МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра
_____ Е.Л.Богдан
«28» 10 2026 г.
Регистрационный № 062-0926

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: Молчанова А.В., д.м.н., профессор Михайлова Е.И., д.м.н., профессор Калинин А.Л., Осипкина О.В.

Гомель, 2026

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод определения вероятности прогрессирования цирроза печени (ЦП). Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику прогрессирования ЦП.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-гастроэнтерологов, врачей-инфекционистов, врачей-терапевтов, врачей общей практики, врачей клинической лабораторной диагностики и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с ЦП (К74 по МКБ-10) в стационарных условиях и (или) условиях дневного пребывания, и (или) амбулаторных условиях.

1. Показания к применению

Цирроз печени (К74 по МКБ-10).

2. Противопоказания

Отсутствуют.

3. Перечень необходимых медицинских изделий

3.1. Медицинские изделия, необходимые для определения лабораторных показателей в периферической крови, степени печеночной энцефалопатии в психометрических тестах и асцита в брюшной полости:

– тест-система для биохимического анализа крови, обеспечивающая определение содержания аспартатаминотрансферазы (АСТ, Ед/л), альбумина (г/л) и общего билирубина (мкмоль/л) в периферической крови общепринятыми методами;

– анализатор гематологический, обеспечивающий определение содержания тромбоцитов (10^9/л) в периферической крови общепринятыми методами, или другие медицинские изделия, предназначенные для этого (использование микроскопа по методу Фонио или камеры Горяева);

– автоматический коагулометр или портативный экспресс-коагулометр, или набор реагентов для определения протромбинового времени в периферической крови общепринятыми методами с последующим расчетным определением международного нормализованного отношения (МНО);

– шкала оценки степени печеночной энцефалопатии с использованием бланков психометрического тестирования (тест связывания чисел) согласно клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с заболеваниями печени», утвержденному постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.11.2025 № 185;

– система ультразвуковая диагностическая медицинская (УЗИ-сканер).

3.2. Медицинские изделия, необходимые для определения полиморфизмов гена β_2-адренорецептора (далее – *ADRB2)* в образцах периферической крови:

– амплификатор (термоциклер) для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР);

– система для электрофоретического разделения и детекции нуклеиновых кислот;

– бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) с УФ-рециркулятором;

– термостат твердотельный с диапазоном температур от +40 до +100 °С;

– центрифуга лабораторная (максимальное ускорение не менее 13000g);

– центрифуга лабораторная (максимальное ускорение не менее 4000g);

– микроцентрифуга-вортекс;

– аспиратор с колбой-ловушкой объемом 1 л;

– холодильник медицинский (температурный режим от +2 до +8 °С);

– морозильник медицинский (температурный режим от –18 до –20 °С);

– комплект дозаторов пипеточных переменного объема (0,5–10 мкл, 10–100 мкл, 100–1000 мкл);

– штативы (для дозаторов, для пробирок 0,2 и 1,5 мл, для вакуумных пробирок);

– термоконтейнер для транспортировки от +2 до +8 °С;

– набор реагентов для экстракции дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК);

– смесь для проведения ПЦР;

– эндонуклеазы рестрикции BsrDI и Fnu4HI;

– праймеры специфические для выявления полиморфизмов *Arg16Gly* и *Gln27Glu* гена *ADRB2*:

Arg16Gly прямой: 5’-CTTCTTGCTGGCACGCAAT-3’,

Arg16Gly обратный: 5’-CCAGTGAAGTGATGAAGTAGTTGG-3’,

Gln27Glu прямой: 5’-GGCCCATGACCAGATCAGCA-3’,

Gln27Glu обратный: 5’-GAATGAGGCTTCCAGGCGTC-3’;

– агароза для гель-электрофореза (1,7%);

– спирт этиловый 80%;

– вода деионизированная;

– иглы двухсторонние для вакуумных систем, держатели, вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) объемом 4–5 мл, с активатором свертывания или разделительным гелем объемом 5–6 мл, с цитратом натрия 3,2 % объемом 2,7–4,5 мл; в качестве альтернативы – шприцы медицинские одноразовые;

– пробирки микроцентрифужные типа «Эппендорф» (объемом 1,5 мл);

– тонкостенные пробирки для ПЦР (объемом 0,2 мл);

– наконечники для дозаторов с аэрозольным фильтром (10, 20, 200,

1000 мкл);

– наконечники для дозаторов без фильтра (200, 1000 мкл);

– комплект средств индивидуальной защиты (халаты одноразовые, перчатки медицинские, маски, бахилы, шапочки).

