

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖАЮ

Первый заместитель Министра

Ю.Л.Горбич

2025

Регистрационный № 123-1124



**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ  
АТЕРОСКЛЕРОЗА АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ  
У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА  
ПОСЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РЕВАСКУЛЯРИЗИРУЮЩЕЙ  
ХИРУРГИЧЕСКОЙ ОПЕРАЦИИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»,  
государственное учреждение «Республиканский научно-практический  
центр «Кардиология» Министерства здравоохранения Республики  
Беларусь, учреждение здравоохранения «Гродненская университетская  
клиника»

АВТОРЫ: Обухович А.Р., д.м.н., профессор Иоскевич Н.Н.,  
к.х.н. Бабенко А.С., Гладкий М.Л., Копыцкий А.В., Ждонец С.В.

Гродно, 2025

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод определения вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполнения реваскуляризирующих хирургических операций, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Метод предназначен для врачей-хирургов, врачей-эндокринологов, врачей-терапевтов и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с сахарным диабетом 2 типа в условиях медицинского стационара, и/или в амбулаторных условиях, и/или в условиях отделения дневного пребывания.

### ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

E11 – Инсулиннезависимый сахарный диабет в сочетании с I70.2 Атеросклероз артерий нижних конечностей перед планируемым оперативным вмешательством на артериях нижних конечностей.

### ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Аллергия на йод (T78.4).
2. Хроническая болезнь почек, стадия 4-5 (N18.4-N18.5).

### ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ, МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ И РЕАКТИВОВ

1. Медицинское оборудование для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (далее – ДНК) из биологического материала человека (миницентрифуга, шейкер-инкубатор, автоматические дозаторы переменного объёма).

2. Медицинское оборудование для амплификации специфических последовательностей ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

3. Расходные материалы (вакуумные системы, содержащие антикоагулянт (ЭДТА), пробирки с крышкой объёмом 1,5 мл, пробирки стрипованные низкопрофильные с крышками объёмом 0,2 мл, стерильные сменные наконечники для дозаторов различного объёма, перчатки медицинские).

4. Наборы реагентов, приборы и иные изделия медицинского назначения для выделения геномной ДНК и определения полиморфизмов A66G (rs1801394) гена метионинсинтазы-редуктазы (MTRR) и A1298C (rs1801131) гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), а также

полиморфизма rs2073617 гена остеопротегерина (TNFRSF11B) методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

5. Анализатор свертываемости крови.

6. Ангиографический аппарат или компьютерный томограф (КТ).

## ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

**I этап.** Получение венозной крови пациента с помощью вакуумных систем, содержащих антикоагулянт (ЭДТА). Получение биологического материала проводится в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 10.11.2015 г. № 1123 «Об утверждении Инструкции о порядке организации преаналитического этапа лабораторных исследований». При работе с образцами биологического материала необходимо соблюдать меры безопасности, как при работе потенциально инфицированным материалом.

**II этап.** Выделение геномной ДНК из биологического материала (цельная кровь). Выделение геномной ДНК осуществляется согласно инструкции производителя набора реагентов. Допускается хранение полученных образцов ДНК при температуре +2...+8°C в течение 30 суток. Для длительного хранения (более 30 суток) допускается использование бытовых морозильных камер минус 12...минус 20°C.

**III этап.** Определение генотипа rs1801394 (ген MTRR A66G), rs1801131 (ген MTHFR A1298C), rs2073617 (ген TNFRSF11B (OPG)). Определение указанных генотипов проводится посредством молекулярно-генетического исследования образцов ДНК.

Каждый образец ДНК пациентов анализируют методом аллельной дискриминации однонуклеотидных замен с использованием ПЦР-РВ.

Для определения генотипа rs2073617 (ген TNFRSF11B (OPG)) используют олигонуклеотиды приведенные в таблице.

Таблица 1. – Последовательности специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченых зондов для определения полиморфизма rs2073617 гена *TNFRSF11B* методом ПЦР-РВ

| Код        | Последовательность (5'-3')               | Длина   |
|------------|------------------------------------------|---------|
| rs_3617F   | TGGACCAAACTTTGCACCTT                     | 20 п.о. |
| rs_3617R   | CTCCCTGGGGGATCCTTT                       | 18 п.о. |
| rs_3617Ref | FAM-AAG[LNA-C]TCCAGGGTTAACGCTTTCAG-BHQ1  | 24 п.о. |
| rs_3617Alt | HEX-AAG[LNA-C]TCCAGGATTAACGCTTTCAGG-BHQ1 | 25 п.о. |

Все этапы работы – выделение ДНК из образцов биологического материала и проведение ПЦР-РВ, выполняются в отдельных помещениях согласно правилам организации ПЦР-лаборатории – инструкция по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 13 ноября 2008 г. № 090-1008 «Организация работ в лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)».

