использование бытовых морозильных камер минус 12...минус 20°C.

III этап. Определение генотипа rs1801394 (ген MTRR A66G), rs1801131 (ген MTHFR A1298C), rs2073617 (ген TNFRSF11B (OPG)). Определение указанных генотипов проводится посредством молекулярно-генетического исследования образцов ДНК.

Каждый образец ДНК пациентов анализируют методом аллельной дискриминации однонуклеотидных замен с использованием ПЦР-РВ.

Для определения генотипа rs2073617 (ген TNFRSF11B (OPG)) используют олигонуклеотиды приведенные в таблице.

Таблица 1. – Последовательности специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченых зондов для определения полиморфизма rs2073617 гена *TNFRSF11B* методом ПЦР-РВ

Код	Последовательность (5'-3')	Длина
rs_3617F	TGGACCAAACTTTGCACCTT	20 п.о.
rs_3617R	CTCCCTGGGGGATCCTTT	18 п.о.
rs_3617Ref	FAM-AAG[LNA-C]TCCAGGGTTAACGCTTTCAG-BHQ1	24 п.о.
rs_3617Alt	HEX-AAG[LNA-C]TCCAGGATTAACGCTTTCAGG-BHQ1	25 п.о.

Все этапы работы – выделение ДНК из образцов биологического материала и проведение ПЦР-РВ, выполняются в отдельных помещениях согласно правилам организации ПЦР-лаборатории – инструкция по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 13 ноября 2008 г. № 090-1008 «Организация работ в лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)».

IV этап. Определение международного нормализованного отношения (МНО) по общепринятой методике.

V этап. Определение класса поражения артерий нижних конечностей по классификации TASC II по результатам выполненной ангиографии или КТ-ангиографии нижних конечностей.

VI этап. Выражение значений показателей в баллах в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2. – Балльные значения показателей

Показатель	Значение показателя	Баллы
Возраст пациента, лет	>63	-2
	≤63	1
МНО	>1,02	-3
	≤1,02	1
Поражение артерий нижних конечностей по классификации TASC II	A	-1
	B	1
	C	3
	D	4
Генотип rs2073617 (ген TNFRSF11B (OPG))	AA	0
	GG	4
	GA	4
Генотип rs1801131 (ген MTHFR A1298C)	AC	0
	AA	8
	CC	8
Аллель гена rs1801394 (ген MTRR A66G)	G	0
	Отсутствие аллеля G	5
Количество выкуриваемых сигарет в сутки, штук	0	0
	≥1	1

VII этап. Подсчет баллов.

В случае суммы баллов <14, то констатируют наличие низкой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной реваскуляризирующей хирургической операции.

В случае суммы баллов ≥ 14 констатируют наличие высокой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной реваскуляризирующей хирургической операции.

VIII этап. Принятие управленческого решения.

При наличии низкой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной реваскуляризирующей хирургической операции дальнейшее наблюдение пациентов осуществляется согласно клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями периферических артерий» (Постановления Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.03.2023 № 77).

При наличии высокой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной реваскуляризирующей хирургической операции рекомендуют динамическое наблюдение у врача-ангиохирурга, включающее физикальное обследование с выполнением УЗИ артерий нижних конечностей, каждые 3 месяца в течение двух лет после выполненного вышеупомянутого хирургического вмешательства.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

При получении венозной крови из локтевой вены в редких случаях возможно развитие некоторых осложнений (гематома, тромбоз вены, тромбофлебит).

С целью избежания данного осложнения необходимо строгое соблюдение алгоритма техники венопункции.

При использовании метода ПЦР для генотипирования основной причиной ошибок являются факторы, связанные с нарушением правил взятия, хранения и транспортировки проб, загрязненными реагентами, инструментарием, перекрестной контаминацией (загрязнением) продуктами амплификации.

Во избежание данных ошибок необходимо четкое соблюдение правил взятия, хранения и транспортировки образцов; выполнение процедур, связанных с проведением ПЦР-исследования.

При выполнении ангиографии нижних конечностей в редких случаях возможно кровотечение или гематома в месте пункции, аллергические реакции на контрастное вещество.

Во избежание данных осложнений необходим тщательный сбор анамнеза и соблюдение пациентом строгого постельного режима в течение 8 часов после вышеупомянутой процедуры.