4. Технология осуществления метода

Метод, изложенный в настоящей инструкции, реализуется в несколько этапов:

4.1. Получение и транспортировка биологического материала

Взятие, маркировка, хранение и транспортировка проб крови для определения содержания АСТ (Ед/л), альбумина (г/л), общего билирубина (мкмоль/л), тромбоцитов (10^9/л), расчета МНО, а также анализа полиморфизмов гена *ADRB2* осуществляется общепринятыми методами в соответствии с Инструкцией о порядке организации преаналитического этапа лабораторных исследований, утвержденной приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 10.11.2015 № 1123 «Об утверждении Инструкции о порядке организации преаналитического этапа лабораторных исследований»:

1. Получение крови производится из доступной поверхностной вены натощак.

2. Для идентификации гаплотипа Arg16-Gln27 гена *ADRB2* кровь забирается в вакуумные пробирки с ЭДТА, а для оценки содержания АСТ, альбумина, общего билирубина, МНО, тромбоцитов – в соответствующие типы вакуумных систем.

3. Каждая пробирка маркируется сразу после взятия крови с указанием фамилии, имени, отчества, даты рождения пациента, даты и времени забора образца крови.

4. Транспортировка биоматериала осуществляется в кратчайшие сроки в специально маркированных термоконтейнерах с соблюдением

температурного режима +2…+8 °С.

4.2. Определение гаплотипов по однонуклеотидным полиморфизмам *Arg16Gly* и *Gln27Glu* гена *ADRB2* в периферической крови

Определение однонуклеотидных полиморфизмов *Arg16Gly* и *Gln27Glu* гена *ADRB2* осуществляется методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ).

4.2.1. Выделение фракции лейкоцитов из образцов периферической венозной крови осуществляют общепринятыми методами с последующим выделением ДНК из полученного осадка лейкоцитов с использованием наборов реагентов, предназначенных для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала, в соответствии с инструкциями производителей.

4.2.2. Амплификация фрагментов гена *ADRB2* проводится по следующим алгоритмам:

Однонуклеотидный полиморфизм *Arg16Gly* (длина ампликона – 201 п.н.):

1. Прямой праймер: 5’-CTTCTTGCTGGCACGCAAT-3’;

2. Обратный праймер: 5’-CCAGTGAAGTGATGAAGTAGTTGG-3’.

Режим амплификации: начальная денатурация 94 °С – 30 сек. (1 цикл); 35 циклов: денатурация 94 °С – 30 сек., отжиг праймеров 56 °С – 30 сек., синтез 72 °С – 30 сек.; финальный синтез 72 °С – 4 мин. (1 цикл).

Однонуклеотидный полиморфизм *Gln27Glu* (длина ампликона – 353 п.н.):

1. Прямой праймер: 5’-GGCCCATGACCAGATCAGCA-3’;

2. Обратный праймер: 5’-GAATGAGGCTTCCAGGCGTC-3’.

Режим амплификации: начальная денатурация 94 °С – 30 сек. (1 цикл);

35 циклов: денатурация 94 °С – 30 сек., отжиг праймеров 63 °С – 30 сек., синтез 72 °С – 30 сек.; финальный синтез 72 °С – 4 мин. (1 цикл).

4.2.3. Гидролиз (рестрикция) амплифицированных фрагментов гена *ADRB2* проводится с использованием эндонуклеаз рестрикции BsrDI (для полиморфизма *Arg16Gly*) и Fnu4HI (для полиморфизма *Gln27Glu*) в соответствии с инструкциями производителей. Визуализация результатов рестрикции осуществляется методом электрофореза в агарозном геле (1,7%).

