

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2015 г.

Регистрационный № 137-1115

**МЕТОД
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *GSTM1* В ОПУХОЛЕВОЙ
ТКАНИ ПАЦИЕНТОК, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

АВТОРЫ:

Д-р.мед.наук, доцент Костюк С.А., Третьяк И.Ю., Руденкова Т.В.,
Полуян О.С., член-корреспондент НАН Беларуси, д-р.мед.наук,
профессор Демидчик Ю.Е.

Минск, 2015

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневич
29.12.2015

Регистрационный № 137-1115

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИ ГЕНА GSTM1
В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОК, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУО «Белорусская медицинская академия
последипломного образования»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, доц. С. А. Костюк, И. Ю. Третьяк, Т. В. Руденкова,
О. С. Полуян, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. Ю. Е. Демидчик

Минск 2015

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод определения экспрессии гена *GSTM1* для оценки риска прогрессирования опухолевого процесса на фоне проводимого специального системного лечения (полихимиотерапии) с включением антрациклинов, который может быть использован в комплексе медицинских услуг.

Инструкция предназначена для врачей-онкологов, врачей-онкологов-хирургов.

Уровень внедрения: учреждения здравоохранения, специализирующиеся на лечении опухолей молочной железы и имеющие опыт использования молекулярно-генетических методов исследования (обратно-транскрипционная полимеразная цепная реакция (ПЦР)).

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Высокоскоростная центрифуга.
2. Термостат.
3. Центрифуга-вортекс.
4. Спектрофотометр.
5. Амплификатор.
6. Наборы реагентов для выделения рибонуклеиновой кислоты (РНК), обратной транскрипции, амплификации нуклеиновых кислот.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Рак молочной железы СТ0-4N0-3M1 при проведении в первой линии системного лечения полихимиотерапии с включением антрациклинов.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Противопоказания к выполнению полихимиотерапии с включением антрациклинов.
2. Использование в первой линии системного лечения схем химиотерапии без включения антрациклинов.
3. Использование в первой линии системного лечения гормонотерапии, таргетной терапии.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Определение экспрессии гена *GSTM1*

Из парафин-фиксированных срезов опухолевой ткани молочной железы выделяют РНК человека, производят реакцию обратной транскрипции для получения к ДНК, которую используют для TaqMan ПЦР в режиме реального времени с использованием подобранных пар праймеров и зондов: для гена *GSTM1*: forward-праймер — AAGTTGGCATGCCCATGATACTGG, reverse-праймер — CGTCCCCATCGTGTACTTCTTTTC, TaqMan зонд FAM-CCATCCGCCTGCTCCTGGAATA - BHQ1; для контрольного референсного гена *HGUS*: forward-праймер — CTCCAAGGAATTTTGCCGATT, reverse-праймер — GGCGTGAAGATCCGGTTTTTA, TaqMan зонд JOE —

TGTTTCAGTCACCGACAGTGCTG-BHQ2, при этом праймеры и зонды вносят в концентрации 3,2 нмоль/мкл, затем производят амплификацию по программе: 1 цикл: 95 °С — 5 мин; 50 циклов: 95 °С — 20 с, 62 °С — 20 с, 72 °С — 15 с; 1 цикл: 72 °С — 10 мин, выполняют детекцию флуоресценции по каналам FAM для гена *GSTM1* и JOE для гена *HGUS*.

Наличие экспрессии гена *GSTM1* определяется по каналу FAM, при этом значения порогового цикла находится в пределах от 18 до 35, и по каналу JOE для гена *HGUS* значение порогового цикла находится в пределах от 18 до 35. Отсутствие экспрессии гена *GSTM1* определяется по каналу FAM — значение порогового цикла не определяется или больше 35, а по каналу JOE для гена *HGUS* значение порогового цикла находится в пределах от 18 до 35.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Оценка экспрессии гена *GSTM1* в образце при отсутствии в исследуемом материале опухолевых клеток: при определении уровня нормализованной экспрессии гена *GSTM1* в парафин-фиксированных срезах опухолевой ткани молочной железы при выявлении в исследуемом материале по каналу JOE (референсный ген *HGUS*) значений порогового цикла (Ct) в пределах 0–17 циклов или 36–50 циклов делают заключение об отсутствии в исследуемом материале клеток человека, а также вывод о невозможности оценки экспрессии гена *GSTM1* в данном образце.