

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л.Пиневиц

2018 г.

Регистрационный № 168-1218



**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ
ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ**

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 № 168-1218

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ
ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ**

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) изложен метод определения вероятности развития гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику ГКМП.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен 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 мониторинга электрокардиографии (СМ ЭКГ).
4. Оборудование для генетических исследований: термостат, морозильная камера на -20°C , медицинская центрифуга, микроцентрифуга, флуориметр Quantus (Promega, США), амплификатор, камера для горизонтального электрофореза, трансиллюминатор, автоматические пипетки переменного объема; шейкер; секвенатор нового поколения, предназначенный для высокопроизводительного секвенирования (NGS).

5. Реактивы для генетических исследований: для выделения ДНК (трис-гидрохлорид, Tris-HCl), хлорид натрия (NaCl), дигидрат динатриевой соли (Na_2EDTA), гидроксид натрия (NaOH), неионное поверхностно-активное вещество Triton X-100, хлорид магния (MgCl_2), сахароза, раствор SDS, протеиназа К, смесь фенолхлороформизоамиловый спирт, хлороформ, этиловый спирт, деионизированная вода; для измерения концентрации ДНК (набор реагентов QuantiFluor® ONE dsDNA System); для пробоподготовки и секвенирования (набор реагентов «TruSight™ CardioSequencingPanel», Illumina, США) или аналогичный, 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

1-й этап — определение толщины стенки миокарда левого желудочка (ЛЖ) по результатам визуализирующих методик: эхокардиографии (ЭхоКГ), магнитно-резонансной томографии (МРТ) или компьютерной томографии сердца (КТ).

2-й этап — определение мутации в одном из генов *MYH7*, *MYBPC3*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYL2*, *TNNC1* и *TPM1*, кодирующих саркомерные белки, которые могут быть причиной ГКМП, методом высокопроизводительного секвенирования (NGS-технология).

Последовательность генетического тестирования:

- 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 крови;

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

- измерение концентрации 2-цепочечной ДНК с использованием набора реагентов QuantiFluor® ONE dsDNASystem на флюориметре Quantus (Promega, США) и доведение концентрации ДНК сначала до 10 мкг/мл, затем — 5 мкг/мл;

- пробоподготовка с использованием набора «TruSight™ CardioSequencingPanel», включающая этапы тагментации, обогащения, амплификации и очистки геномной ДНК согласно протоколу производителя. Возможно использование аналогичных наборов реагентов, содержащих праймеры для экзонов генов *MYH7*, *MYBPC3*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYL2*, *TNNC1* и *TPM1*;

- валидация подготовленной библиотеки с использованием горизонтального электрофореза в 1,5–2 % агарозном геле и измерения ее концентрации на флюориметре Quantus (Promega, США);

- 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 Miseq (Illumina, США), загрузка всех данных об образцах в программное обеспечение секвенатора и запуск прогона секвенирования;

- аннотирование полученных результатов секвенирования с использованием специального программного обеспечения ANNOVAR, 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.

3-й этап — определение вероятности развития ГКМП.

1. Высокая вероятность:

- толщина стенки миокарда ЛЖ ≥ 15 мм;

- наличие мутации в одном из генов *MYH7*, *MYBPC3*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYL2*, *TNNC1* и *TPM1*, кодирующих саркомерные белки.

2. Низкая вероятность:

- толщина стенки миокарда ЛЖ < 15 мм;

- отсутствие патогенной мутации в генах *MYH7*, *MYBPC3*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYL2*, *TNNC1* и *TPM1*, кодирующих саркомерные белки.

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

Отсутствуют.