

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневич

2018 г.



Регистрационный № 045-0518

**МЕТОД
АДЬЮВАНТНОЙ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ У ПАЦИЕНТОВ,
СТРАДАЮЩИХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

учреждение здравоохранения «Витебский областной клинический онкологический диспансер»

АВТОРЫ:

к.м.н., доцент Шляхтунов Е.А., д.м.н., профессор Семенов В.М., Михайлова Т.Е.

Минск, 2018

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц

01.06.2018

Регистрационный № 045-0518

**МЕТОД АДЬЮВАНТНОЙ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ У ПАЦИЕНТОВ,
СТРАДАЮЩИХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Е. А. Шляхтунов, д-р мед. наук, проф. В. М. Семенов, Т. Е. Михайлова

Витебск 2018

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод адъювантной цитостатической терапии минимальной остаточной болезни при раке молочной железы, основанный на изменении схемы противоопухолевой терапии с антрациклинсодержащих схем (АС, ЕС, САФ, СЕФ) на паклитаксел и гемцитабин при сохранении в периферической крови пациентов циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), экспрессирующих гены ErbB-2/Her2-neu и Survivin(BIRC5), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение злокачественных солидных новообразований молочной железы.

Инструкция предназначена для врачей-онкологов, врачей-онкологов-хирургов, врачей-химиотерапевтов, врачей лабораторной диагностики и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим злокачественными солидными новообразованиями.

Уровень внедрения: учреждения здравоохранения, специализирующиеся на лечении злокачественных солидных новообразований и имеющие опыт использования молекулярно-генетических методов исследования (обратно-транскрипционная ПЦР).

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Пробирки стерильные вакуумные с К2ЭДТА объемом 5 мл для забора периферической венозной крови.
2. Термоциклер для ПЦР в режиме реального времени.
3. Программное обеспечение термоциклера для анализа и протоколирования данных.
4. Пластиковые расходные материалы для термоциклера (RNA-se/DNA-se Free).
5. Микроцентрифуга скоростная (15 000 об/мин), пригодная для пробирок объемом 0,2, 1,5 и 2,0 мл, а также для 96-луночных микропланшетов.
6. Твердотельный термостат, пригодный для пробирок объемом 0,2, 1,5 и 2,0 мл, а также для 96-луночных микропланшетов.
7. Вортекс, центрифуга-вортекс.
8. Пробирки типа «эппендорф» 1,5 мл.
9. Дозаторы механические или электронные переменного объема.
10. Одноразовые наконечники (обязательно наконечники с фильтром для предотвращения кросс-контаминации).
11. Наборы реагентов для выделения РНК, обратной транскрипции, амплификации нуклеиновых кислот.
12. Средства индивидуальной защиты (лабораторный халат, перчатки, очки).
13. Лекарственное средство доксорубицин (Doxorubicinum).
14. Лекарственное средство эпирубицин (Epirubicinum).

15. Лекарственное средство циклофосфан (Cyclophosphamidum).
16. Лекарственное средство фторурацил (Phthoruracilum).
17. Лекарственное средство паклитаксел (Paclitaxelum).
18. Лекарственное средство гемцитабин (Gemcitabinum).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Злокачественные новообразования молочной железы C50 по МКБ-10 со стадией T0–4N0–3M0 по TNM-классификации.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Индивидуальная непереносимость лекарственных средств, входящих в схему терапии.

Общие противопоказания для цитостатической терапии.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Этап 1. Исследование периферической крови на наличие ЦОК.

Исследование периферической крови на наличие или отсутствие ЦОК осуществляется со следующей кратностью: до начала адъювантной цитостатической терапии, после 2, 4 и 6 курсов антрациклинсодержащих схем полихимиотерапии, после 2 и 4 курсов паклитаксела, после 2 и 4 курсов гемцитабина.

Забор биологического материала

Периферическую венозную кровь берут утром натощак из локтевой вены в стерильную вакуумную пробирку объемом 5 мл с K2ЭДТА.

Определение экспрессии генов ErbB-2/Her2-neu и Survivin (BIRC5) в ЦОК:

определение экспрессии гена ErbB-2/Her2-neu;

выделение РНК человека из ЦОК;

реакция обратной транскрипции для получения кДНК;

использование полученной кДНК для проведения TaqMan ПЦР в режиме реального времени с применением необходимых пар праймеров и зондов для ErbB-2/Her2-neu и для контрольного референсного гена c-ABL; затем амплификация по программе: 1 цикл: 95 °С — 4 мин; 45 циклов: 95 °С — 30 с, 59 °С — 1 мин; детекция флуоресценции по каналам FAM для гена ErbB-2/Her2-neu и FAM для гена c-ABL.

