

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

Д.Л. Пиневиц

« 16 » декабря 2016 г.

Регистрационный № 104-1116



**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ХИМИОТЕРАПИИ С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТАКСАНОВ (ПАКЛИТАКСЕЛ)  
ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Инструкция по применению**

**Учреждение-разработчик:**

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

**Авторы:**

д.б.н., доцент Р.М. Смолякова, д.м.н. Е.В. Шаповал, Е.А. Гутковская,  
Н.А. Козловская, Т.А. Чехович

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д.Л. Пиневиц

16.12.2016

Регистрационный № 104-1116

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК  
К ХИМИОТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТАКСАНОВ  
(ПАКЛИТАКСЕЛ) ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический  
центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

АВТОРЫ: д-р биол. наук, доц. Р.М. Смолякова, д-р мед. наук Е.В. Шаповал,  
Е.А. Гутковская, Н.А. Козловская, Т.А. Чехович

Минск 2016

В настоящей инструкции по применению изложен метод определения чувствительности опухолевых клеток к химиотерапии с использованием таксанов (паклитаксел) при раке молочной железы (далее — РМЖ) по уровню экспрессии микроРНК, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациенток, страдающих РМЖ.

Метод предназначен для врачей-онкологов, врачей лабораторной диагностики, врачей-патологоанатомов и иных врачей-специалистов учреждений здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациенткам, страдающим раком молочной железы.

### **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

1. Низкотемпературный морозильник (-70°C).
2. Термостат твердотельный с функцией охлаждения (4–100°C).
3. Вихревой смеситель.
4. Автоматические дозаторы переменного объема.
5. Амплификатор (термоциклер) для проведения ПЦР в режиме реального времени.
6. Холодильник (2–8°C).
7. Микроцентрифуга, обеспечивающая скорость вращения ротора до 14000 об./мин.
8. Термос.

Реактивы и расходные материалы:

1. Наборы для выделения общей фракции РНК (сорбционный принцип).
2. Набор реагентов для проведения реакции обратной транскрипции.
3. Набор реагентов для проведения ПЦР в режиме реального времени.
4. Микропробирки объемом 1,5 мл.
5. Микропробирки объемом 0,2 мл или микропробирки в стрипах, имеющие маркировку для ПЦР, и оптические крышки к ним.
6. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером для автоматических дозаторов.
7. Спирт этиловый 96%.
8. Спирт этиловый 70%.
9. Лед, хладоэлемент или охладитель проб.
10. Полипропиленовые микропестики.
11. Вакуумный аспиратор.
12. Маркер.
13. Хлороформ.
14. Жидкий азот.

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Рак молочной железы.

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Отсутствуют.

## ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

### 4.1. Забор материала

Опухолевую ткань получают при трепанобиопсии, осуществление которой проводят общепринятыми методами. Биологический материал незамедлительно помещают в термос с жидким азотом и доставляют в лабораторию, где допускается при необходимости его хранение при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  до использования. *Многokратное размораживание биологического материала запрещается!*

Для исследования применяют замороженную опухолевую ткань (трепанобиоптаты) молочной железы.

4.2. Оценку уровня экспрессии микроРНК осуществляют согласно инструкции по применению «Метод определения уровня экспрессии микроРНК в опухолевой клетке при раке молочной железы» (рег. № 126-1114 от 27.11.2014).

В качестве референсного гена используют RNU1.

Критерии оценки уровня экспрессии микроРНК при раке молочной железы представлены в таблице 1.

Таблица 1. — Критерии оценки уровня экспрессии микроРНК при раке молочной железы

микроРНК	Уровень экспрессии, отн. ед.		
	низкий	умеренный	высокий
miR-200c	$<0,2$	0,2–4,7	$>4,7$
miR-21	$<0,2$	0,2–6,1	$>6,1$

Критерии оценки чувствительности опухоли молочной железы к химиотерапии с использованием таксанов (паклитаксел) представлены в таблице 2.

Таблица 2. — Критерии оценки чувствительности опухоли к лечению с использованием таксанов (паклитаксел) при раке молочной железы

Прогнозируемая эффективность лечения	miR-200c	miR-21
Уменьшение объема опухоли $<50\%$	Низкая экспрессия	Высокая экспрессия
Уменьшение объема опухоли $\geq 50\%$	Умеренная экспрессия	Умеренная экспрессия

У пациенток, страдающих РМЖ, при неoadъювантной химиотерапии с использованием таксанов (паклитаксел) при умеренной экспрессии miR-200c и miR-21 прогнозируют регрессию объема опухоли  $\geq 50\%$ ; при низкой экспрессии miR-200c и высокой miR-21 прогнозируют регрессию объема опухоли  $<50\%$ .

Диагностическая чувствительность метода для микроРНК miR-21 и miR-200с составляет 50%; диагностическая специфичность — 100%.

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

1. Неправильный забор, транспортировка и хранение биологического материала.

Устранение: биологический материал после забора незамедлительно помещать в термос с жидким азотом и доставлять в лабораторию, где допускается при необходимости его хранение при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  до использования.

2. Применение реагентов с истекшим сроком годности или реагентов, условия хранения которых не соблюдались.

Устранение: не использовать реагенты с истекшим сроком годности и соблюдать условия их хранения.

3. Неточное дозирование реагентов.

Устранение: ежегодная поверка автоматических дозаторов.

4. Нарушение технологии лабораторного тестирования (время инкубации, температурный режим и т. д.).

Устранение: точно следовать инструкции к используемому набору реагентов.