

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

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ГКМП – гипертрофическая кардиомиопатия

ВСС - внезапная сердечная смерть

QTс– скорректированный интервал QT

mTWA – микроволновая альтернация зубца T

NGS – высокопроизводительное секвенирование

В настоящей инструкции по применению (далее—инструкция) изложены методы определения вероятности развития 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, изложенные 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 НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ И МАТЕРИАЛОВ

1. ЭХО-кардиограф.
2. Электрокардиограф.
3. Аппарат для проведения суточного мониторирования ЭКГ (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),

дигидратдинатриевой соли ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), гидроксид натрия ( $\text{NaOH}$ ), неионное поверхностно активное вещество Triton X-100, хлорид магния ( $\text{MgCl}_2$ ), сахароза, раствор SDS, протеиназа К, смесь фенол-хлороформ-изоамиловый 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 К ПРИМЕНЕНИЮ

Острый инфаркт миокарда (121).

Острое нарушение мозгового кровообращения (163).

Тромбоэмболия легочной артерии (126).

Злокачественные новообразования (C00 – C97).

### ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

I. Определение вероятности развития ВСС у пациентов с ГКМП

1 Этап – регистрация электрокардиограммы длительностью 5 минут с автоматическим анализом следующих показателей электрической нестабильности миокарда: скорректированного интервала QT (QTc) и микроволновой альтернации зубца T (mTWA).

2 Этап – определение вероятности развития ВСС по формуле:

$Вероятность = 0,1132 \times QTc + 0,0766 \times mTWA - 54,$

где  $QTc$  – значение продолжительности интервала QTc в мс,

$mTWA$  – значение показателя mTWA в мкВ.

3 Этап – принятие решения о вероятности развития ВСС у пациентов с ГКМП:

– При рассчитанном значении  $< 0$  – вероятность развития ВСС низкая.

– При рассчитанном значении  $> 0$  – вероятность развития ВСС высокая.

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

1 Этап – проведение генотипирования с использованием высокопроизводительного секвенирования (NGS-технология):

- провести 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;
- выделить ДНК фенол-хлороформным методом с последующей очисткой ДНК спиртами или любым другим способом с использованием готовых наборов реагентов для выделения ДНК;
- измерить концентрацию 2-цепочечной ДНК с использованием набора реагентов на флуориметре и довести концентрацию ДНК сначала до значения 10 мкг/мл, а затем – 5 мкг/мл;
- осуществить пробоподготовку с использованием набора реагентов, включающую 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*;

- провести валидацию подготовленной библиотеки с использованием горизонтального электрофореза в 1,5-2% агарозном геле и измерения ее концентрации на флуориметре;
- разбавить библиотеку до концентрации 1,25 нМ, добавить контрольную библиотеку PhiX (2%), поместить в ячейку картриджа с реагентами для секвенирования;
- установить картридж в полногеномный секвенатор, загрузить все данные об образцах в программное обеспечение секвенатора и запустить прогон секвенирования.
- проаннотировать полученные результаты секвенирования с использованием специального программного обеспечения, позволяющего оценить патогенность выявленного генетического варианта на основе баз данных dbSNP, 1000genomes, GWAS, HGMD и предсказательных модулей Polyphen2, SIFT и MutationTaster; установить мутацию, ответственную за развитие гипертрофической кардиомиопатии.

2 Этап – принятие решения о вероятности развития ВСС у родственников по результатам генетического тестирования:

– В случае выявления у родственника ассоциированной с высокой вероятностью развития ВСС мутации или сочетания мутаций в генах *MYH7* и *MYBPC3* (см. приложение), вероятность развития у него ВСС высокая.

– В случае отсутствия у родственника патогенной мутации в генах *MYH7* и *MYBPC3*, вероятность развития у него ВСС низкая.

## ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ

Нет.

Приложение к инструкции по применению  
«Методы определения вероятности развития внезапной сердечной  
смерти у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией  
и их родственников»

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

Мутации в гене		Сочетание нескольких мутаций: р.
<i>MYH7</i> : р.*	<i>MYBPC3</i> : р.	
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> )