4.2.4. Интерпретация результатов рестрикции фрагмента для полиморфизма *Arg16Gly*:

ПЦР-продукт образца с генотипом Arg16Arg расщепляется на 3 фрагмента (131 п.н., 56 п.н. и 14 п.н.), в агарозном геле визуализируется 2 фрагмента (131 п.н. и 56 п.н.);

ПЦР-продукт образца с генотипом Gly16Gly расщепляется на 4 фрагмента (108 п.н., 56 п.н., 23 п.н. и 14 п.н.), в агарозном геле визуализируется 2 фрагмента (108 п.н. и 56 п.н.);

ПЦР-продукт образца с генотипом Arg16Gly расщепляется на 5 фрагментов (131 п.н., 108 п.н., 56 п.н., 23 п.н. и 14 п.н.), в агарозном геле визуализируется 3 фрагмента (131 п.н., 108 п.н. и 56 п.н.).

Интерпретация результатов рестрикции фрагмента для полиморфизма *Gln27Glu*:

ПЦР-продукт образца с генотипом Glu27Glu расщепляется на 3 фрагмента (229 п.н., 97 п.н. и 27 п.н.), в агарозном геле визуализируется 2 фрагмента (229 п.н. и 97 п.н.);

ПЦР-продукт образца с генотипом Gln27Gln расщепляется на 4 фрагмента (174 п.н., 97 п.н., 55 п.н. и 27 п.н.), в агарозном геле визуализируется 3 фрагмента (174 п.н., 97 п.н. и 55 п.н.);

ПЦР-продукт образца с генотипом Gln27Glu расщепляется на 5

фрагментов (229 п.н., 174 п.н., 97 п.н., 55 п.н. и 27 п.н.), в агарозном геле визуализируется 4 фрагмента (229 п.н., 174 п.н., 97 п.н., 55 п.н.).

Определение генотипов проводится в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Интерпретация генотипов по полиморфизмам *Arg16Gly* и *Gln27Glu* гена *ADRB2*

Выявляемый генотип	Размер фрагментов при электрофоретической детекции, п.н.
Arg16Arg	131, 56, 14
Arg16Gly	131, 108, 56, 23, 14
Gly16Gly	108, 56, 23, 14
Gln27Gln	174, 97, 55, 27
Gln27Glu	229, 174, 97, 55, 27
Glu27Glu	229, 97, 27

4.2.5. На основании результатов генотипирования определяются варианты гаплотипов по двум полиморфизмам (*Arg16Gly* и *Gln27Glu)*: Arg16-Gln27; Arg16/Gly16-Gln27; Gly16-Gln27; Arg16-Gln27/Glu27; Arg16/Gly16-Gln27/Glu27; Gly16-Gln27/Glu27; Arg16-Glu27; Arg16/Gly16-Glu27; Gly16-Glu27.

4.3. Определение класса тяжести цирроза печени по шкале Чайлд-Пью

Класс тяжести ЦП по шкале Чайлд-Пью определяется (согласно клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с заболеваниями печени», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.11.2025 № 185) по суммарному баллу, который рассчитывается на основании следующих параметров:

- результаты лабораторных исследований (содержание альбумина (г/л) и общего билирубина (мкмоль/л), МНО в плазме крови;

- результаты медицинского осмотра с психометрическим тестированием (для оценки стадии энцефалопатии);

- результаты УЗИ брюшной полости (для подтверждения наличия и степени выраженности асцита).

4.4. Определение индекса фиброза печени APRI (Aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index)

Индекс APRI рассчитывается на основании активности АСТ (Ед/л) и количества тромбоцитов (10^9/л), определенных в одной порции крови. Расчет выполняется по формуле:

$$APRI = (АСТ / ВГН\ АСТ) \times 100 / Тромбоциты,$$

где ВГН – верхняя граница нормы активности АСТ в используемой лаборатории.

4.5. Расчет показателя вероятности прогрессирования ЦП

Расчет показателя вероятности прогрессирования ЦП может быть осуществлен как в ручном, так и в автоматическом режиме.

4.5.1. При ручном варианте расчета определение показателя вероятности прогрессирования ЦП проводится в соответствии с параметрами, указанными в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры для расчета показателя вероятности прогрессирования ЦП

Параметр	Результат	Баллы
Гаплотип гена *ADRB2*	Arg16-Gln27	+2
	Любой другой гаплотип	0
Класс по Чайлд-Пью	C (при наличии гаплотипа Arg16-Gln27)	+1
	A или B	0
APRI	> 1,5	+1
	0,51 – 1,5	0
	≤ 0,5	–1

Выполняется расчет итоговой суммы баллов.