Наличие экспрессии гена ErbB-2/Her2-neu определяется по каналу FAM, при этом значение порогового цикла находится в пределах от 18 до 35; по каналу FAM для гена c-ABL — в пределах от 18 до 35. Отсутствие экспрессии гена ErbB-2/Her2-neu определяется по каналу FAM — значение порогового цикла не определяется или более 35, а по каналу FAM для гена c-ABL оно находится в пределах от 18 до 35;

определение экспрессии гена Survivin (BIRC5);

выделение РНК человека из ЦОК;

реакция обратной транскрипции для получения кДНК;

использование полученной кДНК для проведения TaqMan ПЦР в режиме реального времени с применением необходимых пар праймеров и зондов для гена Survivin (BIRC5) и для контрольного референсного гена с-ABL; затем амплификация по программе: 1 цикл: 95 °С — 4 мин; 45 циклов: 95 °С — 30 с, 59 °С — 1 мин; детекция флуоресценции по каналам FAM для гена Survivin (BIRC5) и FAM для гена с-ABL.

Наличие экспрессии гена Survivin (BIRC5) определяется по каналу FAM, при этом значение порогового цикла находится в пределах от 18 до 35; по каналу FAM для гена с-ABL — в пределах от 18 до 35. Отсутствие экспрессии гена Survivin (BIRC5) определяется по каналу FAM — значение порогового цикла не определяется или более 35, а по каналу FAM для гена с-ABL оно находится в пределах от 18 до 35.

Интерпретация результатов

В случае, если не определяется нормализованная экспрессия генов ErbB-2/Her2-neu и Survivin (BIRC5) в образце, то делают заключение об отсутствии в исследуемом материале ЦОК.

В случае если определяется нормализованная экспрессия генов ErbB-2/Her2-neu и Survivin (BIRC5) одновременно либо по отдельности в пределах от 18 до 35 пороговых циклов, то делают заключение о присутствии ЦОК в образце.

Этап 2. Принятие управленческого решения.

В случае если до начала адъювантной цитостатической терапии определяются ЦОК, экспрессирующие хотя бы один из генов ErbB-2/Her2-neu или Survivin (BIRC5), то делают заключение о наличии минимальной остаточной болезни у пациента.

В случае если не определяется нормализованная экспрессия генов ErbB-2/Her2-neu и Survivin (BIRC5), и соответственно отсутствуют ЦОК в образце после 2 курсов антрациклинсодержащих схем (АС, ЕС, САФ, СЕФ), то делают заключение об эффективности терапии данными лекарственными средствами и проводят еще 2 курса терапии с очередным анализом периферической крови на ЦОК.

В случае если определяется нормализованная экспрессия генов ErbB-2/Her2-neu и Survivin (BIRC5), и подтверждается наличие ЦОК в образце после 2 курсов антрациклинсодержащих схем (АС, ЕС, САФ, СЕФ), то делают заключение о неэффективности проводимой терапии данными лекарственными средствами и заменяют схему терапии монокимиотерапией паклитакселом в дозировке 175 мг/м² внутривенно с очередным анализом периферической крови на ЦОК после 2 курсов.

В случае если не определяется нормализованная экспрессия генов ErbB-2/Her2-neu и Survivin (BIRC5), и соответственно отсутствуют ЦОК в образце после 2 курсов паклитаксела, то делают заключение об эффективности терапии

данным лекарственным средством и проводят еще 2 курса терапии с очередным анализом периферической крови на ЦОК.

В случае если определяется нормализованная экспрессия генов ErbB-2/Her2-neu и Survivin (BIRC5), и подтверждается наличие ЦОК в образце после 2 курсов паклитаксела, то делают заключение о неэффективности терапии данным лекарственным средством и заменяют схему терапии монокимиотерапией гемцитабином в дозировке 1000 мг/м² внутривенно еженедельно с очередным анализом периферической крови на ЦОК после 2 и 4 курсов.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Возможные ошибки могут быть связаны с нарушением протокола выделения РНК, синтеза кДНК, проведения TaqMan ПЦР в режиме реального времени.

УТВЕРЖДАЮ

руководитель учреждения,
в котором внедрен метод
«__» _____ 20 г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Название предложения для внедрения: Метод адъювантной цитостатической терапии минимальной остаточной болезни у пациентов, страдающих раком молочной железы.

1. Кем предложено (наименование учреждения-разработчика, автор): УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», 210602, Витебск, пр. Фрунзе, 27; УО «Витебский областной клинический онкологический диспансер», 210603, Витебск, ул. П. Бровки, 33, канд. мед. наук, доц. Е. А. Шляхтунов, д-р мед. наук, проф. В. М. Семенов, Т. Е. Михайлова.

2. Источник информации: инструкция по применению.

3. Где и когда начато внедрение _____
наименование лечебного учреждения, дата внедрения

4. Общее количество наблюдений _____

5. Результаты применения метода за период с ____ по ____:

положительные (количество наблюдений) _____

отрицательные (количество наблюдений) _____

неопределенные (количество наблюдений) _____

6. Эффективность внедрения: _____

7. Замечания, предложения _____

Дата _____

Ответственный за внедрение

должность, Ф.И.О., кафедра

подпись

Примечание. Акт о внедрении направляется организации-разработчику (п. 2), п.п. 4–8 заполняются организацией, внедрившей разработку.