

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц



«*10.07.2019*» 2019 г.

Регистрационный № 085-0619

**МЕТОД МЕТРОНОМНОЙ ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ
ХИМИОТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

Инструкция по применению

Учреждения-разработчики: государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н.Александрова», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Авторы: Стрельцова О.В., Батура К.Н., Смирнов С.Ю., Рукша К.Г., к.м.н. Субоч Е.И., д.м.н., профессор Прохоров А.В., д.м.н. Портянко А.С.

Минск, 2019

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц
28.06.2019

Регистрационный № 085-0619

**МЕТОД МЕТРОНОМНОЙ ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ
ХИМИОТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова», УО «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: О. В. Стрельцова, К. Н. Батура, С. Ю. Смирнов, К. Г. Рукша, канд. мед. наук Е. И. Субоч, д-р мед. наук, проф. А. В. Прохоров, д-р мед. наук А. С. Портянко

Минск 2019

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод метрономной поддерживающей химиотерапии пациентов, страдающих метастатическим колоректальным раком. Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов, страдающих колоректальным раком.

Метод предназначен для врачей-онкологов, врачей лабораторной диагностики, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с метастатическим колоректальным раком в стационарных и (или) амбулаторных условиях, и (или) условиях отделения дневного пребывания.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Перечень необходимых медицинских изделий

1. Изделия медицинской техники для выполнения трепанобиопсии печени под ультразвуковой навигацией.
2. Изделия медицинской техники для молекулярно-генетических исследований с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Перечень необходимых реактивов и расходных материалов

1. Лекарственные противоопухолевые средства: капецитабин 500 мг, эндоксан 50 мг (таблетированные формы).
2. Набор реагентов для выделения общей фракции РНК из биологических образцов (сорбционный принцип).
3. Набор реагентов для реакции обратной транскрипции РНК.
4. Набор реагентов для амплификации кДНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.
5. Олигонуклеотиды синтетические (праймеры и флуоресцентно-меченые зонды).
6. Спирт этиловый 96 %.
7. Микропробирки объемом 1,5 мл.
8. Микропробирки объемом 0,2 мл или микропробирки в стрипах объемом 0,2 мл, имеющие маркировку для ПЦР, и оптические крышки к ним.
9. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером для автоматических дозаторов объемом от 0,1 до 1000 мкл.
10. Хладоэлемент.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Злокачественные новообразования тонкого кишечника, ободочной кишки, ректосигмоидного соединения, прямой кишки.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Метастатическое поражение головного мозга.
2. Острые и хронические заболевания в стадии декомпенсации.

3. Иные противопоказания, соответствующие таковым к медицинскому применению лекарственных средств и медицинских изделий, необходимых для реализации метода, изложенного в настоящей инструкции.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Метод, изложенный в настоящей инструкции, реализуется в несколько этапов.

1. Определение молекулярных маркеров чувствительности к метронушной поддерживающей химиотерапии.

Для исследования используется нативная опухолевая ткань метастазов колоректального рака, полученная путем трепанобиопсии печени. Биологический материал помещается в индивидуальный полипропиленовый пакет либо фольгу и транспортируется в лабораторию в закрытом контейнере, заполненном жидким азотом.

1.1. Выделение общей фракции РНК.

Для процедуры исследования используются набор реагентов для выделения общей фракции РНК, основанный на сорбционном принципе, согласно инструкции производителя, спирт этиловый 96 %. Чистота препарата и концентрация полученной РНК оцениваются спектрофотометрически, исходя из соотношения поглощения при длинах волн 260/280 нм.

При необходимости допускается хранение РНК при температуре (-20 °C) в течение 1 мес. и однократное размораживание.

1.2. Постановка реакции обратной транскрипции.

Для синтеза кДНК, который проводится непосредственно после получения общей фракции РНК, используется набор реагентов для постановки реакции обратной транскрипции РНК согласно инструкции производителя.

При необходимости допускается хранение кДНК при температуре (-20° C) в течение 1 мес. и однократное размораживание.

1.3. Постановка ПЦР в режиме реального времени.

Для ПЦР в режиме реального времени фрагментов кДНК генов *TP*, *TS*, *DPD* и *VEGFR1* применяется набор реагентов для амплификации и олигонуклеотиды синтетические (праймеры и флуоресцентно-меченые зонды) согласно инструкции производителя. Последовательности олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченых зондов указаны в таблице 1.