На основании полученной суммы баллов определяется показатель вероятности прогрессирования ЦП.

4.5.2. Для автоматического расчета показателя вероятности прогрессирования ЦП можно использовать специализированную программу расчета (калькулятор), размещенный на официальном сайте учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет». Данный инструмент доступен в разделе «Научная деятельность» под наименованием «Калькулятор оценки вероятности прогрессирования цирроза печени» по электронному адресу: https://gsmu.by/upload/calcCirroz/calc.html. Для быстрого перехода к калькулятору может быть использован матричный штрихкод (QR-код), представленный в Приложении 1.

Для расчета показателя вероятности прогрессирования ЦП:

1. Выбирается из выпадающих списков гаплотип и класс по шкале Чайлд-Пью.

2. Указывается индекс фиброза печени APRI вручную в числовом поле.

3. Нажимается кнопка «Рассчитать показатель вероятности прогрессирования».

После обработки данных последовательно выводятся прогностические показатели и формулируется окончательное заключение. Внешний вид интерфейса представлен в Приложении 1.

4.6. Определение вероятности прогрессирования ЦП

При количестве баллов 3 и более – высокая вероятность прогрессирования ЦП.

При количестве баллов менее 3 – низкая вероятность прогрессирования ЦП.

5. Принятие управленческого решения

В случае низкой вероятности прогрессирования ЦП осуществляются мероприятия в соответствии с пунктом 78 Клинического протокола «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями печени», утвержденного постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.11.2025 № 185.

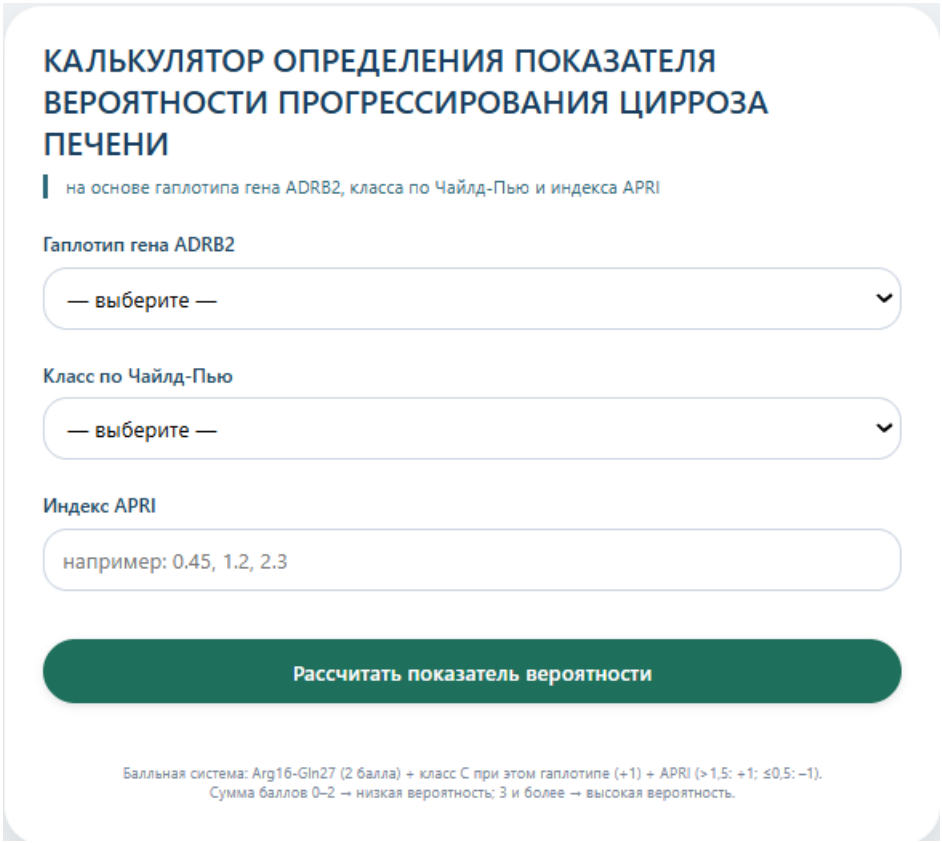
В случае высокой вероятности прогрессирования ЦП осуществляются мероприятия в соответствии с пунктом 79 Клинического протокола «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями печени», утвержденного постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.11.2025 № 185.