**IV этап.** Определение международного нормализованного отношения (МНО) по общепринятой методике.

**V этап.** Определение класса поражения артерий нижних конечностей по классификации TASC II по результатам выполненной ангиографии или КТ-ангиографии нижних конечностей.

**VI этап.** Выражение значений показателей в баллах в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2. – Балльные значения показателей

| Показатель                                                    | Значение показателя | Баллы |
|---------------------------------------------------------------|---------------------|-------|
| Возраст пациента, лет                                         | >63                 | -2    |
|                                                               | ≤63                 | 1     |
| МНО                                                           | >1,02               | -3    |
|                                                               | ≤1,02               | 1     |
| Поражение артерий нижних конечностей по классификации TASC II | A                   | -1    |
|                                                               | B                   | 1     |
|                                                               | C                   | 3     |
|                                                               | D                   | 4     |
| Генотип rs2073617 (ген TNFRSF11B (OPG))                       | AA                  | 0     |
|                                                               | GG                  | 4     |
|                                                               | GA                  | 4     |
| Генотип rs1801131 (ген MTHFR A1298C)                          | AC                  | 0     |
|                                                               | AA                  | 8     |
|                                                               | CC                  | 8     |
| Аллель гена rs1801394 (ген MTRR A66G)                         | G                   | 0     |
|                                                               | Отсутствие аллеля G | 5     |
| Количество выкуриваемых сигарет в сутки, штук                 | 0                   | 0     |
|                                                               | ≥1                  | 1     |

**VII этап.** Подсчет баллов.

В случае суммы баллов <14, то констатируют наличие низкой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной

реваскуляризирующей хирургической операции.

В случае суммы баллов  $\geq 14$  констатируют наличие высокой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной реваскуляризирующей хирургической операции.

#### **VIII этап. Принятие управленческого решения.**

При наличии низкой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной реваскуляризирующей хирургической операции дальнейшее наблюдение пациентов осуществляется согласно клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями периферических артерий» (Постановления Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 11.03.2023 № 77).

При наличии высокой вероятности прогрессирования атеросклероза артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа после выполненной реваскуляризирующей хирургической операции рекомендуют динамическое наблюдение у врача-ангиохирурга, включающее физикальное обследование с выполнением УЗИ артерий нижних конечностей, каждые 3 месяца в течение двух лет после выполненного вышеупомянутого хирургического вмешательства.

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

При получении венозной крови из локтевой вены в редких случаях возможно развитие некоторых осложнений (гематома, тромбоз вены, тромбофлебит).

С целью избежания данного осложнения необходимо строгое соблюдение алгоритма техники венопункции.

При использовании метода ПЦР для генотипирования основной причиной ошибок являются факторы, связанные с нарушением правил взятия, хранения и транспортировки проб, загрязненными реагентами, инструментарием, перекрестной контаминацией (загрязнением) продуктами амплификации.

Во избежание данных ошибок необходимо четкое соблюдение правил взятия, хранения и транспортировки образцов; выполнение процедур, связанных с проведением ПЦР-исследования.

При выполнении ангиографии нижних конечностей в редких случаях возможно кровотечение или гематома в месте пункции, аллергические реакции на контрастное вещество.

Во избежание данных осложнений необходим тщательный сбор анамнеза и соблюдение пациентом строгого постельного режима в течение 8 часов после вышеупомянутой процедуры.



Научное издание

**Обухович** Аннета Ромуальдовна  
**Иоскевич** Николай Николаевич  
**Бабенко** Андрей Сергеевич и др.

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ  
АТЕРОСКЛЕРОЗА АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ  
У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА  
ПОСЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ РЕВАСКУЛЯРИЗИРУЮЩЕЙ  
ХИРУРГИЧЕСКОЙ ОПЕРАЦИИ**

инструкция по применению

Ответственный за выпуск М. Н. Курбат

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной

Подписано в печать 04.08.2025.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Times New Roman. Ризография.  
Усл. печ. л. 0,47. Уч.-изд. л. 0,22. Тираж 25 экз. Заказ 109.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет».  
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно