

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



Первый заместитель Министра

Д.Л.Пиневиц

2018 г.

Регистрационный № 220 -1218

**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ
КАРДИОМИОПАТИЕЙ С УЧЕТОМ РЕЗУЛЬТАТОВ**

ГЕНОТИПИРОВАНИЯ

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

ЭхоКГ – эхокардиография

СМ ЭКГ – суточное мониторирование ЭКГ

ЛС – лекарственное средство

ЛЖ – левый желудочек

NGS - высокопроизводительное секвенирование

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод лечения пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) и их родственников, который может быть использован в комплексе медицинских услуг для пациентов с 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 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°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 (Na_2EDTA), гидроксид натрия (NaOH), неионное поверхностно активное вещество Triton X-100, хлорид магния

(MgCl₂), сахараза, 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).

6. назначаемые лекарственные средства (ЛС): β-адреноблокаторы (бисопролол 5 мг или 10 мг; метопрололсукцинат 50 или 100 мг) в таблетках, покрытых оболочкой;

7. препараты базовой терапии: антиагреганты, по показаниям – статины, спиронолактон, диуретики.

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

1 Этап – определение фенотипа ГКМП у пациента или его родственника по результатам любой визуализирующей методики: эхокардиографии (ЭхоКГ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ) сердца:

– фенотип позитивный пациент (толщина стенки миокарда ЛЖ ≥ 15 мм в одном или более сегментов миокарда ЛЖ);

- фенотип позитивный родственник (толщина стенки миокарда ≥ 13 мм в одном или более сегментов миокарда ЛЖ при наличии аномалий митрального клапана: передне-систолического движения створок, избыточной длины передней створки ≥ 21 мм, гипертрофии папиллярных мышц);

– фенотип негативный пациент или родственник (толщина стенки миокарда ЛЖ < 15 мм и отсутствие аномалий митрального клапана).

2 Этап - определение наличия 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 проведения генетического тестирования:

- 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.

3 Этап – определение генотипа/фенотипа пациента или его родственника по результатам генотипирования:

– генотип/фенотип негативный (не имеют идентифицированной мутации и клинического фенотипа ГКМП);

– генотип позитивный/фенотип негативный;

– генотип/фенотип позитивный;

– генотип негативный /фенотип позитивный;

4 Этап – принятие решения и об оказании комплекса медицинских услуг:

– генотип/фенотип позитивным и генотип негативным/фенотип позитивным пациентам с ГКМП или их родственникам необходимо назначить β-адреноблокаторы (бисопролол или метопролол) путем медленного титрования дозы ЛС до максимально переносимой:

1) для бисопролола: 1,25 - 2,5 - 5 - 7,5 - 10 мг/сут;

2) для метопролола сукцината 12,5-25-50-75-100-200 мг/сут

с интервалом 7-10 дней между последующими дозами с учетом частоты сердечных сокращений (ЧСС), уровня артериального давления (АД). Критериями остановки повышения дозы являются урежение ЧСС менее 55 ударов в минуту и снижение систолического артериального давления (САД) менее 90 мм рт.ст. При появлении побочных реакций в ходе титрования дозы (урежение ЧСС менее 60 ударов в минуту, появление атрио-вентрикулярных и синоатриальных блокад, гипотензии), «оттитрованная» доза бета-адреноблокатора должна быть в 2-4 раза ниже терапевтической дозы. Проводить активное динамическое наблюдение: осмотр врача 2 раза в году, ЭхоКГ 1 раз в году, СМ ЭКГ 2 раза в году;

– генотип позитивным/фенотип негативным пациентам или родственникам β-адреноблокаторы не назначать, проводить динамическое наблюдение: ЭхоКГ и СМ ЭКГ 1 раз в году;

– генотип/фенотип негативные родственники пациентов с ГКМП не подлежат долгосрочному динамическому наблюдению.

ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ

Нет