6. Перечень возможных осложнений или ошибок

При точном соблюдении инструкции ошибки маловероятны.

Приложение 1
к инструкции по применению «Метод определения вероятности прогрессирования цирроза печени»

КАЛЬКУЛЯТОР ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ



ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

Цирроз печени (ЦП) – это диффузный процесс, характеризующийся фиброзом и перестройкой нормальной архитектоники печени [1]. Данная патология занимает первое место в структуре причин смертности населения от болезней органов пищеварения в Республике Беларусь, что обуславливает высокую медико-социальную значимость своевременного прогнозирования декомпенсации данного процесса [2].

Исследование генетических характеристик человека является основой для развития фармакогенетики и служит фундаментом для создания персонализированной медицины. Одним из генов, представляющих особый интерес для фармакогенетических исследований, является ген β_2- адренергического рецептора (*β_2-AP)*. Наиболее часто в литературе встречается изучение полиморфных локусов rs1042713 и rs1042714 в различных аспектах.

Так, *β_2-AP* является важной частью симпатической нервной системы и принимает участие в различных физиологических и патофизиологических реакциях [3]. Существуют исследования, которые изучают полиморфные варианты гена *β_2-AP* у пациентов с ЦП. Тем не менее, в значительной мере они сосредоточены на изучении того, как полиморфные варианты этого гена влияют на эффективность лечения портальной гипертензии при циррозе печени с использованием β-адреноблокаторов [4,5]. По этой причине поиск прямой взаимосвязи генетических факторов с развитием и прогрессированием самого заболевания такого, как цирроз печени является актуальной проблемой и требует проведения дополнительных исследований.

Применяющиеся в медицинской практике стандартные клинико-

лабораторные инструменты (классификация Чайлд-Пью и индекс MELD (Model for End-Stage Liver Disease)) отражают текущую степень поражения печеночной ткани, но не позволяют прогнозировать прогрессирование данного процесса [1].

Полученные нами данные показали наличие прямой взаимосвязи между носительством гомозиготного гаплотипа *Arg16-Gln27* гена *β_2-AP* и вероятностью прогрессирования ЦП. Носительство данного генетического маркера ассоциировано с высокой вероятностью прогрессирования ЦП, при этом наибольшую значимость для прогнозирования исходов признак приобретает при терминальной стадии поражения. Значимость данного генетического маркера в прогнозировании тяжести течения процесса подтверждается его сопряженностью со степенью выраженности фиброза печени по индексу APRI (AST to Platelet Ratio Index).

Вышеизложенное позволяет сделать вывод о целесообразности комплексной оценки вероятности прогрессирования ЦП на основе определения молекулярно-генетического маркера (гаплотипа *Arg16-Gln27* гена *β_2-AP*), класса тяжести ЦП по Чайлд-Пью и расчетного индекса фиброза APRI.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ:

1. Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с заболеваниями печени : клинический протокол [Электронный ресурс] : утв. Постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 11 нояб. 2025 г., № 185 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – 04.02.2026.

2. Островский, А. М. Анализ смертности населения Гомельской области от болезней органов пищеварения в 2009–2019 гг. / А. М.

Островский, И. Н. Коляда // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2024. – № 223 (3). – С. 71–81.

3. Полиморфный локус Arg16Gly бета 2-адренорецептора (ADRB2) у пациентов с циррозом печени / А. В. Сенникова [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рецензир. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. / М-во здравоохр. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2023. – Вып. 13. – Т. 2 : Фундаментальная наука – медицине. Профилактическая медицина. – С. 92-98.

4. β-2 Adrenergic receptor gene polymorphism and response to propranolol in cirrhosis / D. R. Kong [et al.] // World Journal of Gastroenterology. — 2015. — Vol. 21, № 23. — P. 7191–7196.

5. Influence of beta-2 adrenergic receptor gene polymorphism on the hemodynamic response to propranolol in patients with cirrhosis / J. Turnes [et al.] // Hepatology. — 2006. — Vol. 43, № 1. — P. 34–41.