

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л.Пиневич



2018 г.

Регистрационный № 193-1218

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ  
ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ У ПАЦИЕНТОВ С  
ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ И ИХ  
РОДСТВЕННИКОВ**

инструкция по применению

**УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:**

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

**АВТОРЫ:**

Д.м.н., доцент С.М. Комиссарова, к.б.н. Н.Н. Чакова, С.С. Ниязова,  
Е.Ю. Захарова

Минск, 2018

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д. Л. Пиневиц  
14.12.2018  
Регистрационный № 193-1218

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ ВНЕЗАПНОЙ  
СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ  
КАРДИОМИОПАТИЕЙ И ИХ РОДСТВЕННИКОВ**

инструкция по применению

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

АВТОРЫ: д-р мед. наук, доц. С. М. Комиссарова, канд. биол. наук Н. Н. Чакова, С. С. Ниязова, Е. Ю. Захарова

Минск 2018

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложены методы определения вероятности внезапной сердечной смерти (ВСС) у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) и их родственников, которые могут быть использованы в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику ВСС.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначены для врачей-кардиологов, врачей-терапевтов, врачей-кардиохирургов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с ГКМП в амбулаторных и стационарных условиях.

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

1. Эхокардиограф.
2. Электрокардиограф.
3. Аппарат для суточного мониторирования электрокардиографии (СМ ЭКГ).
4. Оборудование для генетических исследований: термостат, морозильная камера на  $-20^{\circ}\text{C}$ , медицинская центрифуга, микроцентрифуга, спектрофотометр, амплификатор (термоциклер), камера для горизонтального электрофореза, трансиллюминатор, автоматические пипетки переменного объема; автоматический генетический анализатор; секвенатор нового поколения, предназначенный для высокопроизводительного секвенирования (NGS).
5. Реактивы для проведения генетических исследований: для выделения ДНК (трис-гидрохлорид, Tris-HCl), хлорид натрия (NaCl), дигидрат динатриевой соли ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), гидроксид натрия (NaOH), неионное поверхностно-активное вещество Triton X-100, хлорид магния ( $\text{MgCl}_2$ ), сахароза, раствор SDS, протеиназа К, смесь фенолхлороформизоамиловый спирт, хлороформ, этиловый спирт, деионизированная вода; набор реагентов для измерения концентрации ДНК; набор реагентов для пробоподготовки и секвенирования, включающий праймеры для всех кодирующих последовательностей генов *MYH7*, *MYBPC3*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYL2*, *TNNC1* и *TPM1*; для электрофореза (агароза, бромистый этидий, краситель для нанесения продукта на гель).

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Гипертрофическая кардиомиопатия (142.1, 142.2).

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Острый инфаркт миокарда (121).

Острое нарушение мозгового кровообращения (163).

Тромбоэмболия легочной артерии (126).

Злокачественные новообразования (C00-C97).

### **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА**

I. Определение вероятности ВСС у пациентов с ГКМП

1-й этап — регистрация электрокардиограммы длительностью 5 мин с автоматическим анализом следующих показателей электрической нестабильности

миокарда: скорректированного интервала QT (QTc) и микроволновой альтернации зубца T (mTWA).

2-й этап — определение вероятности ВСС по формуле:

$$\text{Вероятность} = 0,1132 \times QTc + 0,0766 \times mTWA - 54.$$

где  $QTc$  — значение продолжительности интервала QTc (мс);

$mTWA$  — значение показателя mTWA (мкВ).

3-й этап — принятие решения о вероятности развития ВСС у пациентов с ГКМП:

- при рассчитанном значении  $<0$  вероятность ВСС низкая;
- при рассчитанном значении  $>0$  вероятность ВСС высокая.

II. Определение вероятности развития ВСС у родственников пациентов с высоким риском ВСС

1-й этап — генотипирование с использованием высокопроизводительного секвенирования (NGS-технология):

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

- выделение ДНК фенолхлороформным методом с последующей очисткой ДНК спиртами или любым другим способом с использованием готовых наборов реагентов для выделения ДНК;

- измерение концентрации 2-цепочечной ДНК с использованием набора реагентов на флюориметре и доведение концентрации ДНК сначала до 10 мкг/мл, затем — 5 мкг/мл;

- пробоподготовка с использованием набора реагентов, включающая этапы тагментации, обогащения, амплификации и очистки геномной ДНК согласно протоколу производителя. Возможно использование аналогичных наборов реагентов, содержащих праймеры для экзонов генов *MUN7*, *MUBPC3*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYL2*, *TNNC1* и *TRPM1*;

- валидация подготовленной библиотеки с использованием горизонтального электрофореза в 1,5–2 % агарозном геле и измерение ее концентрации на флюориметре;

- разбавление библиотеки до концентрации 1,25 нМ, добавление контрольной библиотеки PhiX (2 %), помещение в ячейку картриджа с реагентами для секвенирования;

- установка картриджа в полногеномный секвенатор, загрузка всех данных об образцах в программное обеспечение секвенатора и запуск прогона секвенирования;

- аннотирование полученных результатов секвенирования с использованием специального программного обеспечения, позволяющего оценить патогенность выявленного генетического варианта на основе баз данных dbSNP, 1000 genomes,

GWAS, HGMD и предсказательных модулей Polyphen 2, SIFT и Mutation Taster; установление мутации, ответственной за развитие гипертрофической кардиомиопатии.

2-й этап — принятие решения о вероятности развития ВСС у родственников по результатам генетического тестирования:

- в случае выявления у родственника ассоциированной с высокой вероятностью ВСС мутации или сочетания мутаций в генах MYH7 и MYBPC3 (приложение), вероятность развития ВСС у него высокая;

- в случае отсутствия у родственника патогенной мутации в генах MYH7 и MYBPC3 вероятность развития ВСС у него низкая.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

Отсутствуют.

**Перечень мутаций, ассоциированных с высоким риском ВСС,  
в генах *MYH7* и *MYBPC3***

Мутации в гене		Сочетание нескольких мутаций: p.
<i>MYH7</i> : p.*	<i>MYBPC3</i> : p.	
Val186Leu Arg403Trp Lys450Glu Val606Met Glu924Lys Glu1356Lys	Arg346His Gln401Term Asn515del Ser871Alafs Arg943Term Tyr1043Term Arg1138fs Trp1214Arg Gln1233Term	Trp1007fs+Val896Met ( <i>MYBPC3</i> ) Glu1265Val+Cys1266Arg ( <i>MYBPC3</i> ) Arg502Gln ( <i>MYBPC3</i> )+Arg1712Trp ( <i>MYH7</i> ) Asp610Asn+Pro1066Arg ( <i>MYBPC3</i> )