Таблица 1 – Последовательности праймеров и зондов

Праймер	Последовательность
<i>TP_f1</i>	5'-CTGCAAGGTGCCAATGATC-3'
<i>TP_r1</i>	5'-TCCAGGAATAGACTCCAGCTTATC-3'
<i>TP_z1</i>	FAM-GCACACAGGAGGCACCTT-BHQ1
<i>TS_f1</i>	5'-CTACAGCCTGAGAGATGAATTCC-3'
<i>TS_r1</i>	5'-CTCCAAAACACCCTTCCAGA-3'
<i>TS_z1</i>	FAM-CTGCTGACAACCAAACGTGT-BHQ1
<i>DPD_f1</i>	5'-GCAATTTGCTACTGAGGTATTCAA-3'

Продолжение таблицы

<i>DPD_r1</i>	5'-GGAGGCAGCGAAGGATTT-3'
<i>DPD_z1</i>	FAM-GCAATGAGTATCCCACAGATCA-BHQ1
<i>VEGFR1_f1</i>	5'-CATTCCGAAGCAAGGTGTG-3'
<i>VEGFR1_r1</i>	5'-GCTGTCAGCATCCAGGATAAA-3'
<i>VEGFR1_z1</i>	FAM-CTTTTGTTC AATAATGAAGAGTCC-BHQ1

В качестве референсного гена используется АСТВ.

1.4. Анализ результатов.

Для оценки уровня экспрессии РНК используется метод *dCt*. При этом получают значения уровня флуоресценции для каждого образца. Полученные численные значения обозначают *Ct*. Вычисляют значения *dCt* для образцов опухолевой ткани согласно следующей формуле:

$$dCt_{\text{ОПУХОЛЬ}}^{\text{МИШЕНЬ}} = Ct_{\text{ОПУХОЛЬ}}^{\text{МИШЕНЬ}} - Ct_{\text{ОПУХОЛЬ}}^{\text{РЕФЕР.ГЕН}},$$

где $dCt_{\text{ОПУХОЛЬ}}^{\text{МИШЕНЬ}}$ — экспрессия гена-мишени в опухолевой ткани, нормализованная по референсному гену;

$Ct_{\text{ОПУХОЛЬ}}^{\text{МИШЕНЬ}}$ — значение уровня флуоресценции образца опухолевой ткани, анализируемого для оценки экспрессии гена-мишени;

$Ct_{\text{ОПУХОЛЬ}}^{\text{РЕФЕР.ГЕН}}$ — значение уровня флуоресценции образца опухолевой ткани, анализируемого для оценки экспрессии референсного гена.

1.5. Критерии чувствительности к лекарственным средствам.

Наличие одного из указанных критериев является маркером потенциальной чувствительности опухоли к лекарственным средствам, необходимым для реализации метода, изложенного в настоящей инструкции:

- относительный уровень экспрессии гена TP больше 6,850 относительных единиц;

- относительный уровень экспрессии гена TS ниже либо равен 6,641 относительных единиц;

- относительный уровень экспрессии гена DPD ниже либо равен 6,059 относительных единиц;

- относительный уровень экспрессии гена VEGFR1 ниже либо равен 5,456 относительных единиц.

2. Схема приема лекарственных средств

Лекарственные средства назначаются по следующей схеме:

- капецитабин в дозе 500 мг 3 раза/сут в таблетированной форме;

- циклофосфан 50 мг 1 раз/сут в таблетированной форме.

Прием лекарственных средств проводится до определения прогрессирования опухолевого процесса.

3. Наблюдение за пациентами.

Контрольное исследование осуществляется каждые 3 мес. от начала приема лекарственных средств.

В обязательный объем исследования входит:

3.1. Объективный осмотр пациента.

3.2. Лабораторные исследования, выполняемые общепринятыми методами:

- развернутый общий анализ крови;

- биохимический анализ крови: общий белок, билирубин, мочеви́на, креатинин, глюкоза, общий билирубин, аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ);

- определение опухолевых маркеров (РЭА, СА19-9).

3.3 Компьютерная томография (КТ) целевых очагов.

Интерпретация результата проводится по критериям RECIST 1.1 (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors). При подозрении на прогрессирование опухолевого процесса все исследования выполняются досрочно.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

1. Осложнения во время и после выполнения трепанобиопсии печени.

Устранение: использовать общехирургические стандартные подходы.

2. Несоблюдение условий транспортировки и хранения биологического материала.

Устранение: соблюдать правила получения, транспортировки и хранения биологического материала.

3. Нарушения в технологии лабораторного тестирования (несоблюдение времени инкубации, температурного режима и т. д.).

Устранение: не использовать реагенты с истекшим сроком годности, точно следовать инструкции к используемому набору реагентов.

4. Осложнения и побочные реакции при проведении химиотерапии.

Устранение: назначить посиндромную терапию, решить вопрос о редукации дозы или отмене химиотерапии.